

中医药干预糖尿病创面信号通路的研究进展

焦 晶, 张 磊[△]

(上海中医药大学附属曙光医院, 上海 201203)

摘要: **目的** 综述中医药调控糖尿病难愈性创面信号通路的研究进展, 为中医药治疗糖尿病创面的整体优势提供坚实的理论依据。 **方法** 查阅近几年国内外相关的文献资料并总结中医药干预创面愈合信号通路的相关靶点。 **结果** 从中医药干预糖尿病创面的应用、效果评价等方面, 可以看出中医药调控糖尿病创面信号通路具有多靶点、多层次的优势。 **结论** 中医药干预糖尿病创面具有其独特的优势, 可更深一步探讨其作用的靶点和机制。

关键词: 糖尿病; 创面愈合; 中医药; 信号通路

中图分类号: R255.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2014)04-0097-04

创面愈合过程中涉及了多种组织和修复细胞、胞外基质成分以及各种调控因素的参与^[1], 创面不愈或愈合延迟是糖尿病的常见并发症。调节细胞增殖、分化和凋亡的信号转导通路中某一环节的异常, 均可导致糖尿病创面经久不愈、创面加深^[2]。随着近年来分子生物学等学科的发展, 国内外对信号通路的研究逐渐深入, 而中医药在治疗糖尿病难愈性创面方面具有显著的优势, 那么中医药干预糖尿病创面愈合的信号通路的靶点在哪呢? 在此, 本文对中医药干预糖尿病创面愈合的相关细胞信号通路进行综述。

1 愈合过程中的相关信号通路

1.1 丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs)信号通路

MAPK 信号通路采用高度保守的三级激酶级联传递信号: 细胞外刺激通过某些环节使 MKKK 激活, 转而激活 MKK, 然后通过对苏氨酸和酪氨酸双位点磷酸化激活 MAPK。MAPK 通过对底物的磷酸化而发挥其生理病理调节作用。

p38MAPK 通路又被称为“应激诱导”的 MAPK, 可被多种应激刺激活化, 如脂多糖(LPS)、TNF- α 、白介素-1(IL-1)等。^①中药可以抑制 MAPK 通路激活因子的表达。董建勋等研究回阳生肌膏及其新型制剂脂质体凝胶作用于慢性皮肤溃疡大鼠创面, 能

显著降低血清中 TNF- α 和 IL-8 的含量, 表明回阳生肌脂质体凝胶在抗炎方面具有较好的作用^[3]。黄芪提取液外敷糖尿病足部溃疡可以降低渗出液中 IL-1 β 浓度, 使慢性溃疡伤口急性化, 促进成纤维细胞增殖^[4]。^②中药可以抑制 MAPK 的磷酸化。孙文^[5]观察中药三七提取物三七总皂苷(PNS)对体外高糖培养大鼠肾小球足细胞的影响, 发现 PNS 能够调控高糖环境下足细胞 TGF- β 1、p38MAPK 磷酸化、Caspase-3 基因表达, 抑制足细胞凋亡。Wang^[6]等借助链脲佐菌素(STZ)诱导的糖尿病肾病(DN)模型而观察大黄素对 p38MAPK 通路的影响, 结果显示, 大黄素能下调 p38MAPK 的表达, 减少纤维连接蛋白(FN)产生, Zhai L^[7]等人的研究提示在白藜芦醇衍生物抗血管内皮细胞氧化应激分子机制中, 均可降低氧化酶乳酸脱氢酶(LDH)水平、增加超氧化物歧化酶(SOD)、还原型谷胱甘肽(GSH)等抗氧化酶的产生, 同时可使凋亡因子 caspase-3 表达降低, 抑制 MAPK 通路的磷酸化 ERK1/2、磷酸化 JNK 及磷酸化-p38 的表达, 从而起到抗氧化抗炎作用。

