基于网络药理学和实验验证探究大黄素调控肝糖异生的作用机制*

张婷[1]，房卫华[2]，张珊珊[1]✉

1. 山东中医药大学，山东 济南 250014；2. 山东中医药大学附属医院，山东 济南 250355

摘要：目的：基于网络药理学结合体外实验，探讨大黄素对 AML12 小鼠肝细胞糖异生及关键酶的影响及其作用机制。方法：通过 TCMSP、Swiss Target Prediction 及 SEA 数据库挖掘大黄素相关靶点；利用 OMIM、TTD 及 GeneCards 数据库筛选 2 型糖尿病（type 2 diabetes mellitus，T2DM）相关疾病靶点；获取交集基因后导入 STRING 数据库构建蛋白质－蛋白质相互作用（protein－protein interaction，PPI）网络，进行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。采用 CCK－8 法检测大黄素对 AML12 细胞活力的影响，kFluor488－EdU 法检测大黄素对 AML12 细胞增殖能力的影响。以乳酸钠和丙酮酸钠为糖异生底物、胰高血糖素为刺激物，刺激 AML12 细胞糖异生，分为空白组、模型组、大黄素组（3、6 μmol·L^{-1}）、二甲双胍组（150 μmol·L^{-1}），采用葡萄糖氧化酶法检测葡萄糖含量，ELISA 检测环磷酸腺苷（cyclic adenosine monophosphate，cAMP）含量，RT－qPCR 检测葡萄糖－6－磷酸酶（glucose－6－phosphatase，G6Pase）、磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶（phosphoenolpyruvate carboxykinase，PEPCK）mRNA 表达水平。结果：大黄素有 126 个作用于 T2DM 的潜在靶点。KEGG 富集分析得到 136 条信号通路，与糖异生相关的 cAMP 信号通路在其中显著富集。体外实验证实，3、6 μmol·L^{-1}大黄素处理 24 h 后 AML12 细胞存活率为 100% 左右，对 AML12 细胞无毒性作用。与空白组比较，模型组细胞葡萄糖与 cAMP 含量、*G6Pase* mRNA、*PEPCK* mRNA 表达水平显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，大黄素组细胞葡萄糖与 cAMP 含量、*G6Pase* mRNA、*PEPCK* mRNA 表达水平显著降低（$P<0.05$）。结论：大黄素可能通过抑制 AML12 细胞关键酶基因转录与 cAMP 表达，从而影响肝细胞糖异生。

关键词：大黄素；2 型糖尿病；肝糖异生；网络药理学；AML12 细胞；PEPCK；G6Pase
DOI：10.16368/j.issn.1674－8999.2026.08.265
中图分类号：R285.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1674－8999(2026)08－1766－08

Action Mechanism of Rhein Regulating Hepatic Gluconeogenesis Based on Network Pharmacology and Experimental Validation

ZHANG Ting[1]，FANG Weihua[2]，ZHANG Shanshan[1]

1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine，Jinan Shandong China 250014；2. The Affiliated Hospital to Shandong University of Traditional Chinese Medicine，Jinan Shandong China 250355

Abstract：Objective：Using network pharmacology combined with in vitro experiments，this study aimed to explore the effects of rhein on gluconeogenesis and key enzymes in AML12 mouse liver cells and its underlying mechanisms. Methods：Rhein－related targets were mined using the TCMSP，Swiss Target Prediction，and SEA databases；type 2 diabetes mellitus（T2DM）related disease targets were screened through the OMIM，TTD，and GeneCards databases. The overlapping genes were then imported into the STRING database to

* **基金项目**：山东省中医药科技项目（M－2022141）；山东省老年医学学会 2021 年科技攻关立项项目（LKJGG2021Y042）；济南市科技局项目（202328083）

作者简介：张婷（1997－），女，河北邯郸人，医学硕士，研究方向：中医药防治内分泌代谢性疾病。
✉**通信作者**：张珊珊，主任医师，硕士研究生导师，研究方向：中医药防治内分泌代谢性疾病。E－mail：zss_@163.com

construct a protein – protein interaction (PPI) network and perform KEGG pathway enrichment analysis. The CCK – 8 assay was used to assess the effect of rhein on AML12 cell viability, and the kFluor488 – EdU assay was used to measure its effect on cell proliferation. AML12 cell gluconeogenesis was stimulated with sodium lactate and sodium pyruvate as gluconeogenic substrates and glucagon as a stimulator, divided into blank, model, rhein (3, 6 μmol · L^{-1}), and metformin (150 μmol · L^{-1}) groups. Glucose content was measured by the glucose oxidase method, cAMP levels were detected by ELISA, and mRNA expression of glucose – 6 – phosphatase (G6Pase) and phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) was evaluated using RT – qPCR. Results: A total of 126 potential targets acting on T2DM were obtained from emodin. KEGG enrichment analysis identified 136 signaling pathways, with the cAMP signaling pathway related to gluconeogenesis being significantly enriched. In vitro experiments confirmed that treatment with 3 and 6 μmol · L^{-1} emodin for 24 hours resulted in AML12 cell survival rates around 100%, showing no toxicity to AML12 cells. Compared with the blank group, the model group's cells had significantly increased glucose and cAMP levels, as well as *G6Pase* mRNA and *PEPCK* mRNA expression ($P < 0.05$); compared with the model group, the emodin group showed significantly decreased glucose and cAMP levels, and *G6Pase* mRNA and *PEPCK* mRNA expression ($P < 0.05$). Conclusion: Emodin may affect hepatic gluconeogenesis by inhibiting the transcription of key enzyme genes and cAMP expression in AML12 cells.

