

• 数据挖掘与循证医学 •

基于数据挖掘及实验验证探究名老中医治疗 2 型糖尿病的辨证用药规律

金其炎, 梁皓, 李虹璇, 瞿小英, 李博佳, 刘鑫, 马雯芳, 贾微*, 岑妍慧*

广西中医药大学, 广西南宁 530200

摘要:目的 基于数据挖掘技术探析名老中医治疗 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 的辨证用药及组方规律, 并通过动物实验验证核心方剂的疗效。方法 从中国知网、万方数据知识服务平台、维普数据库等渠道收集 200 例名老中医治疗 T2DM 的医案, 利用中医传承计算平台 (V3.5) 构建数据库, 并引入轮廓系数评价 K-means 聚类效果, 结合层次聚类法进行交叉验证以筛选核心方剂。将 40 只 SD 雄性大鼠随机分为对照组、模型组、核心方组和二甲双胍组, 每组 10 只。除对照组外, 其余组别采用高脂、高糖饲料喂养联合每日 1 次 15.75 g/kg 青皮附子水持续 ig 4 周, 随后 ip 30 mg/kg 链脲佐菌素诱导 T2DM 气阴两虚证大鼠模型。造模成功后, 核心方组大鼠 ig 核心方 10.5 g/kg 药液, 二甲双胍组大鼠 ig 200 mg/kg 二甲双胍, 对照组和模型组则给予等体积生理盐水, 各组每日给药 1 次, 干预 4 周。监测大鼠在给药期间体质量及空腹血糖变化; 实验结束后通过酶联免疫吸附法检测血清胰岛素 (serum insulin, INS)、糖化血红蛋白 (glycated hemoglobin, IFCC-HbA1c)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 等指标; 通过免疫组化染色观察胰岛素阳性面积比例; 油红 O 染色观察肝脏脂质沉积; PAS 染色评估肾脏组织病理改变; 运用 Western blotting 检测肝组织中磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (phosphatidylinositol-3-hydroxykinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)、核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 及核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid-2-related factor 2, Nrf2)/血红素氧合酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1) 通路相关蛋白表达。**结果** 数据挖掘显示 T2DM 主要证型为气阴两虚证; 高频药物为黄芪、黄连、茯苓等; 药性以寒、温、平为主, 药味以甘、苦、辛为主, 主归脾、肺、肝经; 补虚、清热、利水渗湿及活血化瘀这几类药物的应用最为广泛; 关联规则分析得出黄芪-葛根、黄芪-黄连等为核心药对; 聚类筛选出由黄芪、山药、葛根、山茱萸、茯苓组成的类方作为核心方。动物实验证实, 核心方组空腹血糖、INS、IFCC-HbA1c 较模型组显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 体质量逐渐回升, IL-1 β 、IL-6 含量显著降低 ($P < 0.01$ 、 0.001), SOD 活性显著升高 ($P < 0.01$), MDA 含量显著降低 ($P < 0.05$), 胰岛素阳性面积比例显著升高 ($P < 0.05$), 肝脏脂质沉积面积比例显著降低 ($P < 0.01$), 肾脏病理损伤积分显著降低 ($P < 0.05$), 肝组织中 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、Nrf2、HO-1 表达水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01), p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 水平显著降低 ($P < 0.05$)。**结论** 核心方在动物实验中降糖疗效确切, 其作用机制与激活 PI3K/Akt 信号通路以增强胰岛素敏感性、抑制 NF- κ B 介导的促炎反应、上调 Nrf2/HO-1 改善氧化应激有关。该方能有效维持胰岛细胞的数量与结构, 保护肝肾组织免受糖尿病病理损伤, 为中医药防治 T2DM 提供了科学依据。

关键词: 2 型糖尿病; 数据挖掘; 名医经验; 用药规律; 黄芪-山药-葛根-山茱萸-茯苓

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)10-3886-16

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.10.018

Exploring principles of syndrome differentiation and medication in renowned veteran traditional Chinese medicine practitioners for treating type 2 diabetes mellitus based on data mining and experimental verification

JIN Qiyang, LIANG Hao, LI Hongxuan, QU Xiaoying, LI Bojia, LIU Xin, MA Wenfang, JIA Wei, CEN Yanhui
Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

收稿日期: 2026-01-07

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82260861); 广西中医基础重点实验室项目 (19-45045-11); 广西中医药大学“桂派杏林拔尖人才项目” (20220002); 2024 年广西壮族自治区大学生创新训练计划项目 (S202410600080)

作者简介: 金其炎, 硕士研究生, 研究方向为五脏病证诊治的临床与实验研究。E-mail: 867307375@qq.com

*通信作者: 贾微, 主任医师, 教授, 从事中医药防治心脑血管及内分泌疾病的基础与临床研究。E-mail: 549360876@qq.com

岑妍慧, 教授, 从事中医药防治糖尿病及海洋药物研发工作。E-mail: 1316133198@qq.com

Abstract: Objective To explore the syndrome differentiation and medication, and formulation rules of renowned traditional Chinese medicine (TCM) practitioners in treating type 2 diabetes mellitus (T2DM) using data mining technology, and validate the efficacy of the identified core formula using an animal model. **Methods** A total of 200 medical cases of T2DM treated by famous TCM practitioners were collected from databases such as China National Knowledge Infrastructure (CNKI), Wangfang, VIP. A database was established using the TCM Inheritance Computing Platform (V3.5). The silhouette coefficient was introduced to evaluate K-means clustering performance, and hierarchical clustering was used for cross-validation to screen for core formulas. For the experimental validation, 40 male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into four groups ($n = 10$ each): control, model, core formula, and metformin. Except for the control group, T2DM models with “*qi-yin* deficiency” syndrome were induced by a 4-week high-fat and high-sugar diet combined with daily oral administration of Qingpi Fuzi decoction (15.75 g/kg), followed by an intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ, 30 mg/kg). After successful modeling, the core formula group received the core formula (10.5 g/kg), and the Metformin group received metformin (200 mg/kg) via gavage daily; Control and Model groups received equal volumes of saline, each group was given the drug once a day for four weeks of intervention. Body weight (BW) and fasting blood glucose (FBG) were monitored during the administration period. Serum levels of insulin (INS), glycated hemoglobin (IFCC-HbA1c), interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6, superoxide dismutase (SOD), and malondialdehyde (MDA) were measured by ELISA. The proportion of insulin-positive areas was assessed via immunohistochemical staining. Oil red O staining was used to observe lipid deposition in the liver. PAS staining was used to evaluate the pathological changes of renal tissue. Protein expressions of the phosphatidylinositol-3-hydroxykinase (PI3K)/protein kinase B (Akt), nuclear factor- κ B (NF- κ B), nuclear factor erythroid-2-related factor 2 (Nrf2)/heme oxygenase-1 (HO-1) pathways in liver tissues were detected by Western blotting. **Results** Data mining revealed that *qi-yin* deficiency was the primary syndrome of T2DM. High-frequency herbs included Huangqi (*Astragali Radix*), Huanglian (*Coptidis Rhizoma*), and Fuling (*Poria*). The medicinal properties were predominantly cold, warm, and neutral, while flavors were mainly sweet, bitter, and pungent, targeting the spleen, lung, and liver meridians. These types of drugs such as tonifying deficiency, clearing heat, promoting diuresis, and activating blood circulation were most prevalent. Association rule analysis identified *Astragali Radix*-Gengen (*Puerariae Lobatae Radix*) and *Astragali Radix*-*Coptidis Rhizoma* as core herb pairs. Clustering identified a core formula consisting of *Astragali Radix*, Shanyao (*Dioscoreae Rhizoma*), *Puerariae Lobatae Radix*, Shanzhuyu (*Corni Fructus*), and *Poria*. *In vivo* experiments showed that the core formula group had significantly lower FBG, INS, and IFCC-HbA1c levels compared to the Model group ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), with a gradual recovery in BW. Furthermore, IL-1 β and IL-6 were significantly decreased ($P < 0.01, 0.001$), SOD was increased ($P < 0.01$), and MDA was decreased ($P < 0.05$). Pathologically, the core formula group showed a significantly higher ratio of insulin-positive area ($P < 0.05$), reduced hepatic lipid deposition ($P < 0.01$), and lower renal pathological injury scores ($P < 0.05$). Western blotting analysis indicated that core formula significantly up-regulated the expression of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, Nrf2, and HO-1 ($P < 0.05, 0.01$), while down-regulating p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 ($P < 0.05$). **Conclusion** The core formula exhibits a definite hypoglycemic effect. Its mechanism of action is associated with activating the PI3K/Akt signaling pathway to enhance insulin sensitivity, inhibiting NF- κ B-mediated pro-inflammatory responses, and up-regulating the Nrf2/HO-1 pathway to ameliorate oxidative stress. This formula effectively maintains the number and structure of pancreatic islet cells and protects liver and kidney tissues from diabetic pathological damage, providing a scientific basis for the prevention and treatment of T2DM with TCM.

Key words: type 2 diabetes mellitus; data mining; experience of renowned doctors; medication principles; *Astragali Radix*-*Dioscoreae Rhizoma*-*Puerariae Lobatae Radix*-*Corni Fructus*-*Poria*

随着2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)患病率的持续攀升及其年轻化趋势,寻求能有效控制病情、减少并发症的治疗方案已成为公共卫生的重要议题^[1-2]。现代医学疗法在控制血糖方面成效显著,然而在整体调节与“治未病”方面存在局限性。中医药基于其整体观念与辨证论治体系,在T2DM的长期管理及并发症防治中潜力显著^[3-4]。本研究立足于临床实践,对200例名老中医治疗T2DM的医案进行数据挖掘,旨在解析其辨证用药规律,筛选核心方剂,并运用动物实验初步验证其疗效,以期

为中医药防治T2DM及其并发症提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 病案来源

(1)第一届至第四届国医大师;(2)首届全国名中医;(3)第一批至第七批全国老中医药专家学术经验继承工作指导老师;(4)其他省级以上名老中医。

1.2 病案采集

拟收集源自2010—2025年上述中医名家治疗T2DM的相关病案200例。信息获取渠道源自中国

知网数据库 (CNKI)、万方数据知识服务平台、维普数据库。采用主题词与自由词相结合的检索策略,以 (“消渴” OR “2 型糖尿病”) AND (“经验” OR “医案” OR “心得”) 为检索式进行系统检索,检索对象以名医验案和名医经验类文献为主。

