

基于网络药理学和实验验证的小檗碱调控 2 型糖尿病大鼠脂肪沉积的作用及机制研究

苏 晓^{1,2}, 马文欣², 刘 畅²,
惠 亮^{1,2}, 马会明^{1,2}, 杨嘉豪¹, 王剑锋⁴, 朱向东^{1,2,3*}

¹宁夏医科大学中医学学院;²宁夏医科大学大学生育力保持教育部重点实验室;

³宁夏少数民族医药现代化教育部重点实验室, 银川 750004;⁴河南中医药大学, 郑州 450046

摘要: 基于网络药理学及分子对接技术, 结合体内实验探究小檗碱 (berberine, BBR) 干预 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 大鼠脂肪沉积的调控作用及机制。利用 TC MSP 数据库检索 BBR 作用靶点, 基于 TTD、GeneCards 等数据库筛选 T2DM 的基因靶点, 通过蛋白质相互作用网络筛选核心靶点, 进行 GO 和 KEGG 通路富集分析, 构建“活性成分-靶点-通路”网络并进行分子对接验证。采用高脂饲料喂养联合腹腔注射链脲佐菌素建立 T2DM 大鼠模型, 使用随机数字表法分为空白对照组、模型组、二甲双胍组 (200 mg/kg)、BBR 低剂量组 (50 mg/kg)、BBR 中剂量组 (100 mg/kg)、BBR 高剂量组 (200 mg/kg), 每组 10 只。定期测量大鼠血清空腹血糖 (fasting blood glucose, FBG); ELISA 法检测大鼠血清空腹胰岛素 (fasting insulin, FINS) 和糖化血红蛋白 (glycated hemoglobin, GHb) 水平; 全自动生化分析仪检测血清总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglycerides, TG)、丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 和天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 水平; HE 染色法观察脂肪组织病理形态学变化; 油红 O 染色法观察肝脏肝细胞内脂质沉积情况; Western blot 和免疫组织化学染色 (immunohistochemistry, IHC) 法检测脂肪组织中调控脂肪沉积的相关蛋白表达定位和表达量。网络药理学初步筛选出 BBR 活性成分 105 个, 与 T2DM 交集靶点 99 个, GO 和 KEGG 富集分析主要涉及调节炎症介导的瞬时受体电位 TRP (transient receptor potential, TRP) 通道、神经活性配体、内分泌抵抗和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 等信号通路, 分子对接显示小檗碱关键活性成分与核心靶点具有较好的结合活性; 体外实验结果显示不同剂量 BBR 治疗均可有效减轻糖尿病大鼠的胰岛素抵抗; 降低血清 FBG、GHb、TG、TC、ALT 和 AST 水平 ($P < 0.01$); 保护脂肪组织形态; 改善肝脏组织脂质沉积; Western blot 和 IHC 结果显示, 中剂量的 BBR 治疗下调脂肪酸合成酶 (fatty acid synthetase, FAS)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR γ)、CCAAT/增强子结合蛋白 α (CCAAT enhancer binding protein alpha, C/EBP α)、 β 肾上腺素受体 (β -adrenoceptor, β -AR)、过氧化物酶体增殖物激活受体- γ 辅激活因子-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α , PGC1 α) 和线粒体棕色脂肪解偶联蛋白 1 (uncoupling protein1, UCP1) 蛋白的表达 ($P < 0.01$), 上调激素敏感性脂肪酶 (hormone-sensitive lipase, HSL) 和甘油三酯脂肪酶 (adipose triglyceride lipase, ATGL) 蛋白的表达 ($P < 0.01$)。小檗碱通过调控 β -AR 通路, 能有效抑制 T2DM 大鼠脂肪沉积相关因子表达, 进一步减轻 T2DM 大鼠胰岛素抵抗。

关键词: 小檗碱; 脂肪沉积; β -AR 通路; 2 型糖尿病大鼠

中图分类号: R285; R587.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-6880 (2026) 8-1790-14

