

· 数据挖掘 ·

基于系统药理学的葛根芩连汤治疗 2 型糖尿病作用机制探讨

赵金龙, 汤顺莉, 陈国铭, 黄楚瑶, 梁妙珍, 陈子茵, 黄建慧, 刘敏*
(广州中医药大学, 广州 510006)

[摘要] 目的:通过系统药理学方法探讨葛根芩连汤治疗 2 型糖尿病的作用机制及原理。方法:利用中药系统药理学分析平台(traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform,TCMSP)数据库筛选葛根芩连汤有效成分和相关靶标蛋白;运用网络可视化软件 Cytoscape 3.5.1 构建葛根芩连汤“有效成分-靶标”相互作用网络进行拓扑学分析;借助 STRING 10.5 在线数据库进行蛋白质与蛋白质相互作用(protein-protein interaction networks,PPI)网络的构建与分析;通过 Uniprot 数据库获取靶标蛋白的基因名称,借助 David 数据库进行基因通路功能富集分析京都基因和基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes,KEGG),研究葛根芩连汤治疗 2 型糖尿病的作用机制及原理。结果:葛根芩连汤的核心化合物有槲皮素(quercetin),山柰酚(kaempferol), β -谷甾醇(beta-sitosteroll)等,核心靶标前列腺素 G/H 合成酶 2(prostaglandin G/H synthase 2)等;PPI 网络图显示葛根芩连汤有效成分中关键蛋白主要有 c-Jun 氨基末端激酶(JUN),肿瘤坏死因子(TNF),fos 蛋白(FOS),丝裂原活化蛋白激酶 3(MAPK3)等;KEGG 结果表明葛根芩连汤主要作用与肿瘤坏死因子信号通路(TNF signaling pathway),丝裂原活化蛋白激酶信号通路(MAPK signaling pathway)等信号通路有关。结论:葛根芩连汤主要通过多种途径,多种信号通路作用于多种靶点发挥其药物功效,起到抗炎功效,治疗 2 型糖尿病的作用。

[关键词] 葛根芩连汤; 2 型糖尿病; 通路; 机制; 靶点

[中图分类号] R22;R24;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)12-0199-011

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181216

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180327.1747.020.html>

[网络出版时间] 2018-03-28 9:35

Therapeutic Mechanism of Gegen Qinlian Tang Based on Systematic Pharmacology in Treatment of Type 2 Diabetes

ZHAO Jin-long, TANG Shun-li, CHEN Guo-ming, HUANG Chu-yao, LIANG Miao-zhen,
CHEN Zi-yin, HUANG Jian-hui, LIU Min*
(Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the mechanism and principle of Gegen Qinlian Tang in the treatment of type 2 diabetes by systematic pharmacology. **Method:** The effective components and related target proteins in Gegen Qinlian Tang were selected by using the traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform (TCMSP); the network visualization software Cytoscape 3.5.1 was used to construct the effective component-target interaction network of Gegen Qinlian Tang for topological analysis. Protein and protein interaction network (PPI) was constructed and analyzed with STRING 10.5 online database. After the gene names of target proteins were obtained from Uniprot database, kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway analysis was conducted by using David database to explore the mechanism and principle of Gegen Qinlian Tang in treating type 2 diabetes. **Result:** The results showed that the core compounds of Gegen Qinlian Tang included quercetin, kaempferol, beta-sitosteroll, Prostaglandin G/H synthase 2, etc.; PPI network diagram showed that the key

[收稿日期] 20180122(010)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81373767)

[第一作者] 赵金龙,从事中医学、针灸方面研究,E-mail:zhaojinlong41@163.com

[通信作者] *刘敏,博士,教授,从事内分泌科医师工作,Tel:020-36591368,E-mail:liumery@163.com

proteins in the effective constituents of Gegen Qinlian Tang mainly included c-jun N-terminal kinase (JNK), tumor necrosis factor (TNF), fos protein (FOS), mitogen activated protein kinase 3 (MAPK3), etc. KEGG results showed that the main effect of Gegen Qinlian Tang was associated with TNF signaling pathway and MAPK signaling pathway signal pathway. **Conclusion:** Gegen Qinlian Tang mainly plays its anti-inflammatory effect, so as to achieve the effect of treating type 2 diabetes through multiple targets and multiple signaling pathways.

[**Key words**] Gegen Qinlian Tang; type 2 diabetes; pathway; mechanism; target

表里双解剂之葛根芩连汤来源于医圣张仲景的《伤寒论》，该方主要治疗证候属阳明里热甚者，为治疗太阳表证未解，邪陷阳明之重要方剂。临床上多用于急性肠炎、小儿腹泻、急性菌痢等证属湿热者^[1]，以及应用较为广泛的古方新用法，治疗 2 型糖尿病^[2]。糖尿病归中医消渴病范畴，由各种内外因引起机体脾胃受损，导致脾胃化运失职，内存积热，耗液伤津，从而引起糖尿病发病。该病因病机也符合阳明内热之中医证治特点。糖尿病是常见病、多发病，其中 2 型糖尿病最为常见，2010 年全球有糖尿病患者 2.85 亿人，预计到 2030 年约近 5 亿人患有糖尿病^[3]，因此发掘更多手段治疗糖尿病以及解释治疗其作用机制亟为迫切。现代药理学研究发现，葛根芩连汤具有降血糖及血脂、抗炎及抗氧化、抗病原微生物、解热抗病毒等药理学作用^[4-6]。许多动物实验研究验证了葛根芩连汤在治疗 2 型糖尿病大鼠的显著疗效，王志黔等^[7]运用葛根芩连汤治疗 2 型糖尿病大鼠，以观察其表征的变化，结果发现其可避免 2 型糖尿病大鼠的体质量减轻，降低血糖，降低摄入量及血脂等，改善 2 型糖尿病大鼠的倦怠无力、津液亏虚等表现。在临床应用上，金莉等^[8]人使用葛根芩连汤治疗 120 名 2 型糖尿病患者以观察其临床疗效，结果表明，葛根芩连汤能够显著降低血糖，改善阴虚内热等糖尿病症状。张颖等^[9]人使用葛根芩连汤实施临床对照试验表明，葛根芩连汤相较于对照组，具有较好的控制血糖，改善糖脂代谢的作用。尽管许多研究者对葛根芩连汤治疗糖尿病的作用机制也做了大量研究，但其在化合物、靶标以及通路层面上发挥作用的具体机制尚未完全阐明。

作为新兴学科，系统药理学打破传统的“一个药物，一个靶标，一种疾病”的思维模式及框架^[10]，结合运用系统生物学、多向药理学、网络分析等多学科的技术手段和内容，进行“化合物-通路-靶标”多层次网络的构建，从整体的角度去探索药物与疾病间的联系，具有较强的整体性和系统性，与中医治疗疾病的整体观念与辨证论治原则相吻合^[11]。基于

系统药理学的特点和方法，对现有的数据进行分析处理，本研究将从分子机制和通路层面研究葛根芩连汤治疗 2 型糖尿病的具体作用机制。

1 资料和方法

1.1 葛根芩连汤的化学成分数据库 本研究借助中药系统药理学分析平台 (TCMSP) (<http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>)，以“葛根”、“黄芩”、“黄连”、“甘草”4 个药物作为中草药名检索葛根芩连汤包含的所有化学成分。

