

基于网络药理学探讨不忘散加味方治疗 2 型糖尿病轻度认知障碍的机制*

杨 婕¹, 秦玲玲², 吴丽丽³, 胡圣涓⁴, 王翔云¹, 胡 燕¹, 刘铜华^{3Δ}

1 北京中医药大学东方医院, 北京 100078; 2 北京中医药大学科技处, 北京 100029;

3 北京中医药大学教育部中医养生学重点实验室, 北京 102488; 4 北京中医药大学东直门医院, 北京 100029

[摘要] 目的:基于网络药理学和分子对接技术探究不忘散加味方治疗 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)轻度认知障碍的作用机制。方法:利用中药系统药理学数据库与分析平台(traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, TCMSAP)和 BATMAN-TCM 数据库筛选不忘散加味方的药物成分及潜在作用靶点;通过在线人类孟德尔遗传数据库(online mendelian inheritance in man, OMIM)及人类基因数据库(the human gene database, GeneCards)筛选疾病相关靶点, 获取疾病与药物交集靶点, 得出不忘散加味方治疗 T2DM 轻度认知障碍的潜在作用靶点;通过 Cytoscape 3.8.2 软件构建“药物-成分-作用靶点”网络;将疾病与药物交集靶点导入 STRING 数据库, 构建蛋白-蛋白互作(protein-protein interactions, PPI)网络, 筛选核心靶点;借助核心靶基因导入基因功能注释数据库(the database for annotation visualization and integrated discovery, DAVID)对疾病与药物交集靶点做基因本体论(gene ontology, GO)和京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析;通过 AutoDock Vina 软件对筛选出的关键成分与靶点进行分子对接, 验证药物与疾病的作用关系。结果:共筛选得到不忘散加味方活性成分 135 个, 不忘散加味方与 T2DM 轻度认知障碍交集靶点 293 个;获得槲皮素、β-谷甾醇、山柰酚、木犀草素、豆甾醇等关键活性化合物;筛选得到 TP53、IL-6、AKT1、TNF、STAT3、IL-1β、EGFR、JUN、INS、BCL2 等核心靶点;潜在作用靶点主要富集在脂质与动脉粥样硬化通路、糖尿病并发症 AGE-RAGE、流体剪切应力与动脉粥样硬化通路等。结论:不忘散加味存在多种活性成分, 可能通过多个潜在靶点、多条信号通路发挥对 T2DM 合并轻度认知障碍的治疗作用。

[关键词] 2 型糖尿病轻度认知障碍;不忘散加味方;作用机制;网络药理学;分子对接技术

[中图分类号] R255.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2096-9600(2025)05-0024-07

[4] 范晓飞, 杨克勤, 张伟立, 等. 基于少阳三焦理论辨治三焦郁阻型前庭性偏头痛[J]. 中医学报, 2023, 38(10):2113-2118.

[5] 刘志梅, 肖长国. 《四圣心源》“一气周流”理论探讨[J]. 山东中医杂志, 2011, 30(6):365-366.

[6] 赵赫, 王成银. 从“一气周流”论治缺血性中风病[J]. 中国中医基础医学杂志, 2024, 30(3):533-536.

[7] 王远韬, 刘毅. 浅析黄元御“一气周流, 土枢四象”学术思想[J]. 天津中医药大学学报, 2024, 43(8):678-681.

[8] 黄元御. 四圣心源:黄元御医书精华[M]. 孙怡照, 校注. 北京:中国中医药出版社, 2009.

[9] 刘硕, 阳缘乐, 王一楠, 等. 基于“一气周流”思想探析“开四关”的运用[J]. 西部中医药, 2024, 37(11):33-36.

[10] 胡忠杉, 孙洮玉, 马桢. 从“土枢四象, 一气周流”探析儿童肠系膜淋巴结炎的辨治[J]. 北京中医药大学学报, 2024, 47(5):679-685.

[11] NAYAK D, ROTH T L, MCGAVERN D B. Microglia development and function[J]. Annu Rev Immunol, 2014, 32:367-402.

[12] 梁爽, 成泽东. 基于“微生物-肠-脑轴”理论探讨从脾胃论治偏头痛[J]. 中外医学研究, 2024, 22(5):153-157.

[13] 刘金展, 李佩珊, 过伟峰. 养血平肝方治疗血虚肝旺型偏头痛临床研究[J]. 山东中医杂志, 2016, 35(5):391-392.

[14] BALABAN C D. Neurotransmitters in the vestibular system[J]. Handb Clin Neurol, 2016, 137:41-55.

[15] 刘平, 魏日富, 郭丽芳, 等. 激素补充治疗在围绝经期前庭性偏头痛中的应用[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2023, 30(8):488-491.

[16] 王蕊, 刘博, 崔庆佳, 等. 前庭性偏头痛的临床特征及干预效果分析[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2022, 29(3):159-162.

