

• 药理与临床 •

白虎加人参汤对 MKR 转基因 2 型糖尿病小鼠创面感染的作用

刘旭¹, 钟国威³, 刘天晟⁴, 喻嵘^{1,2*}, 谭丹妮¹, 向琴¹, 刘秀²

1. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208
2. 中医方证研究转化医学湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410208
3. 湖南大学, 湖南 长沙 410082
4. 湖南师范大学, 湖南 长沙 410081

摘要:目的 探讨白虎加人参汤对 2 型糖尿病动物模型骨骼肌特异性胰岛素样生长因子-1 受体功能缺失 (loss of skeletal muscle-specific insulin-like growth factor-1 receptor function, MKR) 小鼠创面感染的作用及机制。方法 MKR 小鼠经链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ) 干预与创面滴加耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant staphylococcus aureus, MRSA) 悬液, 构建 2 型糖尿病创面感染模型, 随机分为模型组、二甲双胍 (0.11 g/kg) 组和白虎加人参汤低、高剂量 (14、28 g/kg) 组, 采用同龄 FVB/N 小鼠作为对照组, 每组 5 只; 给药 12 d, 每 4 天测量各组小鼠体质量、创面大小、空腹血糖 (fasting blood glucose, FBG); 实验结束后, 采用 ELISA 法检测小鼠血清中胰岛素、C 肽、糖化血清蛋白 (glycated serum protein, GSP)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、IL-1 β 水平, 以及血清与胰腺中超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathion peroxidase, GPx) 活性; 采用苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色观察小鼠胰腺和皮肤创面形态; 采用免疫组化染色观察小鼠皮肤组织核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid-2 related factor 2, Nrf2) 抗原表达; 采用 Western blotting 法检测皮肤组织 Nrf2 和血红素氧合酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1) 蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 白虎加人参汤高剂量组小鼠伤口显著愈合 ($P < 0.01$); 糖代谢水平显著改善 ($P < 0.01$); 血清炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平显著下降 ($P < 0.05$ 、 0.01); 血清与胰腺中抗氧化因子 SOD、CAT 和 GPx 活性显著上升 ($P < 0.05$ 、 0.01); 胰岛 β 细胞凋亡减少 ($P < 0.01$); 皮肤组织中 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$)。**结论** 白虎加人参汤可能通过改善糖代谢、缓解炎症反应、提高抗氧化能力, 保护胰岛 β 细胞的数量与功能, 激活 Nrf2/HO-1 通路, 从而发挥治疗 2 型糖尿病创面感染的作用。

关键词: 白虎加人参汤; MKR 小鼠; 糖尿病; 创面感染; 核因子 E2 相关因子 2/血红素氧合酶-1

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2022)10-3032-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.10.013

Effect of Ginseng-plus-Baihu-Tang on wound infection in MKR transgenic type 2 diabetic mice

LIU Xu¹, ZHONG Guo-wei³, LIU Tian-sheng⁴, YU Rong^{1,2}, TAN Dan-ni¹, XIANG Qin¹, LIU Xiu²

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China
2. Hunan Key Laboratory of TCM Prescription and Syndromes Translational Medicine, Changsha 410208, China
3. Hunan University, Changsha 410082, China
4. Hunan Normal University, Changsha 410081, China

Abstract: Objective To investigate the effect and mechanism of Ginseng-plus-Baihu-Tang (白虎加人参汤, GBHT) on wound infection in type 2 diabetes mellitus (T2DM) with loss of skeletal muscle-specific insulin-like growth factor-1 receptor function (MKR).

收稿日期: 2022-01-31

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82074400); 国家自然科学基金资助项目 (82004185); 湖南省科技厅重点研发计划项目 (2020SK2101); 湖南省教育厅科学研究项目 (20K094, 20B450); 湖南省研究生科研创新项目 (CX20200786)

作者简介: 刘旭, 女, 在读博士生, 研究方向为仲景杂病证治思想及经方应用基础研究。E-mail: liuxu_1721@163.com

***通信作者:** 喻嵘, 教授, 博士生导师, 研究方向为仲景杂病证治思想及经方应用基础研究。E-mail: yuron@21cn.com

Methods MKR mice were intervened with streptozotocin (STZ) and instilled with methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) suspension on wound to establish a wound infection model of T2DM, and then randomly divided into model group, metformin (0.11 g/kg) group, GBHT low- and high-dose (14, 28 g/kg) groups, FVB/N mice of same age were used as control group with five mice in each group; Mice were administered for 12 consecutive days, body weight, wound size and fasting blood glucose (FBG) of mice in each group were measured every four days; After experiment, ELISA was used to detect insulin, C-peptide, glycated serum protein (GSP), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), IL-1 β levels in serum of mice, and activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) in serum and pancreas of mice; Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the morphology of mice pancreas and skin wound; Immunohistochemical staining was used to observe the expression of nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2) antigen in mice skin tissue; Western blotting was used to detect Nrf2 and heme oxygenase-1 (HO-1) protein expressions skin tissue. **Results** Compared with model group, wounds of mice in GBHT high-dose group were significantly healed ($P < 0.01$); Glucose metabolism level was significantly improved ($P < 0.01$); Levels of inflammatory factors TNF- α , IL-6 and IL-1 β in serum were significantly decreased ($P < 0.01, 0.05$); Activities of antioxidant factors SOD, CAT and GPx in serum and pancreas were significantly increased ($P < 0.05, 0.01$); Islet β -cell apoptosis was decreased ($P < 0.01$); Expressions of Nrf2 and HO-1 protein in skin were significantly increased ($P < 0.01$). **Conclusion** GBHT may play a role in the treatment of type 2 diabetes wound infection by improving glucose metabolism, alleviating inflammatory response, increasing antioxidant capacity, protecting the number and function of pancreatic β cells and activating Nrf2/HO-1 pathway.

Key words: Ginseng-plus-Baihu-Tang; MKR mice; diabetes mellitus; wound infection; nuclear factor erythroid-2 related factor 2/heme oxygenase-1

据国际糖尿病联盟最新报告, 2021 年全球糖尿病患者已达 5.37 亿人, 平均每 10 人中就有 1 人为糖尿病患者^[1]。目前, 多达 25% 的糖尿病患者一生面临慢性不愈合伤口的风险, 如糖尿病足溃疡 (diabetic foot ulcers, DFUs) 使患者面临截肢的风险, 这其中有至少 68% 的患者会在 5 年内死亡^[2]。大量的研究表明, 氧化应激在阻止糖尿病患者创面愈合进程中扮演着重要角色^[3-4]。糖尿病创面氧化应激的特点是创面局部活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平显著升高, 这是由于 ROS 的生成途径增加以及 ROS 的清除机制发生紊乱^[5]。适度的氧化应激已被证明有利于细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的生成, 而高水平的 ROS 会阻碍 ECM 的正常合成, 并且对已经存在的 ECM 产生一系列损害, 从而导致糖尿病伤口迁延难愈^[6-7]。核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid-2 related factor 2, Nrf2) 是细胞防御多种应激损伤的关键因子, 在生理条件的 ROS 刺激下, Nrf2 发生磷酸化反应被激活, 进而启动其下游调节蛋白血红素氧合酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1) 共同清除 ROS。但是不受控的、过量生成的 ROS 导致氧化应激, 从而抑制 Nrf2 的激活, 损害细胞功能, 促进多种疾病的发生发展。因此抗氧化应激, 促进 Nrf2、HO-1 的激活表达, 成为改善糖尿病伤口迁延难愈的有效方法。