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2026.8.017

CSTR: 32307.14.1001-6880.2026.8.017

Effect and mechanism of berberine in regulating adipose deposition in rats with type 2 diabetes mellitus based on network pharmacology and experimental verification

SU Xiao^{1,2}, MA Wen-xin², LIU Chang², HUI Liang^{1,2},
MA Hui-ming^{1,2}, YANG Jia-hao¹, WANG Jian-feng⁴, ZHU Xiang-dong^{1,2,3*}

收稿日期: 2025-09-08

接受日期: 2025-11-21

基金项目: 宁夏回族自治区重点研发科技项目 (2022BEG02034); 宁夏自然科学基金重点项目 (2023AAC02035); 宁夏自然科学基金委员会一般项目 (2023AAC03214); 宁夏回族自治区 II 型糖尿病中医药态靶辨治基础与临床研究创新团队项目 (2022BSB03113)

* 通信作者 E-mail: zhuxiangdong33@163.com

¹ School of Traditional Chinese Medicine,Ningxia Medical University; ² Key Laboratory of Fertility Maintenance, Ministry ofEducation, Ningxia Medical University; ³ Key Laboratory of Modernisation of Ethnic Minority Medicines,Ministry of Education, Yinchuan 750004, China; ⁴ Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

Abstract: Based on network pharmacology and molecular docking, combined with *in vivo* experiments, this study investigated the regulatory effects and mechanisms of berberine (BBR) on adipose deposition in rats with type 2 diabetes mellitus (T2DM). BBR targets were retrieved from the TCMSP database, while T2DM-related gene targets were obtained from TTD and GeneCards databases. Core targets were identified through protein-protein interaction (PPI) network analysis, and “active component-target-pathway” network was constructed by GO and KEGG pathway enrichment analysis then validated by molecular docking. A T2DM rat model was established using a high-fat diet combined with intraperitoneal injection of streptozotocin. Rats were randomly divided into six groups ($n = 10$ per group): blank control, model, metformin (200 mg/kg), low-dose BBR (50 mg/kg), medium-dose BBR (100 mg/kg), and high-dose BBR (200 mg/kg). Fasting blood glucose (FBG) was measured periodically; serum fasting insulin (FINS) and glycated hemoglobin (GHb) were determined using ELISA; serum total cholesterol (TC), triglycerides (TG), alanine aminotransferase (ALT), and aspartate aminotransferase (AST) were measured with an automatic biochemical analyzer. HE staining was used to observe adipose tissue morphology, and Oil Red O staining to assess hepatic lipid deposition. Western blot and immunohistochemistry (IHC) were employed to determine the localization and expression of proteins regulating adipose deposition. Network pharmacology identified 105 active components of BBR and 99 overlapping targets with T2DM. GO and KEGG enrichment analyses revealed pathways mainly involving transient receptor potential (TRP) channels mediated by inflammation, neuroactive ligand-receptor interaction, endocrine resistance, and vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling. Molecular docking indicated favorable binding activity between key BBR components and core targets. *In vivo* results demonstrated that BBR treatment at different doses effectively alleviated insulin resistance, reduced serum FBG, GHb, TG, TC, ALT, and AST levels ($P < 0.01$), preserved adipose tissue morphology, and improved hepatic lipid deposition. Western blot and IHC analyses showed that medium-dose BBR downregulated fatty acid synthetase (FAS), peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ), CCAAT/enhancer-binding protein alpha (C/EBP α), β 3-adrenoceptor (β 3-AR), peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α (PGC1 α), and uncoupling protein 1 (UCP1) ($P < 0.01$), while upregulating hormone-sensitive lipase (HSL) and adipose triglyceride lipase (ATGL) expression ($P < 0.01$). These findings suggest that BBR alleviates insulin resistance and reduces adipose deposition in T2DM rats by regulating the β 3-AR signaling pathway.