[17] 张宇杰, 马兆鑫, 陈婷婷, 等. 前庭型偏头痛发病机制的研究进展[J]. 中国耳鼻咽喉科杂志, 2022, 22(1):106-109.

[18] 滕鑫, 荆涛, 刘寅, 等. 前庭性偏头痛遗传学机制与中医体质关系的研究进展[J]. 长春中医药大学学报, 2023, 39(1):108-112.

[19] 高晓菁. 半夏白术天麻汤治疗眩晕的临床研究进展[J]. 中国民间疗法, 2021, 29(3):116-118.

[20] 姚明月, 张宝明. 天麻钩藤颗粒联合尼莫地平治疗前庭性偏头痛疗效观察[J]. 实用中医药杂志, 2023, 39(11):2133-2136.

[21] 师虹艳, 杨少坤, 荀军锋, 等. 血府逐瘀汤加减联合盐酸赛庚啉片治疗血瘀型偏头痛的临床观察[J]. 中国医院用药评价与分析, 2023, 23(12):1450-1453.

收稿日期:2024-12-14

*基金项目:甘肃省名中医胡敏捷传承工作室建设项目(甘中医药发[2024]7号)。

作者简介:王倩倩(1999—), 女, 在读硕士研究生。研究方向:中西医结合防治神经内科疾病。

Δ通讯作者:胡敏捷(1966—), 女, 硕士研究生导师, 主任医师, 甘肃省名中医。研究方向:中医脑病。Email:hmd520@qq.com。

The Mechanism of Treating Mild Cognitive Impairment of Type Two Diabetes Mellitus with Modified *Buwang* Powder Based on Network Pharmacology

YANG Jie¹, QIN Lingling², WU Lili³, HU Shengjuan⁴, WANG Xiangyun¹, HU Yan¹, LIU Tonghua^{3△}

1 Dongfang Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China;

2 Science and Technology Department, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

3 Key Laboratory of Health Cultivation, Ministry of Education, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China; 4 Dongzhimen Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract Objective: To survey the mechanism of treating type 2 diabetes mellitus (T2DM)-induced mild cognitive impairment with modified *Buwang* powder based on network pharmacology and molecular docking technology. Methods: TCMSp and BATMAN-TCM databases were utilized to screen the herbal ingredients and the potential targets of actions of modified *Buwang* powder; disease-related targets were screened via OMIM and GeneCards, to obtain the potential targets of action for the treatment of T2DM-induced mild cognitive impairment with modified *Buwang* powder after gaining the intersecting targets of disease and herbs; the network of "medicine-ingredients-the targets of action" was constructed via Cytoscape 3.8.2 software; PPI network was built after introducing the intersected targets of diseases and herbs into String database, to screen out the core targets; GO and KEGG of the intersected targets of disease and herbs were carried out after importing the core target genes into DAVID; molecular docking of the selected key ingredients and targets was performed via AutoDock Vina software to verify the relationship between the action of drugs and diseases. Results: The study has yielded 135 kinds of active ingredients of the prescriptions, 293 intersected targets between modified *Buwang* powder and T2DM-induced mild cognitive impairment, involving the key active compounds including quercetin, β -sitosterol, and kaempferol, lignocerol, and stigmaterol, as well as the core targets such as TP53, IL-6, AKT1, TNF, STAT3, IL-1 β , EGFR, JUN, INS and BCL2; and the potential targets of action were mainly enriched in lipids and the atherosclerotic pathway, diabetic complications AGE-RAGE, fluid shear stress and atherosclerotic pathways and others. Conclusion: Many kinds of active ingredients of modified *Buwang* powder could treat T2DM and mild cognitive impairment possibly through many potential targets and signaling pathways.

Keywords type 2 diabetes mellitus-induced mild cognitive impairment; modified *Buwang* powder; mechanism; network pharmacology; molecular docking technology

目前,糖尿病对神经系统的影响逐渐引起医学界的重视,糖尿病患者患痴呆症的风险较非糖尿病患者增加60%^[1]。糖尿病对认知功能的影响分3个阶段,包括认知功能减退阶段、轻度认知障碍阶段及痴呆阶段。轻度认知功能障碍进一步加重可能导致痴呆的发生,严重影响生活质量,这也使得糖尿病更加难以得到满意的控制,从而形成恶性循环^[2-3]。目前,临床对糖尿病合并轻度认知障碍的产生机制尚未明确,缺乏有效治疗方法和方案。其治疗与单纯认知障碍或痴呆类似,主要包括早期发现危险因素(高血压、高血脂、吸烟、肥胖等)并及时干预,药物治疗如降糖药物、乙酰胆碱酯酶抑制剂的使用,非药物治疗如体育锻炼、生活方式和行为干预等^[4]。

刘铜华教授多从脾、肾、脑论治2型糖尿病轻度认知障碍,认为该病起于糖尿病之阴虚燥热,阴虚多为肾之阴精亏虚,久则髓海不充,神机失用,并有痰湿、瘀阻等兼证,多用不忘散加味方治疗。不忘散出自明代王肯堂《证治准绳》,由远志七分、石菖蒲二分、人参五分、茯苓五分、茯神五部分组成,主治“心孔昏塞,多忘善误”,功可补心益智、安神

