

厚朴酚通过 MAPK/NF- κ B 信号通路改善 1 型糖尿病模型小鼠的心肌损伤

陈 雄, 虞伟慧, 龚小花, 周 琦, 陈咨苗, 叶婷婷*

温州医科大学附属第一医院 内分泌科, 浙江 温州 325000

摘要:目的 研究厚朴酚改善链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导的 1 型糖尿病小鼠糖尿病心肌病(DCM)的作用机制。方法 采用 STZ 诱导的 1 型糖尿病小鼠模型,造模成功后分别 ig 给予厚朴酚 10、20 mg/kg,连续给药 12 周。采用酶联免疫反应检测血清肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)和乳酸脱氢酶(LDH)水平;采用苏木素-伊红(HE)染色和 Masson 染色观察心肌组织病理学损伤;采用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测心肌组织肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-6(IL-6) mRNA 表达;Western blotting 法检测心肌组织丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路中细胞外调节蛋白激酶(ERK)、c-Jun 氨基末端激酶(JNK)和 p38 磷酸化水平和核转录因子- κ B(NF- κ B)信号通路中 NF- κ B 抑制蛋白(I κ B)表达水平。结果 与对照组比较,模型组小鼠心脏血清学功能性指标 CK、CK-MB 和 LDH 水平增高($P < 0.05$),心脏出现病理学损伤,伴随 IL-6 和 TNF- α mRNA 表达水平升高($P < 0.05$),ERK、JNK 和 p38 磷酸化水平增加($P < 0.05$)以及 I κ B 降解增多($P < 0.01$)。厚朴酚组小鼠 CK、CK-MB 和 LDH 水平降低,与模型组比较差异显著($P < 0.05$)。厚朴酚能够改善高血糖诱导的小鼠心脏血清学指标异常及组织病理学损伤,降低小鼠心肌组织中 IL-6 和 TNF- α 表达水平($P < 0.05$),缓解糖尿病引起的心肌组织炎症反应,抑制心肌组织中 MAPK 信号通路信号分子(ERK、JNK 和 p38)的磷酸化以及减少 NF- κ B 信号通路中 I κ B 降解,且厚朴酚 20 mg/kg 组较 10 mg/kg 组作用显著。结论 厚朴酚通过影响 MAPK/NF- κ B 信号通路降低 1 型糖尿病小鼠心肌炎症反应并改善其心肌损伤。

关键词: 厚朴酚; 1 型糖尿病; 糖尿病心肌病; 炎症; MAPK/NF- κ B 信号通路

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)22-4719-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.22.020

Protective effects of magnolol against cardiac injuries via attenuating of mitogen-activated protein kinase (MAPK)/nuclear factor κ B (NF- κ B)-mediated inflammatory response in type 1 diabetic mice

CHEN Xiong, YU Wei-hui, GONG Xiao-hua, ZHOU Qi, CHEN Zi-miao, YE Ting-ting

Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China

Abstract: Objective To investigate the protective effects and mechanism of magnolol on diabetic cardiomyopathy in type 1 diabetic mice. **Methods** Using type 1 diabetic mice induced by streptozotocin (STZ), the mice in the magnolol-treated groups were treated intragastrically (ig) with magnolol by the dose of 10 mg/kg or 20 mg/kg respectively. After 12-week treatment, animals were then euthanized. The levels of creatine kinase (CK), MB isoenzyme of creatine kinase (CK-MB) and lactate dehydrogenase (LDH) in serum were detected by enzyme-linked-immunosorbent serologic assay (ELISA). The histopathology of heart tissue was detected by hematoxylin and eosin (HE) and Masson staining. Inflammatory cytokines, such as tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin 6 (IL-6) were evaluated by qRT-qPCR assay. The alteration of MAPK and NF- κ B signaling pathway was detected by Western blotting. **Results** Compared with the control group, the mice in diabetic group showed a significantly increase in the level of CK, CK-MB and LDH in serum ($P < 0.05$), and cardiac pathological lesions were also observed. With the TNF- α and IL-6 mRNA expression in cardiac tissue increased ($P < 0.05$), extracellular regulated protein kinases (ERK), C-Jun N-terminal kinase (JNK) and P38 phosphorylation level, as well as I κ B degradation, were significantly increased in type 1 diabetic mice model. Compared with the model group, the level of cardiac serum markers (CK, CK-MB, and LDH) of mice in the magnolol-treated groups was significantly decreased ($P <$

