

基于 p38MAPK 通路探讨丹蛭降糖胶囊 对 2 型糖尿病模型大鼠血管病变的影响

杨晓春¹, 鲍陶陶^{2*}, 储全根¹

(1. 安徽中医药大学, 合肥 230038; 2. 安徽中医药大学第一附属医院, 合肥 230038)

[摘要] 目的: 基于 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)信号通路观察丹蛭降糖胶囊对实验性 2 型糖尿病(T2DM)模型大鼠血管内皮功能受损的影响。方法: 采用高脂高糖饮食及腹腔注射链脲佐菌素(STZ)建立 T2DM 大鼠模型, 将 104 只大鼠随机分成正常组, 模型组, 丹蛭降糖胶囊高、中、低剂量(1.08, 0.72, 0.54 g·kg⁻¹·d⁻¹)组, 吡格列酮(10 mg·kg⁻¹·d⁻¹)组, 丹蛭-吡格列酮(1.08 + 0.01 g·kg⁻¹·d⁻¹)组。造模成功后分别按相应剂量 ig 药物, 每日 1 次。给药 8 周后, 所有大鼠麻醉后腹主动脉采集血液样本和处死剪取腹主动脉进行相关检测, 分析其作用机制。结果: 治疗 8 周后, 与正常组相比, 模型组磷酸化 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p-p38MAPK), MAPK 激酶 3/6 (MKK3/6), 核转录因子 cAMP 反应元件结合蛋白 1 (CREB1), 环氧化酶-2 (COX-2), 细胞间黏附分子 (ICAM-1) 蛋白表达水平均有上调, 丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶-1 (MKP-1) 蛋白表达水平下调; 与模型组相比, 给药组大鼠 p-p38MAPK, MKK3/6, CREB1, COX-2, ICAM-1 蛋白表达水平均有下调, MKP-1 蛋白表达水平明显上调 ($P < 0.05, P < 0.01$)。腹主动脉免疫组化示, 给药组 p38MAPK 蛋白表达量与模型组相比明显降低。结论: 丹蛭降糖胶囊能调节 T2DM 模型大鼠血管 p38MAPK 蛋白表达水平, 并可能从而改善大鼠血管内皮功能受损。

[关键词] p38 丝裂原活化蛋白激酶; 信号通路; 糖尿病血管病变; 丹蛭降糖胶囊; 免疫组化;

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)03-0116-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016030116

Effect of Danzhi Jiangtang Capsule on Vasculopathy of Type 2 Diabetes Mellitus Rat Models Based on p38MAPK Pathway

YANG Xiao-chun¹, BAO Tao-tao^{2*}, CHU Quan-gen¹

(1. Anhui University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Hefei 230038, China;

2. The First Affiliated Hospital of Anhui University of TCM, Hefei 230038, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effects of Danzhi Jiangtang capsules on impaired endothelial function in rats models with type 2 diabetes mellitus (T2DM) based on p38 mitogen-activated protein kinase (p38MAPK) signal pathways. **Method:** High fat and high glucose diet and intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) were used to establish T2DM rat models. One hundred and four rats were randomly divided into 7 groups: normal group, model group, Danzhi Jiangtang capsule high, medium, low dose groups (1.08, 0.72, 0.54 g·kg⁻¹·d⁻¹), pioglitazone group (10 mg·kg⁻¹·d⁻¹), integrated Danzhi and pioglitazone group (1.08 g·kg⁻¹·d⁻¹ + 10 mg·kg⁻¹·d⁻¹). After successful modeling, the diabetic model rats were respectively ig given with corresponding dose of medicines, once a day. After 8 weeks of treatment, blood samples and abdominal aorta were collected to do correlation detection after rats anesthesia, and their mechanism of action was analyzed. **Result:** After 8 weeks of treatment, compared with the normal group, p-p38 mitogen activated protein kinase (p-p38MAPK), mitogen activated protein kinase kinase3/6 (MKK3/6), cAMP response element-binding protein

[收稿日期] 20150520(015)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81102591)