强志。刘铜华教授在原方基础上,加滋阴填精、行气活血祛瘀之法,取得良好疗效。本研究旨在通过网络药理学及分子对接技术探讨不忘散加味方治疗2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)轻度认知障碍的作用机制,筛选方药与疾病相关的有效成分及作用靶点。

1 研究方法

1.1 不忘散加味方活性成分筛选 利用中药系统药理学数据库与分析平台(traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, TCMSp)筛选不忘散加味方活性成分及药物作用靶点(组方药物:人参、远志、茯苓、茯神、石菖蒲、黄精、天花粉等),筛选条件为口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$,药物相似性(drug-likeness, DL) ≥ 0.18 ,通过BATMAN-TCM数据库(<http://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm/>)筛选未从TCMSp检索出的药物活性成分。将筛选出的活性成分通过UniProt数据库(<https://www.uniprot.org/>)进行数据化校准,去除与研究无关的靶点,如非人源基因、重复基因,最终获得相关规范基因名。

1.2 T2DM合并认知障碍相关靶点获取 以“Type 2 diabetes mellitus”及“mild cognitive impairment”为关键词,通过检索在线人类孟德尔遗传数据库(online mendelian inheritance in man, OMIM)及人类基因数据库(the human gene database, GeneCards),获得疾病相关靶点,经UniProt 蛋白数据库进行数据化校准,得到疾病全部相关规范基因名。

1.3 药物-疾病靶点预测 将获得的不忘散加味方活性成分靶点与2型糖尿病轻度认知障碍疾病靶点进行映射,通过Venn图显示二者交集基因联系。使用Cytoscape3.8.2软件构建“药物-成分-作用靶点”网络。

1.4 蛋白-蛋白互作网络(protein-protein interactions, PPI)构建 将已知的药物-疾病共同靶点输入STRING数据库,物种限制为人类(Homo sapiens),设定较高置信度(highest confidence) >0.7 ,减少假阳性的发生并保证靶点合理纳入,其他保持默认设置,保存tsv文件。然后导入Cytoscape,进行网络特征分析,突出PPI网络关键靶点,构建聚类功能模块。此分析结果通过蛋白相互作用网络图展示,其中节点与Degree值大小成正比。

1.5 基因本体论(gene ontology, GO)及京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)富集分析 从细胞成分(cellular component, CC)、分子功能(molecular function, MF)及生物过程(biological process, BP)方面进行分析;将PPI网络关键靶点导入Metascape数据库,限定物种为“Homo sapiens”, $P \leq 0.01$,得到GO功能分析和KEGG富集分析结果,利用Cytoscape插件ClueGo进行关键靶点和通路关系分析。

1.6 分子对接验证 1)小分子化合物处理:选取从PubChem数据库获取的SDF格式的化合物,得到排名靠前和结构各异的关键药物化学成分,通过PubChem下载其sdf格式,导入Chem 3D,分别保存为mol2结构文件,再导入Autodock Tools转存为pdbqt格式。2)大分子蛋白处理:在PubMed数据库中查询上述研究所得关键靶蛋白,通过PDB数据库,下载pdb格式文件:要求人源蛋白优先;有蛋白与配体的复合物。再导入Pymol中去除水分子、分离原始配体,在AutodockTools中转存为pdbqt格式。3)最后设置活性口袋,利用Autodock Vina进行分子对接,PyMOL 2.3.0进行相互作用模式分析。

2 结果

2.1 不忘散加味方活性成分 筛选得到活性成分人参22个、茯苓6个、石菖蒲4个、黄精9个、天花粉2个。其中茯神、远志两味药通过TCMSP数据库筛选后未能纳入有效活性成分,通过BATMAN-TCM数据库,在Score cutoff >0.99 (LR=1626)、 $P < 0.05$ 条件下分别得到14个成分及12个成分,共获得135个活性成分。

2.2 药物与疾病相关靶点 共获得2型糖尿病靶点15 661个,认知障碍靶点11 892个,取交集后获得7411个相关靶点。将不忘散加味方治疗靶点与T2DM轻度认知障碍靶点取交集,获得了293个交集靶点基因。见图1。