白虎加人参汤出自东汉张仲景所著《伤寒杂病论》, 是治疗消渴病的经典名方。大量临床应用及本

课题组前期研究表明, 白虎加人参汤具有降血糖、抗炎、抗氧化应激、保护胰岛 β 细胞等作用, 可有效改善糖尿病、延缓相关并发症的发生发展^[8-10]。本研究以链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ) 干预、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant staphylococcus aureus, MRSA) 感染的骨骼肌特异性胰岛素样生长因子-1 受体功能缺失 (loss of skeletal muscle-specific insulin-like growth factor-1 receptor function, MKR) 小鼠为研究对象, 探讨白虎加人参汤对 MKR 小鼠糖代谢、氧化应激、创面愈合等方面的作用, 并且进一步探讨了白虎加人参汤对 Nrf2/HO-1 通路表达的影响, 为糖尿病创面感染治疗及白虎加人参汤的临床应用提供了新思路。

1 材料

1.1 动物与菌株

SPF 级雄性 MKR 小鼠, 体质量 (17 \pm 2) g, 6 周龄, 由美国国立卫生研究院糖尿病研究中心提供, 饲养于湖南中医药大学 SPF 级实验动物中心 [SYXK (湘) 2013-0005]。SPF 级雄性 FVB/N 小鼠, 6 周龄, 体质量 (17 \pm 2) g, 购自北京斯贝福生物技术公司 [SCXK (京) 2019-0010]。小鼠被安置于标准化动物房中, 自由进食饮水。所有动物实验均根据湖南中医药大学实验动物护理和使用指南执行, 经湖南中医药大学第一附属医院实验动物伦理委员会批准 (批准号 ZYFY20201229)。

MRSA 标准菌株 ATCC43300 由湖南大学生物

学院刘斌教授与童春义教授课题组惠赠。

1.2 药材

白虎加人参汤组方药材石膏(批号 SAO247)、知母(批号 202106150)、人参(批号 210429)、炙甘草(批号 210502)饮片购自湖南中医药大学第一附属医院门诊中药房, 粳米为市售。经湖南中医药大学药学院吴勇军副教授鉴定分别为硫酸盐类矿物石膏族石膏、百合科植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bge. 的干燥根茎、五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根和根茎、豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎的炮制品、禾本科植物稻 *Oryza sativa* L. 的干燥种子, 符合《中国药典》2020年版规定。

1.3 药品与试剂

盐酸二甲双胍片(国药准字 H44024853, 批号 2012008, 0.25 g/片)购自深圳市中联制药有限公司; 小鼠胰岛素 ELISA 检测试剂盒(批号 210415)购自上海碧云天公司; 糖化血清蛋白(glycated serum protein, GSP)测定试剂盒(批号 20210317)购自南京建成生物工程研究所有限公司; 小鼠 C 肽 ELISA 试剂盒(批号 210218)购自上海酶联生物科技有限公司; STZ(批号 20210316)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性检测试剂盒(批号 S8211)、过氧化氢酶(catalase, CAT)活性检测试剂盒(批号 C3209)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathion peroxidase, GPx)活性检测试剂盒(批号 G5174)购自北京索莱宝科技有限公司; 白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)检测试剂盒(批号 F26031595)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)检测试剂盒(批号 F27031596)、IL-1 β 检测试剂盒(批号 G13031594)购自武汉华美生物公司; Nrf2 抗体(批号 12721)购自美国 CST 公司; HO-1 抗体(批号 27282-1-AP)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(批号 10494-1-AP)、HRP 标记的山羊抗兔 IgG 抗体(批号 SA00001-2)购自美国 ProteinTech 公司; 多聚甲醛固定液、苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染液购自武汉赛维尔生物科技有限公司。

1.4 仪器

GA-3 型血糖仪(三诺生物公司); 5418R/5702R 型高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); EnSpire 2300 型多功能酶标分析仪(新加坡

PerkinElmer 公司); 8000 型电热恒温培养箱(美国 Thermo Scientific 公司); DYY-6C 型电泳仪(中国北京六一公司); DYCZ-40D 型转膜系统(中国北京六一公司); YP1002N 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司); JSM-6700F 型扫描显微镜(日本 JEOL 公司)。

2 方法

2.1 白虎加人参汤的制备

白虎加人参汤根据《伤寒杂病论》记载, 按照现代剂量换算, 参照普通高等教育“十五”国家级规划教材《方剂学》, 取知母 18 g、石膏 50 g、人参 10 g、炙甘草 6 g、粳米 9 g。以 8 倍量蒸馏水浸泡上述药物 30 min, 煎煮 30 min, 药液留存待用; 投入 6 倍量蒸馏水再次煎煮 30 min, 合并 2 次水煎液, 滤过残渣, 通过旋转蒸馏仪浓缩为含生药量 4 g/mL 浓缩液, 分装保存于 4 °C 备用。经高效液相色谱法测定, 提取物中含钙离子 7.03%、知母多糖 3.82%、芒果苷 2.09%、人参总皂苷 0.36%、甘草酸 0.17%^[8,11]。

2.2 菌液的制备

MRSA 菌株接种于新鲜 LB 培养基中, 在 37 °C 细菌培养箱中培养 24 h。选对数生长期阶段挑取单个生长良好的菌落, 加入 0.85% 无菌生理盐水震荡混匀, 使用浊度仪调整菌液浓度为 1×10^8 CFU/mL, 保存于 4 °C 备用。

2.3 分组、造模与给药

20 只 6 周龄雄性 MKR 小鼠, ip STZ 溶液(40 mg/kg, 用 pH 4.0 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液制备, 用现配), 连续 5 d; 通过尾静脉采血测量空腹血糖(fasting blood glucose, FBG), $FBG \geq 11.1$ mmol/L 的小鼠纳入实验。小鼠 ip 0.3% 戊巴比妥钠溶液(0.1 mL/g)麻醉后, 用脱毛膏脱去背部毛发, 于无菌条件下, 在背部中心制备直径约为 13 mm 的圆形全层创面, 随后在小鼠伤口上滴加 100 μ L MRSA 悬液, 连续感染 2 d 后, 创面红肿, 分泌黄白色脓液, 用无菌棉签蘸取创面渗出液进行平板实验可见大量 MRSA, 提示创面感染模型建立成功^[12-13]。

按照随机数字表法将 20 只创面感染模型小鼠随机分为模型组、二甲双胍(0.11 g/kg)组和白虎加人参汤低、高剂量(14、28 g/kg, 分别相当于临床 1、2 倍剂量)组, 每组 5 只。取 5 只 6 周龄雄性 FVB/N 小鼠, 适应性喂养 1 周, 制备背部创面并感染后, 作为对照组。各给药组 ig 相应药物(10

mL/kg), 对照组和模型组 ig 等体积蒸馏水, 1次/d, 连续 12 d。各组小鼠背部创面以无菌纱布覆盖加创可贴固定, 每日更换干净纱布与创可贴。

2.4 白虎加人参汤对 STZ/MRSA MKR 小鼠体质量的影响

给药第 0、4、8、12 天, 使用小动物体质量秤记录各组小鼠空腹体质量。

2.5 白虎加人参汤对 STZ/MRSA MKR 小鼠伤口变化的影响

在给药第 0、4、8、12 天, 对小鼠背部感染创面拍照记录, 使用游标卡尺测量创面的大小变化, 并计算创面面积 (S)。

$$S = \pi \times a \times b$$

S 为创面面积 (mm^2), a 为创面长轴/2, b 为创面短轴/2

2.6 白虎加人参汤对 STZ/MRSA MKR 小鼠糖代谢的影响

给药第 0、4、8、12 天, 使用血糖仪经尾静脉采血, 测量各组小鼠 FBG; 末次给药后, 通过眼眶采血, 得到血清后按照试剂盒说明书测定小鼠血清胰岛素、血清 C 肽、糖化血清蛋白水平。

2.7 白虎加人参汤对 STZ/MRSA MKR 小鼠全身炎症水平的影响

末次给药结束后, 通过眼眶采血获得血清后, 按照试剂盒说明书测定小鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平。