[第一作者] 杨晓春, 在读硕士, 从事中医临床基础研究, E-mail: 429680978@qq.com

[通讯作者] * 鲍陶陶, 主治医师, 从事中医内分泌研究, Tel: 0551-62850092, E-mail: 350270608@qq.com

(CREB1), cyclooxygenase2 (COX-2), and intercellular cell adhesion molecule-1 (ICAM-1) protein expression levels were increased in model group; mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 (MKP-1) protein expression level was reduced in the model group. Compared with the model group, p-p38MAPK, MEK3/6, CREB1, COX-2, and ICAM-1 protein expression levels were reduced, and MKP-1 protein expression levels were increased in treatment groups ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The abdominal aorta immunohistochemistry showed that compared with the model group, the expression level of p38MAPK was significantly decreased in the treatment groups.

Conclusion: Danzhi Jiangtang capsule can regulate the expression level of vascular p38MAPK protein in T2DM rat models and may thus improve the impaired endothelial function in rats.

[Key words] p38 mitogen-activated protein kinase; signal pathway; diabetic vascular disease; Danzhi Jiangtang capsule; immunohistochemistry

糖尿病血管病变的主要因素包括高糖, 活性氧, 脂质过氧化物, 炎症细胞因子, 糖基化终产物及氧化应激等多种刺激因素造成血管内皮功能障碍^[1], 研究表明 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 mitogen activated protein kinase, p38MAPK) 信号通路在糖尿病模型大鼠内皮细胞的增生、生长、分化中起重要作用, 是细胞信息传递的交汇点^[2]; 被激活后可引起血管平滑肌细胞分化、肥大、内皮细胞功能紊乱等, 在糖尿病血管重构中发挥致炎和致纤维化作用, 从而加速血管病变的形成^[3-4], 阻断 p38MAPK 信号通路可能是预防和治疗糖尿病血管并发症的新作用靶点^[5]。益气活血法是中医治疗血管病变的重要治则之一, 但其基于 p38MAPK 信号通路对血管内皮功能受损这一糖尿病重要的并发症的影响及作用机制尚未明了, 本研究拟用链脲佐菌素 (STZ) 造成的 2 型糖尿病 (T2DM) 模型大鼠研究益气活血法对 p38MAPK 通路的干预作用, 并探讨改善血管内皮损伤的作用及机制。

1 材料

1.1 动物 6~8 周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠 104 只, 体重 (200 ± 20) g, 由常州卡文斯实验有限公司提供, 合格证号 SCXK(苏)2011-0003。购入后每笼 6~7 只喂养, 动物自由觅食饮水, 在室温 25℃, 湿度 (50 ± 5)% 环境下喂养 1 周后开始实验。

1.2 药物 丹蛭降糖胶囊 (安徽中医药大学第一附属医院院内制剂, 专利号 ZL200310112845.1, 0.35 g/粒) 由牡丹皮、地黄、泽泻、太子参、菟丝子等药物组成, 采用直接水蒸馏法提取牡丹皮酚成分, 再将其药渣与其他药味混合, 三因素三水平正交实验设计方法, 加 10 倍量水提取 3 次, 每次 1.5 h, 以出膏率, 多糖, 芍药苷含量为质控指标; 盐酸吡格列酮胶囊 (杭州中美华东, 国药准字 H20050500)。