Key words: emodin; type 2 diabetes mellitus; gluconeogenesis; network pharmacology; AML12 cells; PEPCK; G6Pase

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是由于胰岛素抵抗或分泌不足而引起的一类代谢性疾病,除胰岛功能缺陷和胰岛素抵抗外,肝糖异生异常也是 DM 发病的重要机制[1]。到 2050 年,全球预计有超过 13.1 亿例 DM 患者。如果血糖长期控制不佳,极有可能引发心、脑、眼、肾、足等器官并发症,导致医疗费用升高、生活质量下降以及致残率、病死率增加,这已成为一个严重的全球公共卫生问题[2]。根据病因将 DM 分为 4 种类型,即 1 型糖尿病(type 1 diabetes mellitus, T1DM)、2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)、特殊类型糖尿病和妊娠期糖尿病[3]。我国以 T2DM 为主,占 DM 患者总数的 90% 以上[4]。因此,T2DM 的防治是全球范围内需要解决的关键问题。

T2DM 常伴随糖异生过程的异常活跃,糖异生失调导致内源性葡萄糖释放增多,亦是该病的核心病理生理特征。肝脏是糖异生的主要器官,是调节葡萄糖稳态的核心,内源性葡萄糖产生的主要贡献者,也是葡萄糖作为糖原的最大储备和葡萄糖调节激素作用的靶器官[5]。研究表明,抑制肝脏糖异生是治疗 T2DM 的有效策略[6]。糖异生途径的关键酶为葡萄糖 – 6 – 磷酸酶(glucose – 6 – phosphatase, G6Pase)和磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK),基因转录水平的高低直接决定这些酶在细胞内的丰度,进而影响糖异生途径的通量,即葡萄糖的生成速度[7]。肝脏胰高血糖素的反应是通过激活环磷酸腺苷 – 蛋白激酶 A(cyclic adenosine monophosphate – protein kinase A, cAMP – PKA)途径来实现的。由于 cAMP 作为第二信使在糖异生途径中启动下游信号级联反应,因此对 cAMP 的调节被视为调控肝脏胰高血糖素反应的重要环节[8]。

清代著名医家吴鞠通在《温病条辨》中所创制的经典方剂——宣白承气汤,主要针对温病“肺热腑实”的病机特点而设,由生石膏、生大黄、杏仁粉和瓜蒌皮组成。本课题组前期研究表明,宣白承气汤联合强化胰岛素在控制血糖、减少血糖波动、抑制 T2DM 患者的黎明现象方面具有显著优势。大黄为宣白承气汤的君药,具有良好的降糖效果。大黄素是大黄的主要有效成分之一,能增加胰岛素敏感性,降低空腹血糖水平,改善胰岛素抵抗[9-10],但对糖异生的调控作用鲜有报道。

通过网络药理学综合分析药物成分和靶点,不仅可以揭示药物与疾病之间的复杂关系、与之相关的靶点及通路,还可以为新药研发提供新的思路和方法[11]。因此,本研究运用网络药理学方法,对涉及糖异生的关键活性成分、参与糖异生过程的潜在靶点及与其相关的信号通路进行系统预测与分析;并通过体外细胞实验验证与糖异生相关的关键基因及信号通路,探讨大黄素调节肝糖异生的作用机制,为 T2DM 的治疗提供新视角和新策略。

1　材料

1.1　细胞　小鼠正常肝细胞 AML12 购于武汉普诺赛生物科技有限公司,货号:CL – 0602。AML12 细胞在含 10% 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、0.5% ITS – G(100 ×)、40 μg · L^{-1} 地塞米松、1% 青 – 链霉素的 DMEM/F12 完全培养基中,37 ℃、5% CO_2 的培养箱中培养。