Key words: berberine; fat deposits; β 3-AR pathway; type 2 diabetes mellitus rats

糖尿病的患病率在全球范围内持续上升,国际糖尿病联盟预测,如果不采取任何措施,糖尿病到2030年可能会增长至6.4亿例,到2045年全球糖尿病患者数量将增加至7.83亿,其中2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)及其相关并发症的人数占据绝大多数^[1]。肥胖可导致功能性 β 细胞加速丢失和血糖逐渐升高,引起T2DM糖代谢与脂代谢的紊乱,其中白色脂肪组织(white adipose tissue, WAT)细胞代谢功能障碍是胰岛素抵抗的主要事件。诱导白色脂肪转化为棕色脂肪(brown adipose tissue, BAT),是将储能脂肪转化为耗能脂肪,增加能量消耗,改善糖脂代谢紊乱^[2-4]。

一些中医药能通过脂肪分解和产热以及参与脂肪水解、脂肪酸氧化和产热途径等措施治疗T2DM^[5],将T2DM过量的WAT转化为BAT,并以

极高的转化速率将主链羟基脂肪酸和侧链脂肪酸通过酯化反应生成羟基脂肪酸支链脂肪酸酯(branched fatty acid esters of hydroxy fatty acids, FAHFAs)^[6],改善葡萄糖耐受性,促进胰岛素的分泌,进一步改善T2DM胰岛素抵抗。小檗碱(berberine, BBR)是一种存在于中药黄连等小檗属植物中的异喹啉生物碱^[7],可以治疗溃疡性结肠炎、防治精神系统疾病、抗肿瘤和治疗骨关节相关疾病等,而在防治糖尿病方面可以从抑制糖异生、促进糖酵解、增加胰岛素敏感性、保护胰岛细胞、抗氧化、诱导内质网应激和自噬,以及防止脂肪细胞形成,从而更好地控制体质量并降低血糖。有研究表明,BBR诱导的胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)作为降糖因子和肠道微生物菌群平衡调节剂,在调节胰岛素分泌的信号通路中起重要作用^[8]。

肾上腺素能受体通过介导交感神经系统儿茶酚胺的生理学效应对糖脂代谢功能起着重要的调节作用。 $\beta 3$ 肾上腺素受体($\beta 3$ -adrenoceptor, $\beta 3$ -AR)在血管舒张以及参与脂肪分解和产热中发挥作用,已报道 $\beta 3$ -AR 主要分布于脂肪组织,介导 WAT 的脂解和 BAT 的产热^[9]。可激活脂肪环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)/蛋白激酶 A(protein kinase A, PKA)轴在体内和体外的脂代谢作用,提高脂肪分解率和释放长链非酯化脂肪酸,从而发挥代谢作用。活化的 PKA 通过激活转录因子 2(activating transcription factor 2, ATF2)/cAMP 反应元件结合蛋白(cAMP-response element binding protein, CREB),催化激素敏感性脂肪酶(hormone-sensitive lipase, HSL)和围脂滴蛋白(perilipin, PLIN)磷酸化,增加脂肪组织脂解,诱导产热的脂肪解偶联蛋白 1(uncoupling protein1, UCP1)基因等转录,产热蛋白肌酸激酶 B(creatine kinase B, CKB)、UCP1、热休克蛋白 60(heat shock protein-60, HSP-60)、Lon 蛋白酶 1(Lon peptidase 1, LONP1)^[10]的活性会增加线粒体内膜的传导性,使 BAT 的线粒体产生热量,消耗更多的能量,减少脂肪的沉积。因此,本研究通过 BBR 激活 T2DM 大鼠脂肪组织 $\beta 3$ -AR 表达,降低脂肪沉积,增加代谢率,降低血糖水平,为其在治疗 T2DM 胰岛素抵抗中提供一个重要科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