1.2 活性化合物的筛选 口服生物利用度是药物吸收、分布、代谢、排泄特点中最重要的药物代谢动力学的参数之一，它表示口服药物到达体循环所占口服剂量的比例，作用比例高的口服生物利用度是决定生物活性分子(即有效作用的分子)类药性的关键指标^[12]。因此，本课题以口服生物利用度(oral bioavailability, OB) 阈值 $OB \geq 30\%$ 和类药性(druglikeness, DL) 阈值 $DL \geq 0.18$ 作为活性化合物的筛选限定条件，将 TCMSP 中具有较高活性的化合物进行筛选提取，提高数据分析处理的价值。

1.3 化合物-靶点网络的构建 将葛根芩连汤的化合物和相关靶点通过 Cytoscape 3.5.1 软件构建“化合物-靶点”网络，使得化合物与靶点关系可视化，以探究葛根芩连汤的药理学作用机制及原理，并对其进行网络拓扑学分析，其中靶点度值(Degree)和中介中心度(betweenness centrality, BC)是拓扑结构中两个重要的参数，可用于评价葛根芩连汤有效化合物、靶标的重要程度。

1.4 蛋白互作(PPI)网络的构建 由于蛋白质很少以独立个体的方式实现其生物学功能，在同一细胞的生化过程中所涉及的蛋白质一般通过彼此之间的相互作用，形成大分子复合物，完成其生物学过程或功能，因此蛋白质相互作用及相互作用网络的研究、分析是理解生命活动中细胞组织、生物过程和分子功能必不可少的基础条件。为说明靶点蛋白在系统水平上的作用，将葛根芩连汤所涉及的靶点上传至在线 STRING 10.5 软件(<https://string-db.org/>)，通过参数设置将评分条件设定为 > 0.90 ，以保证信

息的高置信度,通过相关设置隐藏图中孤立的蛋白质,最后输出 PPI 蛋白互作网络图,并根据分析结果统计靶标蛋白关联频次。获取蛋白互作信息,并导出可视化图形进行研究分析,根据分析结果统计靶标蛋白关联频次。

1.5 京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析 是东京大学和日本京都大学共同研发的数据库,该数据库提供信号通路查寻,并与 David 数据库进行在线关联。为了说明中药化合物的靶点蛋白在信号通路中的作用,本课题采用 David v6.8 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 对经过 Uniprot (<http://www.uniprot.org/>) 基因代码转换的靶点蛋

白进行 KEGG 通路富集分析,探究相关靶标蛋白参与表达的生物学通路,验证和预测葛根芩连汤治疗 2 型糖尿病的作用机制及原理。

2 结果

2.1 葛根芩连汤活性化合物的筛选 通过 TCMSP 数据库共收集到葛根芩连汤中活性化合物共 489 种,其中葛根含 18 种、黄芩含 143 种、黄连含 14 种、甘草含 280 种。以 $OB \geq 30\%$ 及 $DL \geq 0.18$ 作为筛选的限定条件,筛选出活性化合物共 146 种,其中葛根 4 种,黄芩 36 种,黄连 14 种,甘草 92 种。所有活性化合物经去除重复后共有 140 种。各化合物详细信息见表 1。

表 1 葛根芩连汤活性化合物的基本信息

Table 1 Basic information table of active compounds of Gegen Qinlian Tang

化合物代码	化合物名称	OB/%	DL	化合物代码	化合物名称	OB/%	DL
MOL001484	inermine	75.18	0.54	MOL004827	semilicoisoflavone B	48.78	0.55
MOL001792	DFV	32.76	0.18	MOL004828	glepidotin A	44.72	0.35
MOL000211	mairin	55.38	0.78	MOL004829	glepidotin B	64.46	0.34
MOL002311	glycyrol	90.78	0.67	MOL004833	phaseolinisoflavan	32.01	0.45
MOL000239	jaranol	50.83	0.29	MOL004835	glypallichalcone	61.60	0.19
MOL002565	medicarpin	49.22	0.34	MOL004838	8-(6-hydroxy-2-benzofuranyl)-2,2-dimethyl-5-chromenol	58.44	0.38
MOL000354	isorhamnetin	49.60	0.31	MOL004841	licochalcone B	76.76	0.19
MOL000359	sitosterol	36.91	0.75	MOL004848	licochalcone G	49.25	0.32
MOL003656	lupiwighteone	51.64	0.37	MOL004849	3-(2,4-dihydroxyphenyl)-8-(1,1-dimethylprop-2-enyl)-7-hydroxy-5-methoxy-coumarin	59.62	0.43
MOL003896	7-Methoxy-2-methyl isoflavone	42.56	0.2	MOL004855	licoricone	63.58	0.47
MOL000392	formononetin	69.67	0.21	MOL004856	gancaonin A	51.08	0.40
MOL000417	calycosin	47.75	0.24	MOL004857	gancaonin B	48.79	0.45
MOL000422	kaempferol	41.88	0.24	MOL004860	licorice glycoside E	32.89	0.27
MOL004328	naringenin	59.29	0.21	MOL004863	3-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-8-(3-methylbut-2-enyl)chro-mone	66.37	0.41
MOL004805	(2S)-2-[4-hydroxy-3-(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-8,8-dimethyl-2,3-dihydropyrano[2,3-f]chromen-4-one	31.79	0.72	MOL004864	5,7-dihydroxy-3-(4-methoxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl)chromone	30.49	0.41
MOL004806	euchrenone	30.29	0.57	MOL004866	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-6-(3-methylbut-2-enyl)chro-mone	44.15	0.41
MOL004808	glyasperin B	65.22	0.44	MOL004879	glycyrin	52.61	0.47
MOL004810	glyasperin F	75.84	0.54	MOL004882	licocoumarone	33.21	0.36
MOL004811	glyasperin C	45.56	0.40	MOL004883	licoisoflavone	41.61	0.42
MOL004814	isotrifoliol	31.94	0.42	MOL004884	licoisoflavone B	38.93	0.55
MOL004815	(E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(2,2-dimethylchromen-6-yl)prop-2-en-1-one	39.62	0.35	MOL004885	licoisoflavanone	52.47	0.54
MOL004820	kanzonols W	50.48	0.52	MOL004891	shinpterocarpin	80.30	0.73
MOL004824	(2S)-6-(2,4-dihydroxyp henyl)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxy-2,3-dihydrofuro[3,2-g]chromen-7-one	60.25	0.63				

