

## 基于Nrf2信号通路的中药促进糖尿病创面愈合研究进展

周鑫<sup>1,2</sup>, 刘鹏<sup>1,2</sup>, 郭燕玲<sup>1,2</sup>, 许彪<sup>1,2</sup>, 牛文晶<sup>1,2</sup>, 王军<sup>1\*</sup>

(1. 天津中医药大学第一附属医院, 国家中医针灸临床医学研究中心, 天津 300193;

2. 天津中医药大学研究生院, 天津 301617)

**[摘要]** 糖尿病创面愈合障碍是糖尿病常见的慢性并发症之一,严重影响患者生活质量,甚至致残、致死,给社会带来了沉重的负担。中药是我国独特且珍贵的资源,具有较好的疗效和安全性。氧化应激在糖尿病创面的发生发展中有重要作用,体内抗氧化防御机制紊乱是导致糖尿病创面迁延不愈的因素之一。核因子E<sub>2</sub>相关因子2(Nrf2)是机体内维持细胞内氧化还原稳态的重要转录因子,可调节氧化/异源性应激并减少炎症反应。Nrf2对正常伤口的愈合并不是必须的,而对糖尿病伤口的愈合却至关重要。目前发现许多中药及其有效成分能有效促进糖尿病创面愈合,其机制与激活Nrf2信号通路有关。中药靶向激活Nrf2可减轻糖尿病创面的氧化应激反应、炎症反应和细胞凋亡,从而延缓症状的进一步加重,是促进糖尿病创面愈合药物的潜在靶点。该文总结了Nrf2信号通路与糖尿病创面的关系,并分析中药及其有效成分通过调节Nrf2通路促进糖尿病创面愈合的作用方式及可能机制,以期创制基于该通路的糖尿病创面治疗药物提供参考。

**[关键词]** 糖尿病创面; 核因子E<sub>2</sub>相关因子2(Nrf2); 氧化应激; 中药; 有效成分

**[中图分类号]** R2-0;R22;R285.5;R284;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)03-0241-09

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20220203

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20211122.1854.002.html>

**[网络出版日期]** 2021-11-23 12:35

### Effect of Chinese Medicine on Diabetic Wound Based on Nrf2 Signaling Pathway: A Review

ZHOU Xin<sup>1,2</sup>, LIU Peng<sup>1,2</sup>, GUO Yan-ling<sup>1,2</sup>, XU Biao<sup>1,2</sup>, NIU Wen-jing<sup>1,2</sup>, WANG Jun<sup>1\*</sup>

(1. *First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine (TCM), National Clinical Research Center for Chinese Medicine Acupuncture Moxibustion, Tianjin 300193, China;*

2. *Graduate School of Tianjin University of TCM, Tianjin 301617, China)*

**[Abstract]** Diabetic wound healing disorder, one of the common chronic complications of diabetes, seriously influences the quality of life of patients and even causes disability and death, bringing a heavy burden to the society. Chinese medicine, a unique and precious resource in China, is safe with definite effect. Oxidative stress plays an important role in the occurrence and development of diabetic wound and the disturbance of antioxidant defense mechanism is among the causes of the lingering diabetic wound. As a vital transcription factor for intracellular redox homeostasis, nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) regulates oxidative/heterogenous stress and reduces inflammatory responses. Although it is unnecessary for common wound healing, it is of great importance for diabetic wound healing. Many Chinese medicinals and the active ingredients have been found to enhance diabetic wound healing by mechanisms related to activation of the Nrf2 signaling pathway. Targeted activation of Nrf2 by Chinese medicine can alleviate oxidative stress, inflammatory response, and apoptosis in diabetic wound, thereby delaying further exacerbation of symptoms. Therefore, Nrf2 is regarded as a

**[收稿日期]** 20210903(007)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81973854,81473685);天津市自然科学基金项目(18JCYBJC93600);天津市卫生健康委员会中医药重点领域科研项目(2019008)

**[第一作者]** 周鑫,在读硕士,从事中医药防治糖尿病足溃疡研究,E-mail:zhouxin0116@126.com

**[通信作者]** \*王军,主任医师,教授,博士生导师,从事中医药防治糖尿病足溃疡研究,E-mail:tjzywangjun@126.com

potential target for drugs to boost diabetic wound healing. This study summarizes the relationship between the Nrf2 signaling pathway and diabetic wound and analyzes the mode of action and possible mechanisms of Chinese medicine and its active ingredients in promoting diabetic wound healing through modulating the Nrf2 pathway, which is expected to serve as a reference for developing drugs for diabetic wound based on this pathway.

**[Keywords]** diabetic wound; nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2); oxidative stress; Chinese medicine; effective ingredients

糖尿病是临床常见病、多发病,预计到2045年,全球将有6.93亿糖尿病患者,是造成社会沉重负担的重大公共卫生问题<sup>[1]</sup>。创面愈合障碍是糖尿病最常见的并发症之一,其往往发生在足部,称为糖尿病足溃疡(DFU)。约19%~34%的糖尿病患者会发生足部溃疡,是导致糖尿病患者截肢的主要原因<sup>[2]</sup>。据报道,患有DFU的患者5年死亡的风险是无DFU患者的2.5倍,多达70%的患者可能在截肢后5年内死亡<sup>[3]</sup>。与国外比较,我国DFU患者具有病情复杂、感染严重、一般情况差、预后不良等特点<sup>[4]</sup>。然而如何促进其创面愈合是至今困扰医学界学者的难题之一。

