

糖络宁对糖尿病周围神经病变大鼠 PERK-CHOP-Caspase-12 通路的影响

史浩田 姚伟洁 杨鑫伟 高变娥 李扬帆 许利平

【摘要】 目的 观察糖络宁对糖尿病周围神经病变(diabetic peripheral neuropathy, DPN)大鼠坐骨神经内质网应激相关 PERK-CHOP-Caspase-12 通路的调节作用。**方法** 选用 8 周龄雄性 SD 大鼠,除空白对照组外,采用高脂饲料致高血脂联合链脲佐菌素腹腔注射诱导高血糖致 DPN 大鼠模型。将高脂高糖大鼠随机分为模型对照组、阳性药(氧化三甲胺)对照组、糖络宁低剂量组和糖络宁高剂量组,连续给药 12 周。给药过程中,动态监测大鼠血糖、血脂,确保糖尿病造模成功。12 周后采用免疫荧光法检测坐骨神经中葡萄糖调节蛋白(glucose regulatory protein 78kD, GRP78)、C/EBP 同源蛋白(C/EBP-homologous protein, CHOP)、蛋白激酶样内质网激酶(PKR-like ER kinase, PERK)、caspase-12 和 caspase-3 的表达。**结果** 与空白对照组比较,模型对照组坐骨神经中 GRP78、CHOP、PERK、Caspase-12 和 Caspase-3 的表达均显著升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$);与模型对照组比较,糖络宁低剂量组和高剂量组 GRP78 表达显著升高($P<0.01$),CHOP、PERK、Caspase-12 和 Caspase-3 表达明显降低($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。**结论** 糖络宁防治 DPN 的作用机制与调节坐骨神经中内质网应激相关的 PERK-CHOP-Caspase-12 通路相关蛋白表达而抑制细胞凋亡有关。

【关键词】 糖络宁; 糖尿病周围神经病变; 内质网应激; 蛋白激酶样内质网应激酶; C/EBP 同源蛋白; 半胱天冬酶 12

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2017.03.004

Effect of Tangluoning on PERK-CHOP-Caspase-12 pathway in diabetic peripheral neuropathy rats

SHI Haotian, YAO Weijie, YANG Xinwei, et al. School of Traditional Chinese Meidicine, Capital Medical University, Beijing Key Lab of TCM Collateral Disease Theory Research, Beijing 100069, China

Corresponding author: XU Liping, E-mail: xulp@ccmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To observe the effect of Tangluoning on PERK-CHOP-Caspase-12 pathway of endoplasmic reticulum stress (ERS) in sciatic nerve of diabetic peripheral neuropathy (DPN) rats.

Methods The rat model was induced by high-fat diet and intraperitoneal injected with streptozocin. Rats

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81473642)

作者单位: 100069 北京,首都医科大学中医药学院中医临床方药学系[史浩田(硕士研究生)、姚伟洁(博士研究生)、杨鑫伟(博士研究生)、高变娥(硕士研究生)、李扬帆(博士研究生)、许利平],中医络病研究北京市重点实验室[史浩田(硕士研究生)、姚伟洁(博士研究生)、杨鑫伟(博士研究生)、高变娥(硕士研究生)、李扬帆(博士研究生)、许利平]

作者简介: 史浩田(1989-),2014 级在读硕士研究生。研究方向:中药防治糖尿病周围神经病变的作用及机理研究。E-mail:540890951@qq.com