续表 1

化合物代码	化合物名称	OB/%	DL	化合物代码	化合物名称	OB/%	DL
MOL005020	dehydroglyasperins C	53.82	0.37	MOL004990	7,2',4'-trihydroxy-5-methoxy-3-arylcoumarin	83.71	0.27
MOL000098	quercetin	46.43	0.28	MOL004991	7-acetoxy-2-methylisoflavone	38.92	0.26
MOL004898	(E)-3-[3,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-1-(2,4-dihydroxyphenyl)prop-2-en-1-one	46.27	0.31	MOL004993	8-prenylated eriodictyol	53.79	0.40
MOL004903	liquiritin	65.69	0.74	MOL004996	gadelaidic acid	30.70	0.20
MOL004904	licopyranocoumarin	80.36	0.65	MOL000500	vestitol	74.66	0.21
MOL004905	3,22-dihydroxy-11-oxo-delta(12)-oleanene-27-alpha-methoxycarbonyl-29-oic acid	34.32	0.55	MOL005000	gancaonin G	60.44	0.39
MOL004907	glyzaglabrin	61.07	0.35	MOL005001	gancaonin H	50.10	0.78
MOL004908	glabridin	53.25	0.47	MOL005003	licoagrocarpin	58.81	0.58
MOL004910	glabranin	52.9	0.31	MOL005007	glyasperins M	72.67	0.59
MOL004911	glabrene	46.27	0.44	MOL005008	glycyrrhiza flavonol A	41.28	0.60
MOL004912	glabrone	52.51	0.50	MOL005012	licoagroisoflavone	57.28	0.49
MOL004913	1,3-dihydroxy-9-methoxy-6-benzofurano[3,2-c]chromenone	48.14	0.43	MOL005013	18α-hydroxyglycyrrhetic acid	41.16	0.71
MOL004914	1,3-dihydroxy-8,9-dimethoxy-6-benzofurano[3,2-c]chromenone	62.90	0.53	MOL005016	odoratin	49.95	0.30
MOL004915	eurycarpin A	43.28	0.37	MOL005017	phaseol	78.77	0.58
MOL004917	glycyroside	37.25	0.79	MOL005018	xambioona	54.85	0.87
MOL004924	(-)-medicocarpin	40.99	0.95	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
MOL004935	sigmoidin-B	34.88	0.41	MOL002959	3'-methoxydaidzein	48.57	0.24
MOL004941	(2R)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one	71.12	0.18	MOL003629	daidzein-4,7-diglucoside	47.27	0.67
MOL004945	(2S)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl)chroman-4-one	36.57	0.32	MOL001454	berberine	36.86	0.78
MOL004948	isoglycyrol	44.70	0.84	MOL013352	obacunone	43.29	0.77
MOL004949	isolicoflavonol	45.17	0.42	MOL002894	berberrubine	35.74	0.73
MOL004957	HMO	38.37	0.21	MOL002897	epiberberine	43.09	0.78
MOL004959	1-methoxyphaseollidin	69.98	0.64	MOL002903	(R)-Canadine	55.37	0.77
MOL004961	quercetin der.	46.45	0.33	MOL002904	berlambine	36.68	0.82
MOL004966	3'-hydroxy-4'-O-methylglabridin	43.71	0.57	MOL002907	corchoroside A _{qt}	104.95	0.78
MOL000497	licochalcone a	40.79	0.29	MOL000622	magnograndiolide	63.71	0.19
MOL004974	3'-methoxyglabridin	46.16	0.57	MOL000762	palmidin A	35.36	0.65
MOL004978	2-[(3R)-8,8-dimethyl-3,4-dihydro-2H-pyrano[6,5-f]chromen-3-yl]-5-methoxyphenol	36.21	0.52	MOL000785	palmatine	64.60	0.65
MOL004980	inflacoumarin A	39.71	0.33	MOL001458	coptisine	30.67	0.86
MOL004985	icos-5-enoic acid	30.70	0.20	MOL002668	worenine	45.83	0.87
MOL004988	kanzonol F	32.47	0.89	MOL008647	moupinamide	86.71	0.26
MOL004989	6-prenylated eriodictyol	39.22	0.41	MOL001689	acacetin	34.97	0.24
				MOL000173	wogonin	30.68	0.23
				MOL000228	(2R)-7-hydroxy-5-methoxy-2-phenylchroman-4-one	55.23	0.20
				MOL002714	baicalein	33.52	0.21
				MOL002908	5,8,2'-trihydroxy-7-methoxyflavone	37.01	0.27
				MOL002909	5,7,2,5-tetrahydroxy-8,6-dimethoxyflavone	33.82	0.45
				MOL002910	carthamidin	41.15	0.24

续表 1

化合物代码	化合物名称	OB/%	DL	化合物代码	化合物名称	OB/%	DL
MOL002911	2,6,2',4'-tetrahydroxy-6'-methoxychalcone	69.04	0.22	MOL002937	dihydrooroxylin	66.06	0.23
MOL002913	dihydrobaicalin_qt	40.04	0.21	MOL000525	norwogonin	39.40	0.21
MOL002914	eriodictiol (flavanone)	41.35	0.24	MOL000552	5,2'-dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone	31.71	0.35
MOL002915	salvigenin	49.07	0.33	MOL000073	ent-epicatechin	48.96	0.24
MOL002917	5,2',6'-trihydroxy-7,8-dimethoxyflavone	45.05	0.33	MOL000449	stigmasterol	43.83	0.76
MOL002925	5,7,2',6'-tetrahydroxyflavone	37.01	0.24	MOL001490	bis[(2S)-2-ethylhexyl] benzene-1,2-dicarboxylate	43.59	0.35
MOL002926	dihydrooroxylin A	38.72	0.23	MOL001506	supraene	33.55	0.42
MOL002927	skullcapflavone II	69.51	0.44	MOL002879	diop	43.59	0.39
MOL002928	oroxylin A	41.37	0.23	MOL008206	moslosooflavone	44.09	0.25
MOL002932	panicolin	76.26	0.29	MOL010415	11,13-eicosadienoic acid, methyl ester	39.28	0.23
MOL002933	5,7,4'-trihydroxy-8-methoxyflavone	36.56	0.27	MOL012245	5,7,4'-trihydroxy-6-methoxyflavanone	36.63	0.27
MOL002934	neobaicalein	104.34	0.44	MOL012246	5,7,4'-trihydroxy-8-methoxyflavanone	74.24	0.26
				MOL012266	rivularin	37.94	0.37

2.2 葛根芩连汤化合物-靶点相互作用网络 “化合物-靶点”网络共有 398 个节点(129 个化合物节点及 269 个靶标节点)和 4 812 条边,其中红色节点表示化合物分子,蓝色节点代表药物靶点,每条边则表示化合物分子与靶点之间的相互作用关系(图 1),140 个化合物中有 11 个未参加网络构建。在网络中,一个节点的 Degree 表示网络中和节点相连的路线条数。根据网络的拓扑学性质筛选 Degree 较大的节点进行分析,这些链接化合物或靶点较多的节点在整个网络中起到重要的作用,可能是关键的化合物或靶点。表 2 列出了“化合物-靶点”网络中的关键节点及其拓扑学性质。网络拓扑学分析情况:网络集中度为 0.359,网络密度为 0.030,网络异质性为 1.578,最短路径为 158 006(100%)。节点平均 Degree 为 12.090 452 26,大于平均 Degree 的节点有 123 个;节点平均中介中心度为 0.004 831 1,大于平均中介中心度的节点有 55 个。根据网络节点的 Degree 和中介中心度等拓扑学性质筛选核心节点进行分析。这些连接化合物或靶点较多的节点在整个网络中起到关键的作用,可能是关键的化合物或者靶点。

2.3 葛根芩连汤 PPI 网络的构建与分析 为了更好地理解与分析葛根芩连汤治疗 2 型糖尿病的作用机制及原理,基于蛋白质与蛋白质相互作用的关系,利用 STRING 10.5 构建了葛根芩连汤靶标的 PPI 网络图(见图 2)。设置置信度 > 0.90,剔除孤立于网络之外的靶标蛋白,得到的 PPI 网络包含 170 个节