2.8 白虎加人参汤对 STZ/MRSA MKR 小鼠全身氧化应激水平的影响

末次给药结束后, 通过眼眶采血获得血清后, 按照试剂盒说明书测定小鼠血清 SOD、CAT 和 GPx 活性。

2.9 白虎加人参汤对 STZ/MRSA MKR 小鼠胰腺氧化应激水平的影响

末次给药结束后, 获得新鲜的胰腺组织, 剪取适量组织放入液氮速冻, 后转入 $-85\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存, 临用前加入 10 倍体积提取液进行冰浴匀浆; $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、10 000 r/min 离心 10 min, 取上清, 按检测试剂盒说明书测定小鼠胰组织 SOD、CAT 和 GPx 活性。

2.10 白虎加人参汤对 STZ/MRSA MKR 小鼠胰腺组织病理变化的影响

将新鲜胰腺组织置于 4%多聚甲醛中固定, 脱水、透明后, 用石蜡包埋, 切片和烘干后, 用二甲苯与梯度乙醇脱蜡, 行 HE 染色, 于显微镜下观察并拍照, 并且使用 Image J 8.0 软件进行分析, 测量

各组胰岛面积, 计算各组小鼠单个胰岛的平均面积。

2.11 白虎加人参汤对 STZ/MRSA MKR 小鼠皮肤组织病理变化的影响

剪取小鼠背部皮肤组织, 置于 4%多聚甲醛中固定 24 h 以上, 脱水、透明后, 用石蜡包埋。切片、烘干、脱蜡至水后, 一部分皮肤组织切片进行 HE 染色, 一部分皮肤组织切片经过抗原修复、3% H_2O_2 溶液孵育 10 min 淬灭内源性过氧化物酶活性、5%血清封闭 10 min、一抗 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜、二抗室温孵育 30 min、显色、染核等步骤, 进行 Nrf2 免疫组化染色, 最后在显微镜下观察并拍照。

2.12 白虎加人参汤对 STZ/MRSA MKR 小鼠皮肤组织 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达的影响

剪取适量小鼠背部皮肤组织, 用 SDS 裂解液在生物样品均质仪中研磨裂解皮肤组织, 提取总蛋白。蛋白上清与 loading buffer 混匀并煮沸, 制备变性蛋白待用。电泳 2.5 h, 转膜后用 5%脱脂奶粉封闭, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 过夜; 分别加入 Nrf2 (1:1000)、HO-1 (1:2000)、GAPDH (1:3000) 抗体孵育 90 min, 用 PBST 洗涤 3 次, 加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 抗体 (1:6000) 孵育 90 min, 最后用 ECL 化学发光液显色, 在化学发光成像系统仪内拍照。

2.13 统计学分析

实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 GraphPad Prism 5.0 软件进行数据处理和统计分析, 采用单因素方差分析进行组间比较。

3 结果

3.1 白虎加人参汤对 STZ/MRSA MKR 小鼠体质量的影响

如表 1 所示, 从感染 MRSA 到创面逐渐愈合, 各组小鼠的体质量保持平稳无明显波动, 不具有统计学差异。

3.2 白虎加人参汤对 STZ/MRSA MKR 小鼠伤口变化的影响

如图 1 和表 2 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠创面愈合缓慢, 在给药第 8 天创面面积显著大于对照组 ($P < 0.01$), 并可见创面上覆大量黄色浑浊脓液; 在给药第 12 天创面仍有脓液分泌, 创面面积显著大于对照组 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 给药第 8 天, 二甲双胍组小鼠背部创面一定程度愈合, 创面相对干燥上覆蜜黄色厚痂, 创面面积减小 ($P < 0.05$); 白虎加人参汤低剂量组小鼠创面面积变化较模型组不具有统计学差异, 从图中可见创面呈糜烂

表1 白虎加人参汤对 STZ/MRSA MKR 小鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 1 Effect of Ginseng-plus-Baihu-Tang on body weight of STZ/MRSA MKR mice ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	体质量/g			
		第0天	第4天	第8天	第12天
对照	—	18.18±0.32	19.48±0.82	20.45±0.85	21.10±1.20
模型	—	18.60±3.20	18.80±3.00	19.03±3.47	19.48±3.52
二甲双胍	0.11	19.13±3.17	20.08±2.92	20.73±2.87	21.25±2.25
白虎加人参汤	14	18.55±1.15	19.08±1.42	19.80±1.50	20.50±1.20
	28	18.63±0.57	19.43±0.77	20.23±0.47	20.95±0.45

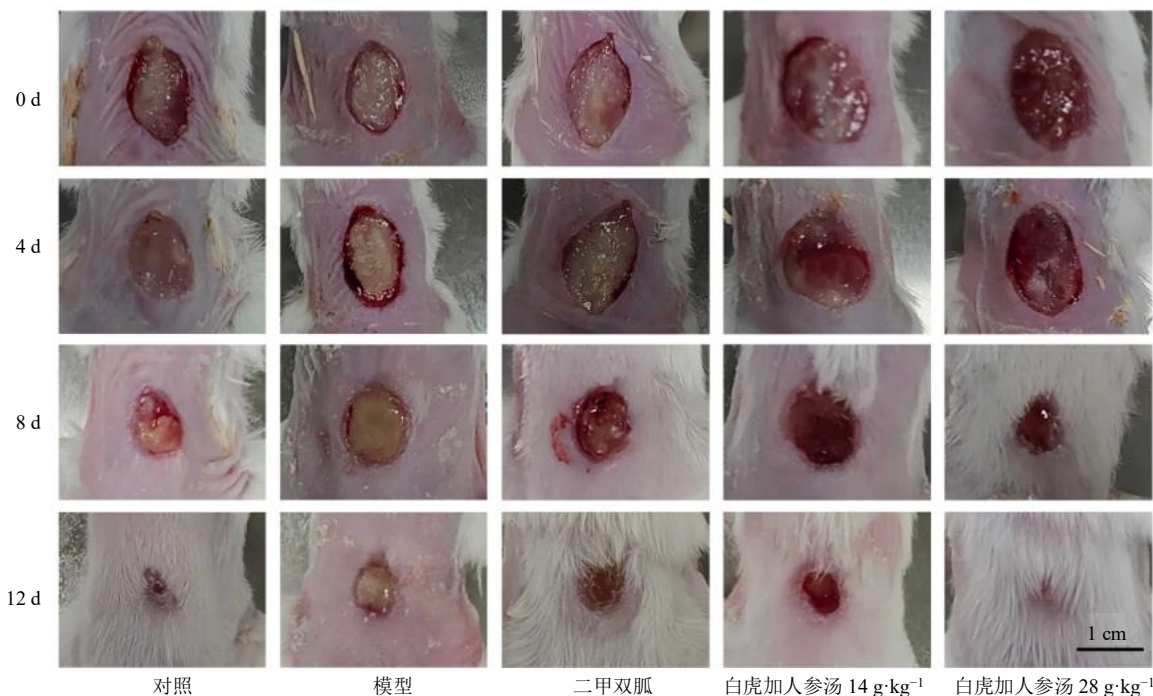


图1 各组小鼠 MRSA 感染创面照片

Fig. 1 Photographs of MRSA infected wounds of mice in each group

表2 白虎加人参汤对 STZ/MRSA MKR 小鼠伤口变化的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 2 Effect of Ginseng-plus-Baihu-Tang on wound changes in STZ/MRSA MKR mice ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	伤口面积/mm ²			
		第0天	第4天	第8天	第12天
对照	—	82.19±4.95	71.02±6.09	20.34±1.86	0.65±0.38
模型	—	82.68±5.40	74.80±7.69	38.71±2.89 ^{##}	11.92±3.47 ^{##}
二甲双胍	0.11	83.07±9.94	69.89±11.99	26.93±11.05 [*]	1.36±0.34 ^{**}
白虎加人参汤	14	82.89±29.71	74.16±19.56	37.64±3.46	8.72±3.26
	28	82.56±8.42	69.07±13.33	20.79±7.75 ^{**}	0.84±1.32 ^{**}