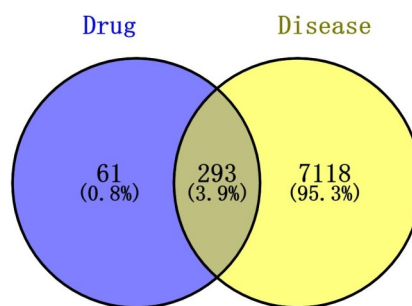
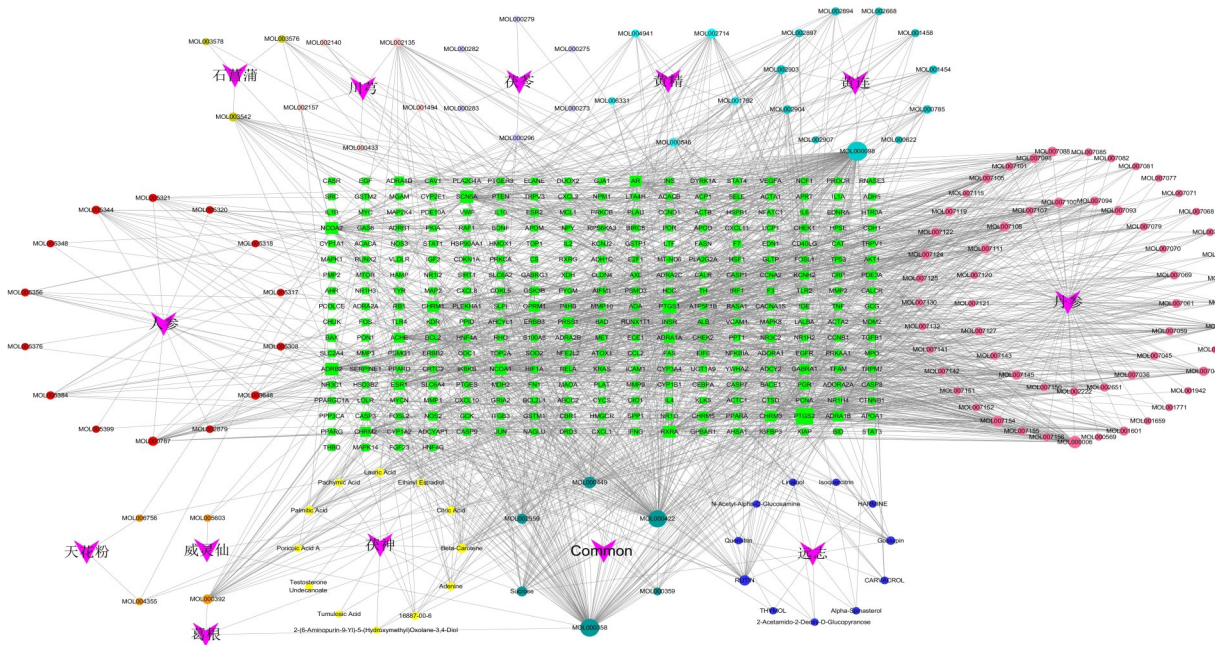


图1 疾病与药物共同靶点韦恩图

2.3 “药物-活性成分-靶点”网络 将上述所得药物-成分-靶点数据文件作图并导入STRING互作分析结果数据“string_interactions_short.tsv”,数据中node1与node2为一对节点,combined_score为互作分数。对导入数据进行网络化分析,得到网络数据几何拓扑分析结果,网络中共441个节点和1703条边,度值排名靠前的成分依次为:槲皮素、 β -谷甾醇、山柰酚、木犀草素、豆甾醇。见图2。

2.4 核心靶点及网络相互作用 将药物靶点和T2DM轻度认知障碍的疾病靶点基因取交集,共293个交集靶点基因,为不忘散加味方在治疗T2DM轻度认知障碍的交互靶点基因。对293个基因使用String数据库进行构建,为保证靶蛋白相互作用研究的可信度,最低相互作用评分数值选择为0.7,所得结果通过Cytoscape 3.8.2绘制PPI网络,纳入Degree大于15的靶点,图中包括105个节点和3384条边。再将网络数据进行拓扑分析,Node大小和颜色鉴别通过degree值调整,二者成正比,Edge粗细以combined_score值反映,从而构建PPI。TP53、IL-6、AKT1、TNF、STAT3、IL-1 β 、EGFR、JUN、INS、BCL2为依次排名靠前的核心靶点。见图3。



注：矩形表示靶点，椭圆形表示药物成分，V型节点代表药物。

图2 “药物-活性成分-靶点”网络

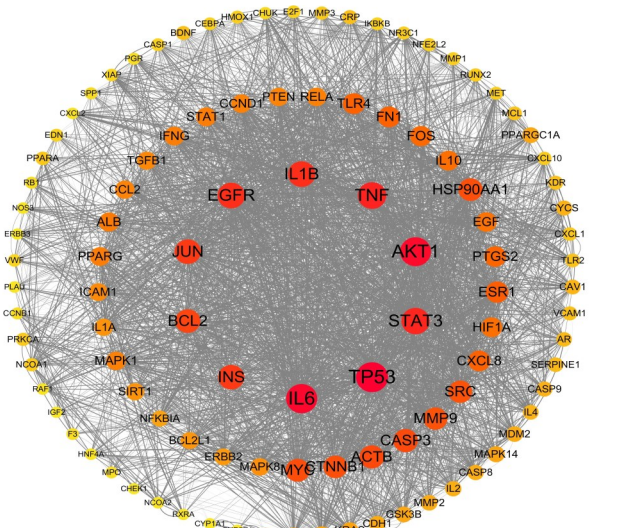


图3 药物-疾病交集靶点

2.5 GO功能富集分析 提交上述研究所得药物-疾病交集基因列表，选择“OFFICIAL_GENE_SYMBOL”，共筛选出749条GO条目，筛选标准取 $P < 0.01$ ，得到不忘散加味方治疗2型糖尿病轻度认知障碍的显著富集生物进程主要条目573条，其中与细胞成分相关74条，与分子功能相关102条。见图4。