糖尿病创面隶属于慢性难愈性创面范畴。在临床上,创面清洁、保守性清创、中医中药、蛆虫疗法和酶清创等外治疗法等对慢性创面的治疗起到了积极作用<sup>[5]</sup>。中医药疗法中以中药内服、中药外敷、针灸、中药熏洗、穴位按摩等为主<sup>[6-7]</sup>。与此同时,创面愈合障碍作为一种局部病变,常以中药外用疗法避免药物首过效应,提高药物生物利用度,改善治疗效果,还能避免全身给药导致的毒副作用,使用方便,患者依从性高。但对于糖尿病患者而言,DFU往往发生在“消瘰期”。《黄帝内经·灵枢·五变》云:“五脏皆柔弱者,善病消瘰。”此时,患者气血阴阳俱虚、痰湿瘀郁互结,中药内服平调全身状态同样不可忽视<sup>[8]</sup>。大量研究表明,中药能够通过干预细胞因子调节炎症反应,促进创面组织上皮化、肉芽组织形成、血管新生以及减少疤痕形成等,在糖尿病创面愈合领域具有广阔的研究价值与应用前景<sup>[9]</sup>。Nrf2是机体内维持细胞内氧化还原稳态的重要转录因子,可调节氧化/异源性应激并减少炎症反应<sup>[10]</sup>。靶向激活Nrf2可调控炎症因子和减轻氧化应激损伤,从而促进糖尿病创口愈合<sup>[11]</sup>。本文将对Nrf2信号通路与糖尿病创面的关系进行综述,并归纳基于Nrf2信号通路促进糖尿病创面愈合的中药及其有效成分,以期研发DFU治疗药物提供参考。

## 1 Nrf2信号通路与糖尿病创面的关系

**1.1 Nrf2信号通路概述** Nrf2是机体内维持细胞内氧化还原稳态的重要信号转导通路之一,其通过调控抗氧化酶如转运蛋白谷胱甘肽(GSH),血红素加氧酶1(HO-1)等的表达,清除细胞内活性氧(ROS),抑制氧化应激<sup>[12]</sup>。生理条件下,Nrf2与Kelch样ECH相关蛋白1(Keap1)结合形成复合物存在于细胞质中<sup>[13]</sup>。Keap1是Nrf2的负调控因子,可以介导蛋白酶对Nrf2泛素化的降解,从而维持Nrf2低活性的生理状态<sup>[14]</sup>。而在ROS或亲电子基团等应激条件下,Keap1经泛素化降解,并与Nrf2解偶联,解偶联后的Nrf2进入胞核与抗氧化反应元件(ARE)结合,启动抗氧化基因的转录。此外,Keap1还能够降解Nrf2的E<sub>3</sub>泛素连接酶,维持Nrf2的表达量<sup>[15]</sup>。

**1.2 Nrf2调节糖尿病创面局部氧化应激** 氧化应激在糖尿病创面的发生发展中有重要作用,体内抗氧化防御机制紊乱是导致糖尿病创面迁延不愈的因素之一<sup>[16]</sup>。糖尿病状态下氧化应激水平升高,贯穿伤口愈合的整个阶段,是影响糖尿病伤口愈合的重要原因<sup>[17]</sup>。持续高血糖可诱导机体ROS含量增多,产生氧化应激,引起胰岛素 $\beta$ 细胞损伤,转而加重病情,形成恶性循环,创面经久不愈<sup>[18]</sup>。而ROS的蓄积,同样也是局部创面的特点,在伤口愈合的整个阶段,高糖、高脂等可导致能量代谢底物增加,使电子传递链中电子给体产生过量超氧化物并促进氧化应激及相应产物的增加<sup>[19]</sup>。Nrf2是氧化还原机制的中心调节因子,与糖尿病创面愈合密切相关。体外细胞实验表明,高血糖干预会抑制Nrf2激活,导致氧化应激<sup>[20]</sup>。此外,Nrf2基因敲除小鼠表现出严重的皮肤氧化损伤和创面难愈<sup>[21]</sup>。越来越多的研究表明,Nrf2/Keap1是糖尿病创面治疗的重要靶点。SOARES等<sup>[22]</sup>研究发现,使用siRNA靶向沉默Keap1的表达可上调Nrf2表达,改善氧化还原稳态,加速糖尿病组织再生至接近正常水平。许多Nrf2的激动剂也表现出优异的疗效。例如,Nrf2的强效激活剂富马酸二甲酯可激活Nrf2通路,显著降

低糖尿病小鼠创面 ROS 和自由基水平,减少氧化应激,促进创面愈合<sup>[23]</sup>。

**1.3 Nrf2 调节糖尿病创面局部炎症反应** 炎症反应是创面愈合过程中不可或缺的环节,但是过轻和过重的炎症反应都不利于创面愈合。糖尿病溃疡作为糖尿病严重并发症,以创面溃疡经久不愈为主要特点,创面炎症启动缓慢与消退延迟是导致其愈合困难的重要原因<sup>[24]</sup>。众所周知,核转录因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)是参与炎症反应的“明星分子”。其可高效诱导炎症细胞因子[肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ),白细胞介素-1(IL-1),IL-6等],趋化因子,黏附分子[细胞间黏附分子-1(ICAM-1),血管细胞黏附因子-1(VCAM-1)],炎性酶等的基因表达,使炎症反应级联放大<sup>[25]</sup>。Nrf2 与 NF- $\kappa$ B 通路存在细胞间信号交互,这也是许多天然药物兼具抗氧化和抗炎作用的理论基础。NF- $\kappa$ B 能感知细胞氧化还原状态,还原环境会阻止 NF- $\kappa$ B 的激活,而氧化/亚硝化应激会促进 NF- $\kappa$ B 抑制蛋白(I $\kappa$ B)的磷酸化和降解<sup>[26]</sup>。在糖尿病创面中,Nrf2 通过多种机制负向控制 NF- $\kappa$ B 信号通路。首先,Nrf2 通过降低细胞内 ROS 水平来抑制氧化应激介导的 NF- $\kappa$ B 激活。此外,Nrf2 可防止 I $\kappa$ B $\alpha$  蛋白酶降解并抑制 NF- $\kappa$ B 的核易位。Nrf2 的上调诱导细胞 HO-1 水平的增加,随后 II 相酶表达的增加会阻止 I $\kappa$ B $\alpha$  的降解<sup>[10]</sup>。据报道,NF- $\kappa$ B p65 亚基的 N 末端区域与 Keap1 的物理结合可以抑制 Nrf2 通路。Nrf2 基因敲除小鼠表现出 NF- $\kappa$ B 活性增强,而激活 Nrf2 可以阻断炎症反应<sup>[27]</sup>。