收稿日期: 2017-07-04

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(81600659);温州市公益性科技计划项目(Y20160306);温州市科技计划项目(Y20140687, Y20140683)

作者简介: 陈 雄(1981—),男,主治医师,研究方向为中药与糖尿病并发症。Tel: (0577)55579382 E-mail: chasescx@126.com

*通信作者 叶婷婷(1983—),女,主治医师,讲师。Tel: (0577)55579382 E-mail: yetingting382@126.com

0.05)。Also, magnolol can improve the abnormalities of serum indexes and histopathological damage induced by diabetes in mice. It reduced cardiac tissue TNF- α and IL-6 mRNA expression level ($P < 0.05$). In addition to I κ B degradation, phosphorylation of ERK, JNK and p38 were inhibited by treatment with magnolol ($P < 0.05$). Moreover, the effect of dosage 20 mg/kg magnolol was significantly superior to 10 mg/kg magnolol on the reduction of I κ B degradation in NF- κ B signaling pathway ($P < 0.05$). **Conclusion** Magnolol could attenuate the inflammation-mediated diabetic myocardial injuries via inhibiting activation of MAPK/NF- κ B signaling pathway.

Key words: magnolol; type 1 diabetes; diabetic cardiomyopathy; inflammation; MAPK/NF- κ B signaling pathway

糖尿病心肌病(diabetic cardiomyopathy, DCM)是一种独立于高血压、冠状动脉疾病和其他心血管疾病的特异性心肌病,这一概念是由 Rubler 等^[1]在 1972 年首先提出。DCM 病理表现为心肌细胞的肥大凋亡及心肌间质纤维化^[2],发病机制包括多元醇通路异常、糖基化终末产物增多、氧化应激、炎症反应等^[2]。目前研究显示慢性炎症在 DCM 的病理进程中扮演了重要的角色^[3-4]。高血糖能够显著激活心肌细胞中丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)/核转录因子- κ B(NF- κ B)炎症通路,促进炎症因子表达,继而发生心肌细胞肥大凋亡、胶原沉积、心肌纤维化等病理改变^[5]。

厚朴酚是从传统中药厚朴中提取的活性有效成分之一,具有多种药理活性,包括抗炎、抗氧化、抗菌等作用^[6]。有学者研究发现厚朴酚可以在一定程度上缓解 2 型糖尿病并阻止糖尿病并发症的发展^[7-8]。但厚朴酚对 1 型糖尿病 DCM 的作用研究较少见于报道。本实验利用 1 型糖尿病小鼠模型初步探讨厚朴酚缓解 DCM 的作用机制,为 1 型糖尿病的心血管并发症提供新的治疗策略。

1 材料

1.1 药物、试剂及仪器

链脲佐菌素(STZ)购自 Sigma 公司(批号 S0130,溶液配制:将 STZ 溶于 pH 值为 4.2 的柠檬酸/柠檬酸钠 0.1 mol/L 缓冲液中);厚朴酚(批号 314417,质量分数 98%)购自上海百灵威科技有限公司;羧甲基纤维素钠购自 Sigma 公司;肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)和乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所;Trizol、M-MLV 逆转录试剂盒和荧光定量测定试剂盒均购自 Invitrogen 公司;细胞外调节蛋白激酶(ERK)、pERK、c-Jun 氨基末端激酶(JNK)、pJNK、核转录因子- κ B 抑制蛋白(I κ B)及 GAPDH 抗体购自 Santa Cruz 公司;兔多抗 p-p38 和 p38 抗体购自 Cell signaling 公司;辣根过氧化物酶(HRP)标记山羊抗兔 IgG 抗体(二抗)和 HRP 标记的驴抗山

羊 IgG(二抗)、ECL 曝光液、苏木素-伊红(HE)染色与 Masson 染色试剂盒均购自上海碧云天生物技术公司。

血糖仪及血糖试纸均为德国贝朗公司产品;RT-1904C 半自动生化分析仪为雷杜仪器有限公司产品;石蜡包埋机及切片机为 Leica 公司产品;SpectraMax M2 型酶标仪及低温高速离心机为 Thermo 公司产品;电泳、凝胶成像仪器及逆转录 PCR 仪为 BioRad 公司产品;荧光定量 PCR 仪为 Eppendorf 公司产品;HH-4 数显恒温水浴锅为江南仪器厂公司产品;QT-3 多功能摇床为上海琪特分析仪器公司产品;正置荧光显微镜为 Nikon 公司产品。

