

· 基础研究 ·

益气活血通络方通过调控 NF- κ B 信号通路 保护 db/db 小鼠坐骨神经作用机制研究

江爱娟¹ 中国明² 蔡标¹ 王靓¹ 姚永传¹ 王浩¹

摘要 **目的** 从 NF- κ B 介导的信号通路角度探讨益气活血通络方对糖尿病坐骨神经损伤的保护作用机制。**方法** 将 7 周龄 db/db 小鼠 40 只随机分为模型组、硫辛酸组(0.078 g/kg)和益气活血通络方高、中、低剂量组(6.4、3.2、1.6 g/kg),另设 db/m 正常组,每组 8 只。适应性饲养 1 周后,灌胃给药,每天 1 次,连续 8 周,并监测小鼠空腹血糖(FBG)变化。末次给药结束后,测定运动神经传导速度(MNCV)和足底热敏反应时间;取坐骨神经,观察超微组织结构改变,Western Blot 法检测 NF- κ Bp65、IKK β 、I κ B- α 、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 蛋白表达。**结果** 正常组小鼠坐骨神经组织结构正常,模型组小鼠坐骨神经损伤明显,髓鞘板层分离、排列紊乱,益气活血通络方各组和硫辛酸组小鼠坐骨神经组织结构损伤明显减轻。与正常组比较,模型组小鼠 FBG 升高,MNCV 减慢,足底热敏反应时间延长,坐骨神经组织 NF- κ Bp65、IKK β 、I κ B- α 、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 蛋白表达均升高($P < 0.01$)。与模型组比较,益气活血通络方各组和硫辛酸组小鼠 FBG 降低,MNCV 增快,足底热敏反应时间缩短,坐骨神经组织 NF- κ Bp65、IKK β 、I κ B- α 、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的蛋白表达水平下降($P < 0.01$, $P < 0.05$)。益气活血通络方降低 FBG,增快 MNCV,缩短足底热敏反应时间,下降坐骨神经组织 NF- κ Bp65、IKK β 、I κ B- α 、IL-1 β 蛋白表达水平的作用效应与用药剂量具有相关性(r 值分别为 0.477、0.567、0.695、0.868、0.998、0.999、0.967; $P < 0.01$, $P < 0.05$)。**结论** 益气活血通络方可通过抑制 NF- κ B 信号通路的激活,减少炎症细胞因子的生成,减轻 db/db 小鼠坐骨神经的损伤。

关键词 益气活血通络方; db/db 小鼠; 坐骨神经; NF- κ B 信号通路

Mechanism of Yiqi Huoxue Tongluo Formula for Protecting Sciatic Nerve in db/db Mice via Regulating NF- κ B Signaling Pathway JIANG Ai-juan¹, SHEN Guo-ming², CAI Biao¹, WANG Liang¹, YAO Yong-chuan¹, and WANG Hao¹ 1 College of Integrated Chinese and Western Medicine, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei (230012); 2 Graduate School, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei (230012)

ABSTRACT **Objective** To investigate the effect of Yiqi Huoxue Tongluo Formula (YHTF) on diabetic sciatic nerve injury from the perspective of NF- κ B signaling pathway. **Methods** Forty db/db mice were randomly divided into 5 groups: the model group, the lipoic acid group, and three YHTF groups with high, middle and low dosages (6.4, 3.2, 1.6 g/kg respectively). The 8 db/m non-diabetic mice were set as the normal group. After one week of adaptive feeding, the mice were intragastrically injected with drugs, once a day for 8 consecutive weeks. During this period, the fasting blood glucose (FBG) levels were monitored. Following the last treatment, the plantar thermal response time and sciatic motor nerve conduction velocity (MNCV) were measured; after that, the ultrastructure of sciatic nerve tissue was observed by transmission electron microscope, and the protein levels of NF- κ Bp65, IKK β , I κ B- α , IL-1 β , IL-6 and TNF- α were determined by Western Blot. **Results** Structure of sciatic nerve tissue was intact in the normal group. The sciatic nerve of mice in the model group showed severe pathological damages, with

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 81273646); 安徽省自然科学基金资助项目(No. 1608085MH232)

作者单位: 1. 安徽中医药大学中西医结合学院(合肥 230012); 2. 安徽中医药大学研究生院(合肥 230012)