1.2 NF- κ B 信号通路

NF- κ B 是一类重要的核转录因子, 为促炎因子, 参与了炎症和凋亡等病理生理过程生长因子的相关信号通路^[8]。孙玉科^[9]研究显示, 糖康能够明显

收稿日期: 2014-03-02

作者简介: 焦晶(1987-), 女, 山西芮城人, 硕士研究生在读, 主要从事周围血管疾病的研究。

[△]通信作者: 张磊, E-mail: see-eye@163.com

抑制糖尿病大鼠视网膜组织 NF- κ B 活性及其下游靶基因 Bax 和 IL-1 β 的表达水平,通过多途径、多靶点拮抗视网膜细胞凋亡和炎症反应,保护视网膜组织,延缓了糖尿病视网膜病变的发生、发展。研究显示,VEGF 的转录受 NF- κ B 信号通道活化的调控,抑制 NF- κ B 信号通道活化可以明显抑制 VEGF 表达及毛细血管形成^[10]。邓茜等^[11]研究发现,黄芩素可以通过抑制高糖诱导的 HK-2 细胞 IKK α /IKK β /P65 通路激活,下调其下游炎症分子 MCP-1、ICAM-1 表达,减少细胞外基质(ECM)成分 Collagen IV 堆积,从而延缓 DN 的发生发展。体内外研究已经发现糖尿病肾病 NF- κ B 信号通路的激活,且中药及中药单体提取物,如人参、黄连素、姜黄素,能够通过抑制 NF- κ B 炎症信号通路及下调其下游炎症因子的表达,延缓及减轻糖尿病肾病^[12-14]。

1.3 Wnt 信号通路

Wnt/ β -catenin 信号通路参与创面愈合的各个方面。通路中最主要的成员即是 β -catenin 和靶基因 c-myc^[15]。Barcelos^[16-17]研究显示,CD133⁺祖细胞能激活 Wnt 信号通路,并通过旁分泌刺激内皮细胞增殖、迁移,促进血管增生而促进糖尿病缺血性溃疡愈合。Fathke C 及 Cheon SS 等^[18-19]的研究指出,Wnt 以及 β -catenin 表达增强,表皮细胞的增殖、分化和迁移能力增强,且创面愈合加快。张彩华等^[20]中药肝复康干预肝纤维化研究显示,肝复康模型组 β -catenin 总蛋白表达增强,核蛋白表达也明显增强;下游的靶基因 Cyclin D1 在纤维化的肝脏中表达增加,经肝复康治疗后表达下降。

1.4 PI3K/Akt 信号通路

既往研究表明,PI3K/Akt 是促进内皮祖细胞(EPCs)增殖、分化的重要途径。VEGF 促进 EPCs 增殖、迁移、粘附的作用是通过 PI3K/Akt 通路上调 eNOS mRNA 的表达而实现的。徐寒松等^[21]采用黄芪多糖及 PI3K 抑制剂 LY294002 干预内皮祖细胞,检测内皮祖细胞磷酸化 Akt 和磷酸化 eNOS 的表达水平,探讨黄芪多糖促进内皮祖细胞增殖和再内皮化能力改善的分子机制。结果显示,黄芪多糖呈剂量依赖性地促进内皮祖细胞增殖,同时增强 Akt-Ser473、eNOS-Ser1177 磷酸化蛋白的表达,而 PI3K 阻断剂 LY294002 能阻断黄芪多糖引起的磷酸化表达,表明

黄芪多糖通过 PI3K/Akt/eNOS 信号途径促进内皮祖细胞的增殖和改善内皮祖细胞内皮化能力。

2 生长因子介导的相关信号通路

2.1 转化生长因子 β (TGF- β)