与对照组比较: ^{##}*P*<0.01; 与模型组比较: ^{*}*P*<0.05 ^{**}*P*<0.01, 下表同

^{##}*P*<0.01 vs control group; ^{*}*P*<0.05 ^{**}*P*<0.01 vs model group, same as below tables

状态, 有淡黄色清稀渗液; 白虎加人参汤高剂量组小鼠背部创面显著自愈 (*P*<0.01), 创面仅见少量清澈的血性分泌物, 创面周边毛发恢复生长。给药第12天, 与模型组比较, 二甲双胍组创面显著愈合 (*P*<0.01), 创面干燥结痂, 周边毛发恢复生长; 白虎加人参汤低剂量组小鼠创面干燥、糜烂减轻, 但愈合程度较模型组无统计学差异; 白虎加人参汤

高剂量组小鼠创面显著自愈 (*P*<0.01), 痂吸收脱落, 背部毛发生长基本全面恢复。

3.3 白虎加人参汤对 STZ/MRSA MKR 小鼠糖代谢的影响

如表3所示, 与对照组比较, 模型组小鼠在实验过程中全程处于高血糖状态 (*P*<0.01); 与模型组比较, 给药第8天, 白虎加人参汤高剂量组小鼠

表3 白虎加人参汤对 STZ/MRSA MKR 小鼠 FBG 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 3 Effect of Ginseng-plus-Baihu-Tang on FBG in STZ/MRSA MKR mice ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	FBG/(mmol·L ⁻¹)			
		第0天	第4天	第8天	第12天
对照	—	5.78±0.42	5.93±0.27	5.58±0.22	5.80±0.50
模型	—	11.90±1.10 ^{###}	11.08±1.42 ^{###}	10.20±0.50 ^{###}	9.48±0.62 ^{###}
二甲双胍	0.11	11.88±0.62	10.65±0.55	9.05±0.75	6.63±0.17 ^{**}
白虎加人参汤	14	11.90±0.30	10.95±0.55	9.80±0.80	8.60±0.80
	28	11.98±0.22	10.70±0.60	8.68±0.92 [*]	6.58±0.52 ^{**}

FBG 下降 ($P < 0.05$), 给药第 12 天, 二甲双胍组和 白虎加人参汤高剂量组小鼠 FBG 均显著下降 ($P < 0.01$); 白虎加人参汤低剂量组小鼠 FBG 与模型组 无统计学差异。

如表 4 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠血清 胰岛素、血清 C 肽水平显著下降 ($P < 0.01$), 糖化 血清蛋白含量显著上升 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组小鼠血清胰岛素水平均显著上升 ($P < 0.01$), GSP 水平均显著下降 ($P < 0.05, 0.01$), C 肽 水平无统计学差异。

3.4 白虎加人参汤对 STZ/MRSA MKR 小鼠全身 性炎症水平的影响

如图 2 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠血清 中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平均显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 二甲双胍组和 白虎加人参汤高剂量组小鼠血清中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平均显著下 降 ($P < 0.05, 0.01$), 白虎加人参汤低剂量组无统计

学差异。

3.5 白虎加人参汤对 STZ/MRSA MKR 小鼠全身 性氧化应激水平的影响

如图 3 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠血清 中 SOD、CAT 和 GPx 活性均显著下降 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 二甲双胍组和 白虎加人参汤高剂量组小鼠血清 SOD、CAT 和 GPx 活性显著上升 ($P < 0.05, 0.01$), 白虎加人参汤低剂量组无统计学差异。

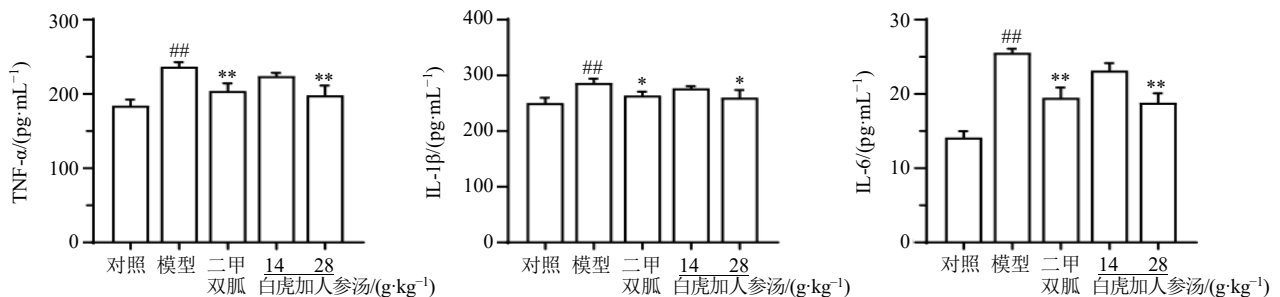
3.6 白虎加人参汤对 STZ/MRSA MKR 小鼠胰腺 氧化应激水平的影响

如图 4 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠胰腺 组织 SOD、CAT 和 GPx 活性均显著下降 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 二甲双胍组小鼠胰腺组织 SOD 和 CAT 活性显著上升 ($P < 0.01$), 白虎加人参汤低剂 量组小鼠胰腺组织 CAT 活性显著上升 ($P < 0.05$), 白虎加人参汤高剂量组小鼠胰腺组织 SOD、CAT 和 GPx 活性均显著上升 ($P < 0.05, 0.01$)。

表4 GBHT 对 STZ/MRSA MKR 小鼠糖代谢的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 4 Effect of Ginseng-plus-Baihu-Tang on glucose metabolism in STZ/MRSA MKR mice ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	胰岛素/(μ U·mL ⁻¹)	C 肽/(ng·mL ⁻¹)	GSP/(mmol·L ⁻¹)
对照	—	49.19±8.56	9.88±1.75	1.47±0.31
模型	—	6.15±1.68 ^{###}	5.64±1.27 ^{###}	5.38±0.74 ^{###}
二甲双胍	0.11	25.10±5.34 ^{**}	7.58±1.01	2.99±0.43 ^{**}
白虎加人参汤	14	19.24±4.43 ^{**}	5.99±1.38	4.03±0.44 [*]
	28	25.72±5.53 ^{**}	8.33±0.66	2.93±0.65 ^{**}



与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$, 下图同
^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group, same as below figures

图2 GBHT 对 STZ/MRSA MKR 小鼠全身性炎症水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 2 Effect of Ginseng-plus-Baihu-Tang on systemic inflammation of STZ/MRSA MKR mice ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

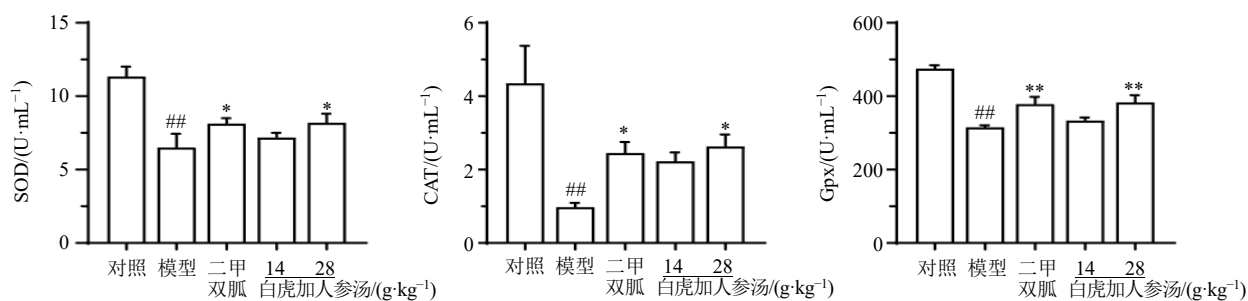


图3 GBHT对STZ/MRSA MKR小鼠全身性氧化应激水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 3 Effect of Ginseng-plus-Baihu-Tang on systemic oxidative stress in STZ/MRSA MKR mice ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