通信作者: 许利平(1962-),女,博士,教授,博士生导师。研究方向:中医药防治糖尿病。E-mail: xulp@ccmu.edu.cn

with hyperlipidemia and hyperglycemia were randomly divided into model control group, positive control (trimethylamine oxide) group, low dose of Tangluoning group and high dose of Tangluoning group, and then successively administrate for 12 weeks. In the 12 weeks of administration process, blood glucose and blood lipid were dynamically monitored to ensure the success of diabetes model. After 12 weeks, immunofluorescence method was used to measure the expression of GRP78, CHOP, PERK, Caspase-12 and Caspase-3 in sciatic nerve. **Results** The expressions of GRP78, CHOP, PERK, Caspase-12 and Caspase-3 in sciatic nerve were significantly increased in model control group compared those in normal group ($P<0.01, P<0.05$). Compared with model control group, the expressions of GRP78 were increased ($P<0.01$) while the expressions of CHOP, PERK, Caspase-12 and Caspase-3 were decreased in both low dose of Tangluoning group and high dose of Tangluoning group ($P<0.01, P<0.05$). **Conclusion** The prevention and treatment mechanism of Tangluoning on DPN may be related to inhibit sciatic nerve apoptosis by regulating PERK-CHOP-Caspase-12 pathway in endoplasmic reticulum stress.

【Key words】 Tangluoning; Diabetic peripheral neuropathy; Endoplasmic reticulum stress; PERK; CHOP; Caspase-12

糖尿病周围神经病变 (diabetic peripheral neuropathy, DPN) 为糖尿病常见的慢性并发症之一, 有超过一半的糖尿病患者最终会发展成为 DPN^[1]。临床上常常累及 DPN 患者的感觉和运动神经, 使之产生肢体麻木、疼痛, 感觉障碍, 肌肉无力及萎缩, 严重危害糖尿病患者生存质量, 是致残、致死的危险因素^[2]。DPN 的防治已成为糖尿病并发症相关研究的热点问题。研究发现, 内质网应激 (endoplasmic reticulum stress, ERS) 是 DPN 发病的重要发病机制^[3-4]。坐骨神经中的细胞凋亡与 DPN 发生时神经结构异常如轴突萎缩、脱髓鞘等密切相关, 同时也是造成周围神经传导速度降低的关键因素^[5], 而 PERK-CHOP-Caspase-12 通路是诱导内质网应激时细胞凋亡的关键通路^[6]。因此, 课题组观察了中药糖络宁对 ERS 中 PERK-CHOP-CASPASE-12 信号通路的调节作用, 为糖络宁通过调节内质网应激防治 DPN 的作用机理提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物

8 周龄 SPF 级 SD 雄性大鼠, 体质量 (200 ± 20) g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 动物合格证编号: SCXK (京) 2012-0001。

1.2 药物

糖络宁由生黄芪 15 g、山茱萸 15 g、丹参 15 g、狗脊 15 g、川牛膝 12 g、延胡索 12 g、赤芍 12 g 组成, 药材购于安国药材批发市场, 经鉴定符合《中华人民共和国药典》标准, 为正品药材。糖络宁水煎液制备: 按处方剂量经 2 次煎煮, 浓缩制成一定浓度的水煎剂冷

藏备用。

1.3 主要试剂

氧化三甲胺 (317594)、链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ) (S0130), 购自 Sigma-Aldrich; 总胆固醇 (total cholesterol, TC) 测定试剂盒 (361400)、低密度脂蛋白 (Low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 测定试剂盒 (362500)、高密度脂蛋白 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 测定试剂盒 (362410), 购自上海荣盛生物药业; 甘油三酯 (Triacylglyceride, TG) 测定试剂盒 (F001-2), 购自北京北化康泰公司; 兔抗 GRP78 抗体 (sc-376768)、兔抗 CHOP 抗体 (sc-7351)、兔抗 caspase-3 抗体 (sc-5627)、兔抗 caspase-12 抗体 (sc-7148), 购自 Santa Cruz; 山羊抗小鼠 IgG 抗体 (ZF0312); 山羊抗兔 IgG 抗体 (ZF0311), 购自中杉金桥公司; 兔抗 PERK 抗体 (ab156919), 购自 abcam; 胎牛血清 (货号 090904), 购自杭州四季青生物工程材料有限公司; 抗荧光衰减封片剂 (货号 S2100), 购自 Solarbio。