## 2 中药通过调控 Nrf2 通路促进糖尿病创面愈合

目前,已知的绝大多数 Nrf2 激活剂是天然产物(中药或植物药)。许多天然产物具有亲电性,可以修饰蛋白分子的亲核部分,使 Keap1 结构发生变化。在此基础上,“基于天然产物的结构修饰开发出更佳的 Nrf2 激活剂”已成为热门研究策略<sup>[28]</sup>。目前,关于中药有效成分促进糖尿病创面愈合的研究较多,根据结构的不同可分为黄酮类、酚类、苷类、醛类、醌类、生物碱类、异硫氰酸酯类。而目前关于中药复方通过激活 Nrf2 促进糖尿病创面的愈合的相关研究较少。

### 2.1 中药有效成分

**2.1.1 黄酮类** 木犀草素(luteolin)作为食源性黄酮类化合物,广泛存在于各种食用植物和药物植物中,如金银花、菊花、橄榄油、橙子、胡萝卜、洋白菜等,具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抗菌、血管保护和神经保护作用<sup>[29]</sup>。研究发现,腹腔注射 luteolin 可显

著降低糖尿病大鼠的血糖,促进创面愈合,加速皮肤再上皮化。其通过抑制 NF- $\kappa$ B 的表达,下调炎症介质,并激活 Nrf2 的磷酸化以上调抗氧化酶。此外,luteolin 降低了血管内皮生长因子(VEGF)的表达,增加了泛素羧基末端水解酶-L1(UCH-L1)的表达<sup>[30]</sup>。

芦丁(rutin)是黄酮类化合物的一种,又名芸香苷、紫槲皮甙等,毒性低,广泛存在于植物界,尤其是芸香科植物、蝶形花科植物、桑葚、荞麦等常见植物中<sup>[31]</sup>。腹腔注射 rutin 可明显改善糖尿病所致的体质量下降及代谢紊乱,促进伤口愈合。Rutin 通过促进 Nrf2 诱导的抗氧化酶的产生,抑制 NF- $\kappa$ B 调控的基质金属蛋白酶(MMPs)的表达,降低糖尿病大鼠的氧化应激和炎症反应,促进创面愈合,从而降低创面溃疡的发生风险。与 luteolin 相似,rutin 也在降低 VEGF 的表达的同时,促进了 UCH-L1 的表达<sup>[32]</sup>。糖尿病创面愈合涉及痛觉神经元的敏化和再生,由 UCH-L1 调节。UCH-L1 仅存在于神经元中,参与细胞外基质合成和再上皮化,并在组织修复中介导神经元再生。因此,UCH-L1 可能是组织损伤的生物标志物,提示糖尿病创面愈合状况<sup>[33-35]</sup>。

黄芩苷(baicalin)是唇形科黄芩属植物黄芩干燥根茎中提取的黄酮类活性成分,具有抗肿瘤、抗炎、抗菌等多种药理作用<sup>[36]</sup>。研究证实,baicalin 明显抑制高血糖引起的人脐静脉内皮细胞(HUVECs)和主动脉血管的氧化损伤和炎症,同时增加 HUVECs 中 Nrf2 的核积累。进一步研究发现,高糖降低了蛋白激酶 B(Akt)和糖原合酶激酶-3 $\beta$ (GSK-3 $\beta$ )的磷酸化,抑制酪氨酸激酶 Fyn 的核输出和 Nrf2 的核定位,减弱 Nrf2 下游靶基因的表达,进而引起氧化应激损伤。baicalin 在 HUVEC 中能有效减轻该破坏性级联反应。此外,添加磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)和 Nrf2 的抑制剂后,baicalin 介导的 Nrf2 激活和促进体内外血管生成的能力被减弱。提示 baicalin 通过 Akt/GSK-3 $\beta$ /Fyn 途径激活 Nrf2,进而减轻氧化应激损伤,促进糖尿病创面愈合<sup>[37]</sup>。

芒果苷(mangiferin)属于二苯吡酮型的黄酮类化合物,主要存在于射干、芒果的叶及树皮以及知母的根茎中。一项荟萃分析表明,口服摄入 mangiferin 在动物模型中具有显著的抗糖尿病作用,作用可能归因于其抗炎和抗氧化特性,以及其改善糖脂代谢和增强胰岛素信号<sup>[38]</sup>。LWIN 等<sup>[39]</sup>使用链脲佐菌素(STZ)和烟酰胺(NA)联合诱导糖尿病大鼠模型,以减少 STZ 对胰腺造成的损害,从而

更加接近2型糖尿病的部分胰岛素缺乏状态。使用mangiferin凝胶干预能显著促进糖尿病创面愈合,其机制与调控Nrf2与NF- $\kappa$ B通路有关。

**2.1.2 酚类** 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)是绿茶含量最多、活性最强的多羟基酚类化合物,是Nrf2的强效激活剂。使用EGCG后,糖尿病小鼠创面Nrf2,HO-1和醌氧化还原酶1(NQO1)蛋白表达量升高,ICAM-1,VCAM-1和半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-12(Caspase-12)等蛋白表达量降低。免疫组化示EGCG治疗组3-硝基氨基酸(3-NT)阳性率明显少于其非治疗组,说明上调机体Nrf2表达可有效减轻糖尿病并发症,而EGCG作为Nrf2激动剂具有对抗糖尿病引起的氧化应激、炎症和细胞凋亡的作用,对糖尿病难愈性创面具有较好治疗作用<sup>[40]</sup>。

原花青素B<sub>2</sub>(PCB<sub>2</sub>)是原花青素二聚体中来源最广泛和活性最强的一类化合物,广泛存在于葡萄、可可、蓝莓等食物中<sup>[41]</sup>。PCB<sub>2</sub>治疗显著促进糖尿病小鼠创面愈合,改善高糖环境下内皮祖细胞(EPCs)的存活、迁移和血管生成功能。PCB<sub>2</sub>通过增加Nrf2及其下游抗氧化基因的表达,以减轻高糖中EPCs的氧化应激。通过Nrf2-shRNA慢病毒敲低Nrf2基因表达后,该保护作用减弱。流式细胞术显示,糖尿病小鼠外周血中循环EPCs数量减少,而PCB<sub>2</sub>治疗可动员EPCs从骨髓到外周血<sup>[42]</sup>。