1.2　试剂　大黄素(山东思科捷生物技术有限公

司，货号：SJ－MN0207，规格 100 mg，纯度≥99.32%）；CCK－8 试剂盒、改良组织/细胞 RNA 快速提取试剂盒、SPARK Ⅱ All－in－one RT Super Mix for qPCR 反转录试剂盒（With gDNA Eraser）、2×SYBR Green qPCR Mix 实时荧光定量 PCR 检测试剂盒（With ROX）（山东思科捷生物技术有限公司，货号：CT001、AC0202、AG0305、AH0104）；盐酸二甲双胍、乳酸钠水溶液、牛血清白蛋白（bovine serum albumin，BSA）、Triton X－100（北京索莱宝科技有限公司，货号：D9351、G2640、1130W052、T8200）；丙酮酸钠溶液、DMEM－F12 培养基、ITS－G（100×）、地塞米松、磷酸盐缓冲液、0.25% 胰蛋白酶、青－链霉素混合液（上海源培生物科技股份有限公司，货号：S410JV、L310KJ、S450J7、R631R4、B310KJ、S310KJ、S110JV）；胰高血糖素（美国 Med Chem Express 公司，货号：HY－P0082）；特级南美 FBS（苏州双洇生物科技有限公司，货号：S711－001S）；DMEM 无糖无酚红培养基（武汉普诺赛生命科技有限公司，货号：WH2623F191）；4% 组织细胞固定液（武汉赛维尔生物科技有限公司，货号：G1101）；kFluor488－Edu 法细胞增殖检测试剂盒（江苏凯基生物技术股份有限公司，货号：KGA9602－100）；葡萄糖检测试剂盒（南京建成生物工程研究所，货号：A154－1－1）；BCA 蛋白浓度测定试剂盒（增强型，上海碧云天生物技术有限公司，货号：P0010S）；环磷酸腺苷（cyclic adenosine monophosphate，cAMP）ELISA 试剂盒［瑞迪生物科技（武汉）有限公司，货号：RE10092］。

1.3　仪器　INC153 型二氧化碳培养箱（德国 Memmert 公司）；5424R 型高速低温离心机（德国 Eppendorf 公司）；DK－8D 型电热恒温水浴锅（上海比朗仪器制造有限公司）；MultiskanGo1510 型酶标仪（美国 ThermoFisher Scientific 公司）；Axiovert40 型倒置显微镜（德国 Carl Zeiss 公司）；Cascada Ⅰ型纯化水系统（美国 PALL 公司）；SIM－F124 型制冰机（日本 SANYO 公司）；Light Cycler 480 型荧光定量 PCR 仪（瑞士 Roche 公司）。

2　方法

2.1　网络药理学分析

2.1.1　大黄素靶点筛选　应用 TCMSP（https://tcmsp－e.com）、Swiss Target Prediction（http://swissstargetprediction.ch）、Similarity Ensemble Approach（https://sea.bkslab.org）数据库检索大黄素相关靶点，合并去除重复数据。

2.1.2　T2DM 靶点筛选　通过 OMIM（http://www.omim.org）、TTD（http://db.idrblab.org/ttd）、GeneCards（https://www.genecards.org）数据库检索 T2DM 相关靶点，合并去除重复数据。

2.1.3　蛋白质－蛋白质相互作用（protein－protein interaction，PPI）网络构建　将筛选出的大黄素和 T2DM 靶点取交集，利用 Venny 2.1.0 在线作图软件绘制韦恩图。将共同靶点输入 STRING（https://string－db.org）数据库，构建 PPI 网络，物种设置为“Homo sapiens”，置信水平设置为 0.400。

2.1.4　GO 功能富集分析与 KEGG 通路富集分析　将交集靶点通过微生信平台进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析，以 $P<0.05$ 为标准筛选条目，结果以气泡图和柱状图可视化输出。

2.2　细胞实验研究

2.2.1　CCK－8 法检测细胞活力　取处于对数生长期的 AML12 细胞，以每孔 4×10^3 个细胞的密度接种至 96 孔板中，培养 24 h 后，加入不同浓度（0、4.5、5、5.5、6、7 μmol·L^{-1}）大黄素溶液，对照组加入不含药物的培养基，空白组内无细胞仅含培养基，每组设置 3 个复孔。干预 24 h 后，更换为含 10% CCK－8 试剂的培养基，37 ℃恒温培养 2 h，采用酶标仪检测 450 nm 处的光密度值，参照 CCK－8 说明书计算细胞活力。

2.2.2　EdU 染色检测细胞增殖能力　取对数生长期的 AML12 细胞，以每孔 2.5×10^5 个细胞的密度接种至 24 孔板中，培养 24 h 后，分别加入不同浓度（3、6 μmol·L^{-1}）大黄素溶液，对照组加入不含药物的培养基，干预 24 h 后终止培养。加入 2× EdU 工作液，37 ℃孵育 2 h。弃去培养基，经 4% 多聚甲醛固定，2 g·L^{-1} 甘氨酸溶液孵育，3% BSA 洗涤，0.5% Triton X－100 通透处理后，以 3% BSA 冲洗 2 次，加入 Click 反应液室温避光孵育 30 min。再次用 3% BSA 及 PBS 洗涤，加入 Hoechst 33342 染色液进行细胞核染色，避光孵育 10 min，最后在倒置荧光显微镜下观察，采用 Image J 软件计数，计算 EdU 阳性细胞率。

EdU 阳性细胞率＝EdU 阳性细胞数/细胞总数×100%

2.2.3　葡萄糖生成量检测　取对数生长期的 AML12 细胞接种于 6 孔板中，贴壁 4 h 后更换为无血清培养基并培养 18 h，用 PBS 洗涤细胞 2 次。以乳酸钠和丙酮酸钠为糖异生底物、胰高血糖素