1.4 主要仪器

低温离心机 (Sigma, 3K15); 笔式酸度计 (HANNA, HI98128); 酶标仪 (molecular devices SpectraMax, Plus384); 电子天平 (OHAUS, DV215CD); 荧光显微镜 (尼康, ECLIPSE 80i); 爱科来 GT-1810 型血糖仪, Glucocard G sensor 血糖试纸, 均购自爱科来国际贸易 (上海) 有限公司。

1.5 模型建立、分组与标本采集

SD 大鼠适应性喂养 1 周后, 禁食不禁水后尾尖采血测空腹血糖浓度及血脂浓度, 剔除血糖、血脂不符合要求大鼠, 根据体质量分层随机分为空

白对照组 6 只与高血脂大鼠组 30 只,其中高血脂大鼠组高脂饲料(10% 猪油,20% 蔗糖,2.5% 胆固醇,0.5% 胆酸盐,67% 基础饲料^[6])持续喂养 4 周。4 周后,测量各组大鼠空腹血脂浓度,包括血清 TC、TG、LDL-C、HDL-C,剔除血脂不符合要求的大鼠 1 只。除空白对照 6 只外,高血脂大鼠腹腔注射 STZ[35 mg/kg,用 0.1 mol/L 无菌枸橼酸缓冲液(pH 4.4,4℃,现配)配置成 1% 的浓度]。1 周后禁食不禁水尾尖采血测空腹血糖浓度,空腹血糖浓度 ≥ 16.7 mmol/L 者为糖尿病模型造模成功,稳定一周,剔除血糖不合格的大鼠 1 只。高血糖大鼠随机分为四组即模型对照组、阳性药(氧化三甲胺)对照组、糖络宁低剂量组、糖络宁高剂量组,饲养过程中因血糖过高致死亡的大鼠 4 只,保持每组动物 6 只。阳性药对照组灌服给予氧化三甲胺 110 mg/(kg·d),糖络宁低剂量组、糖络宁高剂量组分别按含生药 5.45 g/(kg·d)及 10.9 g/(kg·d)灌服给药,空白对照组给予普通饲料喂养,其余大鼠给予高脂饲料适量,连续给药 12 周,血糖稳定后每 4 周测一次空腹血糖浓度,每 4 周测一次空腹血脂水平,监测大鼠血糖、血脂水平,确保模型复制成功。其中每四周监测一次痛阈值,监测末次给药 1 小时后,经 10% 水合氯醛麻醉(0.35 g/kg),监测神经传导速度后,腹主动脉取血,全血不抗凝,4℃,3000 rpm,离心 10 分钟,制备血清。取大鼠两侧坐骨神经 10% 甲醛固定,石蜡包埋组织切片,待行免疫荧光染色。

1.6 观察指标

1.6.1 血糖浓度 于造模前及给药后每 4 周,禁食不禁水 8 小时,用血糖仪测定血糖浓度。

1.6.2 血清血脂 于造模前及给药后每 4 周,禁食不禁水 12 小时,大鼠尾尖取血 0.75 mL,离心后取血清,采用血清 TC、TG、LDL-C、HDL-C 测定试剂盒,严格按照说明书中实验步骤,检测血清中血脂水平。

1.6.3 免疫荧光组织化学法染色 将坐骨神经石蜡包埋,切片,按顺序依次浸入二甲苯、无水乙醇、乙醇、蒸馏水及 PBS。于抗原修复盒中加入柠檬酸缓冲液,微波,取出冷却至室温,冷却后用 PBS 冲洗。用胎牛血清 25 μ L 室温封闭 60 分钟,倾去。滴加一抗(0.01 mol/L PBS 稀释,比例 1:50)25 μ L,滴加二抗(0.01 mol/L PBS 稀释,比例 1:200)25 μ L,取出切片,滴加抗荧光衰减封片剂,保湿盒内 4℃ 保存,荧光显微镜观察切片。检测 GRP78、PERK、