1.3 诊断标准

中医诊断参照《新药(中药)治疗消渴病(糖尿病)临床研究的技术指导原则》^[5],凡具有口渴多饮、消谷易饥、尿多而甜、形体渐见消瘦等症状即可诊断。西医诊断参照《中国 2 型糖尿病防治指南(2020 版)》^[6],糖尿病典型症状加上随机血糖 ≥ 11.1 mmol/L,或伴空腹血糖 ≥ 7 mmol/L,口服葡萄糖耐量试验(oral glucose tolerance test, OGTT) 2 h 血糖 ≥ 11.1 mmol/L,血红蛋白 A1c (hemoglobin A1c, HbA1c) $\geq 6.5\%$ 。

1.4 纳入标准

以下 5 条均满足即纳入:(1) 名医验案和名医经验类文献;(2) 诊断为明确的 T2DM;(3) 临床资料完备者,至少具备基本资料、四诊信息、处方信息;(4) 治疗措施以内服中药为主,且有明确的药物组成;(5) 病案记录的临床疗效清晰。

1.5 排除标准

以下满足 1 条即排除:(1) 综述或实验型文献;(2) 病历资料不全或缺少重要诊疗信息者;(3) 合并其他系统严重原发疾病者或已有糖尿病靶器官损伤,如心脑血管疾病、糖尿病足等;(4) 治疗方案中有化学药或中医外治法干预;(5) 治疗效果不明确或劣于对照组。

1.6 文献筛选

由 2 名研究者独立筛选所有检索文献,依据纳入和排除标准严格执行,以确保筛选过程的客观性与结果的一致性。若遇同一医家的医案在不同期刊或数据库中重复发表,则仅纳入资料最完整、记录最详尽的版本,具体方法采用“名医姓名+患者姓氏+性别+首诊日期+核心方组成”的交叉核验法校对,以确保 200 例均为独立医案。对于同一患者的多次诊疗记录,仅提取其初诊信息和相应处方进行分析。在筛选过程中,若 2 名研究者出现分歧,由第 3 位研究者进行复核,并对最终是否纳入作出裁定。

1.7 统一数据标准

1.7.1 症状及证候统一 症状描述采用《中医诊断学》^[7]与《中医临床常见症状术语规范》^[8]标准规范,证候按照《中医病证诊断疗效标准》^[9]规范。

1.7.2 中药名统一 依据《中国药典》^[10]标准统一。同时满足以下处理原则:(1) 中药合写者将其拆分换用全称,如将“二冬”规范为“麦冬”和“天冬”。(2) 药物名称中含有加工、炮制方法的一律去除,使用原名称,如将“炒白术”规范为“白术”。(3) 中药别称、简写及不规范的药名进行统一规范,如将“元参”规范为“玄参”。

1.8 信息录入及分析

从中医传承计算平台(V3.5)中下载 Excel 模板,将医案的数据进行初步整理及规范。为确保数据录入的准确性,采用双人独立录入与交叉核验的质控录入流程:先由 2 位研究人员分别录入医案数据,随后比对结果,若出现不一致,则交由第 3 位研究人员进行复核并作出最终裁定。根据最终结果建立病案数据库,上传至中医传承计算平台。通过平台中的“统计分析”模块获取药物的四气统计、五味统计、归经统计以及功效统计。通过平台中的“方剂分析”模块获取药物频次,进行关联规则、聚类分析。

1.9 参数敏感性分析

关联规则和聚类分析需要自定义数值,结合同类研究常用参数设置及预实验中对不同支持度 20、25、30 和置信度 0.5、0.6、0.7 下的规则稳定性进行比较。本研究将支持度设置为 30 (相对支持度 15%)。当支持度在 20~30 变化时,核心药对(如黄芪-葛根、黄芪-山药)始终位于高频组合前列,表明核心组合稳定。置信度设为 0.6,当置信度在 0.5~0.7 调整时,主要关联规则(如陈皮-茯苓、泽泻-茯苓等)均能检出,且随置信度升高规则数量减少但核心规则不变,表明关联规则稳健性较好。

为确定最佳聚类个数,采用轮廓系数对 K-means 聚类结果进行有效性评估。基于 200 首处方的药物二值化矩阵,计算 k 值范围为 2~10 的轮廓系数,结果提示当 $k=3$ 时轮廓系数最大(0.72),表明将处方聚为 3 类时聚类效果最佳(图 1)。为进一步提高核心方筛选的客观性,研究引入层次聚类(Ward 最小方差连接法、欧氏距离)对同一高频药物数据集进行独立分析。2 种方法相互印证,证明聚类数 $k=3$ 的选取及核心方的组成具有方法学层面的稳健性。

2 实验验证

2.1 动物

40 只 SD 雄性大鼠 (No.430727251101792547)

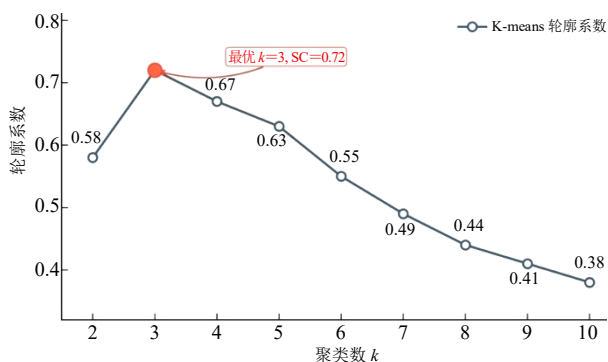


图1 聚类数量对应的轮廓系数

Fig. 1 Silhouette coefficient corresponding to number of clusters

购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司 (SCXK 湘 2021-0002), 10 周龄, 体质量 300~400 g, 动物饲养于广西中医药大学动物实验中心 (SYXK 桂 2024-0004), 自由饮食, 保证饮水及适宜温度, 适应性饲养 1 周。实验方案经广西中医药大学动物伦理委员会批准, 伦理审批编号 GXTCMU-EC KS20250000-232。

2.2 药物

青皮、附子、黄芪、山药、葛根、山茱萸、茯苓饮片均购于广西中医药大学第一附属医院中药房, 经广西中医药大学中药鉴定学教研室马雯芳教授鉴定, 药材分别为芸香科植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 的干燥幼果果皮, 毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* Debx. 的子根, 豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge 的干燥根, 薯蓣科植物薯蓣 *Dioscorea opposita* Thunb. 的干燥根茎, 豆科植物野葛 *Pueraria lobate* (Willd.) Ohwi 的干燥根, 山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果肉, 多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核, 符合《中国药典》^[10]相关要求。药材于广西中医药大学科学实验中心, 依据《医疗机构中药煎药室管理规范》^[11]制备为青皮附子水煎液及核心方。

青皮附子水煎液的制备: 称取青皮与附子饮片, 按质量比 1:1 混合, 加入 10 倍量蒸馏水浸泡 60 min, 武火煮沸后转文火煎煮 30 min, 趁热滤出药液; 药渣再加 8 倍量蒸馏水, 同法煎煮 20 min, 合并 2 次滤液, 经多层纱布过滤后, 于 60 °C 水浴中减压浓缩至生药含量为 1 g/mL, 冷却分装, 4 °C 冷藏备用。

核心方的制备: 将黄芪、山药、葛根、山茱萸、

茯苓按 10:5:5:4:5 的质量比例称取, 并混合均匀, 置于提取容器中, 加入相当于总药材质量 10 倍量的蒸馏水, 于室温下浸泡 60 min 使饮片充分润湿。头煎采用武火煮沸后, 转文火保持微沸状态煎煮 60 min, 趁热滤出药液; 药渣中继续加入 8 倍量的蒸馏水进行二煎, 武火煮沸后转文火微沸 40 min, 再次趁热滤出药液。合并 2 次煎煮的滤液, 先经多层脱脂纱布初滤, 随后通过真空抽滤进行精滤。将精滤后的清液转移至旋转蒸发仪中, 在 60 °C 水浴条件下进行减压浓缩, 直至药液浓缩至生药量为 1 g/mL 的标准。浓缩后的中药液自然冷却, 分装于无菌容器中密封, 置于 4 °C 冰箱冷藏备用, 在每次动物给药前, 需将药液置于 37 °C 水浴中复温, 并使用涡旋振荡器充分震荡摇匀以确保给药浓度的一致性。盐酸二甲双胍片由默克制药有限公司生产, 批号 ACY2636, 规格为 0.5 g/片, 国药准字: H20023370。

2.3 试剂

链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ, 北京索莱宝科技有限公司, 批号 2541204001)、二甲苯 (上海国药集团, 批号 10023418)、无水乙醇 (上海国药集团, 批号 10092680)、甲醛 (上海国药集团, 批号 10010018)、30% H₂O₂ (上海国药集团, 批号 10011218)、广谱二抗 (上海长岛生物技术有限公司, 批号 D-3004)、苏木素 (珠海贝索生物技术有限公司, 批号 714094)、DAB 浓缩型试剂盒 (上海长岛生物技术有限公司, FL-6001)、糖化血红蛋白 (glycated hemoglobin, GHb) 含量检测试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司, 批号 2508003003)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性检测试剂盒 (北京盒子生工科技有限公司, 批号 10125030350)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量检测试剂盒 (北京盒子生工科技有限公司, 批号 10125021030)、大鼠白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒、大鼠 IL-6 ELISA 试剂盒, 大鼠胰岛素 (insulin, INS) ELISA 试剂盒 (武汉菲恩生物科技有限公司, 批号 FN250923), 放射免疫沉淀法 (radio immunoprecipitation assay, RIPA) 细胞裂解液 (上海碧云天生物技术有限公司, 批号 P0013B), 苯甲基磺酰氟 (phenylmethylsulfonyl fluoride, PMSF) (北京索莱宝科技有限公司, 批号 P0100), BCA 蛋

白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物科技有限公司,批号 P0010S),蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(上海碧云天生物科技有限公司,批号 P0011A),4×蛋白上样缓冲液(北京索莱宝科技有限公司,批号 P1016),0.22 μm 聚偏二氟乙烯膜(polyvinylidene fluoride, PVDF, 美国默克公司,批号 ISEQ00010),5×甘氨酸电泳缓冲液(北京索莱宝科技有限公司,批号 T1070-500),10×电泳转移液(北京索莱宝科技有限公司,批号 D1060-500),20×TBSR(北京索莱宝科技有限公司,批号 T1082-500),脱脂奶粉(北京索莱宝科技有限公司,批号 D8340-100),β-肌动蛋白(β-actin)抗体(MCE公司,批号 YA7506),磷酸化磷脂酰肌醇 3-激酶(phospho-phosphatidylinositol 3-kinase, p-PI3K)抗体(MCE公司,批号 Tyr467),PI3K 抗体(MCE公司,批号 YA6337),磷酸化蛋白激酶B(phospho-protein kinase B, p-Akt)抗体(MCE公司,批号 Thr308),Akt 抗体(MCE公司,批号 YA6004),磷酸化核因子-κB(phospho-nuclear factor NF-κB, p-NF-κB)抗体(MCE公司,批号 Ser536),NF-κB 抗体(MCE公司,批号 YA267),核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)抗体(MCE公司,批号 YA895),血红素氧合酶 1(heme oxygenase 1, HO-1)抗体(MCE公司,批号 YA389)。