为刺激物，刺激 AML12 细胞糖异生，分为空白组（2 mmol·L^{-1}丙酮酸钠 + 20 mmol·L^{-1}乳酸钠）、模型组（2 mmol·L^{-1}丙酮酸钠 + 20 mmol·L^{-1}乳酸钠 + 100 nmol·L^{-1}胰高血糖素）、3 μmol·L^{-1}大黄素组（2 mmol·L^{-1}丙酮酸钠 + 20 mmol·L^{-1}乳酸钠 + 100 nmol·L^{-1}胰高血糖素 + 3 μmol·L^{-1}大黄素）、6 μmol·L^{-1}大黄素组（2 mmol·L^{-1}丙酮酸钠 + 20 mmol·L^{-1}乳酸钠 + 100 nmol·L^{-1}胰高血糖素 + 6 μmol·L^{-1}大黄素）、二甲双胍组（2 mmol·L^{-1}丙酮酸钠 + 20 mmol·L^{-1}乳酸钠 + 100 nmol·L^{-1}胰高血糖素 + 150 μmol·L^{-1}二甲双胍），刺激 6 h 后，采用葡萄糖氧化酶法试剂盒检测上清液中的葡萄糖含量，同时运用 BCA 法评估各样本孔中的蛋白浓度，以便对葡萄糖含量进行校正。

2.2.4　ELISA 检测 cAMP 含量　取对数生长期的 AML12 细胞，按“2.2.3”项下方法分组、处理。收集各组细胞，1 000 × *g* 离心 5 min。用预冷的 PBS 洗涤细胞，加入含 1% PMSF 的 PBS 至细胞沉淀中重悬细胞，反复冻融使细胞破裂。将提取液置于 2 ~ 8 ℃，1 500 × *g* 离心 10 min，取上清，使用酶标仪于 450 nm 波长处检测光密度值，并计算 cAMP 含量，具体操作严格参照相应试剂盒说明书执行。

2.2.5　RT - qPCR 检测糖异生相关基因表达水平　取对数生长期的 AML12 细胞，按照“2.2.3”项下方法分组、处理，用 PBS 润洗 2 次细胞，获得所需的细胞样本。提取细胞总 RNA，并将其反转录为 cDNA，所用反应体系的配制依照试剂盒的说明书进行，反转录反应条件：50 ℃，15 min；85 ℃，5 s。RT - qPCR 反应设置：94 ℃预变性 3 min，94 ℃变性 10 s，60 ℃退火和延伸 30 s，总共进行 40 个循环。以 β - actin 为内参基因，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算各组细胞 *PEPCK*、*G6Pase* mRNA 表达水平。引物由山东思科捷生物技术有限公司设计与合成，引物序列见表 1。

表 1　引物序列

基因	序列（5′ - 3′）
PEPCK	上游：GTGTTTGTAGGAGCAGCCATGAG
	下游：GCCGAAGTTGTAGCCGAAGAAG
G6Pase	上游：CTGTGATTGCTGACCTGAGGAAC
	下游：TGCCACCCAGAGGAGATTGATG
β - actin	上游：AGCCATGTACGTAGCCATCC
	下游：CTCTCAGCTGTGGTGGTGAA

2.2.6　统计学方法　采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行数据分析和统计，计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示。对于符合正态分布的数据，多组间比较采用单因素方差分析，方差齐者两两比较采用 *Newman - Keuls* 检验，方差不齐采用 *Welch* 检验；不符合正态分布的数据，多组间比较采用 *Kruskal - Wallis* 非参数检验，组间比较采用 *Dunn's* 检验。$P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3　结果

3.1　网络药理学结果

3.1.1　大黄素抗 T2DM 的潜在靶点　大黄素相关靶点 140 个，T2DM 相关靶点 6 782 个，两者有 126 个交集靶点，见图 1。

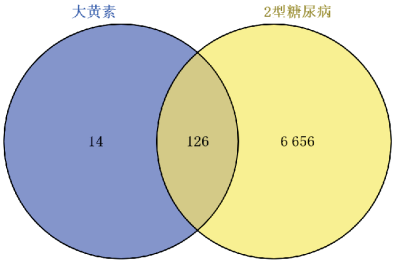


图 1　大黄素与 2 型糖尿病交集靶点韦恩图

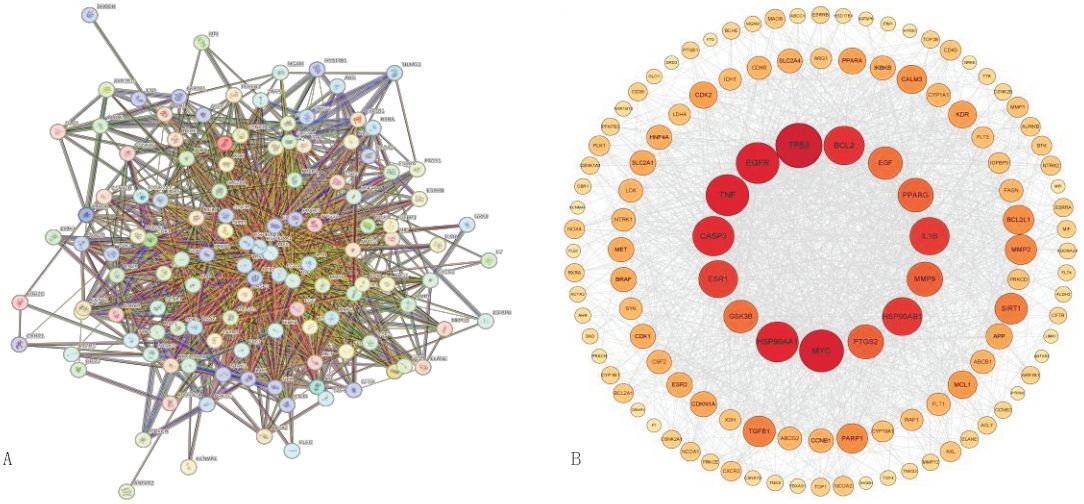
3.1.2　PPI 网络　PPI 网络见图 2A，该网络包括 125 个节点和 1 484 条边。将其导入 Cytoscape 3.8.0 软件，根据靶点相互作用的网络关系数据绘制蛋白相互作用网络图，以靶点大小与颜色深浅反映 degree 值，值越大说明靶点越重要，见图 2B。