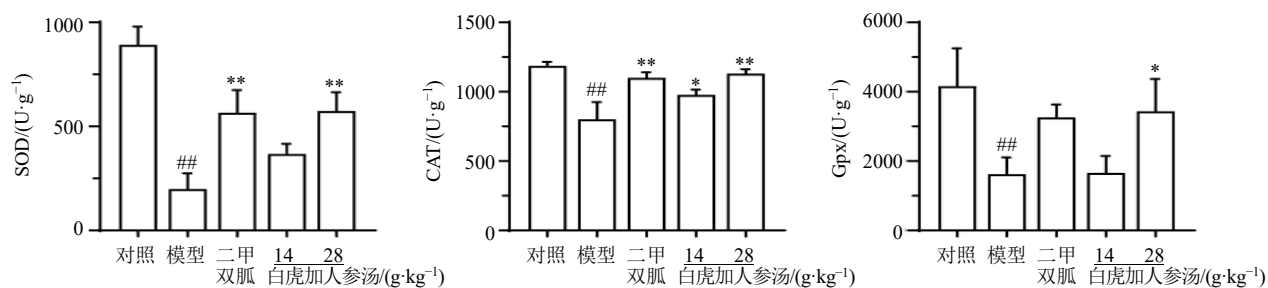


图4 GBHT对STZ/MRSA MKR小鼠胰腺氧化应激水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 4 Effect of Ginseng-plus-Baihu-Tang on pancreatic oxidative stress in STZ/MRSA MKR mice ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

3.7 白虎加入参汤对STZ/MRSA MKR小鼠胰腺组织病理变化的影响

如图5、6所示,对照组小鼠的胰岛边界清晰,形态呈较规则的圆形,质地致密,胰岛内胰岛细胞数量丰富、排列规整、胞质丰富,胰岛内毛细血管盘绕曲折,未见血管扩张。与对照组相比,模型组小鼠的胰岛数目及胰岛面积显著缩小 ($P < 0.01$),胰岛内胰岛细胞数量减少、排列紊乱、形态不一,可见到细胞核固缩、大小不一,并可见到明显的血管充血扩张。与模型组比较,各给药组小鼠胰腺组织的病理改变有不同程度的改善,二甲双胍组小鼠胰岛面积显著增加 ($P < 0.01$),胰岛边界清晰,胰

岛细胞数量增多、大小基本一致、细胞排列较为规则,细胞核大小基本一致,胰岛内血管充血扩张明显减轻;白虎加入参汤低剂量组小鼠胰岛数量较模型组增加,但平均的单个胰岛面积变化与模型组之间无统计学差异,胰岛质地疏松,边界不甚清晰,虽然胰岛细胞数量一定程度增加,但可见细胞核排列紊乱、染色不均匀,部分细胞呈空泡变性,并且胰岛中血管充血扩张明显;白虎加入参汤高剂量组小鼠胰岛面积显著增加 ($P < 0.01$),胰岛呈椭圆形或圆形,边界清晰,质地致密,胰岛中胰岛细胞数量明显增加,细胞分布均匀,胰岛内血管充血明显减轻。

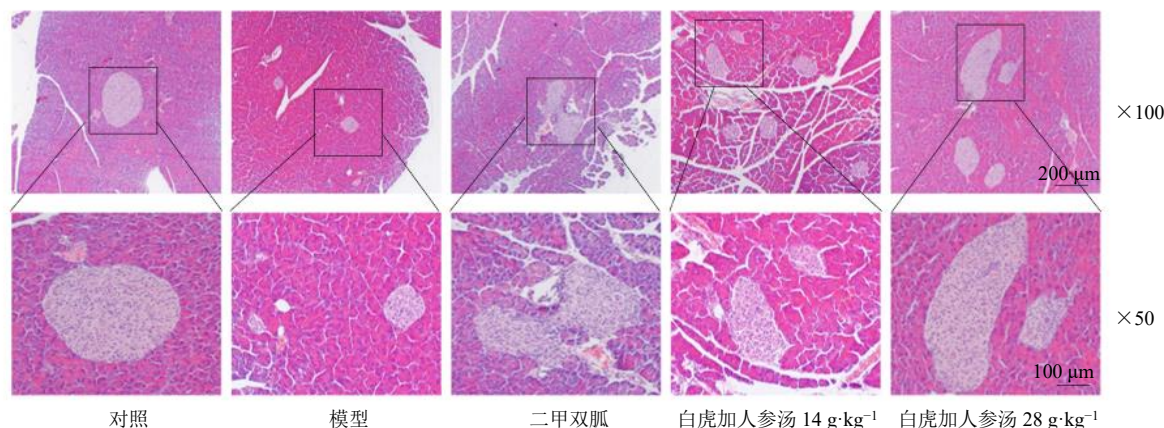


图5 白虎加入参汤对STZ/MRSA MKR小鼠胰腺组织病理变化的影响

Fig. 5 Effect of Ginseng-plus-Baihu-Tang on pancreatic pathological changes in STZ/MRSA MKR mice

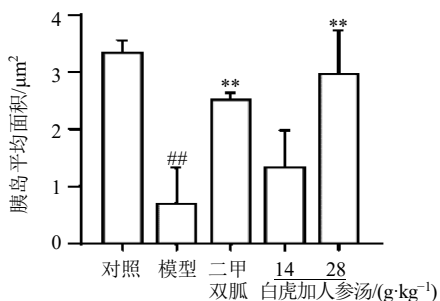


图 6 各组小鼠胰腺组织 HE 染色图中胰岛的平均面积 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 6 Average islet area of pancreatic tissue of mice in each group by HE staining ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

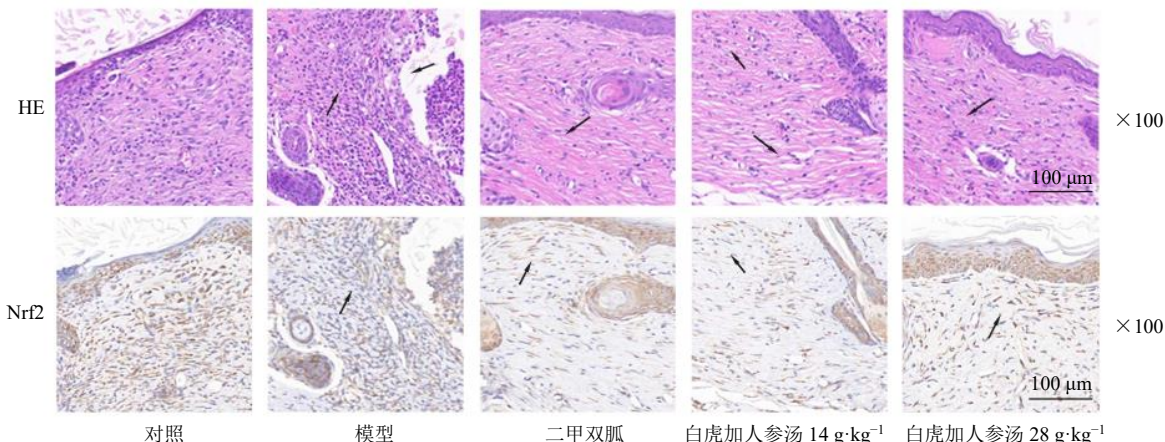


图 7 MKR 小鼠皮肤创面的 HE 染色和 Nrf2 免疫组化染色病理图

Fig. 7 HE staining and Nrf2 immunohistochemical staining of skin wound in MKR mice