2.4 仪器

罗氏 instant s 血糖仪(爱尔兰罗氏公司),MIR-H163-PC 37 °C 恒温箱(日本松下电器公司),DEM-3 自动洗板机(北京拓普分析仪器有限公司),MULTISKAN-FC 酶标仪、HM355S 全自动石蜡切片机(赛默飞世尔科技公司),ICEN-24 高速离心机(杭州奥盛仪器有限公司),TE2101-L 电子天平(德国赛多利斯公司),EG1150H+C 石蜡包埋机、CM1520 冷冻切片机、ASP300S 全自动组织脱水机、DM500 光学显微镜、HI1210 水浴锅(德国徕卡公司),PPTHK-21B 摊片机(湖北徕克医疗仪器有限公司),Mini-PROTEAN Tetra 垂直电泳槽、Mini Trans-Blot 小型转印槽(美国伯乐公司),Tanon 5200 全自动化学发光图像分析系统(上海天能科技有限公司)。

2.5 动物分组

在正式实验前进行预实验,并基于预实验结果进行了样本量估算。以主要疗效指标 IFCC-HbA1c 等为参考,根据预实验中模型组与核心方组的均数

差及标准差,设定显著性水平 $\alpha=0.05$ (双侧)、检验效能 Power=0.80,采用动物实验中 2 组均数比较的样本量估算公式,得出每组所需样本量为 5~6 只。为确保实验顺利进行并应对可能的动物损耗,正式实验中每组纳入 10 只 SD 大鼠,满足统计检验效能要求。SD 大鼠进行适应性喂养后,随机分为 4 组:对照组、模型组、核心方组、二甲双胍组,每组 10 只。实验期间,因高脂高糖饲料联合 STZ 造模产生的生理应激,部分大鼠出现非预期损耗,各组存活数均大于 6 只。为保证各指标统计维度的一致性,后续各项检测均从各组存活大鼠中随机抽取样本进行。

2.6 造模

将除对照组外的 3 组,每日饲喂高脂高糖饲料,同时 ig 青皮附子水煎液 15.75 g/kg^[12],对照组给予普通饲料和 ig 相同体积生理盐水,每天 1 次。4 周后除对照组外的 3 组禁食不禁水 12 h 后 ip 30 mg/kg 的 STZ 溶液^[13],对照组 ip 等体积的柠檬酸钠缓冲液。注射 3 d 后检测空腹血糖值 >11.1 mmol/L^[14],并依据《中药新药临床研究指导原则》^[15]中 T2DM 气阴两虚证候表现,制定中医证候积分表(表 1)。当模型大鼠出现 5 项症状中的 4 项或全部者即可判定为 T2DM 气阴两虚证,即积分为 4 及以上可判定造模成功。并在造模后,比较各组大鼠的证候积分。

表 1 中医证候积分

Table 1 TCM syndrome score

序号	证候指标	评分标准
1	精神与神态	0分: 正常
		1分: 神疲乏力或躁动易怒
2	皮毛状况	0分: 毛色光亮
		1分: 被毛泛黄、光泽少
3	饮食状况	0分: 正常
		1分: 饮水量增多, 摄食减少或增多
4	二便与尾色	0分: 正常
		1分: 尿量频多、拉尾排便、尾色变暗
5	舌象	0分: 淡红润
		1分: 舌淡红少津

2.7 给药方案

核心方组以 10.5 g/kg(根据体表面积换算法得出,以黄芪、山药、葛根、山茱萸、茯苓生药量计算)ig 给药,二甲双胍组以 200 mg/kg(依据临床等效剂量换算)ig 给药,对照组和模型组则给予等体

积生理盐水。各组大鼠每日 9:00~10:00 时给药 1 次,连续 4 周,对照组予以普通饲料喂养,其余组别继续高脂高糖饲料饲喂,期间自由进食进水。

2.8 检测指标

2.8.1 空腹血糖及体质量水平 每 7 天检测 1 次。先对大鼠称质量记录,随后禁食不禁水 8 h,尾部采血检测空腹血糖。

2.8.2 血清生化指标检测 实验过程结束后将大鼠麻醉,腹主动脉取血,离心 15 min (4 °C、3 000 r/min),将血清移至 EP 管中。采用 ELISA 试剂盒,参照操作说明书检测 INS、IFCC-HbA1c、IL-1 β 、IL-6、SOD、MDA 各指标。

2.8.3 病理切片染色与分析 将大鼠麻醉后取其胰腺、肝脏、肾脏组织进行病理分析。胰腺组织石蜡切片经脱蜡处理后,采用柠檬酸钠缓冲液进行高压抗原修复以恢复抗原免疫原性。随后以过氧化氢阻断内源性过氧化物酶活性,正常羊血清封闭非特异性结合位点。切片与抗胰岛素一抗于 4 °C 孵育过夜,复温后与 HRP 标记的二抗在 37 °C 孵育,DAB 显色,苏木精复染细胞核,最后经梯度乙醇脱水、二甲苯透明及中性树胶封固。肝组织石蜡切片经 4% 多聚甲醛固定后,行油红 O 染色,75% 乙醇分化,苏木素复染细胞核后封片观察。肾组织石蜡切片经多聚甲醛固定后,进行 PAS 染色并于显微镜下观察分析。

所有组织切片的观察与图像分析均由 2 名研究人员在不知晓分组情况下独立进行。对肝脏脂质沉积面积比例、胰岛素阳性面积比例的定量分析,由 2 名研究者分别计算,最终结果取其平均值。对肾脏病理半定量分析,由 2 名研究者分别计算病理积分,结果不一致时由第 3 位病理专家裁定积分。统计完成后,计算观察者间的一致性系数 Kappa 值,确保结果在 0.75 及以上,表明一致性良好。

对大鼠的肝脏油红 O 染色切片进行图像采集,计算肝脏脂质沉积面积比例。每张切片随机选取 10 个视野,避开大血管区域。使用 Image J 图像分析软件计算每视野内脂滴阳性面积占视野总面积的百分比,取所有视野的平均值作为结果。通过计算胰岛素阳性面积比例对胰腺免疫组化染色切片进行分析。每张切片沿切片长轴或 Z 字形路径移动视野,确保胰岛选择的随机性,直径小于 50 μ m 及坏死胰岛需排除。采集 10 个形态完整的胰岛通过 Image J 分析,勾画胰岛轮廓计算总面积,并识别胰岛内的 DAB 阳性区域计算胰岛素阳性面积,随后计算每个胰岛的胰岛素阳性面积比例,取所有胰岛占比的平均值作为结果。针对肾脏 PAS 染色结果的分析,参照文献报道^[16]设计肾脏病理积分标准(表 2),用于半定量评估病变程度。

总积分 = 肾小球评分 + 肾小管评分

表 2 大鼠肾脏病理评分标准

Table 2 Pathological scoring criteria for rat kidney

分值	肾小球	肾小管
0	系膜区仅见少量紫红色着色,结构正常无病变	肾小管刷状缘完整,无损伤
1	受损肾小球 < 25%,轻度系膜扩张/硬化	受损肾小管 < 25%,出现刷状缘脱落、管腔轻度扩张
2	受损肾小球 25%~50%,中度系膜扩张/硬化	受损肾小管 25%~50%,刷状缘大量脱落、管腔显著扩张
3	受损肾小球 51%~75%,重度系膜扩张/硬化	受损肾小管 51%~75%,伴较广泛上皮损伤或管型形成
4	受损肾小球 > 75%,极重度病变或广泛硬化	受损肾小管 > 75%,广泛小管损伤

2.8.4 Western blotting 检测相关蛋白表达 肝组织采用全蛋白提取试剂盒提取总蛋白,通过 BCA 试剂盒检测蛋白浓度。取等量蛋白经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)凝胶进行电泳分离,随后将蛋白转移至 PVDF 膜。封闭后,分别加入以下一抗: β -actin (1 : 1 000)、p-PI3K (1 : 1 000)、PI3K (1 : 1 000)、p-Akt (1 : 1 000)、Akt (1 : 1 000)、p-NF- κ B p65 (1 : 1 000)、NF- κ B p65 (1 : 1 000)、Nrf2 (1 : 1 000) 以及 HO-

1 (1 : 1 000),于 4 °C 过夜孵育。次日加入相应的 HRP 标记二抗 (1 : 3 000) 室温孵育 1 h 以上。使用 ECL 发光液进行显影,利用 Image J 软件进行条带灰度分析。以 β -actin 作为内参,计算 Nrf2、HO-1 的相对表达量。对于信号通路指标,通过计算磷酸化蛋白与总蛋白灰度值的比值来评估其激活水平。

2.9 统计学处理方法

利用 GraphPad Prism 10.6 分析数据并绘图,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。根据不同实验技术的要求与学术规范,血清生化指标及病理染色分析每组固定选取

$n=6$, Western blotting 蛋白表达检测每组随机选取 $n=3$, 以兼顾实验的代表性与统计学要求。各组数据在分析前均经 Shapiro-Wilk 检验是否符合正态分布, 若数据不符合正态分布, 则采用 Kruskal-Wallis 检验进行比较, 并使用 Dunn 检验进行事后比较。数据满足正态分布则进行 Brown-Forsythe 检验以评估方差齐性, 若方差齐采用 One-way ANOVA 分析, 事后两两比较使用 Tukey 检验; 若方差不齐则采用 Welch ANOVA 进行分析, 事后比较使用 Dunnett's T3 检验。所有指标在进行比较前均符合正态分布及方差齐性假设, 或已根据非正态分布及方差不齐的情况采用相应方法确保统计推断的准确性。当 $P < 0.05$ 视为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 数据挖掘结果

3.1.1 文献纳入情况统计 以“消渴”“2型糖尿病”等为关键词进行检索, 获取相关文献 712 篇。随后进入初筛阶段, 通过阅读文献题目及摘要, 共计排除 264 篇, 余 448 篇进入复筛。复筛阶段对余下文献进行全文阅读, 根据研究严谨性要求, 进一