通讯作者: 申国明, Tel: 0551-68129333, E-mail: shengm_66@163.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20180603.023

the myelin sheath of the sciatic nerve detached and misarranged. The injuries of sciatic nerve tissue in the YHTF group and lipoic acid group were significantly reduced. Compared with normal group, the model group displayed increase of FBG, decrease of MNCV, extension of plantar thermal response time and ascent of protein expressions of NF- κ Bp65, IKK β , I κ B- α , IL-1 β , IL-6 and TNF- α ($P < 0.01$). Compared with the model group, both YHTF group and lipoic acid group exhibited reduction of FBG, increase of MNCV, decrease of plantar thermal response time and down-regulated protein expressions of NF- κ Bp65, IKK β , I κ B- α , IL-1 β , IL-6 and TNF- α ($P < 0.01$, $P < 0.05$). And the effects of reducing FBG, increasing MNCV, shortening plantar thermal response time, decreasing the protein expression of NF- κ Bp65, IKK β , I κ B- α , IL-1 β have significant correlation with the dosage of YHTF ($r = 0.477, 0.567, 0.695, 0.868, 0.998, 0.999, 0.967$; $P < 0.01$, $P < 0.05$). Conclusions YHTF could relieve the injury of sciatic nerve and reduce inflammatory cytokines in db/db mice by inhibiting the activation of NF- κ B signaling pathway.

KEYWORDS Yiqi Huoxue Tongluo Formula; db/db mice; sciatic nerve; NF- κ B signaling pathway

糖尿病周围神经病变 (diabetic peripheral neuropathy, DPN) 是糖尿病最常见的慢性并发症之一, 有 60% ~ 90% 的糖尿病患者会发生 DPN^[1,2], 严重影响患者生活质量。益气活血通络方 (原芪归糖痛宁) 为安徽中医药大学第一附属医院在新安医学理论指导下创制的院内制剂, 临床治疗 DPN 疗效确切^[3,4]。课题组前期动物和细胞实验研究均证实益气活血通络方可通过调控炎症因子改善 DPN^[5-7]。核转录因子 kappa B (NF- κ B) 被称为炎症反应链的“基因开关”。本实验在前期研究基础上以自发性 2 型糖尿病 C57BL/KsJ-db/db (db/db) 小鼠为研究对象, 观察益气活血通络方对 DPN 小鼠坐骨神经的保护作用及与 NF- κ B 信号通路蛋白表达的关系, 以期进一步探讨该方治疗 DPN 的作用机制。

材料与方

1 动物 7 周龄 db/db 小鼠, 体质量 (35 ± 5) g, 雄性; 同周龄同系别野生型 C57BL/KsJ-db/+ 小鼠 (db/m 小鼠), 体重 (20 ± 5) g, 雄性; 动物 SPF 级, 购自南京大学-南京生物医药研究院, 许可证号: SCXK (苏) 2015-0001。IVC 独立清洁笼饲养, 室温 20 ~ 25 °C, 相对湿度 55% ~ 65%, 12 h/12 h 光照昼夜循环。动物饲料由南京大学-南京生物医药研究院提供, 质量合格证号: 苏饲证 (2014) 01008。本实验遵守国家有关实验动物保护和和使用准则, 经安徽中医药大学科研实验动物管理中心批准 (No. 201509128)。

2 药物 益气活血通络方为安徽中医药大学第一附属医院院内制剂, 由黄芪、当归、生地黄、葛根、威灵仙、鸡血藤、延胡索组成。由安徽中医药大学第一附属医院制剂中心按生药饮片质量比 30:12:12:12:9:15:9 制备成冻干粉 (生药与制成的冻干粉质量比为

4:1), 批号: 20151111。中药饮片均由安徽济仁药业生产并经安徽中医药大学第一附属医院中药房鉴定; 硫辛酸胶囊, 0.1 g/粒, 江苏万禾制药有限公司, 批号: 150801。