点,1 644 条边,平均 Degree 为 9.670 588 235,其中节点表示靶标蛋白,每条边表示靶标蛋白与蛋白之间的相互作用关系。根据节点的 Degree 绘制出大于平均 Degree 且 Degree 较高的 14 个关键蛋白质节点(见表 3)。Degree 排名前 5 位的是 c-Jun 氨基末端激酶(JUN),肿瘤蛋白 P53(TP53),FOS 蛋白(FOS),丝裂原活化蛋白激酶 1(MAPK1),转录因子 p65(RELA)。其中 JUN Degree(Degree = 53)高于其他蛋白节点,说明 JUN 在网络中发挥了关键的作用,成为沟通网络中其他靶标的关键节点。

2.4 KEGG 通路富集分析 通过 David v6.8 数据库对葛根芩连汤靶蛋白基因进行 KEGG 通路富集,共有 131 条通路富集结果,计算每条富集通路的 P 值(Bonferroni 法进行校正,P < 0.01 的情况被认定是富集显著),对 P 值排序后取前 10 名进行分析(见表 4)。此外,经富集分析发现丝裂原活化蛋白激酶信号通路(MAPK signaling pathway),P = 3.1 × 10⁻⁸,P < 0.001。以 -lg(P)为横坐标,富集通路为纵坐标绘制富集通路条形图。

3 讨论

近年对 2 型糖尿病研究说明 2 型糖尿病是一种自然免疫及炎症性疾病,是一种“慢性低度炎症状态”,认为炎症、免疫与 2 型糖尿病的发病存在关联^[13]。越来越多的证据发现炎症是诱发 2 型糖尿病疾病的关键因素^[14-15]。2 型糖尿病主要病理生理机制为胰岛 β 细胞功能受损造成的胰岛素分泌不足和胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)。这种“慢性

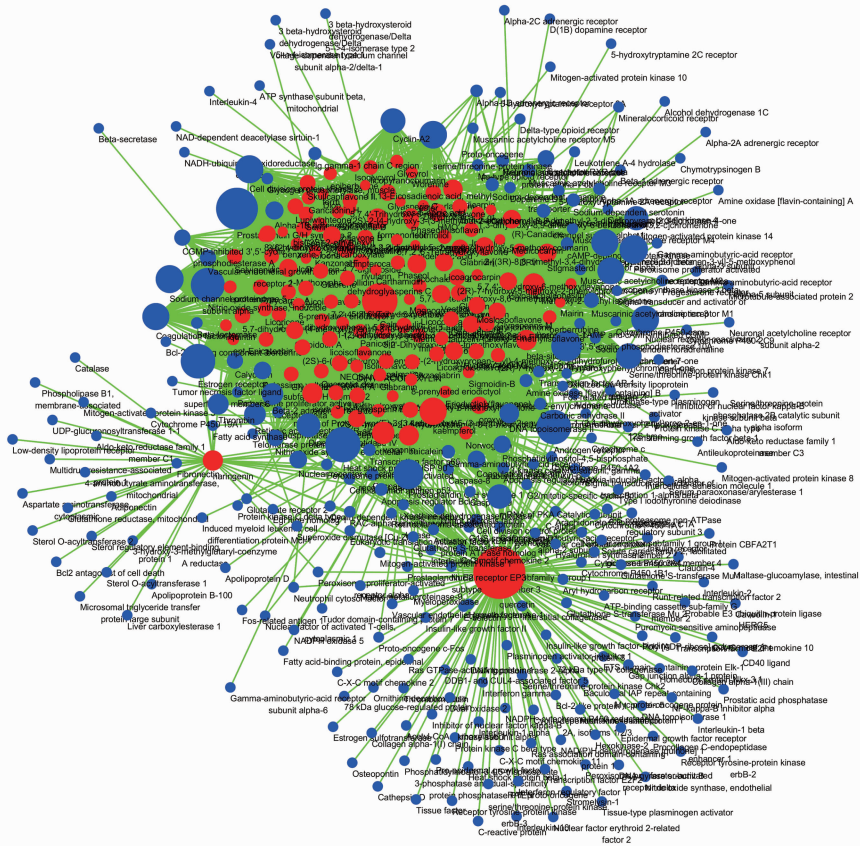


图 1 化合物-靶点网络
Fig.1 Compound-target network diagram

低度炎症状态”可能造成胰岛素分泌不足及胰岛素抵抗。从而产生一系列生理病理变化。中药复方葛根芩连汤在治疗 2 型糖尿病方面的疗效,在基础实验^[7]及临床实践^[8]中均得到一定程度的验证。本研究将利用系统药理学的科学分析方法,从化合物、通路及靶标等方面讨论葛根芩连汤治疗 2 型糖尿病的作用机制。

分析葛根芩连汤中的关键化合物及靶点。将葛根芩连汤的 140 个活性成分及其作用靶点导入 Cytoscape3. 2. 1 中构建化合物-靶标网络,结合网络拓扑学结果及文献资料分析,葛根芩连汤的关键化合物成分为槲皮素 (quercetin), 山柰酚 (kaempferol), β -谷甾醇 (beta-sitosteroll), 关键靶标是前列腺素 G/H 合成酶 2 (prostaglandin G/H synthase 2) 等。

槲皮素是黄酮类化合物——槲皮素,具有抗氧化、抗纤维化、抗炎抗病毒、维持血糖稳定、治疗糖尿病等药理作用^[16]。槲皮素是一种有效清除体内活性氧簇和活性氮簇物质的生物黄酮类化合物。将其用于减少因氧化应激而产生的细胞损伤,利于建立生物体与代谢过程中(尤其是炎症反应过程中)产

生的有毒活性代谢物之间的平衡关系^[17]。肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 是主要的促炎细胞因子之一,是炎症反应过程中重要的调节因子。研究表明,槲皮素因抑制核转录因子- κ B (NF- κ B) 的生物活性,而直接减少了组织中 NF- κ B 参与产生的相关细胞因子^[18]。槲皮素的抗炎机制可能与其能抑制由炎症因子脂多糖 (LPS) 所引起的中性粒细胞自发性凋亡延迟和降低中性粒细胞对炎症因子的敏感性有关^[19]。Uechi 等^[20]发现槲皮素可以抑制磷酸激酶 C (PKC) 的活性及转运功能,拮抗 Na^+ 内流,从而引起抑制组胺、前列腺素等炎症介质的释放,能够缓解炎症。由以上药理等研究成果可知,槲皮素具有明确的抗炎作用机制,具有对抗引起的 2 型糖尿病炎症病理因素的潜在药理作用。

山柰酚是一种黄酮类化合物,又称山柰酚-3,山柰素,山柰黄酮醇,百蕊草素 III,具有抗氧化、抗炎、抗癌,防治糖尿病,以及保护神经、肝脏和心肌,抑制蛋白激酶等作用^[21]。通过建立体外细胞炎症模型实验研究^[22],发现山柰酚对肥大细胞炎症反应具有显著的抑制效应,它能够抑制 IKK β 的活化,抑制 I κ B α 的磷酸化,阻止 NF- κ Bp65 进入细胞核内,进