中抗原表达低。与模型组小鼠比较，各给药组小鼠皮肤创面有不同程度的恢复，HE 染色图中可见小鼠表皮层不同程度地恢复，真皮层中见不同程度的胶原纤维增生，白虎加人参汤低剂量组小鼠皮肤组织中胶原纤维明显凝聚呈条索状，其中可见少量浸润的炎症细胞，二甲双胍组和白虎加人参汤高剂量组小鼠皮肤组织真皮层较白虎加人参汤低剂量组真皮层质地更为致密，胶原纤维增生明显，排列更为

3.8 白虎加人参汤对 STZ/MRSA MKR 小鼠皮肤组织病理变化的影响

如图 7 所示，对照组小鼠皮肤组织的 HE 染色图中表皮层及真皮层结构清晰，表皮层较薄，棘层约为 2~3 层细胞，基底层细胞排列整齐呈矮柱状，真皮层可见清晰的皮脂腺、新生的毛细血管，排列整齐的胶原纤维；Nrf2 免疫组化染色图中阳性信号明显、相关抗原表达丰富。与对照组小鼠相比，模型组小鼠 HE 染色图中无完整的表皮层，真皮层结构被严重损坏，胶原纤维生成减少、排列紊乱，并见其中有大量炎症细胞浸润；Nrf2 免疫组化染色图

有序；在 Nrf2 免疫组化图中可见白虎加人参汤高剂量组小鼠皮肤中的抗原表达最为丰富，阳性信号最为强烈，二甲双胍组小鼠皮肤中抗原表达略低，白虎加人参汤低剂量组小鼠皮肤中抗原表达为用药组中最低。

3.9 白虎加人参汤对 STZ/MRSA MKR 小鼠皮肤组织 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达的影响

如图 8 所示，与对照组比较，模型组小鼠皮肤

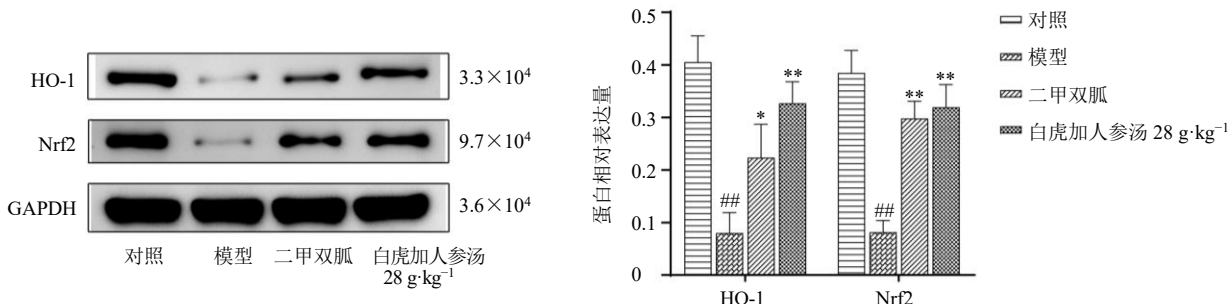


图 8 白虎加人参汤对 STZ/MRSA MKR 小鼠皮肤组织 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 8 Effect of Ginseng-plus-Baihu-Tang on Nrf2 and HO-1 protein expressions in skin of STZ/MRSA MKR mice ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组织中 HO-1 和 Nrf2 蛋白表达水平均显著下降 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 二甲双胍组和白虎加人参汤高剂量组小鼠皮肤组织中 HO-1 和 Nrf2 蛋白表达水平均显著升高 ($P < 0.05, 0.01$)。

4 讨论

随着糖尿病患者的护理标准日渐全面, 许多糖尿病相关并发症, 特别是大血管疾病所引发的死亡率急剧下降。然而据统计, 糖尿病并发伤口感染、脓毒症、蜂窝组织炎等感染性疾病的患者数量是非糖尿病患者的 4 倍, 并且患者数量仍在惊人地增加^[14]。临床研究显示, 糖尿病患者较差的伤口愈合能力成为诱发感染性疾病的重要原因^[15]。一方面, 由于糖尿病患者血糖升高, 皮肤组织的含糖量增高, 给细菌感染创造了良好环境; 另一方面, 与正常组织中典型的凝血、炎症、增殖、重塑等生理过程依次顺序出现不同, 糖尿病患者伤口愈合的正常进程被氧化应激扰乱和延迟, 创面局部显著升高的 ROS 导致伤口难以愈合^[6-7]。高水平 ROS 阻碍正常的 ECM 的生成, 并损害已经存在的 ECM, 如 H_2O_2 会破坏组织生长, 特别是胶原蛋白的生成, 从而阻止伤口愈合^[16-17]。同时, ROS 介导炎症反应的发生, 导致 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等相关炎症因子表达升高。糖尿病患者全身性的、低度的与创面局部的、加重的炎症反应, 同样导致创面难以愈合。因此, 降低血糖与抗氧化应激成为治疗糖尿病并发创面感染的关键。

高血糖与氧化应激有复杂的相互关系, 二者互为因果又相互加剧^[18-20]。慢性高血糖通过多种分子途径诱导自由基的产生^[21-22]。高水平的 ROS 导致功能性胰岛 β 细胞数量下降、胰岛体积减小, 并且通过促进脂质过氧化、DNA 断裂、蛋白质聚集、蛋白质变性和蛋白质碎裂等^[23-26], 导致大分子不可逆转的损害, 这些都可能导致胰岛 β 细胞功能障碍甚至凋亡^[27-28], 从而导致葡萄糖刺激的胰岛素分泌减少^[29-30], 血糖升高, 进一步加剧氧化应激。

Nrf2 作为细胞氧化还原状态的中央调节因子, 调控 HO-1、GPx、SOD 和 CAT 等 250 多种不同的抗氧化酶^[31]。目前, Nrf2 通路被认为在肥胖、糖尿病、动脉粥样硬化、高血压、帕金森、阿茨海默症等多种疾病中起到防御作用, Nrf2 主要通过清除 ROS 减少氧化损伤来发挥保护作用^[32]。越来越多的证据表明, 糖尿病中 Nrf2 通路的激活对保护和保存功能性 β 细胞群至关重要^[33]。除了增加存活率外,

Nrf2 表达上调还可促进 β 细胞增殖, 从而增加功能性 β 细胞数量^[34]。Nrf2 还可通过多种途径促进葡萄糖刺激的胰岛素分泌^[35], 并且, 胰岛素也促进 Nrf2 转位入核以及激活其下游抗氧化蛋白的表达^[36]。Nrf2 靶基因的表达, 在糖尿病患者的皮肤组织和糖尿病模型大鼠的成纤维细胞中, 急剧下降^[37-38]。综上所述, 保护胰岛 β 细胞的功能与数量、激活 Nrf2 的信号表达, 可改善血糖、抑制氧化应激与炎症反应, 从而加速伤口闭合^[39], 这个结论也在针对 Nrf2^{-/-}糖尿病小鼠创口的实验中得到验证^[40]。