70 只雄性 SPF 级 SD 大鼠,8~9 周龄,体质量 200 ± 20 g,均购买于宁夏医科大学实验动物中心,实验动物许可证号:SYXK(宁)2020-0001。大鼠在安静整洁环境下饲养,每笼 3 只,自由饮水和摄食,每周更换 2 次垫料,空气流通,室温 $20 \sim 22$ °C,相对湿度 45%,保持动物房内昼夜节律。动物实验由宁夏医科大学伦理审查委员会批准(伦理批准号:2024-G022 号),严格遵守动物实验的 3R 原则。

1.2 实验试剂

小檗碱(批号:A0151;纯度>98%,成都曼思特生物科技有限公司);盐酸二甲双胍(批号:国药准字 H20023370,规格:0.5 g,中美上海施贵宝制药有限公司); $\beta 3$ -AR 拮抗剂 SR59230A(批号:HY-100672,纯度>98%,美国 MCE);45% 高脂饲料(批号:XTM04-002,原料组成:酪蛋白、胱氨酸、玉米淀粉、麦芽糊精、蔗糖、纤维素、大豆油、猪油、S10026B 矿物质混合物、V10001C 矿物质混合物、酒石酸氢胆

碱,协同生物); $\beta 3$ -AR 抗体(批号:ab94506,英国 Abcam 公司);过氧化物酶体增殖激活受体- γ 辅激活因子-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α , PGC1 α)抗体、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR γ) 抗体(批号:3522080817、0603160301,爱博泰克生物科技有限公司);脂肪酸合成酶(fatty acid synthetase, FAS)抗体、UCP1 抗体、激素敏感性脂肪酶(hormone-sensitive lipase, HSL)抗体和甘油三酯脂肪酶(adipose triglyceride lipase, ATGL)抗体(批号:H661403004、H681568010、H681964013、H681367014,杭州华安生物技术有限公司);CCAAT/增强子结合蛋白 α (CCAAT enhancer binding protein alpha, C/EBP α)抗体(批号:AF6333,江苏亲科生物研究中心有限公司);空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)和糖化血红蛋白(glycated hemoglobin, GHb) ELISA 试剂盒(批号:I8P-TTT9EEI-8, BY-ER330797,南京博研生物科技有限公司);全蛋白提取试剂盒(批号:KGB5303-100,江苏凯基生物公司)。

1.3 实验仪器

SCIENITZ-II D 超声波细胞粉碎机(宁波 SCI-ENTZ 生物科技股份有限公司);DYY-7C 型 SDS-PAGE 电泳仪(北京六一仪器厂);超高灵敏度化学发光成像系统(美国 Bio-Rad 公司);1510 全波长酶标仪(美国 Thermo Fisher 公司);KD-BM II 电脑生物组织包埋机(浙江金华科迪仪器设备有限公司);RM2235 型石蜡切片机(德国 LEICA 公司);Centrifuge 5417R 超速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司)。

1.4 实验分组及处理

1.4.1 模型构建与治疗

大鼠适应性饲养一周后,随机分为空白对照组(control, Con)($n=10$)和造模组($n=60$);造模组每天给予充足的普通维持饲料和水,造模组给予高脂饲料和水;造模组的大鼠高脂饲料喂养 4 周后,对造模组大鼠进行腹腔注射 1% 链脲佐菌素(35 mg/kg, pH 4.3)柠檬酸缓冲液,Con 组大鼠等体积柠檬酸缓冲液注射,经过 72 h 后采用剪尾取血的方法检测大鼠的随机血糖,连续 2 次随机血糖 ≥ 16.7 mmol/L 即确定 T2DM 模型构建成功;将建模成功的大鼠随机分为模型组(model, Mod)、二甲双胍组(metformin, Met;200 mg/kg)、BBR 低剂量组(low-dose BBR,