表 2 化合物-靶点网络关键节点及其拓扑学特征

Table 2 Key node of compound-target network and its topological feature table

节点名称	节点类型	Degree	BC	节点名称	节点类型	Degree	BC
quercetin	化合物	154	0.436 071 69	thrombin	靶点	39	0.010 045 93
prostaglandin G/H synthase 2	靶点	116	0.097 184 11	formononetin	化合物	39	0.038 123 10
calmodulin	靶点	93	0.027 422 84	beta-sitosterol	化合物	38	0.040 078 29
heat shock protein HSP 90	靶点	92	0.064 748 84	naringenin	化合物	37	0.101 453 99
estrogen receptor	靶点	89	0.026 359 65	isorhamnetin	化合物	37	0.026 052 88
androgen receptor	靶点	89	0.037 986 03	baicalein	化合物	37	0.059 793 80
nitric oxide synthase, inducible	靶点	87	0.018 041 39	DNA topoisomerase II	靶点	35	0.011 700 06
trypsin-1	靶点	75	0.028 135 85	medicarpin	化合物	34	0.016 868 27
prostaglandin G/H synthase 1	靶点	72	0.052 200 61	licochalcone a	化合物	32	0.021 423 02
sodium channel protein type 5 subunit alpha	靶点	65	0.032 052 72	stigmaterol	化合物	31	0.037 518 86
cell division protein kinase 2	靶点	65	0.007 207 56	(R)-canadine	化合物	31	0.027 061 88
proto-oncogene serine/threonine-protein kinase pim-1	靶点	64	0.005 885 64	vestitol	化合物	30	0.006 127 30
nuclear receptor coactivator 2	靶点	64	0.050 106 99	shinpterocarpin	化合物	30	0.009 010 48
kaempferol	化合物	63	0.085 036 19	licoagrocarpin	化合物	29	0.005 004 15
estrogen receptor beta	靶点	62	0.005 741 7	potassium voltage-gated channel subfamily H member 2	靶点	27	0.007 576 20
coagulation factor Xa	靶点	62	0.017 467 27	glypallichalcone	化合物	27	0.005 050 63
glycogen synthase kinase-3 beta	靶点	61	0.005 854 47	coagulation factor V II	靶点	27	0.006 073 32
serine/threonine-protein kinase Chk1	靶点	56	0.005 406 64	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit, gamma isoform	靶点	26	0.016 777 67
mRNA of PKA catalytic subunit c-alpha	靶点	52	0.040 178 47	oroxylin A	化合物	26	0.016 048 71
dipeptidyl peptidase IV	靶点	50	0.018 351 71	acacetin	化合物	26	0.016 032 81
wogonin	化合物	45	0.046 213 11	acetylcholinesterase	靶点	24	0.006 725 78
7-methoxy-2-methyl isoflavone	化合物	43	0.018 850 80	nitric-oxide synthase, endothelial	靶点	23	0.005 974 58
retinoic acid receptor RXR-alpha	靶点	42	0.014 695 42	skullcapflavone II	化合物	21	0.006 941 65
beta-2 adrenergic receptor	靶点	42	0.018 547 77				

而影响相关炎症介质,如细胞因子白细胞介素-6(IL-6),白细胞介素-8(IL-8),白细胞介素-1 β (IL-1 β)和 TNF- α 的释放。同样利用 LPS 诱导 RAW264.7 细胞炎症进行动物实验^[23],发现山萘酚可以抑制 2 个诱导酶环氧化酶 2(COX-2)和一氧化氮合酶(iNOS)的表达,从而减少炎性产物前列腺素 E₂(PGE₂)和一氧化氮(NO)的生成。PGE₂ 是一种强有力的炎症介质,介导炎症反应中疼痛和发热的产生;NO 还可使血管扩张,通透性增加,导致黏膜充血、水肿,有助于炎症的始动与发展。

β -谷甾醇存在于多种植物的细胞膜中,具有广泛的药理活性,主要有抗菌、抗炎、抗氧化、免疫调节、抗高血脂、抗动脉硬化、抗溃疡、镇痛、抑制血小

板聚等作用^[24]。使用阿司匹林介导的 SD 大鼠胃黏膜损伤模型进行试验研究,发现 β -谷甾醇能降低阿司匹林介导的胃黏膜损伤,其作用机制可能与增强机体氧自由基清除能力,抑制 TNF- α 炎性因子的聚集与释放有关。此研究证实了 β -谷甾醇的抗炎作用^[25]。亦有实验表明 β -谷甾醇对 LPS 所致的小鼠急性肺损伤具有较强的保护作用,其保护机制可能与阻止炎症因子(TNF- α , IL-6)的释放和下调 NF- κ B 信号转导通路的活化有关^[26]。这两个实验均验证了 β -谷甾醇的抗炎活性。

前列腺素 G/H 合成酶 2 是细胞炎症反应的关键因素之一^[27]。中性粒细胞调节炎症的机制之一是增加前列腺素 G/H 合成酶 2 的分泌^[28]。前列腺

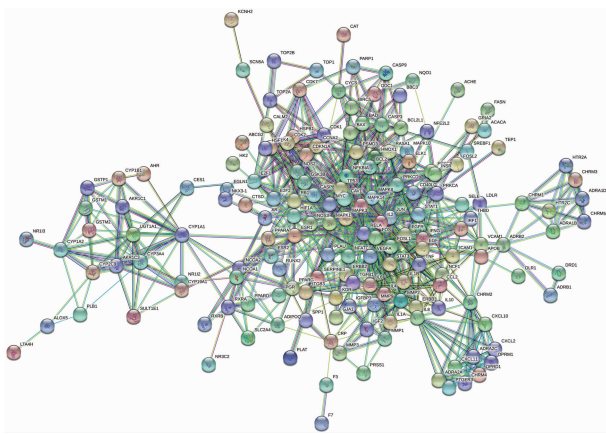


图 2 葛根芩连汤靶蛋白 PPI 网络

Fig. 2 PPI network diagram of target protein of Gegen Qinlian Tang

表 3 各蛋白质的 Degree

Table 3 Degree of each protein

蛋白质名称	Degree	蛋白质名称	Degree
JUN	53	IL-8	27
TP53	36	MAPK4	27
FOS	35	MAPK8	25
MAPK1	34	IL-6	24
RELA	31	TNF	23
MYC	29	EGFR	21
MAPK3	28	IL-2	21

表 4 KEGG 通路富集表 (Top 10)

Table 4 KEGG pathway enrichment table (Top 10)

类别	通路名称	计数	P
KEGG_PATHWAY	hepatitis B	40	3.0×10^{-26}
KEGG_PATHWAY	pathways in cancer	58	1.7×10^{-23}
KEGG_PATHWAY	pancreatic cancer	25	4.5×10^{-20}
KEGG_PATHWAY	prostate cancer	26	1.0×10^{-17}
KEGG_PATHWAY	bladder cancer	19	6.2×10^{-17}
KEGG_PATHWAY	TNF signaling pathway	27	1.2×10^{-16}
KEGG_PATHWAY	toxoplasmosis	28	2.0×10^{-16}
KEGG_PATHWAY	chagas disease (American trypanosomiasis)	26	9.1×10^{-16}
KEGG_PATHWAY	colorectal cancer	21	1.5×10^{-15}
KEGG_PATHWAY	hepatitis C	27	4.7×10^{-14}
KEGG_PATHWAY	MAPK signaling pathway	28	3.1×10^{-8}