目前已知的绝大多数 Nrf2 激活剂是天然产物, 有中药单体成分如芦丁、芒果苷、黄芩苷、人参皂苷 Rg₁ 等, 也有中药复方如复方黄柏液^[38,41]。这些药物的起效机制主要围绕着激活 Nrf2 信号通路、减轻氧化损伤, 以达到促进伤口愈合的目的。由于糖尿病合并创面感染既有局部的显著病变又有同时伴发的全身性基础疾病, 因此区别于传统的外治法, 推测是否可以通过内治法作用于全身性基础性疾病——糖尿病, 进而改善局部病变——创面感染, 提高机体自愈能力, 实现标本兼顾。中医学认为, 创面感染属于“疮疡”范畴, 糖尿病合并创面感染即是“消渴病合并疮疡”, 主要病机是消渴气阴两虚、燥热内结、毒蕴瘀阻而发病^[42]。汉代张仲景创立的用治肺胃热盛、气阴两虚消渴病的白虎加人参汤, 其主要组成药物石膏知母清热滋阴, 泄内蕴热毒; 人参扶助正气, 补气以祛瘀; 甘草粳米共奏健脾固表之功, 助机体托毒外出。白虎加人参汤在临床中被应用于单纯性的皮肤瘙痒、脓毒症、荨麻疹、特应性皮炎等皮肤疾病而见奇效^[43]。同时, 立足于本课题组对白虎加人参汤具有调节血糖、抗氧化应激、保护胰岛 β 细胞等作用的前期研究基础^[8-10], 尝试以内治法应用白虎加人参汤于 2 型糖尿病合并创面感染的动物模型, 探索其治疗效果及作用机制。

本实验采用已成熟用于研究 2 型糖尿病的动物 MKR 转基因小鼠^[44-45], 5 周龄左右便已显现出胰岛素抵抗、糖耐量异常、炎症因子表达升高等特征, 辅以 STZ 干预诱导形成稳定的 2 型糖尿病模型后, 在小鼠背部制备创面并滴加菌液进行感染。临床观察与实验研究发现, 虽然糖尿病患者易感细菌以金黄色葡萄球菌为主^[46], 但由于糖尿病所致免疫缺陷及临床中抗生素的过度使用^[47-48], MRSA 的感染率逐年上升^[49], 因此采用 MRSA 作为小鼠创面感染菌株。本实验以二甲双胍作为阳性对照药物,

观察比较白虎加人参汤低、高剂量的治疗效果。实验结果显示,与对照组相比,模型组小鼠创面愈合迟缓、糖代谢异常、血清炎症因子表达升高、抗氧化能力显著下降,组织病理学显示胰腺中胰岛β细胞受损明显、胰岛面积显著下降,皮肤组织结构破坏严重、炎性浸润明显、Nrf2信号低表达。与模型组比较,白虎加人参汤组有不同程度的改善,尤其是白虎加人参汤高剂量组,在促进创面愈合、降低血糖、促进胰岛素分泌、抗炎抗氧化等方面表现更为突出,组织病理学观察同样支持这一结论,高剂量白虎加人参汤显著保护胰岛β细胞、促进皮肤胶原纤维合成、增强皮肤组织中Nrf2信号表达;进一步检测Nrf2、HO-1的蛋白表达,高剂量白虎加人参汤显著激活皮肤组织的Nrf2/HO-1信号通路。

知母与人参是白虎加人参汤中主要组成药物,并且Nrf2的激活剂芒果苷、人参皂苷Rg₁,分别是知母与人参中重要的有效成分,这可能是白虎加人参汤能够调节Nrf2/HO-1信号通路表达的原因。现代药理学研究中,芒果苷已被证明具有较好的抗氧化、抗炎、改善糖脂代谢的作用^[50],人参皂苷Rg₁被证明具有提高肝糖原合成、提高胰岛素敏感性的作用^[51]。同时,由于芒果苷的溶解度极低,在水中的溶解度仅为0.111 mg/mL^[52],在肠道中的生物利用度也仅为1.2%^[53],而高剂量的白虎加人参汤中芒果苷与人参皂苷含量更高,这可能是白虎加人参汤高剂量组治疗效果更为显著的重要原因。

综上所述,本研究发​​现白虎加人参汤通过降低STZ/MRSA MKR小鼠FBG、提高机体抗氧化能力、保护胰岛β细胞、激活皮肤组织中的Nrf2/HO-1信号通路,有效治疗糖尿病、促进创面愈合,这为白虎加人参汤的新应用提供了实验依据,也为进一步研究白虎加人参汤通过Nrf2/HO-1信号通路治疗糖尿病、探索芒果苷等中药单体成分在糖尿病合并创面感染中的应用奠定基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Sun H, Saeedi P, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045 [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2022, 183: 109119.

[2] Hart T, Milner R, Cifu A. Management of a diabetic foot [J]. *JAMA*, 2017, 318(14): 1387-1388.

[3] Cano Sanchez M, Lancel S, Boulanger E, et al. Targeting

oxidative stress and mitochondrial dysfunction in the treatment of impaired wound healing: A systematic review [J]. *Antioxidants*, 2018, 7(8): E98.

[4] Zhang Z Z, Zi Z Z, Lee E E, et al. Differential glucose requirement in skin homeostasis and injury identifies a therapeutic target for psoriasis [J]. *Nat Med*, 2018, 24(5): 617-627.

[5] Beserra F P, Vieira A J, Gushiken L F S, et al. Lupeol, a dietary triterpene, enhances wound healing in streptozotocin-induced hyperglycemic rats with modulatory effects on inflammation, oxidative stress, and angiogenesis [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 3182627.

[6] He T Y, Quan T H, Shao Y, et al. Oxidative exposure impairs TGF-β pathway via reduction of type II receptor and SMAD3 in human skin fibroblasts [J]. *Age*, 2014, 36(3): 9623.

[7] Davies M J. The oxidative environment and protein damage [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1703(2): 93-109.

[8] 蒋宛瑾, 谢聪, 喻嵘, 等. 白虎加人参汤对转基因 2 型糖尿病 MKR 小鼠肠道 TLR4/NF-κB 信号通路及肠道屏障功能的影响 [J]. *中草药*, 2020, 51(11): 3005-3012.

[9] 向琴, 蒋宛瑾, 喻嵘, 等. 白虎加人参汤对 2 型糖尿病小鼠肠道 UCP2、AMPK 表达及 GLP-1 分泌的影响 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2020, 40(12): 1444-1448.

[10] 刘旭. 仲景消渴证治思想及白虎加人参汤改善 MKR 转基因小鼠 2 型糖尿病的作用研究 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2019.

[11] Lu H F, Lai Y H, Huang H C, et al. Ginseng-plus-Bai-Hu-Tang ameliorates diet-induced obesity, hepatic steatosis, and insulin resistance in mice [J]. *J Ginseng Res*, 2020, 44(2): 238-246.

[12] Tong C Y, Zhong X H, Yang Y J, et al. PB@PDA@Ag nanosystem for synergistically eradicating MRSA and accelerating diabetic wound healing assisted with laser irradiation [J]. *Biomaterials*, 2020, 243: 119936.

[13] Zhong X H, Tong C Y, Liu T S, et al. Silver nanoparticles coated by green graphene quantum dots for accelerating the healing of MRSA-infected wounds [J]. *Biomater Sci*, 2020, 8(23): 6670-6682.

[14] Harding J L, Benoit S R, Gregg E W, et al. Trends in rates of infections requiring hospitalization among adults with versus without diabetes in the US, 2000-2015 [J]. *Diabetes Care*, 2020, 43(1): 106-116.

[15] Chang H H, Chang C H, Hsiao C Y, et al. Diabetes is the most critical risk factor of adverse complications after peritoneal dialysis catheter placement [J]. *Front Med*, 2021, 8: 719345.