3.1.3　GO 功能与 KEGG 通路富集分析　GO 富集分析显示交集靶点主要涉及肽基丝氨酸修饰、细胞对药物的反应、细胞对氧化应激的反应等生物过程（biological process，BP）；膜筏、膜微区、膜区等细胞组分（cell component，CC）；蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性、DNA 结合转录因子的结合、核受体活性等分子功能（molecular function，MF），见图 3。

KEGG 分析发现交集基因富集于 136 条通路，大黄素干预 T2DM 的作用机制可能涉及 cAMP 信号通路、PI3K/AKT 信号通路等，见图 4。

3.2　细胞实验结果

3.2.1　大黄素对 AML12 细胞活力的影响　CCK - 8 检测显示，0、4.5、5、5.5、6 μmol·L^{-1}大黄素组比较，细胞活力的差异无统计学意义（$P > 0.05$）。与 0 μmol·L^{-1} 大黄素组比较，7 μmol·L^{-1}大黄素组细胞活力显著降低，差异有统计学意义（$P < 0.001$），见图 5。因此，选取 3 μmol·L^{-1}、6 μmol·L^{-1}作为后续实验的大黄素浓度。



注：A：原始 PPI 网络图；B：重要靶点 PPI 网络图。

图 2　PPI 网络图

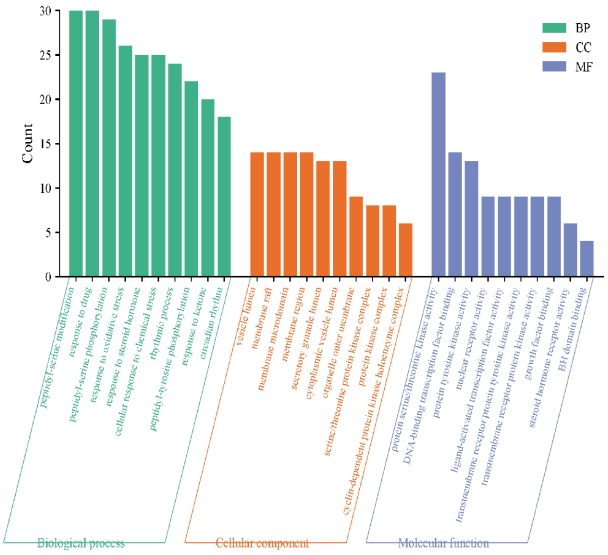


图 3　GO 富集分析条目条形图

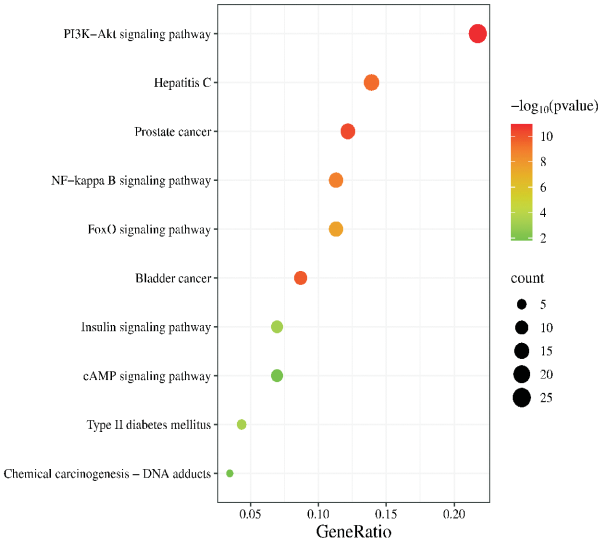
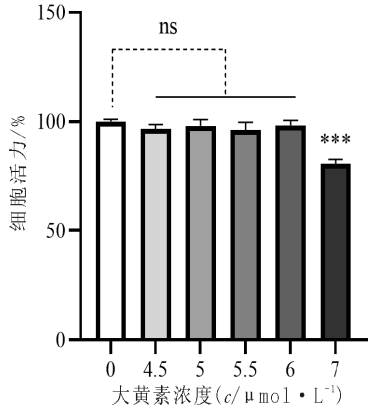


图 4　KEGG 通路富集分析气泡图

3.2.2　大黄素对 AML12 细胞增殖的影响　EdU 染色显示，对照组、3 μmol·L^{-1}大黄素组和 6 μmol·L^{-1}大黄素组比较，EdU 阳性细胞率的差异无统计学意义（$P>0.05$），表明大黄素对 AML12 细胞增殖无明显影响，见图 6。