素 G/H 合成酶 2 又称 COX-2, 是诱导性酶, 在大多细胞中不表达或少量表达。当细胞受到促癌剂、促炎细胞因子等刺激时, COX-2 表达上调, 并参与炎症的发生和发展^[29]。许多实验研究表明, 下调 COX-2

可以减轻炎症反应^[30-31]。苗新普等^[32]通过检测活动期溃疡性结肠炎内镜活检标本和正常对照石蜡包埋组织情况的实验研究, 推断 COX-2 可能通过作用于 PPAR γ -NF- κ B p65 信号传导通路, 而影响溃疡性结肠炎的炎症发生发展。吴海璇等^[33]通过大鼠实验证实了蛇床子素可通过抑制 ERK 信号通路的激活下调 COX-2 的表达而缓解炎症, 发挥抗炎作用。

由以上分析可知, 葛根芩连汤的关键成分与关键靶标与抗炎机有很强的关联性, 如 kaempferol 可以通过抑制 IKK β 的活化, 降低细胞因子 IL-6, IL-8, IL-1 β 和 TNF- α 等炎症物质的释放; 抑制诱导酶 COX-2 和 iNOS 的表达, 减少炎症产物 PGE₂ 和 NO 的生成。 β -谷甾醇和槲皮素具有抗菌消炎活性。前列腺素 G/H 合成酶 2 是炎症反应中的关键因素。槲皮素^[34], 山柰酚^[35], β -谷甾醇等化学成分在抗炎机制的研究基本明确了其抗炎的显著疗效, 具有对抗引起的 2 型糖尿病炎症病理因素的潜在药理作用。因此推测葛根芩连汤通过这些关键成分和靶标起到抗炎的药理作用, 减弱慢性低度的炎症作用, 从而起到治疗 2 型糖尿病的作用。

分析探讨葛根芩连汤中关键的信号通路。为了进一步探究葛根芩连汤作用靶点在信号通路层面的作用机制, 本研究利用 David 数据分析软件进行 KEGG 通路富集, 并对葛根芩连汤靶标基因进行分析。KEGG 富集最显著的 10 调通路分别是 hepatitis B, pathways in cancer, pancreatic cancer, prostate cancer, bladder cancer, TNF signaling pathway, toxoplasmosis, chagas disease (American trypanosomiasis), colorectal cancer, hepatitis C。除此之外, 富集结果中, MAPK signaling pathway 的富集 P 值为 3.1×10^{-8} , $P < 0.001$, 因此笔者认为此通路在葛根芩连汤发挥其药理作用上同样发挥了重要的作用。富集结果表明, 葛根芩连汤可能正是通过上述信号通路发挥治疗作用的。其中, TNF signaling pathway 与 MAPK signaling pathway 与 2 型糖尿病的发病机理联系最为密切。

TNF signaling pathway 经 TNF 与 TNFR1 结合而激活, 激活的 TNF 信号通路可导致 NF- κ B 核易位和 JNK, p38, AP-1 活化, 促使促炎性细胞因子、趋化因子、生长因子和 TNF- α 本身等基因的表达^[36]。笔者在利用 STRING10.5 数据分析软件进行 PPI 分析时也发现, TNF, IL-6 等靶蛋白的 Degree 比较高。因此, 笔者推测葛根芩连汤上的化合物通过 TNF signaling pathway 作用于 TNF 等靶蛋白上, 从而改善

2 型糖尿病发病的炎症反应,从而起到抗炎等治疗作用。

MAPK 通路主要有 4 条途径,分别为 p38 MAPK,细胞外信号调节激酶(ERKs),C-jun 氨基末端激酶/应激激活的蛋白激酶(JNK/SAPK)及 ERK5/BMK,其中 p38 MAPK 信号通路是 MAPK 家族中最重要的组成。p38 MAPK 信号通路可以在炎症因子、应激等细胞外刺激时被激活,调控炎症反应、凋亡、细胞分化等多种生理过程^[37]。Park 等^[38]研究表明 p38 MAPK 对于介导中性粒细胞和内皮细胞的炎症信号是不可缺少的,再次表明炎症反应中 TNF- α 的产生与 p38 MAPK 激活密切相关。C-Jun 氨基末端激酶(JNK)通路 JNK 属于 MAPK 信号转导通路中的一个途径。TNF- α , IL-1 β 均可激活 JNK,通过磷酸化 IRS 上的第 307 位丝氨酸,干扰邻近的磷酸化结合位点,阻碍正常的酪氨酸磷酸化而导致 IR^[39]。有研究表明^[40],糖尿病及其并发症的发生与转归与 MAPK 通路关系密切,化合物通过上调或下调相关炎症因子入 p38 MAPK 等,抑制炎症信号通路活性,起到抗炎作用。其也提示葛根芩连汤可能是通过 MAPK 通路,抑制糖尿病的慢性低炎症状态,从而起到治疗 2 型糖尿病的作用。

基于蛋白质与蛋白质相互作用的关系,利用 STRING 10.5 构建葛根芩连汤靶标的 PPI 网络图。根据 PPI 网络特征,靶标蛋白 Degree 越高,其在整个生物学中的意义就越为关键。本研究对靶标蛋白的 Degree 进行排序后发现排名较前的蛋白之间联系紧密,结合 STRING 的 Analysis 功能并查阅文献后发现,这些 Degree 较高的蛋白在一些炎症通路的通路中富集程度较高。结果中 Degree 排名较高的有 JUN (Degree = 53), FOS (Degree = 35), MAPK1 (Degree = 34), MAPK3 (Degree = 28), IL-8 (Degree = 27), MAPK14 (Degree = 27), MAPK8 (Degree = 25), IL-6 (Degree = 24), TNF (Degree = 23), IL-2 (Degree = 21) 均涉及炎症发生机制。

已知糖尿病是一种慢性低度炎症性疾病,患病过程会有持续的低度炎症反应^[41]。这些靶标显著富集的 TNF signaling pathway, MAPK signaling pathway 等与糖尿病及其并发症的发生机制紧密相关,其中与炎症的联系也尤其突出。Degree 排序位于前 3 的 JUN, FOS 编码的蛋白产物 c-Jun 及 c-Fos 组成转录因子 AP-1。与 AP-1 结合的 DNA 序列,主要包含纤维连接蛋白及纤溶酶原激活物抑制物(PAI)-1,层粘连蛋白 B,转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)