丁香酸(SA)是植物体内重要的次生性代谢酚类,主要存在于南瓜、橄榄、葡萄、巴西莓、玉米、燕麦等植物中<sup>[43]</sup>。SA是一种天然抗氧化剂,具有抗菌、抗炎、抗糖尿病和心脏保护等多种作用<sup>[44]</sup>。使用SA干预后的糖尿病伤口显示出对促炎反应(NF- $\kappa$ B p65, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8和IL-2)的抑制,对抗炎反应(IL-10)的改善,抑制了氧化应激,降低MMP-2, MMP-8, MMP-9的水平,并增加基质金属蛋白酶抑制剂-1(TIMP-1)和TIMP-2的含量。此外,SA干预后的糖尿病伤口呈现出CD31, CD68, 转化生长因子- $\beta$ <sub>1</sub>(TGF- $\beta$ <sub>1</sub>), I型胶原(Collagen-I),  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)和VEGF表达的增加,进而促进胶原沉积、再上皮化,促进创面愈合<sup>[45]</sup>。

**2.1.3 苷类** 红景天苷(Sal)是红景天的主要活性成分,具有抗炎、镇痛、抗抑郁、抗氧化及免疫调节等多种药理作用<sup>[46]</sup>。Sal处理可增加DFU大鼠创面组织CD34阳性细胞,Nrf2蛋白表达量及SOD活性,降低Keap1蛋白表达量及MDA含量,且与Sal的浓度有关。提示Sal可能通过调节Nrf2/Keap1信号通

路,促进抗氧化酶表达,提高DFU大鼠抗氧化能力,促进创面愈合<sup>[47]</sup>。

芍药苷(PF)是白芍和赤芍的主要有效成分,是一种水溶性单萜类糖苷,具有抗炎、抗氧化、镇痛、降血糖、神经保护等药理作用<sup>[48]</sup>。研究发现,与正常大鼠比较,STZ诱导的糖尿病大鼠创面愈合延迟,表现出较强的氧化性DNA损伤与细胞凋亡,VEGF和TGF- $\beta$ <sub>1</sub>表达低下。PF处理可激活DFU大鼠Nrf2的表达,促进创面愈合。在人永生角质形成细胞(HaCaT)中,同样也证实了PF通过Nrf2通路减轻了高糖诱导的细胞损伤,促进了细胞的增殖与迁移。相反地,以siRNA敲低Nrf2则逆转了PF诱导的细胞增殖、迁移和血管生成,以及细胞凋亡抑制<sup>[49]</sup>。

**2.1.4 醛类** 肉桂醛(CA)是从樟科植物肉桂树叶中分离得到的一种醛类有机化合物,为肉桂的主要活性成分。现代药理学研究表明CA具有抗炎、抗氧化、抗糖尿病、解热、抗菌和抗癌特性<sup>[50]</sup>。蔡雷琴等<sup>[51]</sup>使用Nrf2野生型(Nrf2<sup>+/+</sup>)和Nrf2敲除型(Nrf2<sup>-/-</sup>)糖尿病小鼠作为研究对象,局部应用CA明显加速Nrf2<sup>+/+</sup>糖尿病小鼠创口愈合,但是并不影响Nrf2<sup>-/-</sup>糖尿病小鼠创口愈合。免疫组化示Nrf2<sup>+/+</sup>糖尿病溃疡小鼠局部应用CA后,其创缘皮肤Nrf2和下游靶蛋白HO-1的表达水平显著增强,8-羟基脱氧鸟核苷(8-oxo-dG)的表达水平则明显减少。而Nrf2<sup>-/-</sup>糖尿病小鼠创口局部外用CA后,其创缘处皮肤Nrf2,HO-1及8-oxo-dG的表达水平无明显变化。

**2.1.5 醌类** 白花丹素(PLB)是中药白花丹的主要活性成分之一,从中药白花丹的根部提取。其具有抗炎、抗氧化、抗糖尿病、抗肿瘤等多种药理学作用,是一种潜在的癌症治疗药物<sup>[52]</sup>。研究发现,PLB凝胶外用能显著促进糖尿病大鼠创面愈合,抑制脂质过氧化、氧化应激、炎症反应,促进创面组织纤维、胶原蛋白与血管生成,其机制与调控Keap1/Nrf2与NF- $\kappa$ B之间信号交互有关。此外,局部应用PLB能改善实验动物空腹血糖和胰岛素水平,可考虑作为糖尿病治疗药物<sup>[53]</sup>。

**2.1.6 生物碱类** 甲基莲心碱(Nef)是从睡莲科植物莲成熟种子中提取出的一种双苄基异喹啉类生物碱,具有抗肿瘤、抗糖尿病、抗衰老、抗血栓形成、抗炎甚至抗人类免疫缺陷病毒(HIV)等多种生理学作用<sup>[54]</sup>。研究证实,局部应用Nef可显著促进糖尿病大鼠创面愈合,抑制创面氧化应激与炎症反应,还可调节血脂、血糖与胰岛素水平。其机制与抑制NF- $\kappa$ B和激活Nrf2途径有关。此外,Nef可降低

CD68和CD163蛋白水平。CD68和CD163分别是M1型和M2型巨噬细胞标志物,此结果可说明Nef可减轻巨噬细胞介导的炎症反应,但对于巨噬细胞表型转换的调控未作深入研究<sup>[55]</sup>。