1.3 试剂 STZ (Sigma 公司, 批号 S0130), RIPA 细

胞裂解液 (碧云天生物技术研究所, 批号 P0013B), SDS (Sigma 公司, 批号 20130105487), PVDF 膜 (Millipor 公司, 批号 20130707054), 预染蛋白 Marker (Thermo 公司, 批号 124777), 定影液 (天津市汉中摄影材料厂), 显影液 (扬州贾桥照相用品厂), P38MAPK (批号 BS1681), CAMP 反应元件结合蛋白 (CREB1, 批号 B51624), 环氧合酶-2 (COX-2) 兔多克隆一抗 (Bioworld 公司, 批号 BS1076); 丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶-1 (MKP-1) 和细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 兔多克隆一抗 (Bioss 公司, 批号分别为 BS-1851R, BS-4617R), MAKPK 激酶 3/6 (MKK3/6) 小鼠单克隆一抗 (Stan Cruz 公司, 批号 sc133230); 小鼠 β -actin 单克隆抗体 (批号 140829), 山羊抗小鼠 IgG (批号 107727), 山羊抗兔 IgG (批号 107015), 琼脂糖凝胶 (批号 111860), DAB 显色剂 (批号 K135260H), PBS (批号 ZLI-9062), 枸橼酸缓冲液 (批号 ZLI-9065), 通用型二抗试剂盒 (批号 K134525F), 均为北京中杉公司; p38MAPK (Bioworlde 公司, 批号 H3325), PAS 糖原染色试剂盒 (福州迈新, 批号 1408263), 电化学发光 (ECL) 超敏发光试剂盒 (Thermo 公司), X 射线胶片 (Kodak 公司)。

1.4 仪器 稳豪倍优血糖仪 (南京医药合肥大药房), S300 型电泳仪, VE-180 型电泳槽, VE-186 型转膜仪, pH 计均购自 Mettler Toledo 公司, JW-3021HR 型高速台式冷冻离心机 (安徽嘉文仪器装备有限公司), RM2135 型切片机 (德国 Leica 公司), 80i 型显微镜 (日本 Nikon 公司)。

2 方法

2.1 分组与给药 将 104 只大鼠适应性喂养 1 周后随机分为正常组, 模型组, 丹蛭高、中、低剂量组, 吡格列酮组, 丹蛭-吡格列酮组, 各组间体重无显著性差异, 明暗周期 12 h/12 h, 自由摄食, 饮水。正常组喂以基础饲料至实验结束, 模型组及治疗组喂以高

糖高脂饲料(内含 10% 的猪油,20% 的蔗糖,1% 的胆固醇,0.5% 胆酸钠),共计 4 周。然后按 $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量 *ip* STZ,5 d 后检测血糖指标不达标者再按 $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ *ip* STZ。造模成功标准:于最后一次注射 5 d 后测定尾静脉随机血糖 $>16.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 者为 T2DM 造模成功。选择符合诊断标准的模型大鼠 77 只再重新随机分为 6 组:模型组 12 只,其余每组 13 只,模型组和治疗组均继续喂以高糖高脂饲料至实验结束。中药高、中、低剂量组大鼠每日分别 *ig* 丹蛭降糖胶囊 ($1.08, 0.72, 0.54 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 即分别为成人体重折算剂量的 12, 8, 6 倍)。吡格列酮组 *ig* $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。模型组与正常组 *ig* 生理盐水 $5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 丹蛭-吡格列酮组 *ig* 丹蛭降糖胶囊 $1.08 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 混合吡格列酮 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 给药时间为 8 周。实验期间每周测量 1 次尾静脉血糖,称体重并记录。实验过程中各组大鼠均有 2~4 只死亡。末次给药后大鼠禁食 12 h,所有大鼠麻醉后腹主动脉采集血液样本,处死后剪取腹主动脉进行相关检测。

2.2 内皮细胞 p-p38MAPK, MKK3/6, CREB1, MKP-1, COX-2, ICAM-1 信号蛋白表达量测定 于大鼠膈膜下及左右髂总动脉的分叉处剪取腹主动脉组织, RIPA 细胞裂解液 1 mL (内含 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ PMSF) 进行裂解; $12\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心提取组织总蛋白;加入等量的 $2 \times \text{SDS-PAGE}$ 蛋白上样缓冲液变性蛋白,电

泳转膜完毕后,按照合适的比例用一抗稀释液进行稀释, p-p38MAPK, CREB1, COX-2 抗体 ($1:700$); MKP1, ICAM 抗体 ($1:400$); MKK3/6 抗体 ($1:500$); 用二抗稀释液稀释辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的二抗 ($1:10\ 000$)。ECL 发光试剂盒检测蛋白。以 β -actin 为内参,目的蛋白表达量用目的蛋白与内参蛋白 β -actin 的吸光度 *A* 比值表示。