2.6 KEGG通路富集分析 共富集到195条与T2DM轻度认知障碍相关的通路，以 $P < 0.01$ 为标准，筛选出164条与T2DM轻度认知障碍治疗相关的通路，依次是脂质与动脉粥样硬化、流体剪切应力与动脉粥样硬化、糖尿病并发症的Age-Rage信号通

路、IL-17信号通路、TNF信号通路、蛋白多糖在癌症中的作用、PI3K/AKT信号通路、EGFR酪氨酸激酶抑制剂抗性、凋亡、内分泌抗性、MAPK信号通路、细胞衰老、人T细胞白血病病毒1型感染、C型凝集素受体信号通路、Th17细胞分化、胰岛素抵抗、Pd-L1在肿瘤中的表达及pd-1检查点通路的研究、甲状腺激素信号通路、FOXO信号通路、HIF-1信号通路等。为了更直观观察到显著性富集信息，把排名前20条的代谢通路制作气泡图，x轴是Gene Ratio，y轴是富集出的通路或者GO Term；点的大小表示Gene数，点的颜色最重要，代表P值高低。气泡大小与基因数目多少成正比，气泡颜色与显著性成正比。见图5。

2.7 分子对接结果 分子对接技术可以预测蛋白与蛋白之间的结合方式，探索两个蛋白结合的三维结构。根据前文分析，选取前5个关键靶点与度值较高的化合物进行对接，因本研究为大小分子之间的对接，故采用半柔性对接方式；另一方面，通过对接结合值进行排序，筛选出结合值越小即越具有亲和力的小分子化合物，通过结合能来表示小分子与靶蛋白结合的能力强弱。选取对接效果最具亲和力的小分子，通过图片进行直观展示；luteolin与AKT1的ALA-230、GLU-228形成氢键，氢键长度分别为2.2Å、2.4Å、2.4Å；Stigmasterol与IL6的ARG-179形成氢键，氢键长度为1.9Å；luteolin与STAT3的ASP-334、GLN-326、GLN-247形成氢键，氢键长度分别为2.4Å、2.2Å、

2.0Å、2.5Å; quercetin与TNF的ARG-98、SER-99、ASN-112、GLN-102形成氢键,氢键长度分别为2.5Å、2.9Å、2.3Å、3.1Å;luteolin与TP53的SER-