步剔除 248 篇。最终研究共纳入符合标准的文献 200 篇, 作为后续数据挖掘与分析的基础, 见图 2。

3.1.2 T2DM 中医证型频次统计 T2DM 的高频证型依次是气阴两虚证、湿热中阻证、脾虚湿盛证、阴虚火旺证、痰瘀互结证等, 见表 3。

3.1.3 治疗 T2DM 的中药使用频次统计 共涉及药物 286 味, 使用频次靠前的中药依次是黄芪、黄连、茯苓、葛根、生地黄等, 见表 4。

3.1.4 治疗 T2DM 的中药性、味、归经统计 治疗 T2DM 的中药药性以寒、温、平为主, 主要药味为甘、苦、辛, 多归于脾、肺、肝经, 见图 3。

3.1.5 治疗 T2DM 的中药功效统计 治疗 T2DM 的多为补虚类、清热类、利水渗湿类、活血化瘀类药物, 见表 5。

3.1.6 治疗 T2DM 的药物关联规则统计 将支持度设置为 30, 置信度设置为 0.6, 得出治疗 T2DM 出现频率较高的药物组合 30 个, 前 5 组依次为黄芪-葛根、黄芪-山药、黄芪-黄连、黄芪-生地黄、黄芪-茯苓; 获得关联性较强的药物组合 16 个, 前 5 组分别为陈皮-茯苓, 泽泻-茯苓, 黄芪、山茱萸-山

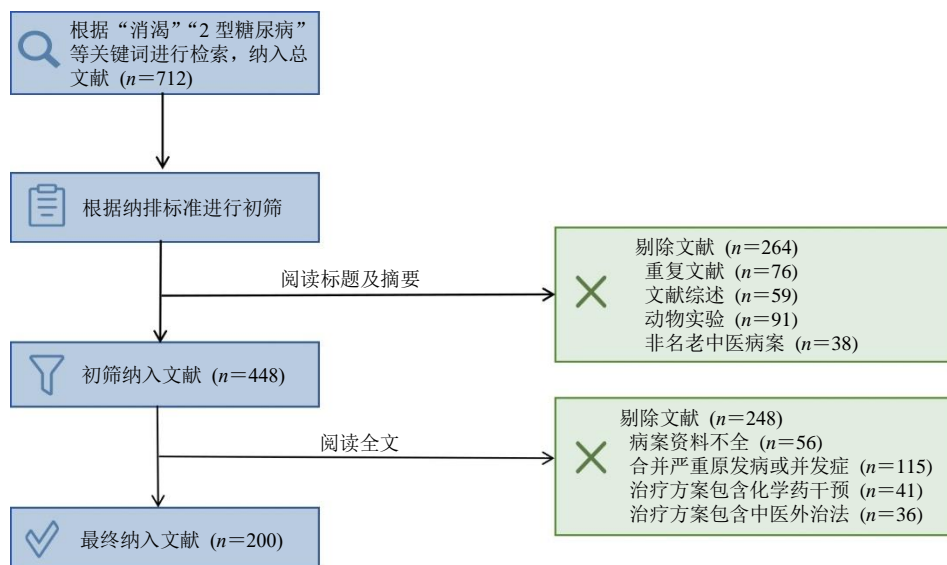


图 2 文献筛选流程

Fig. 2 Literature screening process

表 3 T2DM 中医证型统计结果

Table 3 Statistical results of T2DM TCM syndrome types

序号	中医证型	频次	占比/%	序号	中医证型	频次	占比/%
1	气阴两虚证	75	37.5	6	瘀血阻络证	16	8.0
2	湿热中阻证	24	12.0	7	脾肾阳虚证	15	7.5
3	脾虚湿盛证	22	11.0	8	燥热伤津证	13	6.5
4	阴虚火旺证	17	8.5	9	瘀热互结证	12	6.0
5	痰瘀互结证	17	8.5	10	肝肾亏损证	10	5.0

表4 T2DM 中药频次统计结果

Table 4 Statistical results of medication frequency of TCMs for T2DM

序号	中药名称	频次	占比/%	序号	中药名称	频次	占比/%
1	黄芪	106	53.0	6	山药	72	36.0
2	黄连	83	41.5	7	丹参	67	33.5
3	茯苓	79	39.5	8	麦冬	59	29.5
4	葛根	78	39.0	9	苍术	56	28.0
5	生地黄	74	37.0	10	生甘草	55	27.5

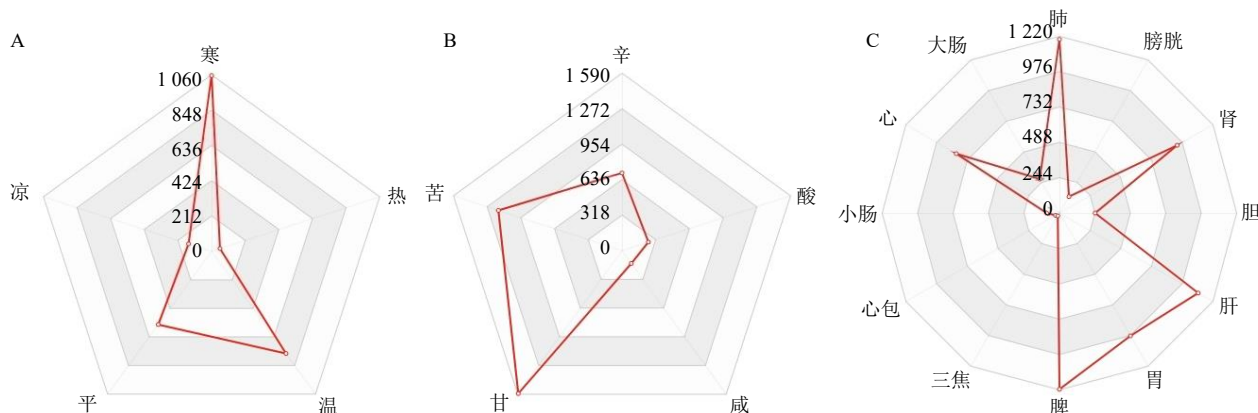


图3 四气 (A)、五味 (B)、归经 (C) 统计雷达图

Fig. 3 Statistical radar charts of four qi (A), five flavors (B), and meridian tropism (C)

表5 T2DM 常用中药功效统计结果

Table 5 Statistical results of efficacy of commonly used TCMs for T2DM

序号	功效	频次	序号	功效	频次
1	补虚	694	6	收涩	139
2	清热	562	7	化湿	110
3	利水渗湿	202	8	理气	101
4	活血化瘀	181	9	化痰止咳平喘	77
5	解表	176	10	安神	63

药, 山药、山茱萸-黄芪, 山茱萸-山药, 见表 6、7 和图 4。

3.1.7 处方聚类分析 应用中医传承计算平台的聚类分析功能 (K-means 算法与回归模型结合) 对纳入的 200 首方剂进行研究。聚类个数设置为 3, 得到第 1 类含有黄芪、生地黄、茯苓、丹参、白芍的类似处方有 64 首, 该组合以益气养阴、活血通络为治法, 主治 T2DM 之气阴两虚兼瘀血阻络证; 第 2 类含有黄连、知母、黄芪、茯苓、半夏的类似处方有 64 首, 该组合以清热燥湿、益气健脾为核心治法, 主治 T2DM 之湿热中阻证; 第 3 类含有黄芪、山药、葛根、山茱萸、茯苓的类似处方有 72 首, 该

组合以益气养阴、健脾固肾为基本治法, 主治 T2DM 之气阴两虚证, 见表 8 和图 5、6。

3.1.8 核心方的筛选及交叉验证 在 T2DM 的诸多中医证型中, 气阴两虚证所占比例最高, 是临床上最为常见的证候类型。本研究从聚类分析所获得的 3 个类方中, 选取与气阴两虚证病机最为契合的第 3 类方作为核心处方, 以期为该证型的临床辨治提供具有一定探索价值和应用前景的方药选择。但由于 K-means 聚类属于无监督学习方法, 在解析处方组合时, 因方剂配伍并未预设固定结构, 每次运算得到的核心药物组合可能存在一定差异。本研究进一步采用层次聚类法对医案数据中的 30 味高频药物进行分析, 以验证核心方组成的可靠性。层次聚类法的优势在于无需预先设定聚类数目, 聚类树状图的结构完全由数据的内部相似性决定, 避免了主观因素的干扰。结果显示, 在最优截断高度处, 药物自然形成 3 个独立的簇群。其中, 簇 2 的药物组成为黄芪、山药、葛根、山茱萸、茯苓, 该组合与 K-means 聚类 ($k=3$) 所得的核心方一致。K-means 和层次聚类 2 种聚类方法的分类结果高度吻合、相互印证, 表明聚类数 $k=3$ 的选取具有客观依据, 核

表 6 治疗 T2DM 的高频药物组合 (支持度 ≥ 30)

Table 6 High-frequency drug combinations for treating T2DM (support ≥ 30)

序号	药物组合	支持度	序号	药物组合	支持度
1	黄芪-葛根	51	16	葛根-生地黄	34
2	黄芪-山药	51	17	黄连-丹参	34
3	黄芪-黄连	48	18	黄芪-天花粉	33
4	黄芪-生地黄	45	19	葛根-苍术	33
5	黄芪-茯苓	43	20	生地黄-丹参	33
6	葛根-丹参	42	21	葛根-天花粉	33
7	黄连-葛根	40	22	黄芪-苍术	32
8	黄芪-丹参	39	23	茯苓-陈皮	31
9	山药-山茱萸	39	24	茯苓-泽泻	31
10	黄芪-山茱萸	38	25	黄芪、山药-山茱萸	30
11	茯苓-山药	37	26	生地黄-山药	30
12	生地黄-麦冬	37	27	茯苓-山茱萸	30
13	葛根-山药	35	28	黄芪-五味子	30
14	黄连-生地黄	35	29	丹参-苍术	30
15	黄芪-白术	34	30	黄芪-麦冬	30

表 7 治疗 T2DM 的药物组合关联规则 (置信度 ≥ 0.6)

Table 7 Association rules of drug combinations for treating T2DM (confidence ≥ 0.6)