1.2 实验动物

46 只雄性 C57BL/6 小鼠,体质量 20~22 g,购自上海斯莱克实验动物有限公司,动物许可证号 wydW(沪)2014-0058。

2 方法

2.1 1 型糖尿病小鼠模型制备、分组及给药

C57BL/6 小鼠于 SPF 动物房适应性饲养 1 周后尾静脉取血检测基线空腹血糖。随机分出 10 只为对照组,剩余 36 只作为模型组和给药组。模型组和给药组小鼠 ip 给予 STZ 100 mg/kg,对照组小鼠 ip 等量柠檬酸缓冲液(pH 值 4.5),自由取食取水 1 周后尾静脉取血检测空腹血糖,血糖高于 16.7 mmol/L 的小鼠视为造模成功。6 只小鼠造模失败予以排除,30 只造模成功小鼠随机分为模型组、厚朴酚低剂量组(10 mg/kg)和高剂量组(20 mg/kg),每组 10 只。给药组小鼠每天 ig 给予厚朴酚(10、20 mg/kg),对照组和模型组小鼠 ig 等量 0.5%羧甲基纤维素钠,连续给药 12 周。每 2 周检测小鼠血糖(方法同前)和体质量,给药结束后处死小鼠并收集血液和心脏组织。

2.2 小鼠血清中心脏功能性指标检测

收集小鼠外周全血,4 °C、3 000 r/min 离心 10 min,按照试剂盒说明书检测血清中心脏功能性指标 CK、CK-MB 和 LDH 的水平。

2.3 qRT-PCR 检测小鼠心肌炎症因子表达

取适量小鼠心肌组织 (约 100 mg), 制备匀浆, 按照 Trizol 说明书提取心肌组织总 RNA。使用 M-MLV 逆转录试剂盒合成 cDNA, 取制备的 cDNA 反应液 2 μ L (保证内参及目的基因 Ct 值在 10~40) 为模板, 按照荧光定量测定试剂盒说明书配制反应体系。PCR 扩增条件为 95 $^{\circ}$ C、2 min; 变性 95 $^{\circ}$ C、15 s, 退火 60 $^{\circ}$ C、30 s, 40 个循环。每次反应均设 3 个复孔, 检测心肌组织中的炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和白细胞介素 6 (IL-6) mRNA 表达。引物序列: TNF- α : 上游 5'-TGATCCGCGACGTGG-AA-3', 下游 5'-ACCGCCTGGAGTTCTGGAA-3'; IL-6: 上游 5'-GAGGATACCACTCCCAACAGACC-3', 下游 5'-AAGTGCATCATCGTTGTTTCATACA-3'; β -actin: 上游 5'-CCGTGAAAAGATGACCCAGA-3', 下游 5'-TACGACCAGAGGCATACAG-3'。

2.4 小鼠心肌组织病理学检测

2.4.1 HE 染色 将小鼠心肌组织以 4% 多聚甲醛固定 24 h, 石蜡包埋, 5 μ m 切片。80 $^{\circ}$ C 烤片 0.5 h, 二甲苯脱蜡, 乙醇梯度水化, 按照 HE 染色说明书进行染色, 二甲苯透明, 中性树胶封片。正置显微镜下观察心肌组织病理变化。

2.4.2 Masson 染色 将小鼠心肌组织以 4% 多聚甲醛固定 24 h, 石蜡包埋, 5 μ m 切片。80 $^{\circ}$ C 烤片 0.5 h, 二甲苯脱蜡, 乙醇梯度水化, 按照 Masson 染色

说明书进行染色, 正置显微镜检测心肌纤维化水平。

2.5 小鼠心肌组织 MAPK、NF- κ B 信号通路的磷酸化水平检测

小鼠处死后取心肌组织匀浆, 4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 10 min 取上清, 考马斯亮蓝检测蛋白浓度并配平, Western blotting 法检测 MAPK 信号通路分子及其磷酸化水平 (pERK、ERK、pJNK、JNK、p-p38 及 p38) 和 NF- κ B 信号通路分子 I κ B 降解水平。转膜后一抗孵育过夜, TBST 洗净后孵育二抗 1 h, 曝光仪检测蛋白表达, 测定目的和内参条带的积分吸光度值。