2.3 免疫组化法检测腹主动脉 p-p38MAPK 蛋白的表达 取腹主动脉,4% 多聚甲醛固定,24 h 内石蜡包埋,切片。具体操作按照试剂盒说明书进行。抗体按 $1:150$ 的方法稀释,以 PBS 替代一抗作为阴性对照,将切片置于高倍镜下 ($\times 200$),每张切片随机选取 8~10 个视野,细胞胞膜和胞质内棕褐色颗粒即为阳性信号。采用 JEDA801 D 型形态学图像分析软件测定阳性信号所占面积及平均 *A*,二者乘积(即积分吸光度 *IA*)越大表明组织中该抗原含量越高。

2.4 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析法,两组间显著性差异采用 LSD-*t* 检验,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠一般情况和血糖情况 造模后成膜大鼠出现进食、饮水、尿量增多,活动减少,体重增加,皮毛晦暗等变化,后期有皮损、尾部脱皮、发炎、坏死。给药干预后,药物组大鼠血糖下降 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 丹蛭降糖胶囊对 2 型糖尿病大鼠随机血糖的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	<i>n</i>	用药前血糖	用药后血糖		
				第 2 周	第 4 周	第 7 周
正常	-	11	5.3 ± 0.6	5.4 ± 0.7	5.6 ± 0.6	5.0 ± 1.0
模型	-	10	$23.7 \pm 4.6^{1)}$	$25.3 \pm 4.6^{1)}$	$23.1 \pm 4.6^{1)}$	$25.2 \pm 3.9^{1)}$
丹蛭降糖胶囊	1.08	10	$24.0 \pm 4.8^{1)}$	27.3 ± 4.6	14.8 ± 3.0	$8.8 \pm 2.1^{2,3)}$
	0.72	11	$25.7 \pm 4.9^{1)}$	25.3 ± 6.6	14.3 ± 6.0	$10.3 \pm 4.9^{2,3)}$
	0.54	10	$24.5 \pm 4.7^{1)}$	22.1 ± 5.7	16.7 ± 6.7	$13.2 \pm 3.2^{2,3)}$
吡格列酮	0.01	9	$25.5 \pm 6.3^{1)}$	20.9 ± 9.1	15.4 ± 6.4	$8.9 \pm 4.5^{2,3)}$
丹蛭降糖胶囊 + 吡格列酮	$1.08 + 0.01$	9	$25.2 \pm 5.3^{1)}$	21.5 ± 4.0	15.8 ± 5.9	$9.8 \pm 4.2^{2,3)}$

注:与正常组相比¹⁾ $P < 0.01$;与模型组相比²⁾ $P < 0.05$;与用药前相比³⁾ $P < 0.05$ 。

3.2 大鼠腹主动脉内皮细胞 p38MAPK 信号通路蛋白表达 造模 8 周后,与正常组比较,模型组大鼠腹主动脉 p-p38MAPK, MKK3/6, CREB1, COX-2, ICAM-1 蛋白相对表达水平明显上调, MKP-1 蛋白相对表达水平明显下调 ($P < 0.01$)。经药物治疗后,

与模型组大鼠比较,治疗组 p-p38MAPK, MKK3/6, CREB1, COX-2, ICAM-1 蛋白相对表达水平下调, MKP-1 蛋白相对表达水平上调 ($P < 0.05, P < 0.01$)。此外,各药物治疗组间 p-p38MAPK 蛋白相对表达差异无统计学意义。见表 2,图 1。

表 2 丹蛭降糖胶囊对 2 型糖尿病大鼠腹主动脉 p-p38MAPK, MKK3/6, CREB1, COX-2, ICAM-1, MKP-1 蛋白相对表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