序号	关联规则	置信度	序号	关联规则	置信度
1	陈皮-茯苓	0.84	9	白术-黄芪	0.68
2	泽泻-茯苓	0.84	10	葛根-黄芪	0.65
3	黄芪、山茱萸-山药	0.79	11	天花粉-黄芪	0.63
4	山药、山茱萸-黄芪	0.77	12	麦冬-生地黄	0.63
5	山茱萸-山药	0.74	13	丹参-葛根	0.63
6	五味子-黄芪	0.73	14	天花粉-葛根	0.63
7	山茱萸-黄芪	0.72	15	生地黄-黄芪	0.61
8	山药-黄芪	0.71	16	苍术-葛根	0.60

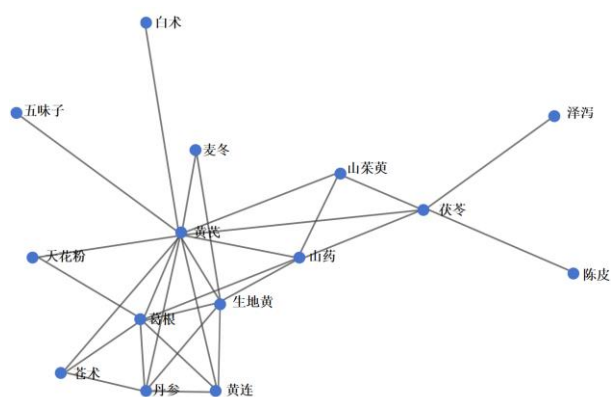


图 4 治疗 T2DM 药物关联网络

Fig. 4 Drug association network for T2DM treatment

心方的筛选结果稳健可靠, 见图 7。

在核心方组成得以确认的基础上, 本研究进一步对核心方的临床用量进行了规范。通过对医案中上述药物使用剂量的频次分析, 并参考《中国药典》

表 8 聚类分析结果

Table 8 Cluster analysis results

编号	药物组成	相关处方数量
1	黄芪、生地黄、茯苓、丹参、白芍	64
2	黄连、知母、黄芪、茯苓、半夏	64
3	黄芪、山药、葛根、山茱萸、茯苓	72

规定的常用剂量范围, 经课题组 2 名主任医师结合临床实践共同商议, 最终确定该核心方的基础剂量为黄芪 30 g、山药 15 g、葛根 15 g、山茱萸 12 g、茯苓 15 g。基于上述剂量规范, 按比例换算为动物给药剂量, 进行后续实验验证。

3.2 动物实验结果

3.2.1 大鼠的中医证候验证 与对照组相比, 模型组、核心方组及二甲双胍组的证候积分均显著升高 ($P < 0.001$), 表明经高脂高糖饲料饲喂联合 ig 青皮附子及 ip STZ 后, 模型组及各给药组大鼠均呈现出

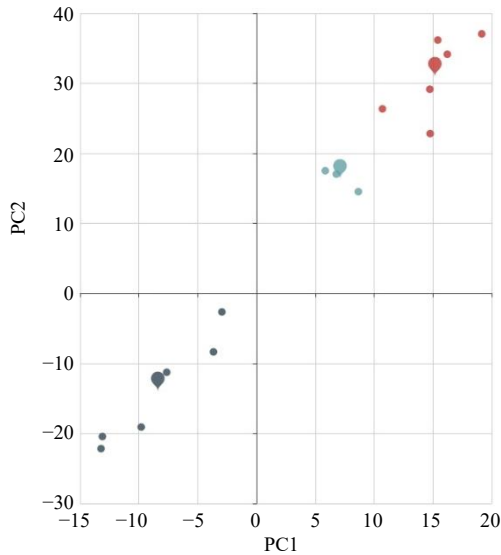


图5 治疗 T2DM 处方中药物 K-means 算法聚类分析
Fig. 5 Cluster analysis of drugs in prescriptions for treatment of T2DM based on K-means algorithm

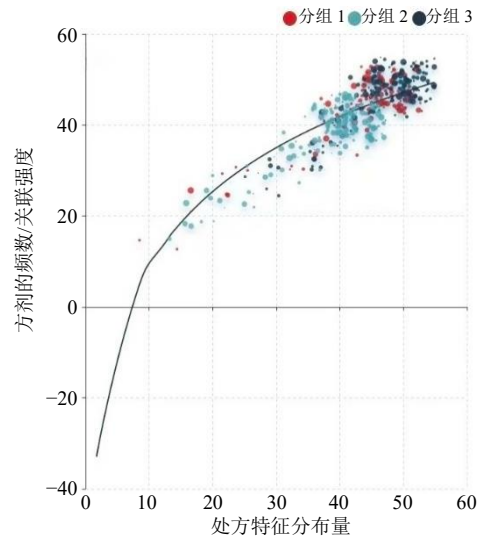


图6 治疗 T2DM 处方中药物 K-means 算法回归模型
Fig. 6 K-means algorithm regression model for drugs in prescriptions for treatment of T2DM

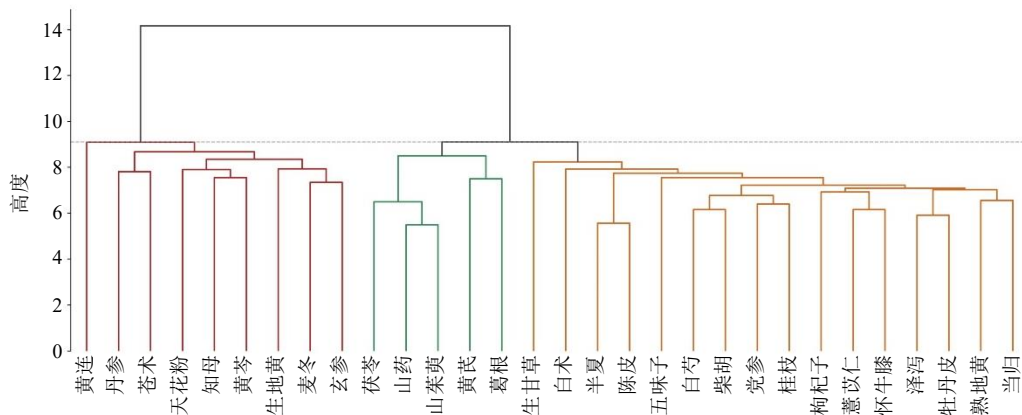


图7 层次聚类树状图
Fig. 7 Hierarchical clustering dendrogram

明显的气阴两虚证候表现，表明造模成功。同时，模型组与核心方组、二甲双胍组之间的证候积分无统计学差异 ($P > 0.05$)，提示各组模型基线一致，分组均衡，可进入后续药物干预实验，见图 8。

3.2.2 核心方对大鼠空腹血糖与体质量的影响
在实验过程中，对照组大鼠的空腹血糖保持稳定，体质量缓慢增长。与对照组相比，模型组大鼠随着病程进展，血糖显著上升，体质量显著下降 ($P < 0.001$)。相较于模型组，各给药组在实验结束时的血糖水平均显著降低 ($P < 0.001$)。在体质量方面，二甲双胍组在前 3 周呈下降趋势，之后逐渐回升；核心方组则在实验前 4 周体质量下降，随后开始回升，各给药组在实验结束时体质量显著高于模型组

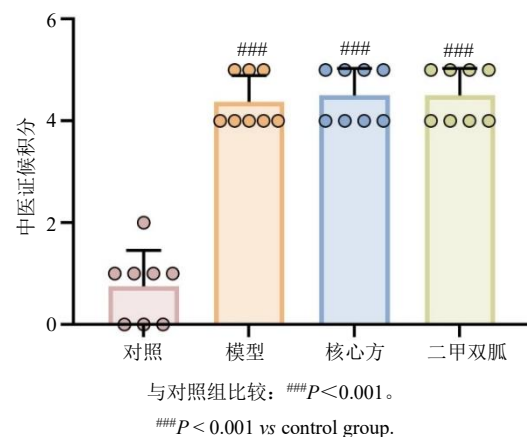
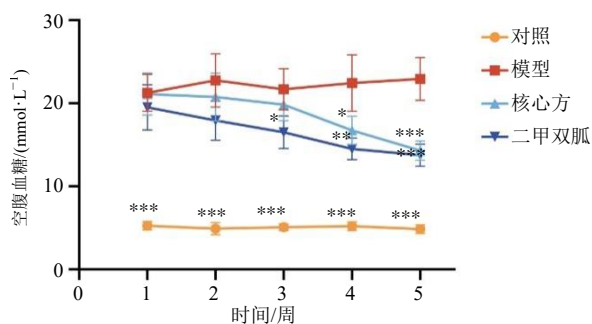


图8 中医证候积分对比 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Fig. 8 Comparison of TCM syndrome scores ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

($P < 0.05$), 见图 9、10。

3.2.3 核心方对大鼠糖代谢的影响 与对照组比较, 模型组的 INS 和 IFCC-HbA1c 水平均显著增高



与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

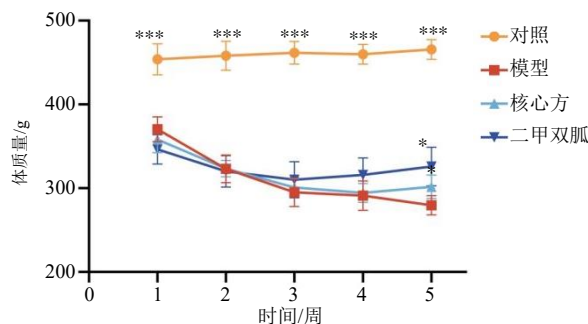
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group.

图 9 核心处方对空腹血糖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 9 Effect of core prescription on fasting blood glucose

($\bar{x} \pm s, n = 6$)

($P < 0.01, 0.001$); 与模型组比较, 核心方组和二甲双胍组的 INS 和 IFCC-HbA1c 水平显著降低 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), 见表 9。



与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group.

图 10 核心方对体质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 10 Effect of core prescription on body mass

($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表 9 血清各指标含量分析 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 9 Analysis of serum various index contents ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	INS/(pg·mL ⁻¹)	IFCC-HbA1c/(mmol·mol ⁻¹)	IL-1β/(pg·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	SOD/(U·mg ⁻¹)	MDA/(nmol·mL ⁻¹)
对照	303.50 ± 45.58**	15.24 ± 3.976***	41.25 ± 6.86**	142.20 ± 21.31***	177.26 ± 18.53***	4.37 ± 1.10***
模型	1 230.00 ± 240.30	87.71 ± 15.85	240.20 ± 56.91	576.00 ± 81.91	121.84 ± 15.97	9.98 ± 2.58
核心方	499.30 ± 66.74**	58.12 ± 11.55*	79.73 ± 17.15**	250.70 ± 33.93***	158.63 ± 21.88**	7.13 ± 1.50*
二甲双胍	393.60 ± 42.07**	33.60 ± 8.861***	120.90 ± 25.36*	309.80 ± 57.32***	149.67 ± 15.41*	6.76 ± 1.85*

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 表 10 同。

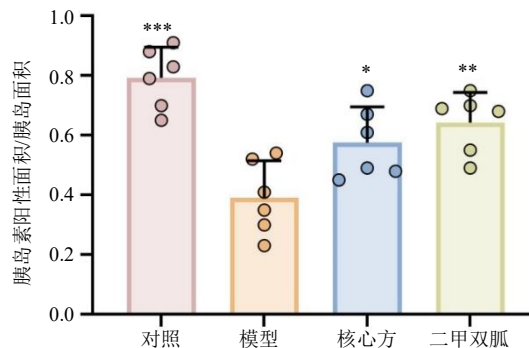
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group; same as table 10.