3 试剂及仪器 RIPA 细胞裂解液、BCA 蛋白质定量试剂盒、Western Blot 聚丙烯酰胺凝胶试剂盒均购于上海碧云天生物技术研究; 0.2 μ m PVDF 膜, 购于美国 Millipore 公司; 光谱彩虹预染蛋白 Marker、ECL 超敏发光试剂盒均购于美国 Thermo Fish 公司; IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、IKK、NF- κ B、 β -actin 兔抗鼠多克隆抗体 (批号分别为 12507S-1、3707S-4、12912S-1、8943T-4、8242T-8、16AV0209) 和 I κ B 鼠抗鼠多克隆抗体 (批号 4814T-17) 均购于美国 Cell Signaling 公司; 经 HRP 标记的山羊抗鼠 IgG (批号 AB01342)、山羊抗兔 IgG (批号 154105A) 均购于北京康为世纪生物科技有限公司。

IVC 独立清洁笼, 苏州苏杭科技器材有限公司, 生产许可证号: SCXK (苏) 2012-006; Powerlab 8/30 生物信号记录系统, 美国 AD Instrument 公司; RB200 型智能热板仪, 成都泰盟软件有限公司; JEM-1230 型透射电镜, 日本电子株式会社 (JEOL); LKB-NOVA 型切片仪, 瑞典 LKB 公司; TU-1810 紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; ZD-9556 水平摇床, 金坛市美特仪器制造有限公司; DYY-11 电泳仪、Clix ChemiScope 3400 荧光及化学发光成像系统, 北京六一生物科技有限公司。

4 动物分组及给药方法 db/db 小鼠适应性饲养 1 周后, 剪尾法取血, 用血糖仪测定血糖, 筛选出空腹血糖 (FBG) ≥ 11.1 mmol/L^[8] 的实验用鼠 40 只, 以随机数字表法分为模型组、硫辛酸组、益气活血通络方高、中、低剂量组, 每组 8 只, 各组间小鼠体重与

FBG 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。另选同周龄同窝出生的 db/m 小鼠 8 只, 作为正常对照组。益气活血通络方成人用量为 99 g/d (生药), 硫辛酸成人用量为 0.6 g/d。按照体表面积法换算^[9], 益气活血通络方高、中、低剂量组分别予以 6.4、3.2、1.6 g/kg 冻干粉 (分别为 25.74、12.87、6.44 g/kg 生药, 相当于临床成人等效量的 2、1、0.5 倍)。硫辛酸组予以硫辛酸 0.078 g/kg (相当于临床成人等效量)。各组药物临用前按照 10 mL/kg 给药体积, 用蒸馏水配成适当浓度, 连续灌胃给药 8 周, 每日 1 次。正常组与模型组小鼠灌胃给予等量自制无菌蒸馏水。

5 检测指标及方法

5.1 FBG 测定 各组小鼠均在给药前及给药 4 周、8 周末, 禁食不禁水 6 h 后, 尾静脉采血测 FBG, 比较各组小鼠 FBG 变化。

5.2 运动神经传导速度 (motor nerver conduction velocity, MNCV) 和足底热敏反应时间测定 给药 8 周末, 将小鼠仰卧位固定, 连接 Powerlab 生物信号采集系统, 刺激电极插入小鼠右侧坐骨切迹, 记录电极分别插入小鼠右踝关节和第二足趾间, 记录双通道复合动作电位的潜伏期, $MNCV = \text{两记录电极之间的距离 (cm)} / \text{双通道动作电位潜伏期之差 (s)}$ ^[10]; 测定足底热敏反应时间^[11], 小鼠立于 55 °C 恒温热敏板上, 以小鼠舔后足反应的潜伏期为该小鼠的热敏反应时间, 每只小鼠重复测定 3 次, 间隔时间 15 min, 计算其平均值。

5.3 坐骨神经提取及病理学检查 给药 8 周末, 颈椎脱臼处死小鼠, 从小鼠背面剪开皮肤, 沿着脊柱下端向后肢分离出坐骨神经。取一侧坐骨神经放入冻存管置于液氮中保存, 取另一侧坐骨神经组织 1 mm × 3 mm, 立刻固定到 2.5% 戊二醛 6 h, PBS 缓冲液冲洗后置入 1% 锇酸固定液继续固定 2 h, 用梯度乙醇系列脱水, 环氧树脂包埋。取出包埋好的组织进行超薄切片, 片厚 70 nm, 醋酸双氧铀和枸橼酸铅双重染色。透射电镜观察坐骨神经超微结构。