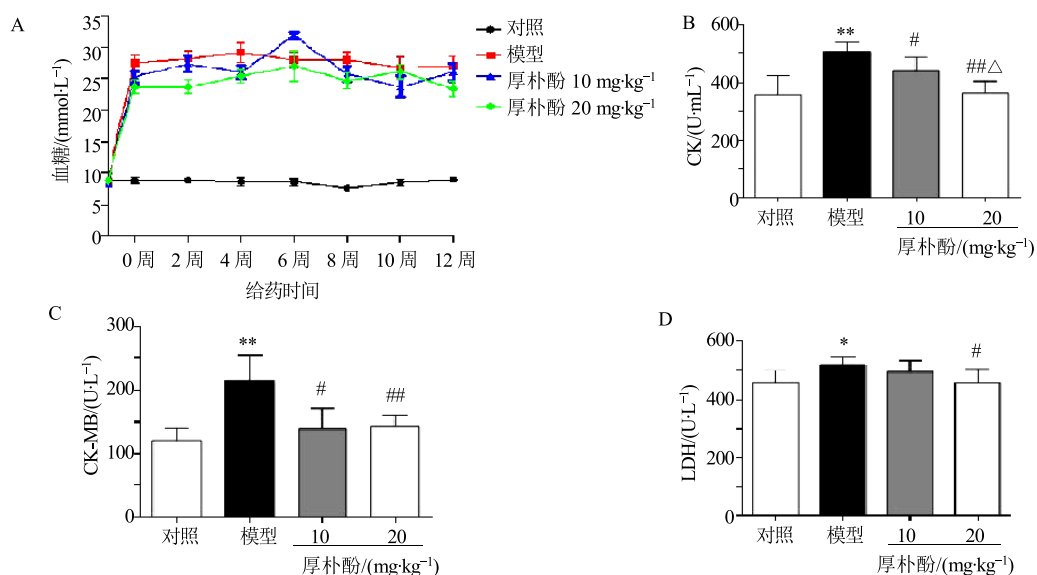
2.6 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 Graphpad Prism 5.0 软件作图并统计, 组间差异采用 Bonferroni 校正的 t 检验。

3 结果

3.1 厚朴酚对 1 型糖尿病小鼠血糖及心脏功能性指标的影响

规律检测空腹血糖发现厚朴酚给药组血糖稍有下降趋势, 但与模型组比较无显著差异。与对照组比较, 模型组小鼠血清中 CK、CK-MB 和 LDH 水平显著增加 ($P < 0.05$ 、0.01)。厚朴酚低剂量组能显著降低糖尿病小鼠 CK 和 CK-MB 水平 ($P < 0.05$)。厚朴酚高剂量组能显著降低糖尿病小鼠 CK、CK-MB 和 LDH 水平 ($P < 0.05$ 、0.01)。厚朴酚高剂量组较低剂量组降低 CK 的效果更为明显 ($P < 0.05$), 结果见图 1。



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$; 与厚朴酚 10 mg·kg⁻¹ 组比较: △ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$, 下同
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group; △ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$ vs magnolol 10 mg·kg⁻¹ group, same as below

图 1 厚朴酚对 1 型糖尿病小鼠血糖 (A) 及心脏功能性指标 (B、C、D) 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

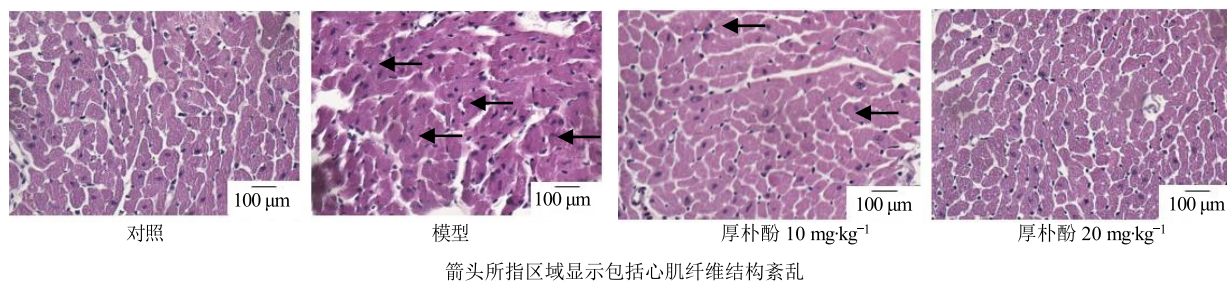
Fig. 1 Effects of magnolol on plasma glucose (A) and myocardial injury indexes (B, C, and D) in type 1 diabetic mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