TGF- β 1 在早中期表达的升高,对促进成纤维细胞合成胶原蛋白、蛋白聚糖、纤维连接蛋白和整合蛋白,增强上皮细胞迁移与成纤维细胞合成细胞外基质有关键性作用,可以促进创面愈合^[22]。阙华发等^[23]采用生黄芪、太子参、桃仁、地龙等组成益气化瘀方,以贝复济为西药对照组,研究发现益气化瘀通络组可上调创面 TGF- β 1、TGF- β R I 的表达水平,下调 smad3、smad4 的表达水平,促进创面愈合。smad 蛋白介导的 TGF- β 信号传导通路和组织纤维化密切相关,smad4 在其信号传导中起关键作用,降低 smad4 蛋白的表达水平,可减轻组织纤维化程度。唐甜等^[24]将大黄素敷于家兔创面研究显示,大黄素剂量依赖性增加 TGF- β 1 mRNA 表达和 TGF- β 1 含量,同时使 Smad 2 和 Smad3 蛋白表达增加,Smad 7 蛋白表达降低,对 Smad4 蛋白水平无明显影响,其机制可能是大黄素通过增强创面合成与释放 TGF- β 1 能力,调节 TGF- β 1 信号传导通路中 Smads 蛋白水平,调控 TGF- β 1 作用靶基因的特异性表达,上调创伤愈合过程中细胞因子水平,从而提高创面愈合速度和质量。

2.2 成纤维生长因子(FGF)

炎症期,巨噬细胞在伤口处合成并分泌碱性成纤维细胞生长因子(bFGF),可刺激成纤维细胞向伤口移动;增生期,成纤维细胞分泌 bFGF,内皮细胞合成 bFGF,刺激细胞增殖和血管生成。作为潜在的血管生成诱导因子,FGF 经 ERK、p38MAPK 以及 Ca²⁺通路刺激内皮细胞的增殖、迁移,影响血管的生成和重塑^[25]。陈平等^[26]建立了大鼠背部污染创面模型,外用生肌玉红膏,生理盐水对照组比较,结果显示,造模后 3d、7d,生肌玉红膏组 bFGF 水平高于对照组;完全愈合时两组含量无差异。王林扬等^[27]研究复黄生肌愈创油膏对大鼠慢性皮肤溃疡模型 bFGF、EGF mRNA 表达的影响,用醋酸氢化可的松造成 SD 大鼠背部慢性体表溃疡模型,随机分为模型对照组、复黄膏治疗组(复 1 组)、小剂量复黄膏治疗对照组(复 2 组)、生肌白玉膏(白玉膏)治疗对照组

(白玉组)和模型组。结果显示,复黄1组创面组织中 EGFmRNA 和 bFGFmRNA 表达水平与模型组、白玉组、复2组相比呈明显上调($P<0.05$),复1组s期细胞数与模型组相比差异有显著意义($P<0.05$)。认为复黄膏促进慢性皮肤溃疡愈合作用与上调 EGFmRNA 和 bFGFmRNA 表达水平有关。

2.3 血管内皮生长因子(VEGF)

VEGF 具有血管内皮细胞增殖因子及血管通透性因子两种特性,它的持续分泌对于加速创伤愈合具有非常重要的意义。VEGF 与其受体(VEGFR)结合后,受体发生自身磷酸化,通过激活 PKC、Ras、ERK 等一系列信号转导发挥生物学效应。阙华发等^[28]研究补益气血方剂对大鼠慢性难愈性创面血管内皮生长因子及血管生成的影响,用醋酸氢化可的松造成大鼠难愈性创面模型,随机分为模型组、四君子汤组、四物汤组和八珍汤组,结果显示,与模型组比较,四君子汤组、八珍汤组和四物汤组创面愈合时间明显缩短($P<0.05$),四君子汤组、四物汤组和八珍汤组 VEGF 表达明显高于模型组($P<0.05$),提示补益气血方剂均能上调 VEGF 的表达水平,诱导血管新生,在一定程度上改善局部组织的缺血状态,促进创面修复愈合。

3 细胞凋亡相关的信号通路

在糖尿病皮肤难愈创面,局部高糖信号糖引起信号通路关键激酶 Ras、Raf 等信号分子表达异常,细胞周期停滞于 G0/G1 期,细胞增殖的乏力可能促发凋亡,增生细胞减少,凋亡细胞增多,显然会破坏创面愈合。Bcl-2 和 Bax 是参与细胞凋亡的基因。李福伦等^[29]通过祛瘀生肌中药对 SD 大鼠糖尿病皮肤溃疡模型创面的干预作用,观察祛瘀生肌中药对凋亡基因 Bax 和 Bcl-2 蛋白水平的影响,结果显示,生肌化腐方1组创面愈合时间较生肌化腐方2组和生理盐水组短($P<0.05$)。创面修复第3天,各组均未检测到 Bax 和 Bcl-2 表达,创面修复第7天和第11天,与生理盐水组和生肌化腐方2组比较,生肌化腐方1组新生肉芽组织中 Bax 和 Bcl-2 呈阳性表达($P<0.05$)。作者认为重用化腐药有利于创面愈合。