CHOP、Caspase-12、Caspase-3 表达情况。

1.7 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计软件完成。计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用方差齐性检验及单因素方差分析,根据方差齐性检验结果,大鼠血糖和 DPN 大鼠 PERK-CHOP-Caspase-12 免疫荧光表达情况方差齐,选择 LSD 检验;大鼠血脂情况方差不齐,用 Tamhane's T2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 糖络宁对 DPN 大鼠血糖的影响

注射 STZ 造模致高血糖后给药 0 周到 12 周,与空白对照组相比,各组血糖明显升高,差异具有显著统计学意义($P<0.01$)。与模型对照组比较,糖络宁高、低剂量组大鼠血糖无明显变化($P>0.05$)。详见表 1。

2.2 糖络宁对 DPN 大鼠血脂的影响

经高脂饲料喂养 4 周后,与空白对照组相比,造模各组血脂(TC、TG、LDL-C 及 HDL-C)水平明显升高,差异有统计学意义($P<0.01$, $P<0.05$),说明形成高脂水平。STZ 造模后给药 4 周、8 周和 12 周后,与空白对照组比较,各组大鼠血脂均明显升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。给药 4 周与 8 周时,糖络宁低剂量组血脂水平与模型组比较有降低趋势,但没有统计学意义($P>0.05$),说明糖络宁降脂作用不明显。详见表 2。

此外,根据测定大鼠鼠尾热痛阈值情况和神经传导速度情况,结合文献^[7-8]和预实验结果,表明 DPN 模型造模成功。

2.3 糖络宁对 DPN 大鼠 PERK-CHOP-Caspase-12 通路的影响

与空白对照组比较,模型对照组 GRP78、PERK、CHOP 免疫荧光水平明显升高,统计学处理有极显著差异($P<0.01$),caspase-12 和 caspase-3 免疫荧光水平显著升高($P<0.05$)。与模型对照组比较,糖络宁低剂量组 GRP78 显著升高($P<0.01$),而 PERK、CHOP、caspase-12 和 caspase-3 免疫荧光水平均有显著降低($P<0.05$);糖络宁高剂量组 GRP78、CHOP、caspase-12 和 caspase-3 免疫荧光水平有显著降低($P<0.05$)。详见表 3。

DPN 大鼠坐骨神经 PERK-CHOP-Caspase-12 通路相关蛋白免疫荧光染色情况如图 1~5。

表 1 大鼠血糖情况 ($\bar{x} \pm s, n=6$, mmol/L)

组别	造模前	造模 DM 成模后给药			
		0 周	4 周	8 周	12 周
空白对照组	4.96±0.75	4.76±0.40	4.23±0.36	4.47±0.55	4.04±0.44
模型对照组	5.01±0.47	21.20±2.52 ^a	29.35±4.47 ^a	24.68±4.36 ^a	24.51±6.43 ^a
氧化三甲胺组	4.81±0.65	21.60±4.70 ^a	28.1±5.65 ^a	23.01±3.55 ^a	25.80±4.86 ^a
糖络宁低剂量组	4.91±0.45	21.98±4.29 ^a	29.51±5.45 ^a	21.09±2.56 ^a	28.07±6.74 ^a
糖络宁高剂量组	4.79±0.87	20.81±4.87 ^a	26.79±6.85 ^a	23.92±5.35 ^a	23.95±5.3 ^a

注:与空白对照组比较,^a $P<0.01$ 。表 2 大鼠血脂情况 ($\bar{x} \pm s, n=6$, mmol/L)