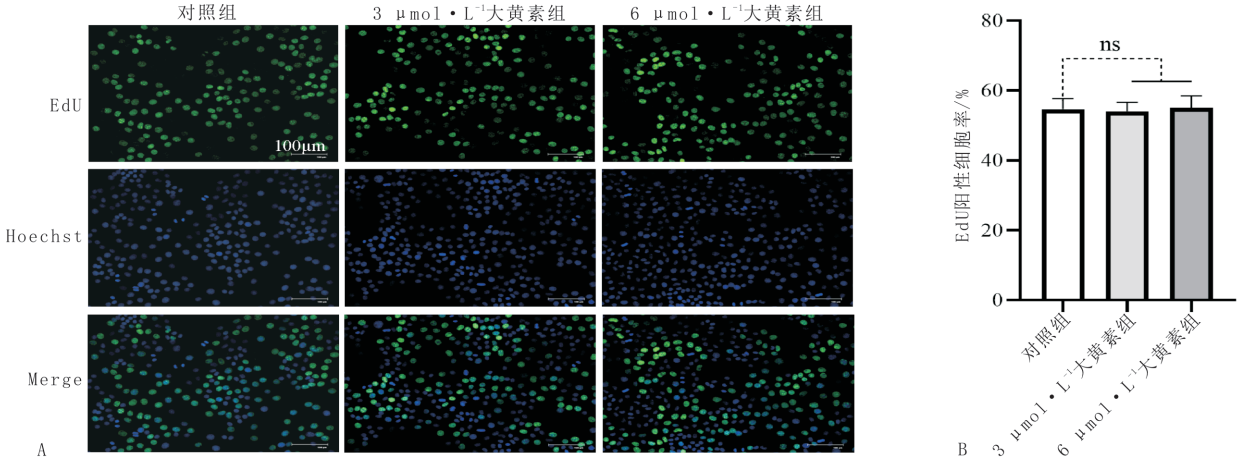
注：ns：$P>0.05$；与 0 μmol·L^{-1}大黄素组比较，***$P<0.001$。

图 5　各组 AML12 细胞活力比较

3.2.3　大黄素降低胰高血糖素诱导条件下 AML12 细胞葡萄糖生成　葡萄糖氧化酶法检测显示，与空白组比较，模型组细胞上清液中葡萄糖含量显著增加（$P<0.001$）；与模型组比较，大黄素组与二甲双胍组细胞上清液中葡萄糖含量显著减少（$P<0.001$），见图 7。

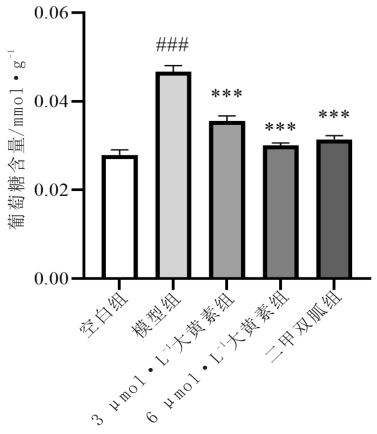
3.2.4　大黄素降低 AML12 细胞上清液中 cAMP 含量　ELISA 显示，与空白组比较，模型组细胞上清液中 cAMP 含量显著增加（$P<0.001$）；与模型组比较，大黄素组与二甲双胍组细胞上清液中 cAMP 含量显著减少（$P<0.001$），见图 8。

3.2.5　大黄素降低 AML12 细胞中糖异生关键基因的表达水平　RT－qPCR 检测显示，与空白组比较，模型组细胞 *PEPCK*、*G6Pase* mRNA 表达水平升高（$P<0.05$）；与模型组比较，大黄素组与二甲双胍组细胞 *G6Pase*、*PEPCK* mRNA 表达水平降低（$P<0.05$），见图 9。



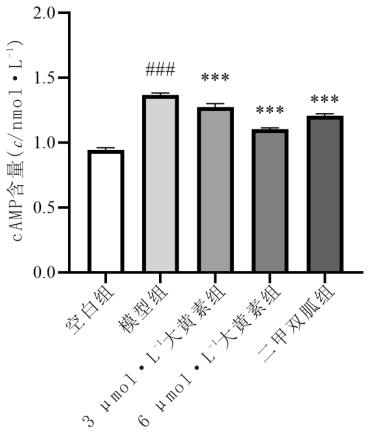
注：A：EdU 染色图；B：各组 EdU 阳性细胞率比较；ns：$P>0.05$。

图 6　各组 AML12 细胞 EdU 阳性细胞率比较



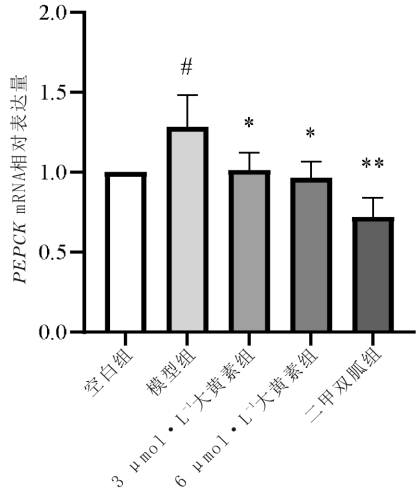
注：与空白组比较，###$P<0.001$；与模型组比较，***$P<0.001$。