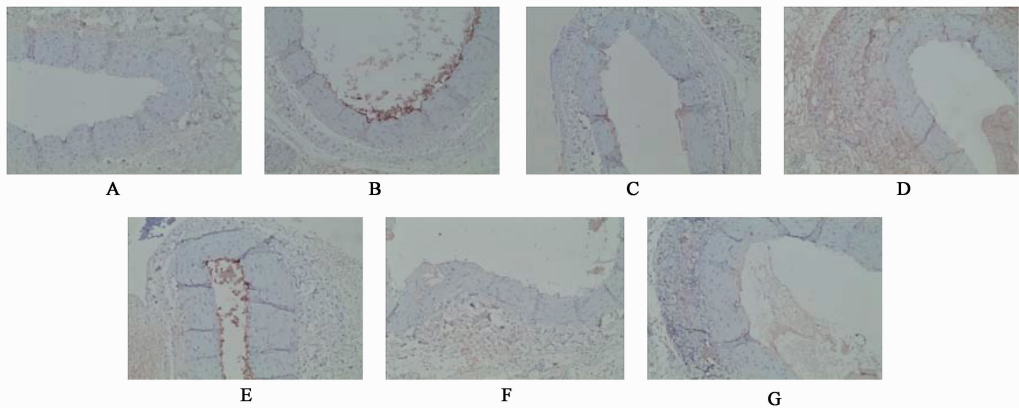
Table 2 Effect of Danzhi Jiangtang capsule on p-p38MAPK, MKK3/6, CREB1, COX-2, ICAM-1, MKP-1 protein expressions in abdominal aorta of type 2 diabetic rats ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	p-p38MAPK /β-actin	MKK3/6 /β-actin	CREB1 /β-actin	COX-2 /β-actin	ICAM-1 /β-actin	MKP-1 /β-actin
正常	-	0.58 ± 0.14	0.64 ± 0.13	0.37 ± 0.08	0.42 ± 0.11	0.49 ± 0.13	1.18 ± 0.24
模型	-	1.12 ± 0.12 ¹⁾	1.46 ± 0.17 ¹⁾	0.83 ± 0.13 ¹⁾	1.16 ± 0.16 ¹⁾	1.04 ± 0.33 ¹⁾	0.52 ± 0.02 ¹⁾
丹蛭降糖胶囊	1.08	0.65 ± 0.16 ³⁾	0.68 ± 0.14 ³⁾	0.42 ± 0.08 ³⁾	0.45 ± 0.14 ³⁾	0.53 ± 0.16 ³⁾	1.05 ± 0.05 ³⁾
	0.72	0.71 ± 0.13 ³⁾	0.86 ± 0.24 ³⁾	0.44 ± 0.06 ³⁾	0.59 ± 0.12 ³⁾	0.66 ± 0.20 ²⁾	0.99 ± 0.08 ³⁾
	0.54	0.80 ± 0.15 ²⁾	0.88 ± 0.20 ³⁾	0.52 ± 0.10 ³⁾	0.66 ± 0.16 ³⁾	0.73 ± 0.22	0.81 ± 0.12 ³⁾
吡格列酮	0.01	0.63 ± 0.16 ³⁾	0.70 ± 0.19 ³⁾	0.39 ± 0.06 ³⁾	0.48 ± 0.09 ³⁾	0.54 ± 0.15 ³⁾	1.07 ± 0.06 ³⁾
丹蛭-吡格列酮	1.08 + 0.01	0.67 ± 0.15 ³⁾	0.75 ± 0.10 ³⁾	0.44 ± 0.03 ³⁾	0.50 ± 0.10 ³⁾	0.63 ± 0.18 ²⁾	0.87 ± 0.11 ³⁾

注:与正常组相比¹⁾ P < 0.01;与模型组相比²⁾ P < 0.05, ³⁾ P < 0.01。

3.3 免疫组化检测腹主动脉 p-p38MAPK 蛋白表达 与正常组相比,模型组大鼠腹主动脉 p-p38MAPK 表达明显增强。与模型组相比,治疗组 p-p38MAPK

表达明显降低,表达量由高到低依次为吡格列酮组,丹蛭高剂量组,丹蛭吡格列酮组,丹蛭中剂量组,丹蛭低剂量组。见图 1。



A. 正常组;B. 模型组;C~E. 丹蛭降糖胶囊(1.08, 0.72, 0.54 g·kg⁻¹)组;F. 吡格列酮组 10 mg·kg⁻¹;G. 丹蛭-吡格列酮组 1.08 g·kg⁻¹ + 10 mg·kg⁻¹组

图 1 丹蛭降糖胶囊对 2 型糖尿病大鼠腹主动脉 p-p38MAPK 蛋白表达的影响(免疫组化, ×200)