3.2 厚朴酚对 1 型糖尿病小鼠心肌组织病理学损伤的影响

HE 染色检测小鼠的心肌病理变化,发现对照组小鼠心肌排列整齐,细胞核明显,染色均匀,未见肌纤维肥大、断裂。模型组小鼠心肌纤维损伤、断裂明显,并可见较多小坏死灶。厚朴酚给药组与模型组相比细胞断裂、坏死程度明显减轻,细胞形态大体完整。厚朴酚高剂量组较低剂量组显示出更好地缓解糖尿病心肌组织病理形态学损伤的效果

(图 2)。

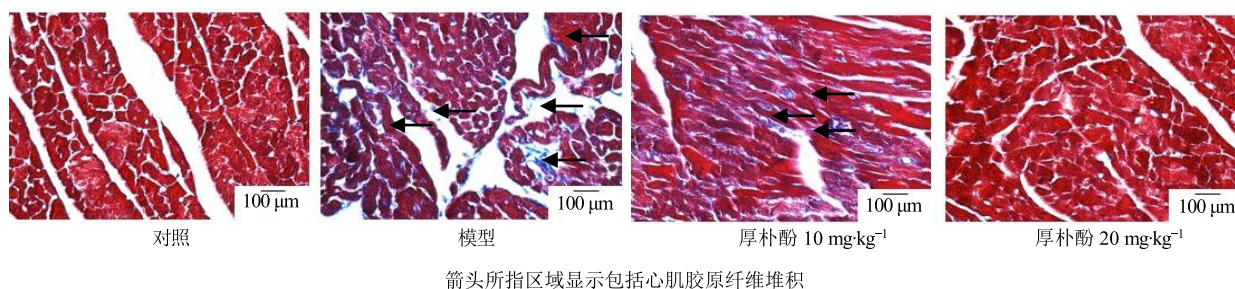
Masson 染色检测小鼠心肌组织纤维化水平。对照组小鼠红色的肌纤维排列整齐有序,亮蓝色的胶原纤维分布均匀、量少。模型组小鼠心肌细胞与对照组相比红色的肌纤维断裂、损伤明显,胶原纤维表达量明显增加,厚朴酚给药组小鼠与模型组相比红色的肌纤维结构大体完整,胶原纤维表达量减少。厚朴酚高剂量组小鼠心肌细胞的胶原纤维表达较低剂量组更少(图 3)。



箭头所指区域显示包括心肌纤维结构紊乱
The regions pointed by the arrow show disorders of the cardiac fiber structure

图 2 厚朴酚对 1 型糖尿病小鼠心肌组织病理形态学损伤的影响

Fig. 2 Effects of magnolol on histological abnormalities of cardiac tissue in type 1 diabetic mice by HE staining



箭头所指区域显示包括心肌胶原纤维堆积
The regions pointed by the arrow show deposition of the cardiac collagen fiber

图 3 厚朴酚对 1 型糖尿病小鼠心肌组织纤维化的影响

Fig. 3 Effects of magnolol on myocardial fibrosis in type 1 diabetic mice by Masson staining

3.3 厚朴酚对 1 型糖尿病小鼠心肌组织炎症因子的影响

采用 qRT-PCR 检测小鼠心肌炎症因子的表达情况,结果表明,与对照组比较,模型组小鼠 TNF- α 、IL-6 mRNA 表达水平明显升高 ($P < 0.01$),而厚朴酚给药组能有效抑制高糖诱导的心肌组织中 TNF- α 和 IL-6 mRNA 的高表达。并且厚朴酚高剂量组与低剂量组相比,对于 TNF- α 具有更好的抑制效果 ($P < 0.01$),结果见图 4。

3.4 厚朴酚对 1 型糖尿病小鼠心肌组织 MAPK/NF- κ B 信号通路的影响

Western blotting 法检测小鼠心肌组织 MAPK 信号通路磷酸化水平,发现模型组小鼠心脏组织中 pERK、pJNK 及 p-p38 磷酸化水平较对照组明显升

高 ($P < 0.01$),厚朴酚给药组 pERK、pJNK 及 p-p38 磷酸化水平较模型组均显著降低 ($P < 0.05$),在抑制 JNK 和 P38 的磷酸化方面,厚朴酚高剂量组的作用强于低剂量组 ($P < 0.05$)。模型组小鼠心肌组织 I κ B 降解较对照组显著增多 ($P < 0.01$),在给予厚朴酚治疗后 I κ B 降解减少 ($P < 0.01$),厚朴酚高剂量组的抑制降解作用比低剂量组更明显 ($P < 0.05$,图 5)。