**2.1.7 异硫氰酸酯类** 莱菔硫烷(SFN)又称莱菔硫素和萝卜硫素,是从西兰花和卷心菜等十字花科蔬菜中提取的一种异硫氰酸盐物质,是Nrf2的天然激动剂,通过修饰Keap1特异性半胱氨酸,使Nrf2与Keap1解离,Nrf2活化<sup>[56-57]</sup>。LONG等<sup>[21]</sup>发现,与正常皮肤相比,糖尿病患者皮肤呈现出严重的氧化性DNA损伤,导致细胞凋亡和代偿性Nrf2通路激活。动物水平(Nrf2<sup>+/+</sup>和Nrf2<sup>-/-</sup>糖尿病小鼠)和细胞水平(HaCaT)都证实,SNF干预可靶向激活Nrf2通路,减轻氧化应激,促进细胞增殖与迁移,抑制细胞凋亡,进而促进糖尿病创面愈合。

**2.2 中药复方** 复方黄柏液是经典外用药,由黄柏、金银花、连翘、蒲公英、蜈蚣等组成,有清热解毒、消肿祛腐之效,广泛用于糖尿病创面的治疗<sup>[58]</sup>。ZHANG等<sup>[59]</sup>通过将复方黄柏液的药物靶标与Nrf2及其下游基因关联,筛选出复方黄柏液中的54种成分,其中大部分来自黄柏和连翘。进一步研究发

现,复方黄柏液显著加速糖尿病大鼠创面愈合并增强了细胞外基质的产生。其机制与激活Nrf2及其下游抗氧化基因,从而抑制氧化损伤和细胞凋亡有关。此外,复方黄柏液增强了TGF- $\beta_1$ 的表达,降低MMP-9水平,促进了胶原的生长。体外实验表明,复方黄柏液促进高糖诱导的HaCaT增殖,抑制氧化损伤。

### 3 总结与展望

高血糖所致的氧化应激是糖尿病溃疡经久难愈的核心机制之一。除了由伤口本身和炎症引起的氧化应激之外,这种由糖尿病引起的更高水平的氧化应激导致了糖尿病伤口愈合受损。Nrf2是一种经典的内源性抗氧化应激通路,细胞通过激活Nrf2来对抗和修复损伤。Nrf2对正常伤口的愈合并不是必须的,而对糖尿病伤口的愈合却至关重要<sup>[60]</sup>。中药靶向激活Nrf2可减轻糖尿病创面的氧化应激反应、炎症反应和细胞凋亡,从而延缓症状的进一步加重,是促进糖尿病创面愈合药物的潜在靶点,见图1。但是,随着研究的进展,人们发现Nrf2过度激活会促进癌细胞的增殖<sup>[61]</sup>。因此,在今后中药有效成分的研究中,找到更合适的Nrf2激活剂尤为重要。

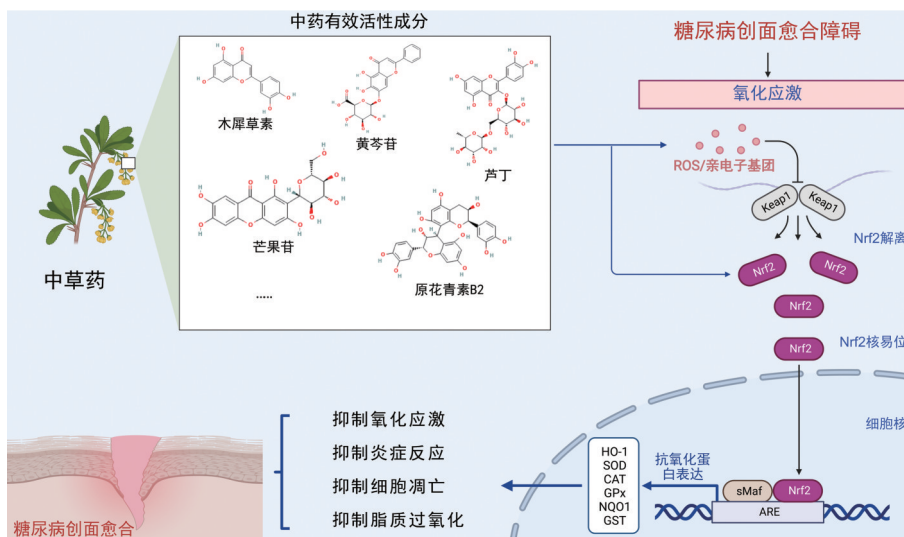


图1 中药有效成分通过调控Nrf2通路促进糖尿病创面愈合的机制

Fig. 1 Mechanism of active ingredients in traditional Chinese medicine (TCM) promoting diabetic wound healing through modulation of Nrf2 pathway

在本研究中,发现在糖尿病创面中,Nrf2与NF- $\kappa$ B通路存在信号交互。许多中药有效成分在功能上能够抑制NF- $\kappa$ B活性的同时激活Nrf2通路,这也是中药多靶点的优势。因此,可以结合中医经典理论与现代医学认识,针对糖尿病创面愈合的不同阶段,通过对Nrf2和NF- $\kappa$ B通路调控的药物进行配伍

应用,开发出糖尿病创面治疗的新型中药制剂。此外,丹参酮II<sub>A</sub>,虎杖苷,人参皂苷Rg<sub>1</sub>,葛根素等都是Nrf2的天然激动剂<sup>[62]</sup>,但尚未有其对糖尿病创面的相关报道,有待进一步深入研究。中药有效成分通过调控Nrf2通路促进糖尿病创面愈合的机制总结见表1。

表1 中药有效成分通过调控Nrf2通路促进糖尿病创面愈合的机制

Table 1 Mechanism of effective components of TCM promoting diabetic wound healing by regulating Nrf2 pathway