组别	TC	TG	LDL-C	HDL-C
空白组				
造模前	2.23±0.33	0.99±0.19	1.64±0.27	0.70±0.07
高脂饲料喂养 4 周	2.44±0.36	0.95±0.43	1.49±0.19	0.54±0.07
造模后第 4 周	2.40±0.41	2.07±1.94	1.03±0.21	0.47±0.05
造模后第 8 周	2.60±0.31	1.97±0.64	1.65±2.09	0.52±0.05
造模后第 12 周	2.43±0.48	1.41±0.60	1.57±0.40	0.58±0.15
模型对照组				
造模前	2.25±0.30	1.12±0.29	1.70±0.22	0.60±0.03
高脂饲料喂养 4 周	3.60±0.87 ^a	1.01±0.57	2.31±0.54 ^a	0.70±0.16 ^a
造模后第 4 周	25.13±20.16 ^b	9.70±7.25	11.95±7.63 ^a	5.21±4.31 ^b
造模后第 8 周	11.58±1.81 ^a	4.21±1.47 ^a	8.24±2.93 ^a	4.66±2.16 ^b
造模后第 12 周	9.96±4.17 ^a	6.67±2.38 ^b	8.86±3.73 ^a	3.32±1.51 ^a
氧化三甲胺组				
造模前	2.22±0.10	1.09±0.23	1.64±0.25	0.70±0.08
高脂饲料喂养 4 周	3.48±0.72 ^a	1.23±0.37 ^b	2.50±0.31 ^a	0.79±0.18 ^a
造模后第 4 周	29.29±18.28 ^b	13.41±12.22	14.02±7.59 ^a	7.77±4.9 ^b
造模后第 8 周	12.48±4.72	5.32±1.74 ^a	5.80±1.73 ^b	4.90±1.98
造模后第 12 周	7.73±3.79	8.37±2.06 ^b	9.67±4.98 ^b	4.38±1.49 ^a
糖络宁低剂量组				
造模前	2.24±0.24	1.01±0.14	1.67±0.17	0.68±0.04
高脂饲料喂养 4 周	3.65±0.71 ^a	1.00±0.68	2.46±0.55 ^a	0.72±0.08 ^a
造模后第 4 周	11.90±10.84	5.05±4.48	8.28±6.77	2.83±3.31
造模后第 8 周	6.54±1.75	3.15±1.68	2.61±0.89	3.92±4.94
造模后第 12 周	10.23±3.75 ^b	6.86±2.23 ^b	9.40±4.34 ^b	3.69±1.61 ^b
糖络宁高剂量组				
造模前	2.26±0.49	1.09±0.35	1.61±0.35	0.68±0.08
高脂饲料喂养 4 周	3.68±0.79 ^a	1.19±0.45 ^b	2.41±0.37 ^a	0.70±0.19 ^a
造模后第 4 周	26.65±18.4 ^a	10.79±9.18 ^a	11.42±5.74 ^a	6.01±3.99 ^a
造模后第 8 周	11.88±4.19 ^b	3.93±1.95 ^a	6.13±3.87 ^b	5.09±2.98 ^b
造模后第 12 周	8.54±3.53 ^a	5.30±1.87 ^b	8.01±3.58 ^a	4.35±2.65 ^b

注:与空白对照组比较,^a $P<0.01$,^b $P<0.05$ 。表 3 各组 DPN 大鼠 PERK-CHOP-Caspase-12 表达情况 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