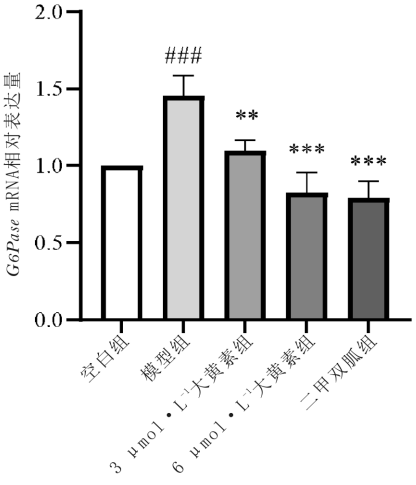
图 7　各组 AML12 细胞上清中葡萄糖含量比较



注：与空白组比较，###$P<0.001$；与模型组比较，***$P<0.001$。

图 8　各组 AML12 细胞上清液中 cAMP 含量比较





注：与空白组比较，#$P<0.05$，###$P<0.001$；与模型组比较，*$P<0.05$，**$P<0.01$，***$P<0.001$。

图 9　各组 AML12 细胞 *PEPCK*、*G6Pase* mRNA 表达水平比较

4　讨论

T2DM 是最常见的代谢性疾病之一，其特点在于多种代谢紊乱的共存。这些代谢紊乱主要包括高血糖、高脂血症以及胰岛素抵抗，它们之间相互关联，共同构成了 T2DM 的病理生理基础[12-13]。肝糖异生和葡萄糖生成是维持正常血糖水平的关键，而过度活化的肝糖异生会导致 DM[14]。DM 属中医“消渴”“脾瘅”“消瘅”等范畴，以多饮、多食、多尿、乏力、消瘦为主要临床表现。宣白承气汤具有清肺定喘、通腑化痰的功效，是中医“肺与大肠相表里”理论的具体体现，也是上下同治、脏腑同治、肺肠同治的经典方剂[15]。

中医认为，人体是一个有机整体，体内各个脏腑相互联系，共同维持阴阳动态平衡，阴阳失调则会变生疾病[16]。“肺朝百脉”出自《素问·经脉别论》，指肺通过呼吸运动，吸入自然界的清气，呼出体内的浊气，从而调节全身气机，促进血液运行。肺主治节，是对肺主要生理功能的高度概括，指肺气具有治理调节呼吸、气血、水液代谢的作用。中医认为，肺与大肠的气血流注异常可能是造成黎明现象的关键病机。控制内源性葡萄糖产量是治疗黎明现象的关键，而抑制肝脏糖异生是减少清晨内源性葡萄糖生成的重要突破口。本课题组前期研究表明，宣白承气汤联合强化胰岛素可抑制 T2DM 患者的黎明现象，减少日间血糖波动[17]。由此推测，宣白承气汤及其活性成分可以控制内源性葡萄糖生成，从而抑制糖异生。研究显示，大黄素是大黄的主要活性成分，对 T2DM 有良好的治疗作用[18-20]。

糖异生又称葡糖异生，是由简单的非糖前体（如丙酮酸、乳酸、生糖氨基酸及甘油等）通过一系列复杂的生化反应转变为糖（葡萄糖或糖原）的过程，其中肝脏作为主要器官发挥关键作用。肝糖异生过度激活导致肝糖输出增多，此过程依赖于 4 种关键酶的催化作用：丙酮酸羧化酶、PEPCK、二磷酸果糖酶磷酸酶以及 G6Pase。其中，*PEPCK* 和 *G6Pase* 基因的转录水平变化会对糖异生的速度产生影响，它们是糖异生过程的主要限速酶。由于这两种酶不存在别构效应及翻译后调节作用，其基因转录水平能够有效表征蛋白酶的表达水平，因此 PEPCK 与 G6Pase 作为重要的分子标志物，对于研究细胞糖异生具有显著意义[21]。胰高血糖素被广泛认为是胰岛素的反调节激素，可增加糖原分解和糖异生[22]。胰高血糖素通过环磷酸腺苷-蛋白激酶 A 信号，促进环磷酸腺苷反应元件结合蛋白（cyclic adenosine monophosphate response element binding protein，CREB）的激活，增强 PEPCK 和 G6Pase 的转录水平，从而推动糖异生过程的启动[23]。通过糖原磷酸化酶的催化作用，逐个移除葡萄糖基单元，形成葡萄糖-1-磷酸，继而通过磷酸葡萄糖变位酶的催化作用，转化为葡萄糖-6-磷酸，从而生成葡萄糖和无机磷酸。如此，葡萄糖即可释放到血液中，从而维持血糖平衡[24]。近年来关于中药及其有效成分在肝糖异生中的作用得到广泛关注，为中医药治疗 T2DM 提供了更多潜在药物靶点，有望成为 T2DM 防治的重要突破口。

研究证实，cAMP 信号通路在 T2DM 治疗中发挥重要作用[25]。本研究中，cAMP 信号通路在大黄素治疗 T2DM 的网络药理学分析中出现富集。细胞实验表明，大黄素呈剂量依赖性抑制肝细胞葡萄糖生成、降低 cAMP 水平、下调 *PEPCK* 和 *G6Pase* 基因表达水平，提示大黄素可减少肝糖输出，从而抑制糖异生。

综上所述，大黄素可能通过抑制 AML12 细胞关键酶基因转录与 cAMP 表达，从而影响肝细胞糖异生。

参考文献：

[1] 冯兴中. 中医药防治糖尿病临床应用及科学研究述评[J]. 北京中医药，2022，41（3）：224-229.