269、ASN-131、PHE-113、HIS-115形成氢键,氢键长度分别为2.6Å、2.8Å、2.3Å、2.5Å,对接结果见图6、表1。

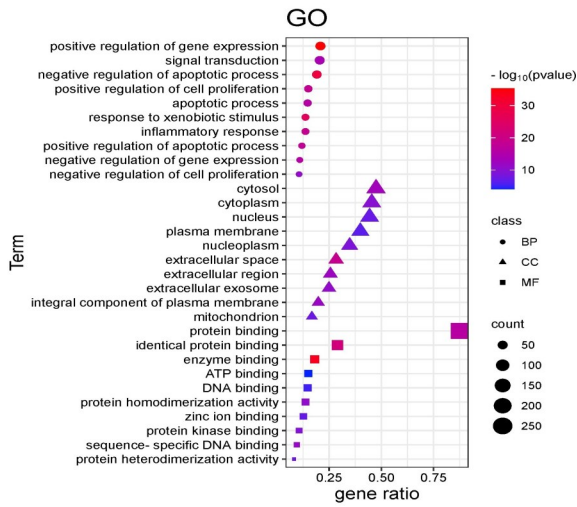


图4 GO生物学过程富集分析

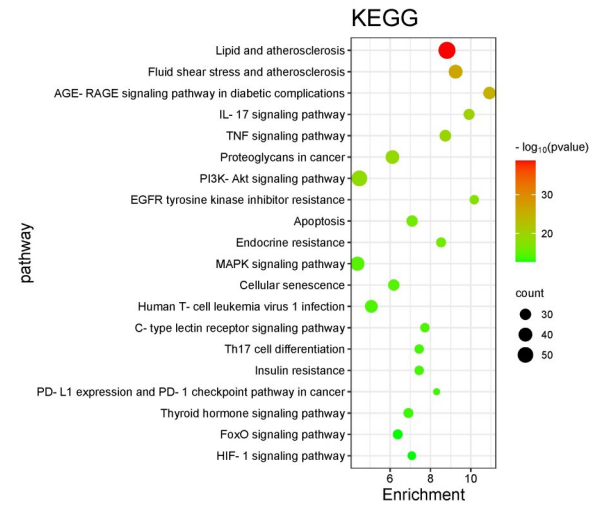
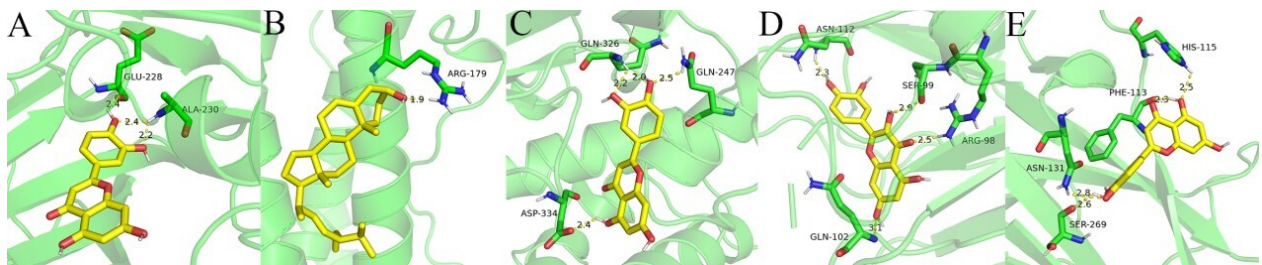


图5 KEGG通路富集分析气泡图



注:A为luteolin和AKT1的相互作用;B为Stigmasterol与IL-6的相互作用;C为luteolin与STAT3的相互作用;D为quercetin与TNF的相互作用;E为luteolin与TP53的相互作用。

图6 部分核心成分与核心靶点分子对接结果

表1 核心小分子与核心靶蛋白对接结果

靶点	PDB ID	化合物	结合能(kcal/mol)	靶点	PDB ID	化合物	结合能(kcal/mol)
IL-6	1ALU	MOL000006	-7	TNF	2E7A	MOL000422	-6.5
		MOL000098	-7			MOL000449	-6.6
		MOL000358	-6.7			MOL000006	-8.9
		MOL000422	-6.8			MOL000098	-9.1
		MOL000449	-7.1			MOL000358	-9
AKT1	6NPZ	MOL000006	-8.4	STAT3	6NJS	MOL000006	-7.6
		MOL000098	-7.8			MOL000098	-7.3
		MOL000358	-7.6			MOL000358	-6.8
		MOL000422	-7.9			MOL000422	-7.1
		MOL000449	-8.3			MOL000449	-7.2
TP53	4AGP	MOL000006	-7.2				
		MOL000098	-6.4				
		MOL000358	-6.5				

3 讨论

中医古籍并无糖尿病合并认知功能障碍的相关病名,但有关“消渴病”的描述中可以看到相关的症状描述,如《圣济总录》载:“消渴日久,健忘怔忡”。现代医家将糖尿病合并认知功能障碍,出现

学习记忆能力减退,神经意识迟钝等症状,归于中医“消渴健忘”“消渴脑病”范畴。刘铜华教授认为,消渴主病在肾,与肺、脾胃相关,肾精亏虚则不能化髓充脑,神明不用,元神失养,表现为认知功能障碍,《医学心悟》云:“肾主智,肾虚则智不足,

故喜忘其前言。”现代医学对于糖尿病合并轻度认知功能障碍的发生机制尚未明晰,可能与炎症和氧化应激的发生、胰岛素抵抗的出现、脑微血管功能和淋巴功能障碍、肠道菌群失调、钙稳态失衡等多种机制相关。既往研究中有学者对不忘散治疗阿尔茨海默病的疗效进行了探索,李新毅教授团队^[5-6]研究发现,不忘散加熟地黄、当归、白术、黄连等药组成的加味不忘散可以改善阿尔茨海默病大鼠的学习记忆能力,加味不忘散可通过下调海马区 NOD 样受体热蛋白结构 3(NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 3, NLRP3)及下游 Caspase-1、IL-1 β 表达,改善炎症和氧化应激,发挥神经元保护作用;在脑微血管功能障碍方面,加味不忘散可通过上调 HIF-1 α /VEGF 信号通路,促进大脑海马区血管再生,增加血管痴呆性大鼠脑组织中微血管密度,进而改善大鼠认知功能^[7]。以上对于阿尔茨海默病大鼠的相关研究表明,以不忘散为基础的方剂对于认知功能的改善具有一定作用。刘铜华教授在临床中常用不忘散加味方治疗 T2DM 合并轻度认知障碍初见成效,后续拟开展相关临床及基础研究以验证疗效、探索作用机制。