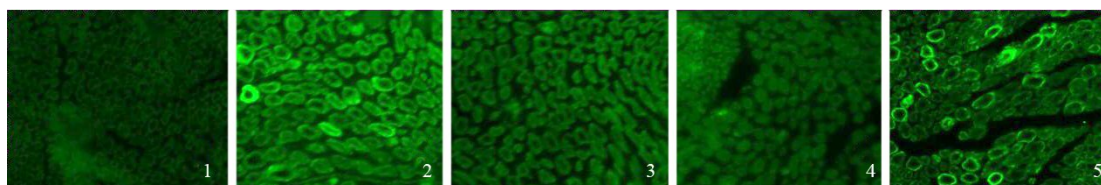
组别	GRP78	PERK	CHOP	Caspase-12	Caspase-3
空白组	124.41±15.86	329.61±59.84	1197.84±208.91	290.46±80.96	164.64±42.08
模型对照组	386.98±42.82 ^a	1176.40±183.26 ^a	10234.11±688.79 ^a	644.63±167.10 ^b	361.31±37.63 ^b
氧化三甲胺组	514.92±47.53 ^{ac}	556.51±86.64 ^{bc}	3280.93±328.78 ^{ac}	326.60±26.50 ^d	234.57±14.61 ^c
糖络宁低剂量组	531.28±58.08 ^{ac}	707.50±43.68 ^{ad}	7104.31±1406.48 ^{ad}	298.75±59.23 ^d	284.70±8.51 ^{ad}
糖络宁高剂量组	481.57±49.39 ^{ad}	726.60±41.90 ^a	6860.78±1626.36 ^{bd}	330.48±77.08 ^d	216.81±29.00 ^d

注:与空白对照组比较,^a $P<0.01$,^b $P<0.05$;与模型对照组比较,^c $P<0.01$,^d $P<0.05$ 。



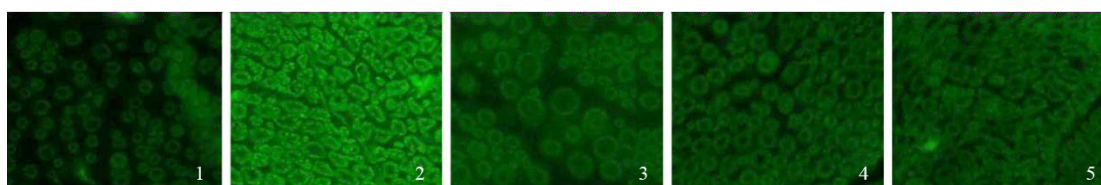
注:1 空白对照组;2 模型对照组;3 氧化三甲胺组;4 糖络宁低剂量组;5 糖络宁高剂量组

图 1 GRP78 免疫荧光染色情况(×400)



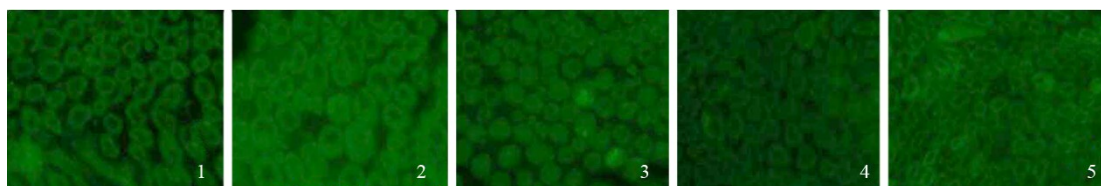
注:1 空白对照组;2 模型对照组;3 氧化三甲胺组;4 糖络宁低剂量组;5 糖络宁高剂量组

图 2 PERK 免疫荧光染色情况(×400)



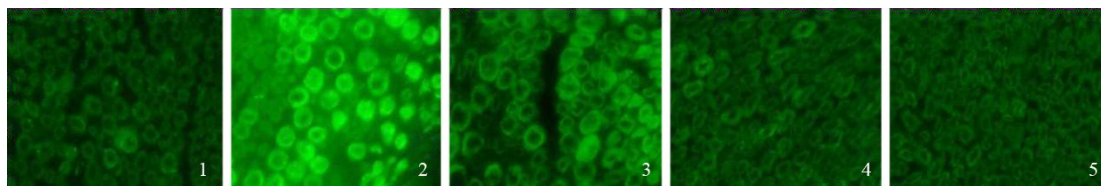
注:1 空白对照组;2 模型对照组;3 氧化三甲胺组;4 糖络宁低剂量组;5 糖络宁高剂量组

图 3 CHOP 免疫荧光染色情况(×400)