5.4 NF- κ Bp65、I κ B-a、IKK β 、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 蛋白表达检测 采用 Western Blot 检测。从液氮中取坐骨神经组织研磨后, 按每 30 mg 组织加入 1.0 mL 的 RIPA 细胞裂解液裂解, BCA 法进行总蛋白定量。加入蛋白上样缓冲液, 沸水变性, SDS 电泳, 转 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h, 一抗室温孵育 2 h, 二抗室温孵育 1.5 h, 使用 ECL 发光试剂盒来检测蛋白, Quantity one 灰度分析软件 (Bio-Rad 公司) 进行分析。以 β -actin 作为内参, 目标蛋白相对表

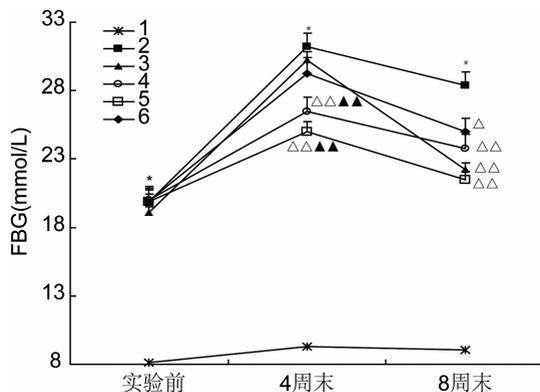
达量 = 目标蛋白条带灰度值 / β -actin 条带灰度值。

6 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析, 计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间均数多重比较采用 LSD 检验, Pearson 相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组小鼠一般状态比较 正常组小鼠一般情况良好, 皮毛光泽, 反应灵敏, 摄食及饮水量正常, 体重正常增长; 模型组小鼠精神萎靡, 皮毛欠光泽, 反应迟钝, 有明显的多饮、多食、多尿表现, 体重增长快; 益气活血通络方各剂量组及硫辛酸组小鼠精神较萎靡, 反应较迟钝, 摄食量、饮水量及尿量较多, 体重增长较快。实验期间无动物死亡。

2 各组小鼠 FBG 比较 (图 1) 与正常组比较, 模型组各时间点 FBG 升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 灌胃 4 周末, 益气活血通络方中、低剂量组小鼠 FBG 降低 ($P < 0.01$); 灌胃 8 周末, 各给药组小鼠 FBG 均降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与硫辛酸组比较, 灌胃 4 周末, 益气活血通络方中、低剂量组 FBG 降低 ($P < 0.01$)。益气活血通络方降低 DPN 小鼠血糖的效应与用药剂量具有显著相关性 ($r = 0.477$, $P < 0.01$)。



注: 1 为正常组; 2 为模型组; 3 为硫辛酸组; 4 为益气活血通络方低剂量组; 5 为益气活血通络方中剂量组; 6 为益气活血通络方高剂量组; 与正常对照组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与硫辛酸组比较, $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$; 下图同

图 1 各组小鼠 FBG 比较

3 各组小鼠 MNCV 比较 (图 2) 与正常组比较, 模型组小鼠 MNCV 减慢 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 各给药组 MNCV 增快 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与硫辛酸组比较, 益气活血通络方高剂量组 MNCV 增快 ($P < 0.05$)。益气活血通络方对 DPN 小鼠 MNCV 的增

快效应与用药剂量具有显著相关性($r = 0.567, P < 0.05$)。

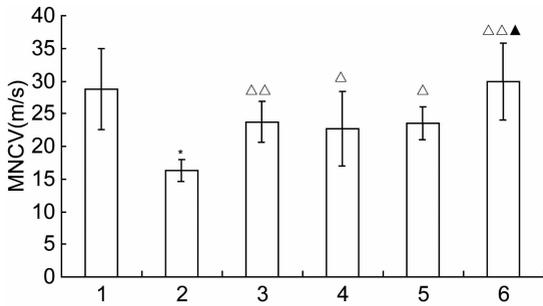


图 2 各组小鼠 MNCV 比较

4 各组小鼠足底热敏反应时间比较(图 3) 与正常组比较,模型组小鼠足底热敏反应时间延长($P < 0.01$)。与模型组比较,各给药组足底热敏反应时间缩短($P < 0.01$)。与硫辛酸组比较,益气活血通络方高、中剂量组足底热敏反应时间缩短($P < 0.01$)。益气活血通络方对 DPN 小鼠足底热敏反应时间的效应与用药剂量具有显著相关性($r = 0.695, P < 0.01$)。