类别	活性成分	主要植物来源	中药干预组		干预方式	中药干预结果	机制	参考文献
			体内实验模型	体外实验模型				
酮类	黄木犀草素	金银花、菊花、橄榄油、橙子、胡萝卜	糖尿病大鼠(STZ)	-	腹腔注射	↑: Nrf2, p-Nrf2, SOD1, GSH-Px, UCH-L1; ↓: NF-κB, TNF-α, IL-1β, IL-6, MMP-9	调节血糖,抑制氧化应激、炎症反应	[30]
	芦丁	荞麦、桑葚	糖尿病大鼠(STZ)	-	腹腔注射	↑: Nrf2, SOD1, GSH-Px, UCH-L1; ↓: NF-κB p65, TNF-α, IL-1β, IL-6, TGF-β <sub>1</sub> , MMP-2, MMP-9, VEGF	调节血糖和胰岛素水平,改善肝功能和血脂,抑制氧化应激、炎症反应	[32]
	黄芩苷	黄芩	糖尿病小鼠(STZ)	HUVECs, HAOECs	腹腔注射/细胞培养	↑: n-Nrf2, NQO1, NQO2, HO-1, CAT, SOD2, CD31 <sup>+</sup> , p-Akt, p-GSK-3β; ↓: c-Nrf2, Bax/Bcl-2, c-Caspase-3, 3-NT <sup>+</sup> , IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α, n-Fyn	抑制氧化应激、脂质过氧化、炎症反应,促进细胞增殖,抑制细胞凋亡	[37]
	芒果苷	芒果、射干、知母	糖尿病大鼠(STZ+NA)	-	凝胶外用	↑: Nrf2, EGF, TGF-β, PI3K, VEGF; ↓: NF-κB p65, TNF-α, MMP-2	抑制氧化应激、炎症反应,促进纤维组织与血管生成	[39]
酚类	表没食子儿茶素没食子酸酯	绿茶	糖尿病小鼠(STZ)	-	未提及	↑: Nrf2, HO-1, NQO1; ↓: ICAM-1, VCAM-1, Caspase 12, 3-NT <sup>+</sup>	抑制氧化应激、炎症反应、细胞凋亡	[40]
	原花青素B <sub>2</sub>	葡萄、可可、蓝莓	糖尿病小鼠(STZ)	EPCs	腹腔注射/细胞培养	↑: Nrf2, CAT, NQO1, CD34 <sup>+</sup> /VEGFR2 <sup>+</sup> ; ↓: ROS, 3-NT <sup>+</sup> , 4-HNE, MDA	调节血糖,抑制脂质过氧化、氧化应激与细胞凋亡,促进血管生成	[42]
	丁香酸	南瓜、橄榄、葡萄、巴西莓、玉米、燕麦	糖尿病大鼠(STZ)	-	局部外用	↑: Nrf2, SOD, CAT, GPx, GR, GST, IL-10, TIMP-1, TIMP-2, CD31, CD68, VEGF, Collagen-I, α-SMA, TGF-β <sub>1</sub> ; ↓: NF-κB p65, TNF-α, IL-1β, IL-8, IL-2, Keap1, MDA, MMP-2, MMP-8, MMP-9	调节血糖、血脂和胰岛素水平,抑制氧化应激、脂质过氧化、炎症反应,促进纤维组织、胶原蛋白与血管生成	[45]
苷类	红景天苷	红景天	糖尿病大鼠(STZ)	-	灌胃	↑: Nrf2, CD34 <sup>+</sup> , MVD, SOD; ↓: Keap1, MDA	调节血糖,抑制氧化应激与脂质过氧化	[47]
	芍药苷	白芍、赤芍	糖尿病大鼠(STZ)	HaCaT	灌胃/细胞培养	↑: Nrf2, HO-1, Collagen, CD31 <sup>+</sup> , Ki67 <sup>+</sup> , SOD, GSH, VEGF, TGF-β <sub>1</sub> ; ↓: MDA, ROS	调节血糖,抑制氧化应激、脂质过氧化,促进胶原蛋白、血管内皮生成,促进细胞增殖与迁移,抑制细胞凋亡	[49]
醛类	肉桂醛	肉桂	Nrf2 <sup>+/+</sup> 和Nrf2 <sup>-/-</sup> 糖尿病小鼠(STZ)	-	凝胶外用	↑: Nrf2, HO-1; ↓: 8-oxo-dG	抑制氧化应激	[51]
醌类	白花丹素	白花丹	糖尿病大鼠(STZ)	-	凝胶外用	↑: Nrf2, Collagen-I, TGF-β, α-SMA, SOD, CAT, GPx, GR, GST, EGF, VEGF, FGF; ↓: Keap1, MMP-2, NF-κB p65, TNF-α, IL-6, IL-1β, COX-2, iNOS, CD68, CD163	调节血糖和胰岛素水平,抑制氧化应激、脂质过氧化、炎症反应,促进纤维组织、胶原蛋白与血管内皮生成	[53]
生物碱类	甲基莲蓬碱	莲蓬	糖尿病大鼠(STZ)	-	局部外用	↑: Nrf2, TGF-β, Collagen-I, α-SMA, SOD, CAT, GPx, GST; ↓: Keap1, NF-κB, TNF-α, IL-1β, IL-6, CD68, CD163	调节血糖、血脂和胰岛素水平,抑制氧化应激、脂质过氧化、炎症反应,促进胶原蛋白生成	[55]
硫氰酸酯类	异莱菔硫烷	西兰花、卷心菜	Nrf2 <sup>+/+</sup> 和Nrf2 <sup>-/-</sup> 糖尿病小鼠(STZ)	HaCaT	腹腔注射/细胞培养	↑: Nrf2, HO-1, NQO1, AKR1C1, TGF-β, Ki67; ↓: MMP-9, 8-oxo-dG, ROS	抑制氧化应激与细胞凋亡,促进纤维组织生成,促进细胞增殖与迁移	[21]

注: ↑表示升高; ↓表示降低。

[参考文献]