等基因的启动子。近年相关研究主要关于 AP-1 对糖尿病肾病作用,研究发现^[42]抑制 c-Jun, c-Fos 的基因表达,下调 AP-1 水平,可有效改善糖尿病大鼠肾皮质功能损伤。TNF 是一种极为重要的促炎性因子, TNF 激活后与受体 TNFR1, TNFR2 结合后形成 TNFR1 或 TNFR2 三聚体。TNFR1 几乎在所有细胞中表达,可通过激活 NF- κ B 通路和 MAPK 信号通路两个途径诱导多种基因的活化,最终引起细胞凋亡、细胞趋附、白细胞募集、血管反应、产生炎症因子等结果,本研究预测的关键靶标蛋白在 TNF 相关通路中均有参与。研究表明^[43-44] TNF- α 水平同糖脂代谢异常, IR 的逐步加重有关。同时,通过抑制 TNF- α 的蛋白表达水平,可降低内皮细胞受损与增生,改善糖尿病血管损伤^[45-46]。参与 MAPK 级联通路的还有 MAPK1, 3, 8, 14 等 MAPK 家族。目前实验^[47]明确表明 2 型糖尿病中发生的胰岛素抵抗、高血糖和(或)高游离脂肪酸水平以及炎症细胞因子等均能够激活 MAPK 信号通路。其中与糖尿病相关研究最多的是 p38 MAPK 通路。有研究报道, p38 MAPK 通路在糖尿病发病过程中影响糖代谢,通路的过度激活可诱导胰岛 β 细胞凋亡^[48-49]。此外,大鼠模型^[50]以及 2 型糖尿病患者临床研究^[51]均显示, p38 MAPK 可通过影响外周胰岛素抵抗,参与糖尿病的发病过程。此外, IL-2, IL-6, IL-8 等细胞因子也是糖尿病发病机制的研究热点。胰岛素抵抗是 2 型糖尿病的发病机制之一,呈现低度系统性炎症状态, IR 的发生往往伴随炎症因子水平的升高^[52]其中 IL-6 可通过激活信号传感器和转录活化剂 3 (STAT), 同时促进靶基因细胞因子抑制物的复制,从而引起 IR^[53]。其作用机制较为明确,已有靶向药物 GW501516 在临床应用。根据 PPI 网络预测结果可知,在网络中起桥梁作用的关键靶标蛋白多为细胞因子,其中 TNF, IL-6 以及 p38 MAPK 家族蛋白相关糖尿病研究较多,机制较为明确,提示参与调节糖尿病机制很可能通过 TNF signaling pathway, MAPK signaling pathway 等炎症相关通路实现,因此可预测这些靶标可能是葛根芩连汤治疗糖尿病的关键靶标蛋白。

在 2 型糖尿病的发生发展中,炎症因子可能具有重要作用。炎症因子与脂肪内分泌、氧化应激、免疫系统相互作用引起胰岛素抵抗和 β 细胞结构与功能的障碍,且炎症导致 IR 的分子机制是近年的研究热点^[54]。炎症学说的提出为糖尿病的发病机制和开发预防糖尿病新药提供了又一个新的研究方

向^[55]。李颖萌等^[56]人综述众多动物实验及临床试验表明,葛根芩连汤是通过调整糖、脂代谢及抗炎作用以抑制胰岛素抵抗,从而起到治疗 2 型糖尿病的临床疗效。在临床试验中,金莉等^[8]人对 120 名糖尿病患者单纯使用葛根芩连汤,有效率达 91%,疗效显著。本研究利用系统药理学的分析方法,从化合物、信号通路及作用靶点等方面进行探讨及分析,初步验证了葛根芩连汤治疗 2 型糖尿病的作用机制,葛根芩连汤可能是其有效化合物成分槲皮素,山柰酚, β -谷甾醇等通过 TNF signaling pathway, MAPK signaling pathway 等信号通路,作用于前列腺素 G/H 合成酶 2, JUN, FOS, IL 等靶标,从而起到调控炎症因子,降低或减缓引起 2 型糖尿病的炎症反应,从而起到治疗 2 型糖尿病的临床作用。葛根芩连汤治疗 2 型糖尿病具有较强的科学性,为治疗 2 型糖尿病的新药开发提供新的靶点、通路及化合物研究方向。

[参考文献]

[1] 李赛美,李宇航. 伤寒论讲义[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2016:76.

[2] 赵林华,姬航宇,冀博文,等. 葛根芩连汤治疗糖尿病理论探讨[J]. 中华中医药杂志,2012,27(2):280-283.

[3] 倪伟. 内科学[M]. 9 版. 北京:中国中医药出版社,2012:330.

[4] 陈丽红,唐于平,王强. 葛根芩连汤的现代研究进展[J]. 中草药,2010,41(4):676-680.

[5] 潘竞镛,韩超,刘惠纯,等. 葛根芩连汤降血糖作用的实验研究[J]. 中国新药杂志,2000,9(3):167-170.

[6] 李佳川,顾健,谭睿. 葛根芩连汤有效组分“止消渴”药效作用研究[J]. 中药材,2012,35(7):1132-1135.

[7] 武志黔,郝改梅,何洁,等. 葛根芩连汤对 2 型糖尿病大鼠表征的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(11):106-110.

[8] 金莉,安文灿,安文铎. 葛根芩连汤治疗糖尿病 120 例[J]. 长春中医药大学学报,2012,28(2):315.

[9] 张颖,蔡春沉. 葛根芩连汤饮片治疗 2 型糖尿病的疗效观察[J]. 辽宁中医杂志,2016,43(4):783-785.

[10] 周文霞,程肖蕊,张永祥. 网络药理学:认识药物及发现药物的新理念[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2012,26(1):4-9.

[11] 刘志华,孙晓波. 网络药理学:中医药现代化的新机遇[J]. 药学报,2012,47(6):696-703.

[12] 刘艾林,杜冠华. 化合物类药性预测方法的研究[J]. 中国药学杂志,2003,51(9):6-10.

[13] Hotamisligil G S. Inflammation and metabolic disorders [J]. Nature, 2006, 444 (7121):860-867.

[14] Eiro N, Vizoso F J. Inflammation and cancer[J]. World J Gastrointest Surg, 2012, 4(3):62-72.

[15] Wyss-Coray T, Rogers J. Inflammation in Alzheimer disease—a brief review of the basic science and clinical literature[J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2012, 2(1):6346.

[16] 张志琴,朱双雪. 槲皮素的药理活性与临床应用研究进展[J]. 药学研究, 2013, 32(7):400-403.

[17] 舒毅,谭陶,张思宇,等. 槲皮素的药理学研究进展[J]. 华西药学杂志, 2008, 23(6):689-691.

[18] Nair M P, Mahajan S, Reynolds J L, et al. The flavonoid quercetin inhibits proinflammatory cytokine (tumor necrosis factor alpha) gene expression in normal peripheral blood mononuclear cells via modulation of the NF-kappa beta system [J]. Clin Vaccine Immunol, 2006, 13(3):319-328.

[19] 刘佳佳,羊建,邹于川,等. 中性粒细胞自发性凋亡及槲皮素对其影响的研究[J]. 医学研究杂志, 2007, 36(1):66.

[20] Uechi M, Harada K, Mizukoshi T, et al. Surgical closure of an atrial septal defect using cardiopulmonary bypass in a cat[J]. Vet Surg, 2011, 40(4):413-417.

[21] 张雅雯,邵东燕,师俊玲,等. 山柰酚生物功能研究进展[J]. 生命科学, 2017, 29(4):400-405.

[22] 周运江,王虎,李丽,等. 山柰酚对脂多糖诱导的肥大细胞炎症反应的抑制作用[J]. 药学报, 2015, 50(6):702-707.