注:1 空白对照组;2 模型对照组;3 氧化三甲胺组;4 糖络宁低剂量组;5 糖络宁高剂量组

图 4 caspase-3 免疫荧光染色情况(×400)



注:1 空白对照组;2 模型对照组;3 氧化三甲胺组;4 糖络宁低剂量组;5 糖络宁高剂量组

图 5 caspase-12 免疫荧光染色情况(×400)

3 讨论

随着糖尿病的发病率逐年增高,糖尿病各种并发症的研究也成为研究热点。DPN 是糖尿病最常见的慢性并发症之一,其发病率约为 60%~90%^[9],是造成糖尿病足及截肢的主要原因之一,大约有 15% 的糖尿病患者会由于病情的发展而接受 1 次乃至更多次截肢手术^[10]。糖尿病人一旦发生神经病变,生活质量将受到严重损害。

DPN 的发病机制十分复杂,非单一因素所致。针对 DPN 发病机理目前公认的发病途径有代谢学说、生长因子学说、血管学说、氧化应激学说和其他一些研究较少的学说等^[11-12],发病机制难以述清。在临床治疗 DPN 的过程中,由于受限于其复杂的发病机制,现代医学在治疗 DPN 上有明显的局限性,多针对单一病因或症状^[13],疗效不够显著。

最近研究发现,DPN 发病过程存在 ERS,并且周围神经功能的恢复与 ERS 的缓解相关^[14]。长期

的高血糖、高血脂环境引起过度的 ERS, 激活应激反应的凋亡性途径, 损伤神经细胞的功能, 进一步造成周围神经节段性脱髓鞘, 轴突萎缩, 神经纤维减少等病理性改变, 最终引起 DPN^[5]。课题组选择了 ERS 中的 PERK-CHOP-caspase-12 信号通路为研究对象, 对有效中药糖络宁^[15] 能否缓解 ERS 引起的细胞凋亡进行了实验研究。当机体处于高血糖环境时会导致氧化应激、脂质异常、炎症反应和钙离子紊乱, 它们都会引起过度的 ERS, 这时就会触发未折叠蛋白质反应 (unfolded protein response, UPR)。UPR 是由 GRP78 与 3 种内质网跨膜蛋白所介导, PERK 是 3 种跨膜蛋白之一。受到刺激激活的 PERK 又能激活诱导 DNA 损伤的转录因子 CHOP, 随后内质网应激特异性的死亡蛋白酶 Caspase-12 被激活, 进而激活下游 Caspase-9、Caspases-3, 引发 Caspase 级联反应, 引起细胞凋亡, 造成周围神经损伤。而如果能缓解过度的 ERS, 抑制其凋亡途径, 就会缓解神经纤维功能障碍, 提高坐骨神经传导速度, 会有效地遏制 DPN 的发生发展^[6]。

本研究结果显示, 经过糖络宁的治疗, DPN 模型大鼠坐骨神经 ERS 活化物 GRP78 含量升高, 并且有效地抑制激活 CHOP 及下游凋亡蛋白酶 Caspase 家族的级联反应, 使 PERK、CHOP、Caspase-12 和 Caspases-3 明显降低, 表明糖络宁对 ERS 的 PERK-CHOP-Caspase-12 信号通路有明显改善作用。提示糖络宁对 ERS 可以通过作用于 PERK-CHOP-Caspase-12 信号通路, 抑制细胞凋亡, 对周围神经发挥保护作用, 从而对 DPN 起到防治作用。