- [ 1 ] CHO N H, SHAW J E, KARURANGA S, et al. IDF Diabetes Atlas: global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045 [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2018, 138:271-281.
- [ 2 ] ARMSTRONG D G, BOULTON A, BUS S A. Diabetic foot ulcers and their recurrence [J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(24):2367-2375.
- [ 3 ] EDMONDS M, LÁZARO-MARTÍNEZ J L, ALFAYATE-GARCÍA J M, et al. Sucrose octasulfate dressing versus control dressing in patients with neuroischaemic diabetic foot ulcers (Explorer): an international, multicentre, double-blind, randomised, controlled trial [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2018, 6(3):186-196.
- [ 4 ] 中华医学会糖尿病学分会, 中华医学会感染病学分会, 中华医学会组织修复与再生分会. 中国糖尿病足防治指南(2019版) [J]. *中华糖尿病杂志*, 2019, 11: 92-108.
- [ 5 ] 谭谦. 进一步提高对慢性创面传统治疗方法的认识 [J]. *中华烧伤杂志*, 2021, 37(5):410-412.
- [ 6 ] 卢维, 陈壮丽, 李杰辉. 糖尿病足中医外治法应用现状及研究进展 [J]. *中国烧伤创疡杂志*, 2021, 33(4): 233-236, 250.
- [ 7 ] 陆灏, 倪青, 柳国斌, 等. 糖尿病足病中医病证结合诊疗指南 [J]. *中医杂志*, 2021, 62(12):1099-1104.
- [ 8 ] 孙瑞茜, 肖永华, 傅强, 等. 吕仁和分期治疗2型糖尿病药对应用经验 [J]. *中医杂志*, 2021, 62(18):1573-1577.
- [ 9 ] 杨露, 张永萍, 彭丽华. 中药及其外用制剂调控细胞因子促创面愈合的研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2021:1-14.
- [ 10 ] SAHA S, BUTTARI B, PANIERI E, et al. An overview of Nrf2 signaling pathway and its role in inflammation [J]. *Molecules*, 2020, 25(22):5474.
- [ 11 ] LIU Y, YANG X, LIU Y, et al. Nrf2 signalling pathway: new insights and progress in the field of wound healing [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(13): 5857-5868.
- [ 12 ] DODSON M, DE LA VEGA M R, CHOLANIANS A B, et al. Modulating Nrf2 in disease: timing is everything [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2019, 59:555-575.
- [ 13 ] KATSUOKA F, OTSUKI A, TAKAHASHI M, et al. Direct and specific functional evaluation of the Nrf2 and MafG heterodimer by introducing a tethered dimer into small maf-deficient cells [J]. *Mol Cell Biol*, 2019, 39(20):e00273-e00219.
- [ 14 ] SILVA-PALACIOS A, OSTOLGA-CHAVARRÍA M, ZAZUETA C, et al. Nrf2: Molecular and epigenetic regulation during aging [J]. *Ageing Res Rev*, 2018, 47: 31-40.
- [ 15 ] LOBODA A, DAMULEWICZ M, PYZA E, et al. Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: an evolutionarily conserved mechanism [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(17):3221-3247.
- [ 16 ] DENG L, DU C, SONG P, et al. The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic wound healing [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, doi: 10.1155/2021/8852759.
- [ 17 ] PATEL S, SRIVASTAVA S, SINGH M R, et al. Mechanistic insight into diabetic wounds: pathogenesis, molecular targets and treatment strategies to pace wound healing [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 112:108615.
- [ 18 ] GERBER P A, RUTTER G A. The role of oxidative stress and hypoxia in pancreatic beta-cell dysfunction in diabetes mellitus [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2017, 26(10):501-518.
- [ 19 ] 王诺琦, 杨秀颖, 杜冠华. 影响糖尿病伤口愈合机制研究进展 [J]. *药学报*, 2020, 55(12):2811-2817.
- [ 20 ] LI M, YU H, PAN H, et al. Nrf2 suppression delays diabetic wound healing through sustained oxidative stress and inflammation [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10:1099.
- [ 21 ] LONG M, ROJO DE LA VEGA M, WEN Q, et al. An essential role of NRF2 in diabetic wound healing [J]. *Diabetes*, 2016, 65(3):780-793.
- [ 22 ] SOARES M A, COHEN O D, LOW Y C, et al. Restoration of Nrf2 signaling normalizes the regenerative niche [J]. *Diabetes*, 2016, 65(3): 633-646.
- [ 23 ] LI Y, MA F, LI H, et al. Dimethyl fumarate accelerates wound healing under diabetic condition [J]. *J Mol Endocrinol*, 2018, 61(4):163-172.
- [ 24 ] BONIAKOWSKI A E, KIMBALL A S, JACOBS B N, et al. Macrophage-mediated inflammation in normal and diabetic wound healing [J]. *J Immunol*, 2017, 199(1):17-24.
- [ 25 ] LAWRENCE T. The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2009, 1(6):a001651.
- [ 26 ] BANNING A, BRIGELIUS-FLOHÉ R. NF-kappaB, Nrf2, and HO-1 interplay in redox-regulated VCAM-1 expression [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2005, 7(7/8):