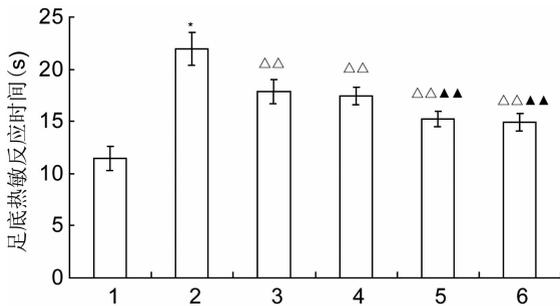
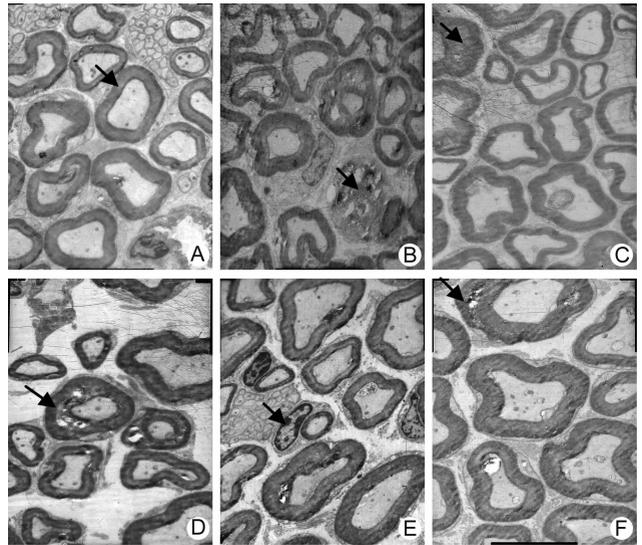


图 3 各组小鼠足底热敏反应时间比较

5 各组小鼠坐骨神经超微结构的比较(图 4)

正常组坐骨神经髓鞘板层结构完整,轴索可见微丝、微管、线粒体。模型组坐骨神经部分髓鞘板层结构发生严重分离,各层间排列紊乱,出现空泡及裂隙,严重脱髓鞘,轴索萎缩,雪旺细胞变性坏死;硫辛酸组小鼠坐骨神经髓鞘板层中未出现明显空泡及裂隙,轴索结构完整;益气活血通络方各剂量组小鼠坐骨神经病理形态损伤均有不同程度改善。低剂量组坐骨神经部分髓鞘板层增厚,各层间排列紊乱出现空泡及裂隙;中剂量组坐骨神经部分髓鞘板层稍有增厚,髓鞘板层空泡及裂隙均显著降低,轴索外可见雪旺细胞;高剂量组坐骨神经髓鞘板层结构基本完整,轴索内线粒体数量增多。

6 各组小鼠坐骨神经中 NF-κBp65、IKKβ、IκB-α、IL-1β、IL-6、TNF-α 蛋白表达比较(图 5) 与正常组比较,模型组小鼠坐骨神经组织中 NF-κB P65、



注:A 为正常组;B 为模型组;C 为硫辛酸组;D 为益气活血通络低剂量组;E 为益气活血通络中剂量组;F 为益气活血通络高剂量组;箭头所示:图 A,正常髓鞘;图 B,严重脱髓鞘;图 C,轻度脱髓鞘;图 D,节段性脱髓鞘;图 E,雪旺细胞;图 F,轻度脱髓鞘

图 4 各组小鼠坐骨神经超微结构图 (×4 000)