Fig.1 Effect of Danzhi Jiangtang capsule on expression of p-p38MAPK in abdominal aorta of type 2 diabetic rats (Immunohistochemical, × 200)

4 讨论

糖尿病血管病变主要与中医之“气虚、血瘀”有着密切联系,病理状态下常致“气虚血瘀”。《素问·痹论》指出:“病久入深,营卫之行涩,经络失疏,故不通。”清代叶天士认为:“大凡经主气,络主血,久病血瘀”,“凡久病从血治者多”。故益气活血法是中医治疗血管病变的重要治则之一。丹蛭降糖胶囊由太子参、丹皮、水蛭、泽泻、地黄、菟丝子等组成,方中太子参补脾肾之气,牡丹皮清热活血化瘀,水蛭破血逐瘀消积,两者共使血络通畅,泽泻利水渗湿,生地清热凉血,菟丝子甘温补肾固精,全方阴阳互济,攻补兼施,寒温并调,共奏益气养阴活血通络之效。既往研究已发现丹蛭降糖胶囊有较好降糖作

用,改善胰岛素抵抗,并且保护胰岛 B 细胞功能,改善脂代谢紊乱,抑制血管内皮损伤,改善血液高凝状态,从而保护血管内皮功能^[6-8]。盐酸吡格列酮胶囊具有较好降血糖作用,为临床常用的胰岛素增敏剂,改善胰岛素抵抗,提高胰岛素对细胞的反应性,抗炎并可以改善血管内皮功能^[9-10]。

p38MAPK 是 MAPK 家族的一员,参与血管收缩、应激、炎症、凋亡等生理病理过程^[11]。p38MAPK 的活性主要由 MAPK 激酶 MKK 和磷酸酶引起的磷酸化和脱磷酸化的动态平衡决定。其中 MKK3/6 是 p38MAPK 信号通路上游主要激活因子^[12],激活后的 MKK3/6 使 p38MAPK 催化区 TGY 基序中的苏氨酸和酪氨酸残基磷酸化,进而激活 p38MAPK 通

路。CREB1 则是 p38MAPK 信号通重要下游因子, p38MAPK 信号可通过 CREB1 结合到上游 cAMP 反应元件 (CRE) 而激活并进行基因调控^[13]。COX-2 作为炎症反应激活通路的重要调节因子, 一般正常生理情况下, 在单核细胞、巨噬细胞、血管内皮细胞、血管平滑肌细胞等一些与炎症密切相关的细胞上低水平表达, 当受到刺激后便迅速表达合成, 参与多种生理病理过程; 在血管壁上因其潜在干预了许多血管内环境的稳态, COX-2 表达的上调日益引起重视^[14]。ICAM-1 作为重要黏附因子, 在介导单核细胞及淋巴细胞向血管壁黏附, 聚集, 迁移过程中起了重要的作用, 为动脉粥样硬化发生的重要环节。而 MKP-1 则起负向调控的作用, 可使 p38MAPK 去磷酸化而使其活性减弱^[15]。通过不同机制降低大鼠 p38MAPK 磷酸化及其与底物的作用, 抑制 p38MAPK 通路活性, 进而改善胰岛素抵抗、减轻炎症反应, 可能延缓糖尿病血管并发症的出现。因此, 除控制血糖等因素外, 通过阻断 p38MAPK 信号通路从而阻止糖尿病血管的重构, 或将成为治疗糖尿病血管并发症新靶点。