4 讨论

近年来越来越多的研究证明,持续性高血糖会诱导心肌炎症因子及趋化黏附因子表达增高以及炎性细胞浸润和聚集,随后导致心肌发生一系列的损伤性病理改变^[9]。本研究证实,在 STZ 诱导的 1 型糖尿病小鼠心肌组织中可见包括肥大与纤维化在内的

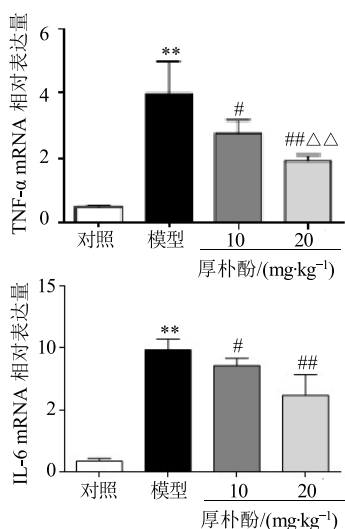


图 4 厚朴酚对 1 型糖尿病小鼠心肌组织炎症因子表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 4 Effects of magnolol on gene expression of inflammatory cytokines in cardiac tissue of type 1 diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

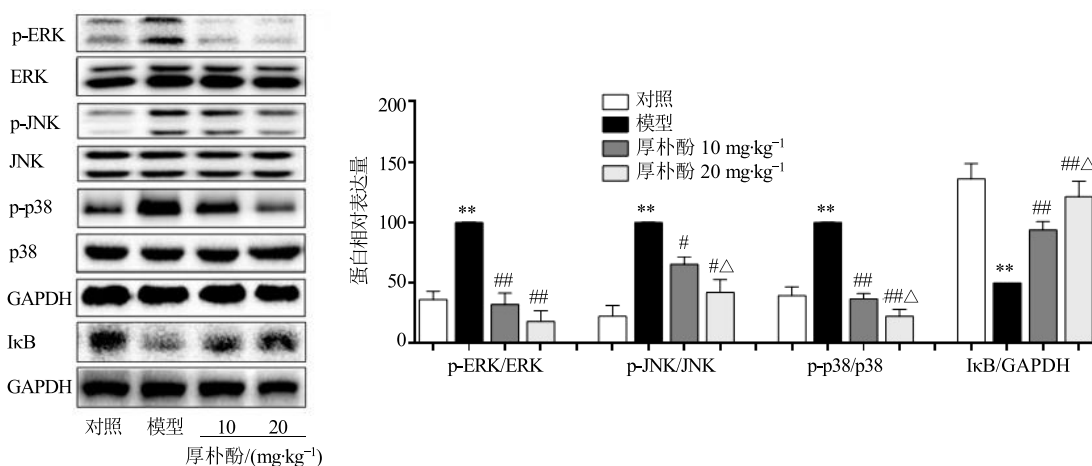


图 5 厚朴酚对 1 型糖尿病小鼠心肌组织 MAPK/NF-κB 通路的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 5 Effects of magnolol on MAPK/NF-κB signaling pathway of cardiac tissue in type 1 diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

解炎症损伤。在糖尿病并发症方面，厚朴酚能有效缓解糖尿病肾病及视网膜病变相关症状^[7-8]。本实验发现厚朴酚在 mRNA 水平显著降低 1 型糖尿病小鼠炎症因子表达 (TNF-α 和 IL-6)，进而抑制炎症反应并缓解心肌病理性损伤，厚朴酚高剂量的改善效果优于低剂量。

作为炎症信号通路的重要组成部分，MAPK 在介导 DCM 在内的慢性炎症方面发挥了关键作用。目前已知 MAPK 有 4 个主要亚族：ERK、JNK、p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38MAPK) 和 ERK5。其中 ERK、JNK 和 p38MAPK 在 DCM 的发生发展过程

显著病理学改变，同时伴随组织炎症因子表达的明显增高，这一结果提示高血糖能诱导心肌组织病理性损伤，并伴随显著的心肌组织炎症反应。研究发现，在 DCM 的进程中，高血糖能够促使心肌发生早期炎症反应，其中炎症因子 TNF-α 与 IL-6 表达升高为首要表现^[3]。TNF-α 与 IL-6 作为促进炎症发生的细胞因子参与多种生物反应，这些反应由包括 MAPK 和 NF-κB 等^[10]在内的信号通路介导，进而出现心肌的肥大和纤维化，最终导致左室重构和心肌病^[11]。