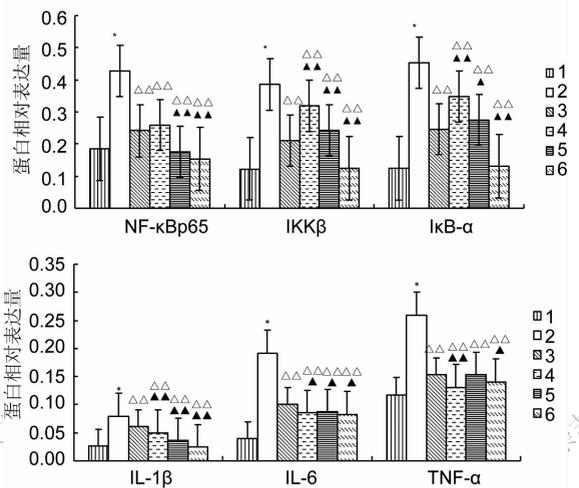
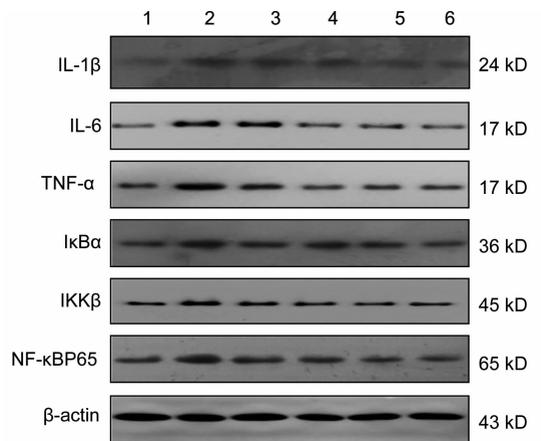


图 5 各组小鼠坐骨神经 NF-κBp65、IKKβ、IκB-α、IL-1β、IL-6、TNF-α 蛋白表达

IKK β 、I κ B α 、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的蛋白表达均升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较,各给药组小鼠坐骨神经组织 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 蛋白表达下降 ($P < 0.01$)。与硫辛酸组比较,益气活血通络方高、中剂量组 NF- κ Bp65 表达下降 ($P < 0.01$);益气活血通络方中、低剂量组 IKK β 、I κ B α 表达升高 ($P < 0.01$, $P < 0.05$),高剂量组 IKK β 、I κ B α 表达下降 ($P < 0.01$);益气活血通络方各剂量组 IL-1 β 、IL-6 表达下降 ($P < 0.01$, $P < 0.05$);益气活血通络方高、低剂量组 TNF- α 表达下降 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。益气活血通络方对 DPN 小鼠坐骨神经组织 NF- κ B P65、IKK β 、I κ B α 、IL-1 β 的效应与用药剂量均呈显著相关性 (r 值分别为 0.868、0.998、0.999、0.967, $P < 0.01$);益气活血通络方降低 IL-6、TNF- α 的作用无明显剂量相关性。

讨 论

慢性低度炎症在 DPN 的发生、发展中起着极其重要的作用^[12]。高血糖诱导下,大量炎性细胞的聚集导致炎性因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等表达分泌于相关组织细胞外基质中,形成组织重建,引起 DPN。其中 TNF- α 是强力的参与糖尿病神经病变前炎症因子,可诱导 IL-1、IL-6 的合成。慢性炎症反应导致 DPN 的病理生理过程源于炎症介质产生的复杂路径^[13]。NF- κ B 是细胞中重要的转录调节因子,通过刺激因子的活化进而诱导多种基因的表达,产生多种细胞因子参与炎症反应。DPN 时,大量炎性因子被 NF- κ B 调控且互相作用。持续性的高血糖引起的低度炎症反应导致 I κ B 激酶 IKK 激活, NF- κ B 抑制蛋白 I κ B 降解并与 NF- κ B 解离, NF- κ B 与细胞核内目的基因结合位点结合,再启动下游炎症因子基因的转录翻译,下游炎症因子在神经元、雪旺细胞中引起对巨噬细胞等的聚集作用,导致周围神经损伤^[14]。本实验观察到模型鼠坐骨神经组织中 NF- κ B、I κ B、IKK 表达增加,炎症因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 表达显著升高,表明 db/db 小鼠 NF- κ B 信号通路被激活,炎性因子释放增加,引起坐骨神经炎症反应性损伤。

DPN 属中医学“气虚”、“血瘀”范畴,病位在血络,消渴先发为本,DPN 继发为标,由虚致实、虚实夹杂,基本病机为气阴两虚、瘀血阻络^[15,16]。气虚—阴亏—血瘀过程与炎症损伤、神经功能结构受损相一致。益气活血通络方具有益气活血、通络止痛之功效,为临床上治疗 DPN 的验方。方中黄芪大补脾胃元气,令气旺血行、瘀去络通,当归补血、行血,化瘀不伤血,共