BBR-L; 50 mg/kg)、BBR 中剂量组 (middle-dose BBR, BBR-M; 100 mg/kg)、BBR 高剂量组 (high-dose BBR, BBR-H; 200 mg/kg) 每组 10 只, 生理盐水溶解灌胃治疗, 连续治疗 6 周。在治疗期间, Con 组大鼠和 Mod 组以生理盐水灌胃给药。BBR-M + β 3-AR 拮抗剂 (SR59230A) 组: 造模方法同上, 先腹腔注射拮抗剂 (5 mg/kg) 15 min 后^[11], 再给予 BBR (100 mg/kg) 灌胃治疗。

1.4.2 样品收集

所有大鼠禁食 24 h, 异氟烷吸入麻醉, 心脏取血, 离心, 收集血清放入 -80 °C 冰箱保存待测; 取脂肪组织, 将一部分新鲜脂肪置于 4% 多聚甲醛固定, 制成石蜡切片; 将部分新鲜脂肪制成冰冻切片; 剩余组织放入 -80 °C 冰箱备用。

1.5 网络药理学研究 BBR 治疗糖尿病的作用机制

1.5.1 BBR 及 T2DM 靶点获取

通过 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 数据库检索 BBR SMILES 分子结构将其导入 SwissTargetPrediction (<https://swisstargetprediction.ch>) 数据库, 设定 Probability > 0 得到 BBR 靶点, 以 T2DM 为检索条件, 在 PharmGKB (<https://www.pharmgkb.org/>)、TTD (<http://db.idrblab.net/ttd/>)、OMIM (<https://omim.org/>)、GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、DrugBank (<https://go.drugbank.com/>) 数据库中获得 T2DM 靶点。通过 Bioinformatics & Evolutionary Genomics (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>) 数据库获取 BBR 与 T2DM 共同作用靶点并绘制韦恩图。

1.5.2 蛋白互作网络构建

利用 STRING (<https://cn.string-db.org/cgi/input?sessionId>) 数据库对得到的共有靶点进行分析, 参数设置为“Homo Sapiens”, 设置筛选条件 Minimum Required Interaction Score ≥ 0.09 得到蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络图利用 Cytoscape 3.10.1 软件对 PPI 网络进行可视化, 并使用 CytoHubba 插件通过 degree 值筛选核心基因。

1.5.3 GO 及 KEGG 通路相关富集分析

利用 R4.4.1 软件及 ggplot2 包对 BBR 干预 T2DM 的靶基因进行 GO 功能富集、KEGG 通路富集分析, 设定 $P < 0.05$ 具有统计学意义, 并对结果进行可视化分析。

1.5.4 分子对接验证

利用 PubChem 数据库检索枸杞核心成分 2D 结构, 检索 RCSBPDB (<https://RCSB.PDB:Homepage>) 数据库得到核心靶点 3D 结构, 使用 Pymol 软件去除水分子及配体生成 PDB 文件, 使用 AutoDock Tools 1.5.7、Discovery Studio 2019 和 Vina 软件进行分子对接

1.6 体外动物实验

1.6.1 体质量、血糖和糖耐量测定

造模结束后每 2 周测定一次大鼠体质量和空腹血糖, 并记录。葡萄糖耐量试验 (oral glucose tolerance test, OTGG) 和胰岛素耐量试验 (insulin tolerance test, ITT) 给药后第 5 周, 利用血糖仪测量各组大鼠葡萄糖耐量。给药后第 6 周, 测量各组大鼠胰岛素耐量。大鼠在 OGTT 和 ITT 试验前分别禁食 12 h 和 4 h。分别在口服 50% 葡萄糖 (2 g/kg) 或皮下注射胰岛素 (5 U/kg) 后 0、30、60 和 120 min 时尾部采血测血糖, 绘制血糖曲线图。

1.6.2 大鼠血清 FINS 和 GHb 检测

对大鼠进行心尖取血, 每只大鼠取血 8 ~ 10 mL, 室温静置 30 min 后, 4 °C 条件下 3 600 r/min 离心取上清备用。取出大鼠血清, 按试剂盒说明书中的步骤进行标准品制备、加样、抗体孵育等操作, 采用 ELISA 法检测获得血清样品中 FINS 和 GHb 相关含量。