3.2.4 核心方对气阴两虚型 T2DM 大鼠炎症因子的影响 与对照组比较, 模型组的 IL-1β 和 IL-6 水平均显著上升 ($P < 0.01, 0.001$); 与模型组比较, 核心方组和二甲双胍组 IL-1β 和 IL-6 水平显著下降 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), 见表 9。

3.2.5 核心方对大鼠氧化应激的影响 与对照比较, 模型组的 SOD 活性显著下降 ($P < 0.001$), MDA 水平显著升高 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 核心方组和二甲双胍组 SOD 活性显著增高 ($P < 0.05, 0.01$), MDA 水平显著下降 ($P < 0.05$), 见表 9。

3.2.6 核心方对大鼠胰岛素水平的影响 胰岛素免疫组化染色结果显示, 对照组大鼠胰岛形态结构完整, 胰岛素阳性颗粒排列有序且着色清晰。与对照组相比, 模型组胰岛染色不均, 边界模糊, 胰岛素表达显著下降。与模型组相比, 核心方组与二甲双胍组胰岛素阳性颗粒分布更为集中, 胰岛形态结构得到改善, 胰岛素表达也显著上升。进一步通过

胰岛素阳性面积与胰岛面积的比值进行定量分析发现, 模型组比值较对照组显著降低 ($P < 0.001$); 而核心方组与二甲双胍组较模型组均显著升高 ($P < 0.05, 0.01$), 见图 11、12。



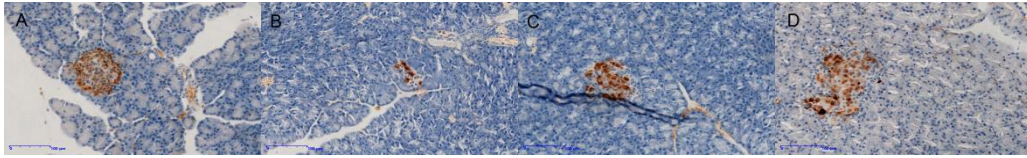
与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group.

图 11 核心方对胰岛素阳性面积比例的影响

($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 11 Effect of core formula on proportion of insulin-positive area ($\bar{x} \pm s, n = 6$)



A-对照组; B-模型组; C-核心方组; D-二甲双胍组; 标尺=100 μm; 图14、16同。

A-control group; B-model group; C-core formula group; D-metformin group; scale bar = 100 μm; same as figures 14, 16.

图 12 胰腺组织胰岛素免疫组化染色结果 (×200)

Fig. 12 Immunohistochemical staining results of insulin in pancreatic tissue (×200)

3.2.7 核心方对大鼠肝脏脂质代谢的影响 肝脏油红 O 染色结果显示, 对照组肝细胞结构正常, 仅见少量散在红色脂滴。模型组肝细胞内出现较多弥漫性、大小不等的红色脂滴, 脂质沉积面积比例较对照组显著升高 ($P < 0.001$)。与模型组相比, 核心方组和二甲双胍组肝细胞内脂滴均明显减少, 脂质沉积面积比例显著降低 ($P < 0.01$ 、 0.001), 见图 13、14。

3.2.8 核心方对大鼠肾脏病变的影响 肾脏组织 PAS 染色结果显示, 对照组肾小球及肾小管基底膜

结构完整, 刷状缘清晰。模型组则出现广泛的系膜扩张, 肾小管刷状缘脱落及管型形成, 病理损伤评分显著升高 ($P < 0.001$)。与模型组相比, 核心方组和二甲双胍组肾小球、肾小管结构均明显改善, 仅见系膜轻度扩张, 个别小管刷状缘不完整, 病理评分显著下降 ($P < 0.05$), 见图 15、16。

3.2.9 核心方对大鼠代谢及炎症氧化应激相关蛋白的影响 Western blotting 结果显示, 与对照组相比, 模型组大鼠肝组织中 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、Nrf2/β-actin 及 HO-1/β-actin 水平均显著下降 ($P <$

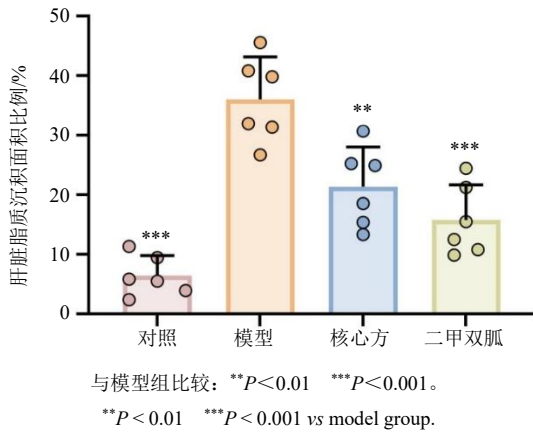


图 13 核心方对大鼠肝脏脂质沉积面积的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 13 Effect of core formula on area of lipid deposition in rat liver ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

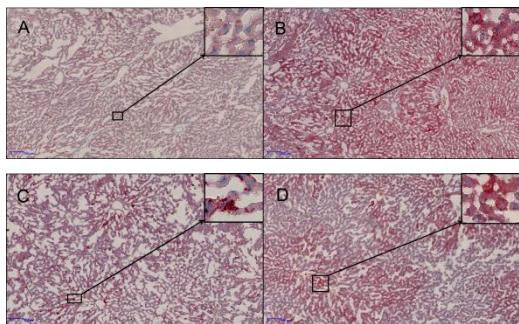


图 14 肝脏油红 O 染色结果 (×200)

Fig. 14 Results of oil red O staining in liver (×200)

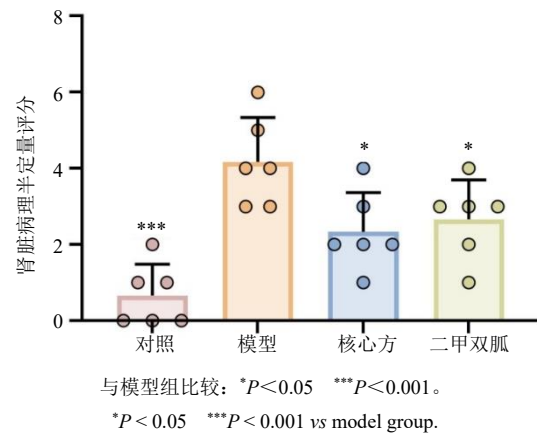


图 15 核心方对肾脏病理积分的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 15 Effect of core formula on renal pathological score ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

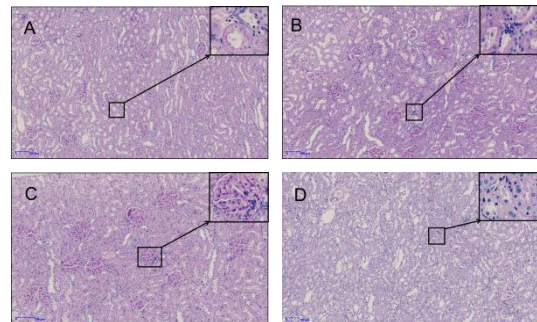


图 16 肾脏 PAS 染色结果 (×200)

Fig. 16 Results of PAS staining in renal (×200)

0.01), p-NF-κB p65/NF-κB p65 水平显著升高 ($P < 0.001$)。与模型组比较, 核心方组和二甲双胍组 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、Nrf2/β-actin 及 HO-

1/β-actin 水平均显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01), p-NF-κB p65/NF-κB p65 水平显著降低 ($P < 0.05$), 见表 10、图 17。

表 10 代谢及氧化应激相关蛋白表达量 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 10 Expression levels of proteins related to metabolism and oxidative stress ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	蛋白相对表达量				
	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt	p-NF-κB p65/NF-κB p65	Nrf2/β-actin	HO-1/β-actin
对照	1.00 ± 0.01**	0.99 ± 0.06**	0.99 ± 0.05***	1.00 ± 0.02**	1.00 ± 0.02**
模型	0.64 ± 0.12	0.58 ± 0.16	1.62 ± 0.14	0.58 ± 0.20	0.57 ± 0.14
核心方	0.88 ± 0.13*	0.85 ± 0.09*	1.24 ± 0.09*	0.92 ± 0.14*	0.91 ± 0.12*
二甲双胍	0.92 ± 0.09*	0.91 ± 0.10*	1.30 ± 0.19*	0.90 ± 0.06*	0.87 ± 0.14**

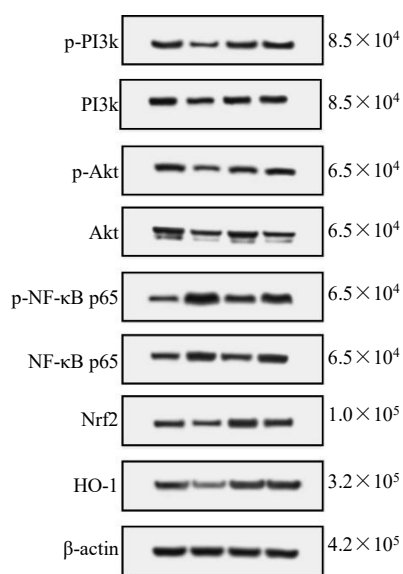


图 17 核心方对大鼠代谢及氧化应激相关蛋白表达水平的影响

Fig. 17 Effects of core formula on expression levels of metabolism and oxidative stress-related proteins in rats