为主药;葛根升阳、生津止渴,生地黄助黄芪、当归益气活血生津,为臣药;鸡血藤活血补血,延胡索辛散活血、行气、止痛,为佐药。诸药合用,气血同治,标本兼治。现代研究表明,中药黄芪、葛根对糖尿病及并发症有较好的治疗效果。黄芪葛根汤能下调糖尿病大鼠心肌组织中 NF- κ B 的表达水平^[17];葛根素能显著降低糖尿病鼠的空腹血糖,下调 TNF- α 的表达^[18];当归多糖可降低糖尿病鼠 IL-6、TNF- α 水平^[19]。课题组前期研究证实,益气活血通络方可降低 STZ 诱导糖尿病周围神经损伤模型大鼠血清中的炎症因子,可抑制高糖诱导的人脐静脉内皮细胞、大鼠背根神经节细胞中炎症因子的高表达^[5-7]。本实验观察到益气活血通络方亦可降低 DPN 模型鼠坐骨神经组织中炎症因子表达,减轻周围神经炎症反应。

本实验研究选用 db/db 小鼠为动物模型,该鼠为因瘦素受体基因缺陷导致的先天肥胖性 T2DM 小鼠,比常用的链脲佐菌素模型更符合人类 T2DM 特点^[20-22]。实验中模型鼠持续性的高血糖、坐骨神经组织结构损伤明显、机械痛阈值显著降低、运动神经传导速度显著减慢,确定出现了周围神经性病变^[23]。抑制 NF- κ B 信号通路,可抑制糖尿病神经病变的进展^[24]。本实验观察到益气活血通络方干预后,IKK β 、NF- κ B、I κ B- α 表达显著降低,表明益气活血通络方在一定程度上抑制了 NF- κ B 转录因子的活化,减少炎症因子释放,降低免疫反应的放大程度,并进一步缓解坐骨神经组织损伤,达到改善周围神经病变的效果。实验结果提示,益气活血通络方的干预作用具有一定的剂量依赖性,高剂量的作用效应最优。

实验研究结果提示,益气活血通络方具有一定降糖作用,但该方对其血糖的调节能力较对周围神经修复能力弱,同时提示该方更有利于对 2 型糖尿病的神经保护作用,临床上应用该方治疗 DPN 应与基础降糖药物联合用药。益气活血通络方高剂量组降糖效果弱于中剂量组,可能由于 db/db 小鼠瘦素受体基因缺陷失去功能造成代谢紊乱引起,但并不影响其神经保护作用。本研究设立硫辛酸为阳性对照药,硫辛酸具有较好的抗氧化应激和减轻炎症反应,保护糖尿病周围神经损伤的作用,临床上广泛用于 DPN 患者,取得良好疗效^[25]。实验结果提示,益气活血通络方的作用效应优于硫辛酸。

综上所述,益气活血通络方可能通过抑制 DPN 中 NF- κ B 信号通路的激活,抑制下游炎症因子表达,从而改善糖尿病周围神经病变,但其具体调控机制,尚需进一步研究。