1.6.3 血清生化指标检测

使用全自动生化仪检测各组大鼠血清中 TC、TG、ALT 和 AST 水平。

1.6.4 油红 O 染色法观察脂肪组织脂质沉积

肝脏冰冻切片 10% 多聚甲醛固定 10 min, 蒸馏水中稍冲洗, 60% 异丙醇内浸洗 20 ~ 30 s, 改良油红 O 染色液密闭染色 10 ~ 15 min, 60% 异丙醇内稍洗以便去除染液, 蒸馏水中稍冲洗, 苏木素染色液复染核 1 ~ 2 min, 小水流自来水冲洗浮色 1 min, 1% 盐酸酒精稍微分化, 自来水流水冲洗返蓝 10 min, 蒸馏水中稍冲洗, 甘油明胶封片晾干, 显微镜下拍照观察。

1.6.5 HE 染色法观察脂肪组织病理学改变

将新鲜脂肪置于 4% 多聚甲醛固定充分后进行脱水和包埋。HE 染色方法, 将包埋好的脂肪蜡块制备成 5 μ m 石蜡切片后, 65 °C 烘烤 2 h, 切片脱蜡复水后, 乙醇脱水, 二甲苯透明后中性树胶封片, 光学显微镜下, 观察脂肪组织的形态和结构的变化。

1.6.6 免疫组织化学检测

取固定处理的脂肪组织,进行切片、二甲苯脱蜡、水化、柠檬酸盐修复处理后,利用3%过氧化氢溶液阻断脂肪组织内源性过氧化氢酶,在正常的山羊血清工作液中封闭孵育后一抗过夜,磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffersaline,PBS)清洗后,滴加ATGL(1:1 000)、HSL(1:30 000)、PPAR γ 、FAS和C/EBP α (1:100)相关一抗4℃孵育过夜;继续用PBS清洗,滴加二抗孵育20 min;PBS清洗,加入3,3'-二氨基联苯胺显色及苏木素复染,经乙醇脱水至透明后,中性树胶封片

1.6.7 Western blot 检测脂肪组织分解蛋白的表达水平

取脂肪组织,切成小块,加入蛋白提取缓冲液,研磨、离心,取上清,使用BCA试剂盒进行蛋白浓度测定。将脂肪组织中加入裂解液进行研磨,随后进行离心取上清液,并储存在-20℃备用。用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis,SDS-PAGE)处理后的样品,并转移到PVDF膜上,随后用5%脱脂牛奶封闭膜1 h,然后在4℃下用一抗处理过夜,TBST溶液洗膜3次,每次5 min,然后将膜置于对应二抗(1:15 000)孵育1 h;随后使用化学发光试剂进行曝光处理。SDS-PAGE电泳、转膜、室温封闭,加入一抗(β 3-AR、PGC1 α 、UCP1、HSL和C/EBP α 稀释比例均为1:1 000,PPAR γ 和ATGL稀释比例为1:500,FAS稀释比例为1:5 000, β -actin稀释比例为1:8 000)。加入二抗(1:20 000)室温孵育1 h后,使用ECL发光液进行抗原抗体检测。用ImageJ对结果进行灰度值分析。

1.7 统计学分析

采用GraphPad Prism 9和SPSS 19.0软件进行数据分析和可视化,符合正态分布和方差均匀性标准的数据通过单因素方差分析进行比较,用平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。而不符合这些标准的数据则通过秩检验进行比较, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 网络药理学结果

2.1.1 BBR 靶点筛选结果

通过PubChem数据库得到BBR SMILES分子结构将其导入SwissTargetPrediction数据库检索得到BBR靶点105个,以T2DM为检索条件,在