4 总结与展望

细胞间的信号转导是机体各种生命活动的基础,糖尿病难愈创面修复过程存在一个极其复杂的

信号网络调控机制,多条通路往往交互作用,相互影响,糖尿病慢性难愈性创面的治疗一直是困扰临床医生的棘手的问题,虽然中医药在治疗糖尿病创面方面取得了较好的效果,但目前对中医药干预糖尿病创面的研究多集中在生长因子方面,因此,进一步加强对中医药干预糖尿病创面信号转导的研究,全面剖析中医药调控糖尿病创面细胞信号转导途径,揭示糖尿病创面难愈的机制,是今后研究的重要内容,能够通过中医药多靶点、多层次的干预为临床治疗提供坚实的理论基础。

参考文献:

- [1] 付小兵,王德文. 现代创伤修复学[M]. 北京:人民军医出版社,1999: 1-10.
- [2] 陆树良. 烧伤创面愈合机制与新技术[M]. 北京:人民军医出版社,2003:10.
- [3] 董建勤,张美吉,路广林,等. 回阳生肌脂质体凝胶促进慢性皮肤溃疡大鼠创面愈合机制的研究[J]. 北京中医药大学学报,2009,32(7):473-476.
- [4] 肖正华,周倩,余绮玲,等. 糖尿病足溃疡渗出液中 IL-1 β 动态变化及黄芪提取液外敷治疗[J]. 广州医学院学报,2008,36(6):11-14.
- [5] 孙文. 三七总皂苷对糖尿病肾病大鼠肾脏保护作用及其对 TGF- β 1/p38MAPK 信号通路影响的实验研究[D]. 北京:北京中医药大学,2010.
- [6] Wang J P, Huang H Q, Liu P Q, et al. Inhibition of phosphorylation of p38 MAPK involved in the protection of nephropathy by emodin in diabetic rats[J]. Eur J Pharmacol, 2006, 553:297.
- [7] Zhai L, Zhang P, Sun P, et al. Cytoprotective effects of CSTMP, a novel stilbene derivative, against H2O2-induced oxidative stress in human endothelial cells[J]. Pharmacol Rep, 2011, 63(6):1469-1480.
- [8] Takayuki Matsumoto, Keiko Ishida. Pyrrolidine Dithiocarbamate Reduces Vascular Prostanoid-Induced Responses in Aged Type 2 Diabetic Rat Model[J]. J Pharmacol Sci, 2009, 110:326-333.
- [9] 孙玉科,石庆华,玛尔孜亚·达尼亚尔,等. 糖康对糖尿病大鼠视网膜组织中 NF- κ B 信号通路的影响[J]. 新疆医科大学学报,2010,33(6):604.
- [10] Shibata A, Nagaya T, Imai T, et al. Inhibition of NF- κ B activity decreases the VEGF mRNA expression in MDA-MB-231 breast cancer cells[J]. Breast Cancer Res Treat, 2003, 73(3):237-243.