4 讨论

本研究基于检索获得的 200 例名老中医治疗 T2DM 病案, 共归纳出 10 种中医证型, 涉及中药 286 味。研究结果显示, 气阴两虚证是 T2DM 最为常见的中医证型。提示在 T2DM 的治疗中, 应以益气养阴为主要治法, 辅以清热利湿、活血化瘀。药物功效分析也表明, 补虚类、清热类、利水渗湿类及活血化瘀类药物在 T2DM 治疗中应用最为广泛。从药性四气、五味及归经角度来看, 治疗 T2DM 的药物药性以寒、温、平为主, 药味以甘、苦、辛居多, 主要归经为脾、肺、肝经。这一规律同样反映出 T2DM 以气阴两虚为本, 湿、痰、浊、瘀等实邪为标的病机特点^[17]。

在出现频次靠前的药物组合中, 黄芪-葛根、黄芪-山药、黄芪-黄连、黄芪-生地黄、黄芪-茯苓出现频率最高, 其中黄芪-葛根是升阳益气的经典组合。黄芪补脾肺元气为升发之动力, 葛根升阳引药上行直达病所, 对解决 T2DM 核心症状口干口渴疗效显著。黄芪-山药组合的优势在于气阴双补、脾肾同调。其中黄芪偏于补气, 山药偏于养阴固精, 两者协同, 共奏益气养阴之功。黄芪-黄连组合体现了补气泻火、寒温并用的理念。黄芪甘温可制约黄连之苦寒, 防止其败胃伤阳; 黄连苦寒可清泻燥热, 制约黄芪其温燥之性, 防止助火伤阴。黄芪-生地黄是益气养阴的核心组合。黄芪补气, 生地黄滋阴, 两者相合可收气旺则津生, 阴足则火降之良效。

聚类分析得出治疗 T2DM 的 3 类核心组方, 最终选取由黄芪、山药、葛根、山茱萸、茯苓组成的类方作为核心方, 其以益气养阴、健脾固肾为基本治法, 主治 T2DM 之气阴两虚证。核心方以甘温之黄芪为君药, 大补脾肺之气, 以资气血生化之源。臣以山药与山茱萸, 二者皆为气阴双补、质润敛涩之品。其中山药侧重补脾阴、益肺气、固肾精; 山茱萸专入肝肾, 补益阴精、固涩滑脱。佐使之葛根性善升发, 既能升举脾胃清阳, 助津液上润口咽, 其生津舒筋之效又可避免气虚血瘀所致之脉络不通, 为防治消渴络病之要药。茯苓健脾渗湿, 于滋补敛涩药中寓通于补, 既可助运中州以防滋腻碍胃, 又能利水湿之邪从小便而出, 使全方补而不滞, 滋而不腻, 契合 T2DM 病程迁延, 需要长期服药的特点。现代药理学证实, 黄芪多糖能显著抑制大鼠的氧化应激, 调控慢性炎症, 降低血糖^[18]。黄芪甲苷可基于氧化应激、内质网应激、线粒体功能障碍、上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition,

EMT)、铁死亡等作用机制对抗糖尿病肾病,保护肾功能^[19]。山药多糖可提升胰岛素抵抗细胞中丙酮酸激酶及己糖激酶的活性,提高葡萄糖的利用^[20]。山药中的薯蓣皂苷能够抗氧化应激和调控巨噬细胞等信号通路,实现降糖效应^[21]。葛根多糖和葛根抗性淀粉可通过改善血糖敏感性,提高胰岛素合成效率,抑制 α 糖苷酶和调节肠道菌群等途径改善糖尿病^[22]。山茱萸总萜被证实能显著降低糖尿病的胰岛素水平及改善糖耐量^[23]。山茱萸的另一重要成分熊果酸也被发现能够有效提升糖尿病大鼠的胰岛素敏感性^[24]。有研究证实,茯苓多糖能够改善糖尿病小鼠的糖脂代谢。其机制在于促进葡萄糖转运体 2 (glucose transporter 2, GLUT2) 的膜转位与表达以增强葡萄糖摄取,还协同促进了糖原与脂肪酸合成等关键代谢过程^[25]。

研究显示,约 80% 的 T2DM 患者存在胰岛素抵抗现象,在该状态下,胰岛 β 细胞出现功能紊乱,导致胰岛素分泌调节失常,葡萄糖代谢失衡,胰岛 β 细胞代偿性地增加胰岛素分泌,然而此时胰岛素降糖效能显著减弱,这种失代偿状态则会进一步加剧胰岛 β 细胞的功能损害^[26]。T2DM 病程初期或病情较轻时,机体为代偿外周组织对胰岛素敏感性的下降,胰岛 β 细胞会代偿性地增加胰岛素分泌,形成高胰岛素血症,随着病程进展和 β 细胞功能衰竭,胰岛素分泌能力逐渐下降,最终可能发展为胰岛素水平相对不足。本研究中,模型组大鼠采用高脂高糖饲料联合低剂量 STZ (30 mg/kg) 诱导,这种造模方式能够保留部分胰岛功能,模拟临床常见的胰岛素抵抗为主、尚存代偿能力的 T2DM 早期阶段。血清 INS 水平作为胰岛 β 细胞功能与胰岛素敏感性的关键指标,可有效评估药物在改善胰岛素抵抗与保护胰岛功能方面的潜力。HbA1c 则体现了实验周期内的平均血糖水平,反映了药物整体降糖效力,也是预测糖尿病血管病变及其他并发症风险的重要参考^[27-28]。本研究发现,核心方干预显著降低了大鼠的空腹血糖、血清胰岛素及糖化血红蛋白水平,提示核心方可能通过改善外周组织的胰岛素敏感性,减轻了胰岛 β 细胞的代偿性分泌负担,从分子机制层面看,PI3K/Akt 是胰岛素信号转导的核心通路,其磷酸化水平直接决定了葡萄糖转运蛋白的转运效率和糖原合成。Western blotting 结果显示,核心方显著上调了肝组织中 p-PI3K 和 p-Akt 的表达,这表明核心方降糖作用的实质可能是通过激活

PI3K/Akt 信号级联反应,修复受损的胰岛素转导信号,从而增强机体对葡萄糖的摄取与利用。与何茗芪等^[29]在黄芪-生地黄-山药 (HSS) 研究中的结果高度吻合,HSS 研究通过体外胰岛素抵抗 HepG2 细胞实验证实,HSS 含药血清可显著激活 PI3K/Akt/糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β) 信号通路并增加葡萄糖消耗量,本研究则通过动物实验在整体水平上验证了这一机制的可靠性,进一步证明了 PI3K/Akt 通路是此类复方改善胰岛素敏感性的共同靶点。核心方组大鼠体质量在干预期间呈现先降后升的变化,可能与中药复方的渐进起效及代谢状态的动态调整有关。核心方干预初期,T2DM 气阴两虚证的消耗性病理特征、蛋白质与脂肪分解代谢增强仍在持续,导致体质量继续下降。随着核心方持续干预,糖代谢紊乱逐步改善,胰岛素敏感性提高,能量利用效率提升,同时炎症反应与氧化应激得到有效抑制,机体逐渐从高分解状态向合成代谢平衡过渡,因此后期体质量得以回升。这一变化提示,核心方在改善糖尿病代谢紊乱的同时可能通过多靶点调节逐步重建机体的能量代谢稳态。

慢性炎症与氧化应激是驱动 T2DM 发生与发展的两大病理核心,二者共同作用导致胰岛素抵抗的发生与胰岛 β 细胞功能障碍^[30]。炎症因子 IL-1 β 和 IL-6 可通过下调胰岛素受体底物 1 (insulin receptor substrate 1, IRS-1)、激活激活细胞因子信号转导抑制因子 3 (suppressor of cytokine signaling 3, SOCS-3) 的表达干扰胰岛素信号传导直接引发胰岛素抵抗,并通过激活 NF- κ B 及核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3) 炎性小体等通路,触发胰岛 β 细胞凋亡与功能丧失^[31-32]。氧化应激则在此过程中与慢性炎症密切交织、相互放大。高糖高脂的代谢环境导致活性氧大量生成,过量的活性氧不仅损伤胰岛素信号通路加剧 IR,还能激活前述的炎症通路。而持续的炎症状态又会削弱机体的抗氧化能力,放大氧化损伤,与糖尿病的各类并发症等远期风险密切相关^[33-35]。其中,抗氧化酶 SOD 活性的下降直接削弱了机体清除 ROS 的能力,而脂质过氧化终产物 MDA 的积累则是氧化损伤加剧的直接标志。这种互为因果的恶性循环,最终导致了胰岛 β 细胞的功能衰竭与胰岛素信号的传导障碍^[36-37]。本研究进一步探讨了调

控该过程的关键环节, NF- κ B 炎症通路与 Nrf2 抗氧化通路。实验结果证实, 核心方显著抑制了 p-NF- κ B p65 的磷酸化, 同时上调了 Nrf2 及其下游抗氧化酶 HO-1 的蛋白表达。意味着核心方能通过抑炎和抗氧化双向调节机制发挥作用。一方面通过抑制 NF- κ B 活性, 从转录水平阻断 IL-1 β 、IL-6 等促炎因子的爆发; 另一方面通过激活 Nrf2/HO-1 通路, 增强内源性抗氧化防御系统, 从而协同缓解氧化应激带来的组织损伤。研究显示, 核心方能同时作用于这 2 个关键环节, 通过打破其相互促进的恶性循环, 从而在根源上缓解胰岛素抵抗并保护胰岛功能。

在胰岛素免疫组化分析中, 胰岛素阳性面积/胰岛面积的比例量化了胰岛内部功能性 β 细胞所占的相对容积空间, 是评估胰岛细胞状态与微观结构的关键指标。将这一形态学比例与血清胰岛素检测相结合, 能够实现对 β 细胞状态的多维度评估: 血清胰岛素水平动态反映机体在整体生理或病理状态下 β 细胞的即时分泌功能; 而胰岛素阳性面积比例则静态反映了胰岛内部功能性细胞的构成状况与结构储备^[38-39]。二者为 β 细胞的功能输出与结构基础提供了互补的证据。本研究发现模型组大鼠血清 INS 水平显著升高, 呈代偿性高胰岛素血症特征, 然而其胰岛组织 IHC 染色显示胰岛素阳性面积比例显著下降。这可能反映了在严重胰岛素抵抗压力下, β 细胞处于过度代偿性状态, 即胰岛素的合成速度低于分泌释放的速度, 导致胞内胰岛素储备枯竭。而核心方干预后, 随着 PI3K/Akt 的激活和胰岛素敏感性的提升, 机体对高水平 INS 的代偿需求降低, 使 β 细胞得以从超负荷分泌状态中恢复, 表现为血清 INS 回落至正常区间的同时, 组织内胰岛素储备(阳性面积比例)显著回升, 胰岛形态结构亦得到明显改善。