因此抑制慢性炎症是目前 DCM 的重要防治策略。目前一些具有抗炎活性的药物或化合物如羟氯喹^[12]、雷公藤内酯^[13]和吡格列酮^[14]等被用于 DCM 的治疗，并取得了一定的效果。厚朴酚作为传统中药厚朴中提取的重要活性成分之一，目前已被证实具有良好的抗炎活性。在脂多糖 (LPS) 诱导的小鼠巨噬细胞^[15]、TNF-α 诱导的人类肺上皮细胞^[16]中，厚朴酚通过抑制 MAPK 及 NF-κB 信号通路缓

中扮演了重要角色^[17-18]。同时大量体内外研究发现，厚朴酚是通过调控 MAPK 信号通路抑制炎症反应从而缓解组织损伤^[19]。本实验采用 1 型糖尿病小鼠 DCM 模型研究发现，小鼠出现心肌显著的肥大纤维化等损伤时伴随 ERK、JNK 和 p38MAPK 信号通路的磷酸化激活，而厚朴酚能显著抑制上述信号分子的磷酸化，从而达到缓解 DCM 炎症性损伤的效果。有学者发现阿托伐他汀^[20]及 p38MAPK 抑制剂 (SB 203580) ^[21]能有效抑制 p38MAPK 磷酸化从而阻断下游信号分子激活，有效缓解炎症反应并延缓包括 DCM 在内的糖尿病并发症的发生发展。因此

MAPK 通路激活是 DCM 的关键机制,也是厚朴酚改善 DCM 的作用靶点。

此外, NF- κ B 目前被认为是调节促炎因子基因表达的关键转录因子之一。Lee 等^[22]研究证实高糖能显著激活 NF- κ B 信号通路,调节炎症因子表达。Lorenzo 等^[23]发现由高糖导致的 NF- κ B 激活能促进炎症因子表达,从而导致心肌组织病理损伤性改变。因此 NF- κ B 是糖尿病 DCM 的发生发展中发挥重要作用。而 I κ B 作为 NF- κ B 通路关键性抑制蛋白,需降解后 NF- κ B 才能激活,启动下游多种炎症相关基因的表达,故 I κ B 的降解对 NF- κ B 通路的激活至关重要。本研究中糖尿病小鼠心肌组织的 I κ B 显著降解,而厚朴酚能显著抑制 I κ B 降解,厚朴酚高剂量的抑制效果要优于低剂量。这进一步证实了厚朴酚在抑制 MAPK 通路关键信号分子的磷酸化的同时,也通过抑制 I κ B 降解从而抑制 NF- κ B 通路,两者共同作用达到了缓解下游炎症反应的效果。

综上所述,厚朴酚能有效抑制炎症反应缓解 DCM 小鼠心肌肥大及纤维化损伤,且不通过降血糖作用,根据研究结果发现可能通过影响 MAPK/NF- κ B 信号通路活性改善炎症反应并缓解心肌病理性损伤。因此,厚朴酚具有良好的心脏保护作用,具有防治糖尿病并发症的应用开发前景。但厚朴酚缓解 DCM 的具体分子机制尚未阐明,有待在今后的研究中深入探讨。