DPN 按照中医辨证属于消渴病的变证, 中医古籍中虽无相应的病名, 但根据其临床表现可归属于中医“痹证”“痿证”“痛证”“麻木”等范畴, 符合中医“久病入络”的病理特性, 属于“络病”。在治疗上, 应针对 DPN“久病入络, 络脉瘀阻, 气血运行不畅, 津液代谢障碍”的病理特点, 采用“益气养阴, 化瘀通络”治则。中药复方糖络宁由生黄芪、山茱萸、丹参、狗脊、川牛膝、延胡索、赤芍组成, 以生黄芪、山茱萸益气养阴, 狗脊、川牛膝强壮筋骨, 丹参、赤芍、延胡索活血通络, 全方益气养阴而畅行血脉, 通痹止痛而无破血耗血, 在临床上治疗 DPN 已取得较好的疗效^[15]。前期研究发现, 糖络宁防治 DPN 的作用机制与抗氧化应激^[8] 有关。本研究表明, 糖络宁可影响坐骨神经 ERS 活化物 GRP78 的含量, 并有效地抑制 CHOP 及下游凋亡蛋白酶 Caspase 家族

的级联反应, 可以说明糖络宁调节 DPN 坐骨神经中内质网应激相关的 PERK-CHOP-Caspase-12 通路相关蛋白表达而抑制细胞凋亡, 是糖络宁防治 DPN 的又一作用机制。

参 考 文 献

- [1] Vincent AM, Callaghan BC, Smith AL, et al. Diabetic neuropathy: cellular mechanisms as therapeutic targets [J]. *Nature Reviews Neurology*, 2011, 7(10):573-83.
- [2] Bril V. Neuromuscular complications of diabetes mellitus [J]. *Continuum (Minneapolis)*. 2014, 20(3):531-544.
- [3] Sun LQ, Xue B, Li XJ, et al. Inhibitory effects of Salvianolic acid B on apoptosis of Schwann cells and its mechanism induced by intermittent high glucose [J]. *Life science*, 2012, 90(3):99-108.
- [4] Jiang X, Bai Y, Zhang Z, et al. Protection by sulforaphane from type 1 diabetes-induced testicular apoptosis is associated with the up-regulation of Nrf2 expression and function [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2014, 279(2):198-210.
- [5] Lupachyk S, Watcho P, Obrosova AA, et al. Endoplasmic reticulum stress contributes to prediabetic peripheral neuropathy [J]. *Experimental neurology*, 2013, 247(9):342-348.
- [6] Mantuano E, Henry K, Yamauchi T, et al. The unfolded protein response is a major mechanism by which LRPI regulates Schwann cell survival after injury [J]. *The Journal of Neuroscience*, 2011, 31(38):13376-13385.
- [7] 张亚非. II 型糖尿病实验模型 [J]. *国外医学卫生学分册*, 2000, 6(27):328.
- [8] 姚伟洁, 杨鑫伟, 李倩琴, 等. 糖络宁对 STZ 诱导 DPN 大鼠氧化应激的影响 [J]. *中国中医急症*, 2015, (12):2087-2089.
- [9] 李军, 宋滇平. 糖尿病周围神经病变的中医临床研究进展 [J]. *环球中医药*, 2009, 2(6):418-421.
- [10] 高彦彬, 周晖, 张涛静, 等. 糖络宁治疗糖尿病周围神经病变临床研究 [J]. *中华中医药杂志*, 2013, (6):1673-1677.
- [11] 施君, 张文川. 糖尿病周围神经病变发病机制的研究进展 [J]. *上海交通大学学报 (医学版)*, 2012, (1):116-119.
- [12] 蔡洁, 董继宏, 汪昕. 糖尿病周围神经病变发病机制的研究进展 [J]. *中国临床医学*, 2007, 14(3):302-305.
- [13] 李惠林, 李金花. 糖尿病周围神经病变中西医结合治疗概况 [J]. *中医药信息*, 2010, 27(2):100-103.
- [14] Özcan U, Cao Q, Yilmaz E, et al. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes [J]. *Science*, 2004, 306(5695):457-461.
- [15] 夏晶, 高彦彬, 李步满, 等. 糖络宁治疗糖尿病周围神经病变的临床观察 [C]//中华中医药学会. 第十二届全国中医糖尿病大会论文汇编, 2010:7.

(收稿日期: 2016-10-19)

(本文编辑: 王馨瑶)