- [11] 邓茜. NF- κ B 和 Fcy R 在糖尿病肾病中的作用及黄芩素干预研究[D]. 广州:广州中医药大学,2013.
- [12] Kang KS, Kim HY, Yamabe N, et al. Protective effect of sun ginseng against diabetic renal damage [J]. Biol Pharm Bull, 2006, 29(8):1678-1684.
- [13] Weisberg SP, Leibel R, Tortoriello DV. Dietary curcumin significantly improves obesity-associated inflammation and diabetes in mouse models of diabetes [J]. Endocrinology, 2008, 149(7):3549-3558.
- [14] Liu W, Zhang X, Liu P, et al. Effects of berberine on matrix accumulation and NF- κ B signal pathway in alloxan-induced diabetic mice with renal injury[J]. Eur J Pharmacol, 2010, 638(1-3):150-155.
- [15] Morin PJ, Sparks AB, Korinek V, et al. Activation of beta-catenin-Tcf signaling in colon cancer by mutations in beta-catenin or APC [J]. Science, 1997, 275 (5307):1787-1790.
- [16] Barcelos LS, Duplaa C, Krankel N, et al. Human CD133+ progenitor cells promote the healing of diabetic ischemic ulcers by paracrine stimulation of angiogenesis and activation of Wnt signaling [J]. Circ Res, 2009, 104 (9):1095-1102.
- [17] Chen CH, Dixon RA, Ke LY, et al. Vascular progenitor cells in diabetes mellitus: roles of Wnt signaling and negatively charged low-density lipoprotein [J]. Circ Res, 2009, 104(9):1038-1040.
- [18] Fathke C, Wilson L, Shah K, et al. Wnt signaling induces epithelial differentiation during cutaneous wound healing [J]. BMC Cell Biol, 2006, 7(4):1-9.
- [19] Cheon SS, Wei Q, Gurung A, et al. Beta-catenin regulates wound size and mediates the effect of TGF- β in cutaneous healing[J]. FASEB J, 2006, 20(6):692-701.
- [20] Wnt/ β -catenin 信号通路在肝纤维化中的作用及中药肝复康的干预机制[D]. 大连:大连医科大学,2011.
- [21] 徐寒松, 吴青. 黄芪多糖对 2 型糖尿病患者外周血内皮祖细胞 PI3K/Akt/eNOS 信号通路的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(23):4272-4276.
- [22] 刘志君, 徐辉. 转化生长因子- β 与创伤愈合[J]. 重庆医学, 2004, 33(6):927-929.
- [23] 阙华发, 张臻. 益气化瘀通络法对糖尿病溃疡大鼠 TGF- β 1、TGF- β R I、Smad3、smad4 表达的影响[C]. 2011 年中医外科学术年会论文集, 2011: 67-73.
- [24] 唐 甜, 杨 静. 大黄素对家兔实验性皮肤创伤的促愈合作用及其机制 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2006, 20(2):112-119.
- [25] Pintucci G, Moscatelli D, Saponara F, et al. Lack of ERK activation and cell migration in FGF-2-deficient endothelial cells[J]. FASEB J, 2002, 16(6):598-600.
- [26] 陈平, 张自强, 施展, 等. 生肌玉红膏促进大鼠背部创面愈合的实验研究 [J]. 云南中医中药杂志, 2010, 31(5):58-59.
- [27] 王林扬, 高尚璞. 复黄生肌愈创油膏对大鼠慢性皮肤溃疡模型 bFGF EGFmRNA 表达的影响 [J]. 中医药学刊, 2005, 23(3):431-433.
- [28] 阙华发, 邢捷. 补益气血方剂对大鼠慢性难愈性创面血管内皮生长因子及血管生成的影响 [J]. 中西医结合学报, 2008, 6(10):1049-1053.
- [29] 李福伦, 李斌. 祛瘀生肌法对大鼠糖尿病创面新生肉芽组织中 Bax 和 Bcl-2 的影响 [J]. 中西医结合学报, 2007, 5(6):661-664.

(编辑:徐建平)

The Research Progress of Signaling Pathways of Traditional Chinese Medicine Regulate Diabetic Wound

JIAO Jing, ZHANG Lei

(Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

ABSTRACT: **Objective** This paper summarizes the latest literature, which can offer solid theoretical basis for Traditional Chinese Medicine treatment in diabetic wound. **Methods** This article summarizes the signaling pathways of Traditional Chinese medicine (TCM) regulate diabetic wound through referring to the literature in recent years. **Results** Clinical application and the result evaluation which using TCM treatment in treating Diabetic wound, show the unique advantages of multiple targets and multi-level of TCM regulate diabetic wound. **Conclusion** TCM regulate diabetic wound has its unique advantages, we can further explore its mechanisms.

KEY WORDS: diabetes; wound healing; traditional Chinese medicine; signaling pathways