T2DM 病程中常伴随着严重的肝脏脂质代谢紊乱, 中性脂肪在肝细胞内异常沉积易引发胰岛素抵抗和全身代谢失衡, 还会引起代谢性脂肪性肝病(metabolic fatty liver disease, MFLD)的高危风险^[40]。MFLD 状态又可促进多种肝源性因子及炎症介质的释放, 导致肝糖原输出调控紊乱^[41]。通过对肝脏油红 O 染色切片的观察, 证实了核心方组大鼠相较于模型组大鼠肝细胞内脂滴的面积显著减少, 体现出药物对肝脏脂质蓄积状态的改善效果, 并调控 NAFLD 进展。糖尿病肾病(diabetic nephropathy,

DN)在糖尿病并发症体系中居于核心地位, 其发生与进展标志着长期高糖状态对全身血管系统造成了广泛且不可逆的损害。同时, DN 还是导致慢性肾脏病和终末期肾脏病的主要原因^[42-43]。通过肾脏 PAS 染色证实, 核心方组大鼠肾脏组织损伤积分较模型组大鼠显著减轻, 提示核心方在一定程度上能够改善高血糖状态对肾脏的损害以及延缓 DN 进程。本研究通过病理切片观察到了核心方对肝脏脂质沉积及肾脏病理损伤的直接改善作用。相较于 HSS 研究目前仅限于在体外细胞水平的代谢调控, 本实验的体内验证结果为核心方在防治糖尿病大血管及微血管并发症方面的应用, 提供了更直接的器官形态学依据^[28]。

本研究以临床经验驱动, 以科学验证回归, 初步探索并验证了治疗 T2DM 气阴两虚证的核心方剂, 为临床应用提供了参考依据。然而本研究仍存在若干局限性, 主要体现在以下方面: 在数据挖掘阶段, 处方数据来源于公开数据库, 具有一定的选择偏倚, 200 例病案仍有扩大空间, 未来将继续补充病案数据库, 以支持更大规模的数据挖掘研究, 减少数据偏倚。本研究虽初步证实核心方疗效与 PI3K/Akt、NF- κ B 及 Nrf2/HO-1 通路相关, 但尚未阐明各有效成分与特定受体或激酶结合的直接分子靶点。后续可结合网络药理学分子对接与质谱分析, 深入解析相互作用机制。此外, 尽管在给药结束时关键指标呈现持续改善趋势, 但因既定研究周期限制, 未能进一步观察到核心方的长期疗效。上述问题既是本研究的不足, 也为后续研究指明了方向, 未来需在数据库优化、机制深化及长期疗效观察等方面开展更为系统与深入的探索。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Yang W Y, Lu J M, Weng J P, *et al.* Prevalence of diabetes among men and women in China [J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(12): 1090-1101.
- [2] Li Y Z, Teng D, Shi X G, *et al.* Prevalence of diabetes recorded in mainland China using 2018 diagnostic criteria from the American Diabetes Association: National cross sectional study [J]. *Bmj*, 2020, 369: m997.
- [3] 缪卫红. 2 型糖尿病的中医治疗研究进展 [J]. *实用老年医学*, 2023, 37(2): 116-118.
- [4] 蔡明, 熊梦琪, 夏文文, 等. 基于多角度数据挖掘与整合探讨中医药治疗糖尿病脑病的核心方证规律及分子机制 [J]. *中草药*, 2025, 56(24): 9076-9089.
- [5] 杨甲录. 新药(中药)治疗消渴病(糖尿病)临床研究的技术指导原则 [J]. *中国医药学报*, 1990, 5(4): 76-77.

- [6] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2020 年版) (上) [J]. 中国实用内科杂志, 2021, 41(8): 668-695.
- [7] 李灿东. 中医诊断学 [M]. 第 4 版. 北京: 中国中医药出版社, 2016: 8.
- [8] 黎敬波. 中医临床常见症状术语规范 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005: 107-108.
- [9] 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准 [M]. 南京: 南京大学出版社, 1994: 25.
- [10] 中国药典 [S]. 三部. 2020: 1-19.
- [11] 国家中医药管理局、卫生部关于印发医疗机构中药煎药室管理规范的通知 (国中医药发[2009]3 号) [J]. 中华人民共和国卫生部公报, 2009(6): 29-31.
- [12] 曾梦莹, 何新苗, 苏比努尔, 等. 定量代谢组学研究气阴两虚糖尿病大鼠血清小分子代谢特征谱 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(8): 3313-3317.
- [13] Furman B L. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats [J]. *Curr Protoc*, 2021, 1(4): e78.
- [14] Liu H Z, Wu W. Effect of SKF96365 on myocardial fibrosis in type-II diabetic rats [J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2023, 28(9): 231.
- [15] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则: 试行 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 233.
- [16] Qi C Y, Mao X, Zhang Z G, et al. Classification and differential diagnosis of diabetic nephropathy [J]. *J Diabetes Res*, 2017, 2017: 8637138.
- [17] 代培, 谢培凤, 刘铜华, 等. 2 型糖尿病患者中医证型的分布特点及主要证型中患者体重指数与兼证的相关性 [J]. 中医杂志, 2021, 62(15): 1338-1342.
- [18] 武洁, 刘旭光, 冯晓辞, 等. 黄芪多糖调控 Wnt1 信号对糖尿病大鼠糖脂代谢紊乱影响机制研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(11): 43-51.
- [19] 由亚非, 林春盛, 赵楷, 等. 黄芪甲苷抗糖尿病肾病药理作用研究进展 [J]. 中成药, 2025, 47(8): 2624-2631.
- [20] 史文锦, 刘仁慧. 山药在糖尿病及其并发症治疗中的作用机制研究进展 [J]. 山东医药, 2025, 65(1): 144-149.
- [21] 赖敏, 邓汝彬, 邓嘉磊, 等. 薯蓣皂苷的抗炎作用机制研究进展 [J]. 中国医药导报, 2025, 22(9): 46-50.
- [22] 齐缘, 张涵, 焦羽白, 等. 葛根及葛根素治疗 2 型糖尿病的作用机制研究进展 [J]. 江西中医药, 2025, 56(6): 77-80.
- [23] 刘薇, 朱晶晶, 徐志猛, 等. 山茱萸总苷对 KK 糖尿病小鼠的治疗作用研究 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(6): 947-952.
- [24] Wang Z W, Zhou N, Fang S B, et al. Effect of ursolic acid on obesity-induced insulin resistance in rat liver [J]. *Trop J Pharm Res*, 2018, 17(5): 837.
- [25] 张淑静, 宁真真. 茯苓多糖对糖尿病小鼠糖脂代谢和氧化应激紊乱的影响 [J]. 天然产物研究与开发, 2025, 37(2): 195-203.
- [26] 于嘉祥, 张瀚文, 王列, 等. 改善胰岛素抵抗类中药治疗机制研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(1): 157-164.
- [27] Yapanis M, James S, Craig M E, et al. Complications of diabetes and metrics of glycemic management derived from continuous glucose monitoring [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2022, 107(6): e2221-e2236.
- [28] 蒋元霜, 张珂承, 李若璞, 等. 血糖管理指标与 2 型糖尿病慢性并发症的研究进展 [J]. 临床与病理杂志, 2024, 44(8): 1126-1131.
- [29] 何茗芪, 吴挺超, 岳仁宋, 等. 基于网络药理学及实验验证探讨“黄芪-生地黄-山药”治疗 2 型糖尿病的作用机制 [J]. 中国中药杂志, 2026, 51(3): 739-751.
- [30] 宋晓丽, 苏东美, 马金燕. 炎症相关因子参与 2 型糖尿病不同发展阶段及其分子机制的研究进展 [J]. 标记免疫分析与临床, 2025, 32(8): 1724-1729.
- [31] Wang L, Liu T L, Liang R, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate β cell dysfunction of human type 2 diabetic islets by reversing β cell dedifferentiation [J]. *EBioMedicine*, 2020, 51: 102615.
- [32] Song H C, Shi H H, Ji M R, et al. Burdock miR8175 in diet improves insulin resistance induced by obesity in mice through food absorption [J]. *iScience*, 2024, 27(5): 109705.
- [33] Quevedo-Martínez J U, Garfias Y, Jimenez J, et al. Pro-inflammatory cytokine profile is present in the serum of Mexican patients with different stages of diabetic retinopathy secondary to type 2 diabetes [J]. *BMJ Open Ophthalmol*, 2021, 6(1): e000717.
- [34] 任玮, 冯晓桃. 2 型糖尿病慢性炎症的中医病机认识及中医药治疗进展 [J]. 西部中医药, 2025, 38(5): 107-111.
- [35] Lee S H, Park S Y, Choi C S. Insulin resistance: From mechanisms to therapeutic strategies [J]. *Diabetes Metab J*, 2022, 46(1): 15-37.
- [36] Weinberg Sibony R, Segev O, Dor S, et al. Overview of oxidative stress and inflammation in diabetes [J]. *J Diabetes*, 2024, 16(10): e70014.
- [37] Masenga S K, Kabwe L S, Chakulya M, et al. Mechanisms of oxidative stress in metabolic syndrome [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(9): 7898.
- [38] 陈春雅, 李春艳, 安建虹, 等. 链脉佐菌素小鼠糖尿病胰岛结构改变的定量病理学测试及分析 [J]. 中国医学物理学杂志, 2023, 40(5): 622-628.
- [39] 陈学麟, 胡剑卓. 基于网络药理学及实验验证探讨新加消渴方保护胰岛 β 细胞作用机制 [J]. 中国中医药信息杂志, 2022, 29(6): 20-28.
- [40] 梁展云. 2 型糖尿病患者中非酒精性脂肪肝与胰岛素抵抗的相关性 [J]. 吉林医学, 2025, 46(9): 2139-2142.
- [41] 李燕, 刘峰, 张杰文, 等. 补肾健脾方治疗 2 型糖尿病合并非酒精性脂肪肝病的疗效观察 [J]. 广州中医药大学学报, 2025, 42(11): 2705-2713.
- [42] Zou Y T, Zhao L J, Zhang J L, et al. Development and internal validation of machine learning algorithms for end-stage renal disease risk prediction model of people with type 2 diabetes mellitus and diabetic kidney disease [J]. *Ren Fail*, 2022, 44(1): 562-570.
- [43] Yu J W, Liu Y, Li H J, et al. Pathophysiology of diabetic kidney disease and autophagy: A review [J]. *Medicine*, 2023, 102(30): e33965.