参考文献

- [1] Rubler S, Dlugash J, Yuceoglu Y Z, *et al.* New type of cardiomyopathy associated with diabetic glomerulosclerosis [J]. *Am J Cardiol*, 1972, 30(6): 595-602.
- [2] Bugger H, Abel E D. Molecular mechanisms of diabetic cardiomyopathy [J]. *Diabetologia*, 2014, 57(4): 660-671.
- [3] Kluppelholz B, Thorand B, Koenig W, *et al.* Association of subclinical inflammation with deterioration of glycaemia before the diagnosis of type 2 diabetes: The KORA S4/F4 study [J]. *Diabetologia*, 2015, 58(10): 2269-2277.
- [4] Westermann D, Rutschow S, Jager S, *et al.* Contributions of inflammation and cardiac matrix metalloproteinase activity to cardiac failure in diabetic cardiomyopathy: The role of angiotensin type 1 receptor antagonism [J]. *Diabetes*, 2007, 56(3): 641-646.
- [5] Herder C, Furstos J F, Nowotny B, *et al.* Associations between inflammation-related biomarkers and depressive symptoms in individuals with recently diagnosed type 1 and type 2 diabetes [J]. *Brain Behav Immun*, 2017, doi: 10.1016/j.bbi.2016.12.025.
- [6] 张勇, 唐方. 厚朴酚药理作用的最新研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2012, 37(23): 3526-3530.
- [7] Sohn E J, Kim C S, Kim Y S, *et al.* Effects of magnolol (5,5'-diallyl-2,2'-dihydroxybiphenyl) on diabetic nephropathy in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats [J]. *Life Sci*, 2007, 80(5): 468-475.
- [8] Kim Y S, Jung D H, Kim N H, *et al.* Effect of magnolol on TGF-beta1 and fibronectin expression in human retinal pigment epithelial cells under diabetic conditions [J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 562(1/2): 12-19.
- [9] Boudina S, Abel E D. Diabetic cardiomyopathy, causes and effects [J]. *Rev Endocr Met Disord*, 2010, 11(1): 31-39.
- [10] Fang Q, Wang J, Wang L, *et al.* Attenuation of inflammatory response by a novel chalcone protects kidney and heart from hyperglycemia-induced injuries in type 1 diabetic mice [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2015, 288(2): 179-191.
- [11] Zarrouk-Mahjoub S, Zaghdoudi M, Amira Z, *et al.* Pro- and anti-inflammatory cytokines in post-infarction left ventricular remodeling [J]. *Int J Cardiol*, 2016, 221: 632-636.
- [12] Wang R, Xi L, Kukreja R C. PDE5 Inhibitor tadalafil and hydroxychloroquine cotreatment provides synergistic protection against type 2 diabetes and myocardial infarction in mice [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2017, 361(1): 29-38.
- [13] Wen H L, Liang Z S, Zhang R, *et al.* Anti-inflammatory effects of triptolide improve left ventricular function in a rat model of diabetic cardiomyopathy [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2013, doi: org/10.1186/1475-2840-12-50.
- [14] Ashoff A, Qadri F, Eggers R, *et al.* Pioglitazone prevents capillary rarefaction in streptozotocin-diabetic rats independently of glucose control and vascular endothelial growth factor expression [J]. *J Vasc Res*, 2012, 49(3): 260-266.
- [15] Schuhly W, Khan S I, Fischer N H. Neolignans from north American magnolia species with cyclooxygenase 2 inhibitory activity [J]. *Inflammopharmacology*, 2009, 17(2): 106-110.
- [16] Liang C J, Lee C W, Sung H C, *et al.* Magnolol reduced TNF-alpha-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression in endothelial cells via JNK/p38 and NF-kappaB signaling pathways [J]. *Am J Chin Med*, 2014, 42(3): 619-637.
- [17] Wang S, Ding L, Ji H, *et al.* The role of p38 MAPK in the

- development of diabetic cardiomyopathy [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, doi: 10.3390/ijms17071037.
- [18] Xu Z, Sun J, Tong Q, *et al.* The role of ERK1/2 in the development of diabetic cardiomyopathy [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, doi: 10.3390/ijms17122001.
- [19] Wang W, Liang D J, Song X J, *et al.* Magnolol inhibits the inflammatory response in mouse mammary epithelial cells and a mouse mastitis model [J]. *Inflammation*, 2015, 38(1): 16-26.
- [20] Van Linthout S, Riad A, Dhayat N, *et al.* Anti-inflammatory effects of atorvastatin improve left ventricular function in experimental diabetic cardiomyopathy [J]. *Diabetologia*, 2007, 50(9): 1977-1986.
- [21] Westermann D, Rutschow S, Van Linthout S, *et al.* Inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase attenuates left ventricular dysfunction by mediating pro-inflammatory cardiac cytokine levels in a mouse model of diabetes mellitus [J]. *Diabetologia*, 2006, 49(10): 2507-2513.
- [22] Lee Y J, Moon M K, Hwang S M, *et al.* Anti-Inflammatory effect of *Buddleja officinalis* on vascular inflammation in human umbilical vein endothelial cells [J]. *Am J Chinese Med*, 2010, 38(3): 585-598.
- [23] Lorenzo O, Picatoste B, Ares-Carrasco S, *et al.* Potential role of nuclear factor kappaB in diabetic cardiomyopathy [J]. *Mediators Inflamm*, doi: 10.1155/2011/652097.