本研究通过“药物-活性成分-潜在作用靶点”网络分析发现,不忘散加味方治疗 2 型糖尿病轻度认知功能障碍的关键活性成分可能是槲皮素、 β -谷甾醇、山柰酚、木犀草素、豆甾醇等化学成分。槲皮素是一种天然黄酮类化合物,可通过调节 Sirtuin1/NLRP3 通路发挥抗炎、抗氧化的神经保护作用,槲皮素增加了 sirtuin1 表达,使星形胶质细胞标志物(glial fibrillary acidic protein, GFAP)和炎症因子(Cleaved Caspase-1, IL-1 β , IL-18 等)蛋白水平下降,从而预防神经炎症的发生^[8];此外,槲皮素还可降低海马体中丙二醛(malonaldehyde, MDA)和活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平^[9]。 β -谷甾醇易透过血脑屏障,可通过抑制乙酰胆碱降解提高记忆力、改善认知障碍^[10]。山柰酚属黄酮类化合物,具有抗氧化、抗炎和抗神经毒性作用^[11],可通过降低氧化应激和增强 BDNF/TrkB/CREB 信号通路改善认知能力,还可调节脑内胆碱能系统以改善记忆损伤^[12]。木犀草素可通过调节胆碱能系统和抑制氧化损伤保护阿尔茨海默病大鼠免受淀粉样蛋白- β (amyloid β -protein, A β)诱导的认知障碍^[13],并可通过清除氧自由基、增强抗氧化能力、减少脂质过氧化物的产生以抑制大脑低灌注诱导的慢性炎症,改善认知障碍^[14]。豆甾醇主要通过

激活雌激素或 NMDA 受体增强胆碱能神经系统以发挥认知改善作用^[15]。

TP53、IL-6、AKT1、TNF、STAT3、IL-1 β 、EGFR、JUN 等可能是不忘散加味方治疗 2 型糖尿病轻度认知障碍的关键靶点。分子对接结果显示,不忘散加味方的关键活性成分槲皮素、 β -谷甾醇、山柰酚、木犀草素、豆甾醇与核心靶点 TP53、IL-6、AKT1、TNF、STAT3 等均有较好结合活性及稳定性。TP53 基因是一种被抑癌功能所熟知的基因,同时它兼具防止神经元退化功能,包括维持氧化还原稳态、调节炎症、控制神经突触功能以及减少 A β 等,如 TP53 出现功能障碍,可能导致轻度认知障碍和阿尔茨海默病^[16]。AKT1 是在人体中广泛分布的氨基酸/苏氨酸激酶,其生物功能主要与细胞生长和增殖、血管生成和肿瘤细胞侵袭等过程相关。由 AKT 组成的 P13K/AKT 信号通路参与中枢神经系统多个生理过程,如细胞增殖、自噬、神经元增殖和分化以及突触可塑性等,该通路的激活可以保护神经元避免 A β 诱导而发生神经毒性^[17]。

炎症反应在糖尿病相关认知障碍发生发展中的作用逐渐引起人们重视。炎症与胰岛素抵抗的发生相关,而 T2DM 患者的葡萄糖代谢异常会加重炎症,形成恶性循环,炎症反应的持续刺激与轻度认知障碍、痴呆的发生密切相关^[18]。一项荟萃分析^[19]显示,炎症水平的增高使轻度认知障碍进展到痴呆的风险增加了 3 倍。IL-6、TNF- α 等炎症因子与认知功能呈显著负相关,可能是老年 T2DM 患者轻度认知障碍的炎症生物标志物^[20]。缺氧条件下 IL-6 与其受体结合后会通过系列反应激活信号传导及转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)。STAT3 在细胞增殖、分化、凋亡等过程中起关键作用^[21]。STAT3 通路的激活会导致潜在神经元凋亡,这是导致认知障碍的重要因素之一^[22]。JUN 是 MAPKs 家族成员之一,可参与细胞增殖、炎症、迁移和侵袭等过程,缺氧条件下磷酸化 c-JUN 氨基末端激酶表达提高,这与神经炎症反应、神经元死亡和认知障碍密切相关^[23]。

GO/KEGG 富集分析结果显示,不忘散加味方可能通过基因表达的正调控、信号转导、凋亡过程的负调控参与生物过程。KEGG 通路富集分析发现,不忘散加味方可能通过脂质与动脉粥样硬化、流体剪切应力与动脉粥样硬化、糖尿病并发症的 Age-Rage 等多条信号通路改善糖尿病相关轻度认知障碍。

综上所述,本研究采用网络药理学结合分子

对接方法,对不忘散加味方治疗T2DM相关轻度认知障碍的作用机制,初步明确了药物治疗的有效活性成分、蛋白靶点及KEGG通路。本研究结果体现了不忘散加味方具有多成分、多靶点、多通路协同作用的机制优势,可为其临床治疗T2DM相关轻度认知障碍及下一阶段的临床及基础研究提供参考。