[2] Lancet T. Diabetes：a defining disease of the 21st century[J]. Lancet，2023，401（10394）：2087.

[3] 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.

[4] 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.

[5] Scoditti E，Sabatini S，Carli F，et al. Hepatic glucose metabolism in the steatotic liver[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol，2024，21（5）：319-334.

[6] Wu F，Shao Q Q，Xia Q S，et al. A bioinformatics and transcriptomics based investigation reveals an inhibitory role of

Huanglian – Renshen – Decoction on hepatic glucose production of T2DM mice via PI3K/Akt/FoxO1 signaling pathway[J]. Phytomedicine,2021,83:153487.

[7]Goto M,Yoshioka T,Battelino T,et al. TNFα decreases gluconeogenesis in hepatocytes isolated from 10 – day – old rats [J]. Pediatr Res,2001,49(4):552 – 557.

[8]Zhang W S,Pan A,Zhang X,et al. Inactivation of NF – κB2 (p52) restrains hepatic glucagon response via preserving PDE4B induction[J]. Nat Commun,2019,10(1):4303.

[9]Feng Y,Huang S L,Dou W,et al. Emodin,a natural product, selectively inhibits 11beta – hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and ameliorates metabolic disorder in diet – induced obese mice[J]. Br J Pharmacol,2010,161(1):113 – 126.

[10]Wang Y J,Huang S L,Feng Y,et al. Emodin,an 11β – hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitor,regulates adipocyte function in vitro and exerts anti – diabetic effect in ob/ob mice[J]. Acta Pharmacol Sin,2012,33(9):1195 – 1203.

[11]王子怡,王鑫,张岱岩,等. 中医药网络药理学:《指南》引领下的新时代发展[J]. 中国中药杂志,2022,47(1):7 – 17.

[12]Liu L L,Zhang J H,Cheng Y,et al. Gut microbiota:a new target for T2DM prevention and treatment[J]. Front Endocrinol,2022,13:958218.

[13]Gromada J,Duttaroy A,Rorsman P. The insulin receptor talks to glucagon? [J]. Cell Metab,2009,9(4):303 – 305.

[14]Rena G,Hardie D G,Pearson E R. The mechanisms of action of metformin[J]. Diabetologia,2017,60(9):1577 – 1585.

[15]罗成,叶远航,盛国光,等. 宣白承气汤及其加减方治疗呼吸系统疾病研究进展[J]. 中成药,2023,45(10):3369 – 3375.

[16]徐文静,刘保延,于傲天,等. 利用系统科学方法解读中医诊疗理念[J]. 世界科学技术:中医药现代化,2023,25(11):3548 – 3553.

[17]孙光慧,郭丛丛,时吉来,等. 宣白承气汤辅助治疗 2 型糖尿病黎明现象的效果及其机制[J]. 山东医药,2022,62(20):15 – 19.

[18]胡昱月,黄蕾,姚立山,等. 大黄素调控 p53/GPX4 通路对中性粒细胞外诱捕网形成和糖尿病肾病的影响[J]. 安徽医学,2025,46(1):1 – 9.

[19]张宁,崔萌. 大黄素靶向 ILK 基因表达抑制高糖诱导的糖尿病肾病足细胞上皮间质转化[J]. 中国老年学杂志,2024,44(24):6103 – 6107.

[20]张丽敏,李琳,张芳,等. 大黄素靶向 ILK 基因抑制糖尿病肾病足细胞上皮间质转化[J]. 中医学报,2025,40(9):1995 – 2002.

[21]谢秀英,沙雯君,雷涛,等. 中医药通过调节肝糖异生从脾论治糖尿病研究进展[J]. 上海中医药杂志,2021,55(5):94 – 101.

[22]Wu T Z,Rayner C K,Marathe C S,et al. Glucagon receptor signalling – backwards and forwards[J]. Expert Opin Investig Drugs,2018,27(2):135 – 138.

[23]Tao Y,Jiang Q H,Wang Q. Adipose tissue macrophages in remote modulation of hepatic glucose production[J]. Front Immunol,2022,13:998947.

[24]汪鋆植,边宇,邓改改,等. 3 – 羟基根皮苷对小鼠血糖及糖异生关键酶 G – 6 – Pase 的影响[J]. 三峡大学学报:自然科学版,2021,43(4):106 – 112.

[25]韩锦铂,王一国. 肝脏糖异生的调控[J]. 中国细胞生物学学报,2019,41(7):1213 – 1224.

收稿日期:2026 – 03 – 05
编辑:刘凯歌