[23] 陈美璐,金宏伟,陈振胜,等. 山柰酚对脂多糖诱导 RAW264.7 细胞中 COX-2 和 iNOS 表达及产物生成的影响[J]. 沈阳药科大学学报, 2013, 30(12):982-985 + 990.

[24] 肖志彬,贾韩学,刘小雷. β -谷甾醇药理活性的研究现状[J]. 世界最新医学信息文摘, 2015, 15(8):66-68.

[25] 肖志彬,刘小雷,成日青,等. β -谷甾醇对阿司匹林致胃黏膜损伤副作用及其药理作用的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(1):148-152.

[26] 姚凤,周清燕,熊瑛,等. β -谷甾醇对脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤的保护作用研究[J]. 中国农学通报, 2015, 31(2):55-61.

[27] Cox D G, Crusius J B, Peeters P H, et al. Haplotype of prostaglandin synthase 2/cyclooxygenase 2 is involved in the susceptibility to inflammatory bowel disease [J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(38):6003-6008.

[28] Fasano M B, Wells J D, Mccall C E. Human neutrophils express the prostaglandin G/H synthase 2 gene when stimulated with bacterial lipopolysaccharide [J]. Clin Immunol Immunopathol, 1998, 87(3):304-308.

[29] 刘智豪,刘叔文,余乐. COX-2 抑制剂联合抗肿瘤的研究进展[J]. 中国药理学通报, 2012, 28(12):

- 1651-1654.
- [30] 黄小华,孙永,沈能,等. 双亲姜黄素衍生物减轻大鼠肝纤维化与抗炎抗氧化作用的研究[J]. 中国药理学通报,2015,31(4):470-475.
- [31] 王斌,曹慧,沈甜,等. 麝香、冰片对大鼠脑缺血-再灌注急性期和恢复早期炎症损伤的保护作用及机制研究[J]. 中药材,2015,38(10):2139-2143.
- [32] 苗新普,欧阳钦,韦红. COX-2、PPAR γ 和 NF- κ B p65 在溃疡性结肠炎组织中的表达及意义[J]. 世界华人消化杂志,2010,18(25):2660-2665.
- [33] 吴海璇,冯璐璐,徐辉,等. 蛇床子素对髓核致神经根炎症性痛大鼠 ERK/MAPK 信号通路及 COX-2 mRNA 表达的影响[J]. 中国药理学通报,2014,30(8):1096-1101.
- [34] 黄敬群,孙文娟,王四旺,等. 槲皮素对大鼠痛风性关节炎抗炎抗氧化活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(2):169-173.
- [35] 张雅雯,邵东燕,师俊玲,等. 山奈酚生物功能研究进展[J]. 生命科学,2017,29(4):400-405.
- [36] Varfolomeev E, Goncharov T, Maecker H, et al. Cellular inhibitors of apoptosis are global regulators of NF-kappaB and MAPK activation by members of the TNF family of receptors[J]. Sci Signal,2012,5(216):a22.
- [37] Singh D K, Winocour P, Farrington K. Oxidative stress in early diabetic nephropathy: fueling the fire[J]. Nat Rev Endocrinol,2011,7(3):176-184.
- [38] Park E J, Park S W, Kim H J, et al. Dehydrocostuslactone inhibits LPS-induced inflammation by p38 MAPK-dependent induction of hemoxygenase-1 *in vitro* and improves survival of mice in CLP-induced sepsis *in vivo* [J]. Int Immunopharmacol,2014,22(2):332-340.
- [39] Osullivan L A, Liongue C, Lewis R S, et al. Cytokine receptor signaling through the Jak-Stat-Socs pathway in disease[J]. Mol Imm,2007,44(10):2497-2506.
- [40] 黄燕如,万毅刚,孙伟,等. 雷公藤多苷调节肾组织 p38MAPK 信号通路改善糖尿病肾病肾小球炎症性损伤的作用和机制[J]. 中国中药杂志,2014,39(21):4102-4109.
- [41] 颜薇,陈秋. 2 型糖尿病/胰岛素抵抗炎症机制的浅析[J]. 时珍国医国药,2012,23(9):2299-2300.
- [42] 周凤娇,张丽坤,苏彦君,等. 青蒿素对糖尿病大鼠肾组织 c-jun 及 c-fos 基因表达上调的抑制作用[J]. 现代中西医结合杂志,2014,23(21):2294-2295+2298.
- [43] 徐海波,闫晓光,钟威. 新诊断 2 型糖尿病患者血清 Nesfatin-1、肿瘤坏死因子- α 水平与胰岛素抵抗的相关性研究[J]. 中国糖尿病杂志,2017,25(1):45-48.
- [44] Mauer J, Denson J L, Bruning J C. Versatile functions for IL-6 in metabolism and cancer[J]. Trends Immunol, 2015,36(2):92-101.
- [45] 杨丽,常笑语,石搏,等. 葛根素对糖尿病大鼠视网膜中 IGF-1 和 TNF- α 表达的影响[J]. 中国实验诊断学,2016,20(5):697-699.
- [46] 刘敏,向光大,卢俊颜,等. 肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体对 2 型糖尿病大鼠内皮依赖性血管舒张功能的影响[J]. 中国糖尿病杂志,2014,22(6):560-564.
- [47] Hemi R, Yochananov Y, Barhod E, et al. p38 Mitogen-activated protein kinase-dependent transactivation of ErbB receptor family: a novel common mechanism for stress-induced IRS-1 serine phosphorylation and insulin resistance[J]. Diabetes, 2011, 60(4):1134-1145.
- [48] SONG H, Wohltmann M, TAN M, et al. Group VIA PLA2 (iPLA2 β) is activated upstream of p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) in pancreatic islet β -cell signaling [J]. J Biol Chem, 2012, 287(8):5528-5541.
- [49] LIU Z, CAO W. p38 mitogen-activated protein kinase: a critical node linking insulin resistance and cardiovascular diseases in type 2 diabetes mellitus[J]. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, 2009, 9(1):38-46.
- [50] Kawasaki S, Motoshima H, Hanatani S, et al. Regulation of TNF- α converting enzyme activity in visceral adipose tissue of obese mice [J]. Biochem Biophys Res Commun,2013,430(4):1189-1194.
- [51] Brown A E, Palsgaard J, Borup R, et al. p38 MAPK activation upregulates proinflammatory pathways in skeletal muscle cells from insulin-resistant type 2 diabetic patients[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2014,308(1):E63-E70.
- [52] Andreasson A N, Szulkin R, Undén A L, et al. Inflammation and positive affect are associated with subjective health in women of the general population [J]. J Health Psychol,2013,18(3):311-320.
- [53] Kirilmaz B, Asgun F, Alioglu E, et al. High inflammatory activity related to the number of metabolic syndrome components[J]. J Clin Hypertens (Greenwich), 2010, 12(2):136-144.
- [54] 颜薇,陈秋. 2 型糖尿病/胰岛素抵抗炎症机制的浅析[J]. 时珍国医国药,2012,23(9):2299-2300.
- [55] 李秀钧,鄒云红. 糖尿病是一种炎症性疾病? [J]. 中华内分泌代谢杂志,2003,19(4):5-7.
- [56] 李颖萌,范雪梅,王义明,等. 葛根苓连汤治疗 2 型糖尿病的研究进展[J]. 江西中医药,2013,44(11):75-77.

[责任编辑 周冰冰]