参考文献

- [1] CHATTERJEE S, PETERS S A, WOODWARD M, et al. Type 2 diabetes as a risk factor for dementia in women compared with men: a pooled analysis of 2.3 million people comprising more than 100,000 cases of dementia[J]. *Diabetes Care*, 2016, 39(2):300-307.
- [2] SRIKANTH V, SINCLAIR A J, HILL-BRIGGS F, et al. Type 2 diabetes and cognitive dysfunction—towards effective management of both comorbidities[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2020, 8(6):535-545.
- [3] 贾丽娜, 吴美妮, 尹昌浩. 2型糖尿病认知功能障碍发病机制的研究进展[J]. *临床荟萃*, 2023, 38(6):554-558.
- [4] YANG Y, ZHAO J J, YU X F. Expert consensus on cognitive dysfunction in diabetes[J]. *Curr Med Sci*, 2022, 42(2):286-303.
- [5] 李晓琼, 何玲玲, 刘晓蕾, 等. 加味不忘散对阿尔茨海默病模型大鼠海马神经元细胞凋亡及炎症反应的影响[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2019, 25(10):1362-1365.
- [6] 何玲玲, 李晓琼, 刘晓蕾, 等. 加味不忘散对AD模型大鼠海马区NLRP3炎症通路中相关因子表达的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(4):35-41.
- [7] 李文霞. “加味不忘散”在血管性痴呆大鼠认知功能中的作用及血管再生机制的研究[D]. 太原:山西医科大学, 2022.
- [8] 王旭东, 朱海生, 李晓蕾, 等. 槲皮素对奈瑟球菌感染脑膜炎大鼠脑保护作用的研究[J]. *西部中医药*, 2024, 37(4):23-27.
- [9] LI H, CHEN F J, YANG W L, et al. Quercetin improves cognitive disorder in aging mice by inhibiting NLRP3 inflammasome activation[J]. *Food Funct*, 2021, 12(2):717-725.
- [10] AYAZ M, JUNAID M, ULLAH F, et al. Anti-alzheimer's studies on β -sitosterol isolated from *Polygonum hydropiper* L[J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8:697.
- [11] IMRAN M, RAUF A, SHAH Z A, et al. Chemo-preventive and therapeutic effect of the dietary flavonoid kaempferol: a comprehensive review[J]. *Phytother Res*, 2019, 33(2):263-275.
- [12] YAN T, HE B, XU M, et al. Kaempferide prevents cognitive decline via attenuation of oxidative stress and enhancement of brain-derived neurotrophic factor/tropomyosin receptor kinase B/cAMP response element-binding signaling pathway[J]. *Phytother Res*, 2019, 33(4):1065-1073.
- [13] YU T X, ZHANG P, GUAN Y, et al. Protective effects of luteolin against cognitive impairment induced by infusion of $A\beta$ peptide in rats[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(6):6740-6747.
- [14] FU X, ZHANG J, GUO L, et al. Protective role of luteolin against cognitive dysfunction induced by chronic cerebral hypoperfusion in rats[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2014, 126:122-130.
- [15] PARK S J, KIM D H, JUNG J M, et al. The ameliorating effects of stigmasterol on scopolamine-induced memory impairments in mice[J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 676(1-3):64-70.
- [16] ABATE G, FRISONI G B, BOURDON J C, et al. The pleiotropic role of p53 in functional/dysfunctional neurons: focus on pathogenesis and diagnosis of Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Res Ther*, 2020, 12(1):160.
- [17] LONG H Z, CHENG Y, ZHOU Z W, et al. PI3K/AKT signal pathway: a target of natural products in the prevention and treatment of Alzheimer's disease and Parkinson's disease[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12:648636.
- [18] VERDILE G, KEANE K N, CRUZAT V F, et al. Inflammation and oxidative stress: the molecular connectivity between insulin resistance, obesity, and Alzheimer's disease[J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015:105828.
- [19] DOVE A, SHANG Y, XU W, et al. The impact of diabetes on cognitive impairment and its progression to dementia[J]. *Alzheimers Dement*, 2021, 17(11):1769-1778.
- [20] DU Y, ZHANG Q, ZHANG X, et al. Correlation between inflammatory biomarkers, cognitive function and glycaemic and lipid profiles in patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis[J]. *Clin Biochem*, 2023, 121-122:110683.
- [21] 李晓玲, 吴玉泓, 梁永林, 等. 中医药靶向调控IL-6/JAK/STAT3通路的抗消化系统肿瘤研究进展[J]. *西部中医药*, 2024, 37(6):98-102.
- [22] ZHOU S, ZHONG Z, HUANG P, et al. IL-6/STAT3 induced neuron apoptosis in hypoxia by downregulating ATF6 expression[J]. *Front Physiol*, 2021, 12:729925.
- [23] BUSQUETS O, ETTCHETO M, CANO A, et al. Role of c-Jun N-terminal kinases (JNKs) in epilepsy and metabolic cognitive impairment[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 21(1):255.

收稿日期:2024-07-28

*基金项目:教育部高等学校学科创新引智计划项目(B20055)。

作者简介:杨婕(1987—),女,硕士学位,副主任医师。研究方向:内分泌代谢疾病的中医药防治。

△通讯作者:刘铜华(1963—),男,博士学位,博士后,主任医师。研究方向:内分泌代谢疾病的中医药防治。Email:thliu@vip.163.com。