- [16] Gouzos M, Ramezanzpour M, Bassiouni A, *et al.* Antibiotics affect ROS production and fibroblast migration in an *in-vitro* model of sinonasal wound healing [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10: 110.
- [17] Deng L L, du C Z, Song P Y, *et al.* The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic wound healing [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 8852759.
- [18] Yaribeygi H, Atkin S L, Sahebkar A. A review of the molecular mechanisms of hyperglycemia-induced free radical generation leading to oxidative stress [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(2): 1300-1312.
- [19] Rehman K, Akash M S H. Mechanism of generation of oxidative stress and pathophysiology of type 2 diabetes mellitus: How are they interlinked? [J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(11): 3577-3585.
- [20] Newsholme P, Keane K N, Carlessi R, *et al.* Oxidative stress pathways in pancreatic β -cells and insulin-sensitive cells and tissues: Importance to cell metabolism, function, and dysfunction [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2019, 317(3): C420-C433.
- [21] Newsholme P, Morgan D, Rebelato E, *et al.* Insights into the critical role of NADPH oxidase(s) in the normal and dysregulated pancreatic beta cell [J]. *Diabetologia*, 2009, 52(12): 2489-2498.
- [22] Starkov A A, Polster B M, Fiskum G. Regulation of hydrogen peroxide production by brain mitochondria by calcium and Bax [J]. *J Neurochem*, 2002, 83(1): 220-228.
- [23] Yaribeygi H, Mohammadi M T, Sahebkar A. Crocin potentiates antioxidant defense system and improves oxidative damage in liver tissue in diabetic rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 98: 333-337.
- [24] Yaribeygi H, Lhaf F, Sathyapalan T, *et al.* Effects of novel antidiabetes agents on apoptotic processes in diabetes and malignancy: Implications for lowering tissue damage [J]. *Life Sci*, 2019, 231: 116538.
- [25] Aktay G, Gürsoy Ş Ö, Uyumlu U, *et al.* Protective effect of atorvastatin on oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats independently their lipid-lowering effects [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2019, 33(5): e22295.
- [26] Liguori I, Russo G, Curcio F, *et al.* Oxidative stress, aging, and diseases [J]. *Clin Interv Aging*, 2018, 13: 757-772.
- [27] Hu F, Qiu X H, Bu S Z. Pancreatic islet dysfunction in type 2 diabetes mellitus [J]. *Arch Physiol Biochem*, 2020, 126(3): 235-241.
- [28] Elksnis A, Martinell M, Eriksson O, *et al.* Heterogeneity of metabolic defects in type 2 diabetes and its relation to reactive oxygen species and alterations in beta-cell mass [J]. *Front Physiol*, 2019, 10: 107.
- [29] Chen S M, Hee S W, Chou S Y, *et al.* Activation of aldehyde dehydrogenase 2 ameliorates glucolipototoxicity of pancreatic beta cells [J]. *Biomolecules*, 2021, 11(10): 1474.
- [30] Fu J Q, Cui Q, Yang B, *et al.* The impairment of glucose-stimulated insulin secretion in pancreatic β -cells caused by prolonged glucotoxicity and lipotoxicity is associated with elevated adaptive antioxidant response [J]. *Food Chem Toxicol*, 2017, 100: 161-167.
- [31] Guerrero-Hue M, Rayego-Mateos S, Vázquez-Carballo C, *et al.* Protective role of Nrf2 in renal disease [J]. *Antioxidants*, 2020, 10(1): E39.
- [32] da Costa R M, Rodrigues D, Pereira C A, *et al.* Nrf2 as a potential mediator of cardiovascular risk in metabolic diseases [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 382.
- [33] Ganesan K, Ramkumar K M, Xu B J. Vitexin restores pancreatic β -cell function and insulin signaling through Nrf2 and NF- κ B signaling pathways [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 888: 173606.
- [34] Baumel-Alterzon S, Katz L S, Brill G, *et al.* 2141-P: Nrf2 mediates glucose-stimulated beta-cell proliferation [J]. *Diabetes*, 2019, 68(S1): 2141.
- [35] Liu Y, Deng J J, Fan D D. G-Rh4 improves pancreatic β -cells dysfunction *in vivo* and *in vitro* by increased expression of Nrf2 and its target genes [J]. *Food Chem Toxicol*, 2021, 148: 111925.
- [36] Song Y, Ding W, Bei Y, *et al.* Insulin is a potential antioxidant for diabetes-associated cognitive decline via regulating Nrf2 dependent antioxidant enzymes [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 104: 474-484.
- [37] Kuhn J, David J A, Villarreal Ponce A P, *et al.* 623-P: Impaired Nrf2 function corresponds with delayed wound healing in diabetes [J]. *Diabetes*, 2019, 68(S1): 623.
- [38] Zhang J J, Zhou R, Xiang C P, *et al.* Huangbai liniment accelerated wound healing by activating Nrf2 signaling in diabetes [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 4951820.
- [39] Boniakowski A E, Kimball A S, Jacobs B N, *et al.* Macrophage-mediated inflammation in normal and diabetic wound healing [J]. *J Immunol*, 2017, 199(1): 17-24.
- [40] Long M, Rojo de la Vega M, Wen Q, *et al.* An essential role of NRF2 in diabetic wound healing [J]. *Diabetes*, 2016, 65(3): 780-793.
- [41] Matzinger M, Fischhuber K, Heiss E H. Activation of Nrf2 signaling by natural products-can it alleviate diabetes? [J]. *Biotechnol Adv*, 2018, 36(6): 1738-1767.
- [42] 姜楠. 糖尿病皮肤化脓性感染与消渴兼证“疔、痈”及其中医治疗 [J]. *中国临床医生*, 2006, 34(6): 14-15.
- [43] 郑易书. 白虎汤及其类方治疗皮肤病之文献研究与运用 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2015.

- [44] 喻嵘, 成细华, 胡伟, 等. 骨骼肌特异性胰岛素样生长因子 1 及胰岛素双受体功能缺失鼠糖尿病发病及其相关炎症因子的变化 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(45): 9075-9078.
- [45] 胡伟, 喻嵘, 成细华, 等. MKR 转基因糖尿病小鼠血糖血脂与血清炎症因子 CRP、IL-6、TNF- α 的相关性分析 [J]. 基础医学与临床, 2009, 29(9): 987-988.
- [46] Li X M, Cheng Q F, du Z P, *et al.* Microbiological concordance in the management of diabetic foot ulcer infections with osteomyelitis, on the basis of cultures of different specimens at a diabetic foot center in China [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2021, 14: 1493-1503.
- [47] Brandt S L, Wang S E, Dejana N N, *et al.* Excessive localized leukotriene B₄ levels dictate poor skin host defense in diabetic mice [J]. *JCI Insight*, 2018, 3(17): 120220.
- [48] Hand R, Manning L, Ritter J C, *et al.* Antimicrobial stewardship opportunities among inpatients with diabetic foot infections: Microbiology results from a tertiary hospital multidisciplinary unit [J]. *Intern Med J*, 2019, 49(4): 533-536.
- [49] MacDonald K E, Boeckh S, Stacey H J, *et al.* The microbiology of diabetic foot infections: A meta-analysis [J]. *BMC Infect Dis*, 2021, 21(1): 770.
- [50] Morozkina S N, Nhung Vu T H, Generalova Y E, *et al.* Mangiferin as new potential anti-cancer agent and mangiferin-integrated polymer systems-A novel research direction [J]. *Biomolecules*, 2021, 11(1): 79.
- [51] Liu Q, Zhang F G, Zhang W S, *et al.* Ginsenoside Rg₁ inhibits glucagon-induced hepatic gluconeogenesis through Akt-FoxO1 interaction [J]. *Theranostics*, 2017, 7(16): 4001-4012.
- [52] Liu M R, Liu Y K, Ge Y L, *et al.* Solubility, antioxidation, and oral bioavailability improvement of mangiferin microparticles prepared using the supercritical antisolvent method [J]. *Pharmaceutics*, 2020, 12(2): E90.
- [53] Han D D, Chen C J, Zhang C, *et al.* Determination of mangiferin in rat plasma by liquid-liquid extraction with UPLC-MS/MS [J]. *J Pharmaceut Biomed Anal*, 2010, 51(1): 260-263.

[责任编辑 李亚楠]