利益冲突:所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

参 考 文 献

- [1] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2013 年版) [J]. 中华糖尿病杂志, 2014, 6 (7): 447 - 498.
- [2] Marin-Penalver JJ, Martin-Timon I, Sevillano-Colantes C, et al. Update on the treatment of type 2 diabetes mellitus [J]. World J Diabetes, 2016, 7 (17): 354 - 395.
- [3] 崔李群, 方朝晖, 罗云. 芪归糖痛宁颗粒对糖尿病大鼠坐骨神经糖基化终末产物、聚 ADP 核糖聚合酶基因表达的影响 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2016, 26 (12): 1082 - 1085.
- [4] 范丽红, 舒仪琼. 芪归糖痛宁颗粒治疗糖尿病周围神经病变的疗效观察 [J]. 陕西中医学院学报, 2014, 37 (1): 26 - 28.
- [5] 姚永传, 申国明, 江爱娟, 等. 益气活血通络方对糖尿病周围神经病变小鼠 JNK 信号通路蛋白及炎症因子的影响 [J]. 北京中医药大学学报, 2017, 40 (11): 923 - 927.
- [6] 何莹, 申国明, 王芹, 等. 益气活血通络方含药血清对高糖诱导的大鼠背根神经节细胞 NGF、IL-1 及 TNF- α 表达的影响 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2016, 37 (28): 3503 - 3505.
- [7] 王芹, 申国明, 王浩, 等. 益气活血通络方对高糖诱导的人脐静脉内皮细胞炎症因子表达的影响 [J]. 安徽中医药大学学报, 2016, 35 (5): 65 - 69.
- [8] Salek RM, Maguire ML, Bentley E, et al. A metabolomic comparison of urinary changes in type 2 diabetes in mouse, rat, and human [J]. Physiol Genomics, 2007, 29 (2): 99 - 108.
- [9] 李仪奎主编. 中药药理实验方法学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 1056.
- [10] Tarhzaoui K, Valensi P, Leger G, et al. Rosuvastatin positively changes nerve electrophysiology in diabetic rats [J]. Diabetes Metab Res Rev, 2009, 25 (3): 272 - 278.
- [11] 葛麟, 王莉, 谭正怀. 糖心安对糖尿病动物感觉神经的影响 [J]. 中药药理与临床, 2012, 28 (2): 132 - 134.
- [12] Pop-Busui R, Ang L, Holmes C, et al. Inflammation as a therapeutic for diabetic neuropathies [J]. Curr Diab Rep, 2016, 16 (3): 29.
- [13] Downs CA, Faulkner MS. Toxic stress, inflammation and symptomatology of chronic complications in diabetes [J]. World J Diabetes, 2015, 6 (4): 554 - 565.
- [14] Rezagholizadeh L, Pourfarjam Y, Nowrouzi A, et al. Effect of *Cichorium intybus* L. on the expression of hepatic NF- κ B and IKK β and serum TNF- α in STZ- and STZ+ niacinamide-induced diabetes in rats [J]. Diabetol Metab Syndr, 2016, 13 (2): 8 - 11.
- [15] 赵丹丹, 高思华, 穆倩倩. 肝脾肾同调辨治 2 型糖尿病的理论依据与特色 [J]. 中医杂志, 2014, 55 (3): 205 - 208.
- [16] 孙冰. 糖尿病周围神经病变中医病机探讨 [J]. 济宁医学院学报, 2013, 36 (1): 14 - 17.
- [17] 陈艳芬, 王春怡, 李卫民, 等. 黄芪葛根汤对糖尿病心肌病大鼠氧化应激和 NF- κ B 表达的影响 [J]. 中成药, 2012, 34 (8): 1428 - 1432.
- [18] 袁媛, 侯雪峰, 封亮, 等. 葛根素对体内外晚期糖基化终末产物形成的抑制作用 [J]. 中草药, 2017, 48 (7): 1386 - 1390.
- [19] Futamura M, Yao J, Li X, et al. Chronic treatment with a glucokinase activator delays the onset of hyperglycaemia and preserves beta cell mass in the Zucker diabetic fatty rat [J]. Diabetologia, 2012, 55 (4): 1071 - 1080.
- [20] 刘芳, 杨华周, 周文江, 等. 诱发性 2 型糖尿病小鼠模型与自发性 db/db 小鼠特性的比较 [J]. 中国实验动物学报, 2014, 22 (6): 54 - 59.
- [21] 吕晶晶, 王彩霞, 魏娜, 等. 自发性 2 型糖尿病小鼠 db/db 的生物学特性 [J]. 沈阳药科大学学报, 2013, 30 (6): 455 - 459.
- [22] 吴静, 王华旻, 李晶, 等. db/db 小鼠的实验室应用 [J]. 生理科学进展, 2013, 44 (1): 12 - 18.
- [23] Albers JW, Pop-Busui R. Diabetic neuropathy: mechanisms, emerging treatments, and subtypes [J]. Curr Neurol Neurosci Rep, 2014, 14 (8): 473.
- [24] 王依慰, 刘清珍, 陈春龙, 等. 白藜芦醇通过降低 NF- κ B p65 乙酰化缓解大鼠神经病理性疼痛 [J]. 中国药理学通报, 2016, 32 (1): 89 - 93.
- [25] 牟健, 陈艳, 周芳, 等. α -硫辛酸与甲钴胺联合治疗糖尿病周围神经病变的疗效及对氧化应激和炎症反应的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2017, 37 (5): 1141 - 1143.

(收稿: 2017 - 07 - 24 在线: 2018 - 07 - 03)

责任编辑: 赵芳芳