本实验中, 各治疗组大鼠一般情况较模型组改善。各治疗药物降糖作用效果相当, 其中丹蛭高、中剂量组精神萎靡、皮损、尾巴组织坏死等一般情况较吡格列酮组及丹蛭-吡格列酮组良好, 提示外在表现上丹蛭组在预防、延缓、改善 T2DM 大鼠血管病变较吡格列酮组可能有优势。结果中, 糖尿病大鼠腹主动脉中 p38MAPK 信号通路相关蛋白表达活性增高, 提示 p38MAPK 信号转导途径在糖尿病血管病变的发生和发展中起重要作用。丹蛭高、中剂量均可通过抑制 p-p38MAPK 表达及蛋白磷酸化水平, 明显改善糖尿病大鼠血管内皮功能, 与吡格列酮相比效果相当, 说明本方对这一信号通路存在干预作用, 可能为其治疗的机制之一。综合实验结果表明, 益气活血方早期干预, 可能预防和延缓糖尿病血管病变的进展, 在防治糖尿病并发症上略显优势, 可为糖尿病血管疾病防治提供较好临床依据。

[参考文献]

[1] Rask-Madsen C, King G L. Vascular complications of diabetes: mechanisms of injury and protective factors [J]. *Cell Metabolism*, 2013, 17(1): 20-33.
[2] Rosen L B, Greenberg M E. Stimulation of growth factor receptor signal transduction by activation of voltage-sensitive calcium channels [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(3): 1113-1132.
[3] Tanikawa T, Okada Y, Tanikawa R, et al. Advanced

glycation end products induce calcification of vascular smooth muscle cells through RAGE/p38 MAPK [J]. *J Vasc Res*, 2008, 46(6): 572-580.
[4] Zhang R, Zhou S J, Li C J, et al. C-reactive protein/oxidised low-density lipoprotein beta2-glycoprotein I complex promotes atherosclerosis in diabetic BALB/c mice via p38 mitogen-activated protein kinase signal pathway [J]. *Lipids Health Dis*, 2013, 12(1): 42.
[5] Chang P C, Chen T H, Chang C J, et al. Advanced glycosylation end products induce inducible nitric oxide synthase expression via p38MAPK-dependent pathway [J]. *Kidney Int*, 2008, 65(5): 1664-1675.
[6] 方朝晖, 倪英群. 丹蛭降糖胶囊对 2 型糖尿病患者血管内皮氧化应激状态的影响 [J]. *临床合理用药杂志*, 2011, 4(4C): 27-28.
[7] 徐先祥, 汪宁卿, 夏伦祝, 等. 丹蛭降糖胶囊对实验性糖尿病大鼠降糖作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(17): 288-290.
[8] 李中南, 张培培, 陈光亮, 等. 丹蛭降糖胶囊对糖尿病模型大鼠 VEGF 及血小板参数的影响 [J]. *浙江中医药大学学报*, 2014, 38(1): 64-67.
[9] Dromparis P, Sutendra G, Paulin R, et al. Pioglitazone inhibits HIF-1 α -dependent angiogenesis in rats by paracrine and direct effects on endothelial cells [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2014, 92(5): 497-507.
[10] Sakatani Y, Miyoshi T, Oe H, et al. Pioglitazone prevents the endothelial dysfunction induced by ischemia and reperfusion in healthy subjects [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2014, 64(4): 326-331.
[11] Fischer S, Koeberle S C, Laufer S A. p38 α mitogen-activated protein kinase inhibitors, a patent review (2005-2011) [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2011, 21(12): 1843-866.
[12] Zhu X, Sano H, Kim K P, et al. Role of mitogen-activated protein kinase-mediated cytosolic phospholipase A2 activation in arachidonic acid metabolism in human eosinophils [J]. *J Immunol*, 2001, 167(1): 461-468.
[13] Ramakrishnan V. The regulation of gamma-globin gene expression by p38 MAPK signaling through CREB1 [M]. *Blood Cells Mol Dis*, 2011, 47(1): 12-22.
[14] Grosser T, Fries S, FitzGerald G A. Biological basis for the cardiovascular consequences of COX-2 inhibition: therapeutic challenges and opportunities [J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(1): 4-15.
[15] Lee E, Yim S, Lee S K, et al. Two transactivation domains of hypoxia-inducible factor-1 alpha regulated by the MEK-1/p42/p44 MAPK pathway [J]. *Mol Cells*, 2002, 14(1): 9-15.

[责任编辑 聂淑琴]