- 889-899.
- [27] SANDBERG M, PATIL J, D'ANGELO B, et al. NRF2-regulation in brain health and disease: implication of cerebral inflammation [J]. *Neuropharmacology*, 2014, 79:298-306.
- [28] 程茂军, 郭杰, 刘婧, 等. Nrf2及天然产物导向的Nrf2激活剂研究进展[J]. *天然产物研究与开发*, 2021, 33(1):165-177.
- [29] KEMPURAJ D, THANGAVEL R, KEMPURAJ D D, et al. Neuroprotective effects of flavone luteolin in neuroinflammation and neurotrauma [J]. *Biofactors*, 2021, 47(2):190-197.
- [30] CHEN L Y, CHENG H L, KUAN Y H, et al. Therapeutic potential of luteolin on impaired wound healing in streptozotocin-induced rats [J]. *Biomedicines*, 2021, 9(7):761.
- [31] 刘辉, 刘芳芳, 周勇兵, 等. 芦丁激活腺苷酸活化蛋白激酶 $\alpha$ 蛋白表达减轻全氟辛酸染毒小鼠肝脏损伤[J]. *卫生研究*, 2021, 50(4):609-614.
- [32] CHEN L Y, HUANG C N, LIAO C K, et al. Effects of rutin on wound healing in hyperglycemic rats [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2020, 9(11):1122.
- [33] JULIUS D, BASBAUM A I. Molecular mechanisms of nociception [J]. *Nature*, 2001, 413(6852):203-210.
- [34] KABUTA T, WADA K. Insights into links between familial and sporadic Parkinson's disease: physical relationship between UCH-L1 variants and chaperone-mediated autophagy [J]. *Autophagy*, 2008, 4(6):827-829.
- [35] CHEN F, SUGIURA Y, MYERS K G, et al. Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1 is required for maintaining the structure and function of the neuromuscular junction [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(4):1636-1641.
- [36] YANG J Y, LI M, ZHANG C L, et al. Pharmacological properties of baicalin on liver diseases: a narrative review [J]. *Pharmacol Rep*, 2021, doi: 10.1007/s43440-021-00227-1.
- [37] CHEN G, CHEN X, NIU C, et al. Baicalin alleviates hyperglycemia-induced endothelial impairment 1 via Nrf2 [J]. *J Endocrinol*, 2018, doi: 10.1530/JOE-18-0457.
- [38] WU Y, LIU W, YANG T, et al. Oral administration of mangiferin ameliorates diabetes in animal models: a meta-analysis and systematic review [J]. *Nutr Res*, 2021, 87:57-69.
- [39] LWIN O M, GIRIBABU N, KILARI E K, et al. Topical administration of mangiferin promotes healing of the wound of streptozotocin-nicotinamide-induced type-2 diabetic male rats [J]. *J Dermatolog Treat*, 2020:1-10.
- [40] 李迎, 陈旭东, 张天琦, 等. Nrf2激动剂EGCG对糖尿病伤口愈合障碍的治疗作用研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36(8):923-927.
- [41] XIAO Y, DONG J, YIN Z, et al. Procyanidin B<sub>2</sub> protects against d-galactose-induced mimetic aging in mice: metabolites and microbiome analysis [J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 119:141-149.
- [42] FAN J, LIU H, WANG J, et al. Procyanidin B<sub>2</sub> improves endothelial progenitor cell function and promotes wound healing in diabetic mice via activating Nrf2 [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(2):652-665.
- [43] VO Q V, BAY M V, NAM P C, et al. Theoretical and experimental studies of the antioxidant and antinitrosant activity of syringic acid [J]. *J Org Chem*, 2020, 85(23):15514-15520.
- [44] RASHEDINIA M, ALIMOHAMMADI M, SHALFROUSHAN N, et al. Neuroprotective effect of syringic acid by modulation of oxidative stress and mitochondrial mass in diabetic rats [J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020:8297984.
- [45] REN J, YANG M, XU F, et al. Acceleration of wound healing activity with syringic acid in streptozotocin induced diabetic rats [J]. *Life Sci*, 2019, 233:116728.
- [46] FAN F, YANG L, LI R, et al. Salidroside as a potential neuroprotective agent for ischemic stroke: a review of sources, pharmacokinetics, mechanism and safety [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 129:110458.
- [47] 景亮, 祁永章. 红景天苷对糖尿病足溃疡大鼠Nrf2/Keap1信号通路及伤口愈合的影响[J]. *中国比较医学杂志*, 2021, 31(8):48-54.
- [48] ZHANG L, WEI W. Anti-inflammatory and immunoregulatory effects of paeoniflorin and total glucosides of paeony [J]. *Pharmacol Ther*, 2020, 207:107452.
- [49] SUN X, WANG X, ZHAO Z, et al. Paeoniflorin accelerates foot wound healing in diabetic rats through activating the Nrf2 pathway [J]. *Acta Histochem*, 2020, 122(8):151649.
- [50] CHEN P, RUAN A, ZHOU J, et al. Cinnamic aldehyde inhibits lipopolysaccharide-induced chondrocyte inflammation and reduces cartilage degeneration by blocking the nuclear factor-kappa B signaling pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11:949.
- [51] 蔡雷琴, 李文杰, 隆敏, 等. 局部应用肉桂醛通过激活Nrf2通路促进糖尿病小鼠创口愈合[J]. *第三军医大*

- 学学报,2017,39(19):1906-1912.
- [52] YIN Z, ZHANG J, CHEN L, et al. Anticancer effects and mechanisms of action of plumbagin: review of research advances [J]. *Biomed Res Int*, 2020, doi: 10.1155/2020/6940953.
- [53] SHAO Y, DANG M, LIN Y, et al. Evaluation of wound healing activity of plumbagin in diabetic rats [J]. *Life Sci*, 2019, 231: 116422.
- [54] MARTHANDAM ASOKAN S, MARIAPPAN R, MUTHUSAMY S, et al. Pharmacological benefits of neferine - a comprehensive review [J]. *Life Sci*, 2018, 199:60-70.
- [55] LI J, CHOU H, LI L, et al. Wound healing activity of neferine in experimental diabetic rats through the inhibition of inflammatory cytokines and Nrf-2 pathway [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2020, 48(1):96-106.
- [56] KIM J. Pre-Clinical neuroprotective evidences and plausible mechanisms of sulforaphane in Alzheimer's disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(6):2929.
- [57] 曹思思, 颜苗, 张毕奎, 等. 以Nrf2为靶点防治肾脏疾病的研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 2017, 33(3): 301-305.
- [58] 李欣, 王欢欢, 许静, 等. 基于UPLC-LTQ-Orbitrap-MS及网络药理学的复方黄柏液治疗糖尿病足活性成分研究 [J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(10): 2110-2117.
- [59] ZHANG J, ZHOU R, XIANG C, et al. Huangbai liniment accelerated wound healing by activating Nrf2 signaling in diabetes [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020:4951820.
- [60] AUF DEM KELLER U, HUBER M, BEYER T A, et al. Nrf transcription factors in keratinocytes are essential for skin tumor prevention but not for wound healing [J]. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(10):3773-3784.
- [61] ZHANG D D. The Nrf2-Keap1-ARE signaling pathway: the regulation and dual function of Nrf2 in cancer [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2010, 13(11): 1623-1626.
- [62] LI B, NASSER M I, MASOOD M, et al. Efficiency of traditional Chinese medicine targeting the Nrf2/HO-1 signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 126: 110074.

[责任编辑 周冰冰]