PharmGKB、TTD、OMIM、GeneCards、DrugBank 数据库中获得T2DM靶点17 751个,得到交集靶点99个(见图1)。

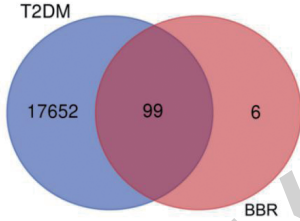


图1 BBR与T2DM靶点交集韦恩图
Fig. 1 Venn diagram of target intersections between BBR and T2DM

2.1.2 PPI网络构建

在STRING数据库构建PPI网络图(见图2A),图中共有99个节点,110条边,平均节点度数1.98,富集 P 值 $< 1.0E-16$,对PPI网络进行可视化,CytoHubba进行拓扑分析得到核心靶点PGR、PIK3CA、PIK3CB和ADRB3(β 3-AR)(见图2B)。

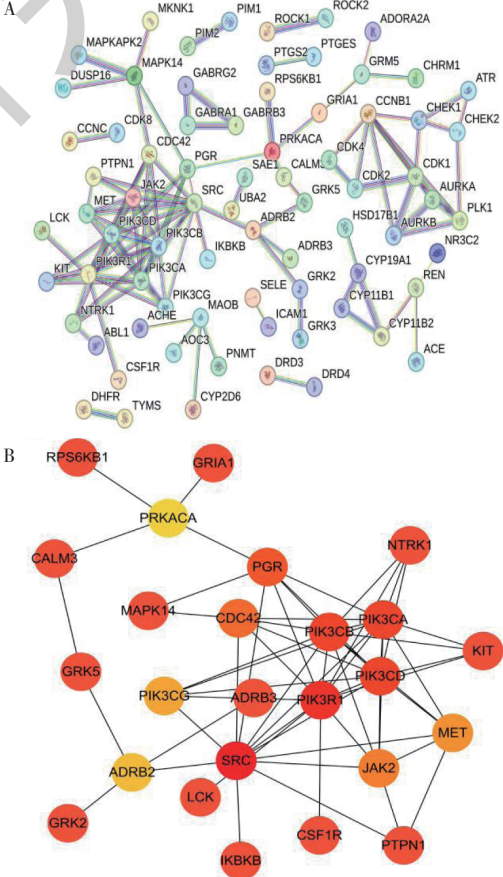


图2 BBR治疗T2DM核心靶点的PPI网络
Fig. 2 PPI network of core targets for BBR in the treatment of T2DM

2.1.3 GO 及 KEGG 通路相关富集分析

GO 分析得到了生物过程 (biological process, BP)、细胞组成 (cellular component, CC) 和分子功能 (molecular function, MF) 排名各前 20 的富集结果显示,BP 主要包括腺苷酸环化酶激活肾上腺素能受体信号通路、肾上腺素受体信号通路、管径调节等;CC 主要包括神经元致密核心囊泡、致密核心颗粒、早期内体;MF 包含 G 蛋白偶联胺受体活性、儿茶酚胺结合、肾上腺素受体结合 (见图 3)。

KEGG 通路富集得到 140 条主要信号通路,选取了排名前 20 的结果,主要包括 cAMP 信号通路、

肾素分泌、脂肪细胞脂肪分解的调节等通路 (见图 4)。

2.1.4 BBR 与 ADRB3 分子对接验证

运用分子对接验证 ADRB3 的结合程度。一般认为,结合能小于-5.0 kcal/mol 表明配体小分子与受体蛋白具有良好的结合能力,结果显示,BBR 活性成分与核心靶点蛋白 ADRB3 的自由结合能为 -8.7 kcal/mol,说明 BBR 的有效成分与关键靶点 ADRB3 稳定结合性较好。其中,BBR 主要通过以下关键相互作用与 ADRB3 结合,包括 BBR 的 C22 位谷氨酸残基 (GluC: 22) 的羧酸根阴离子与 ADRB3

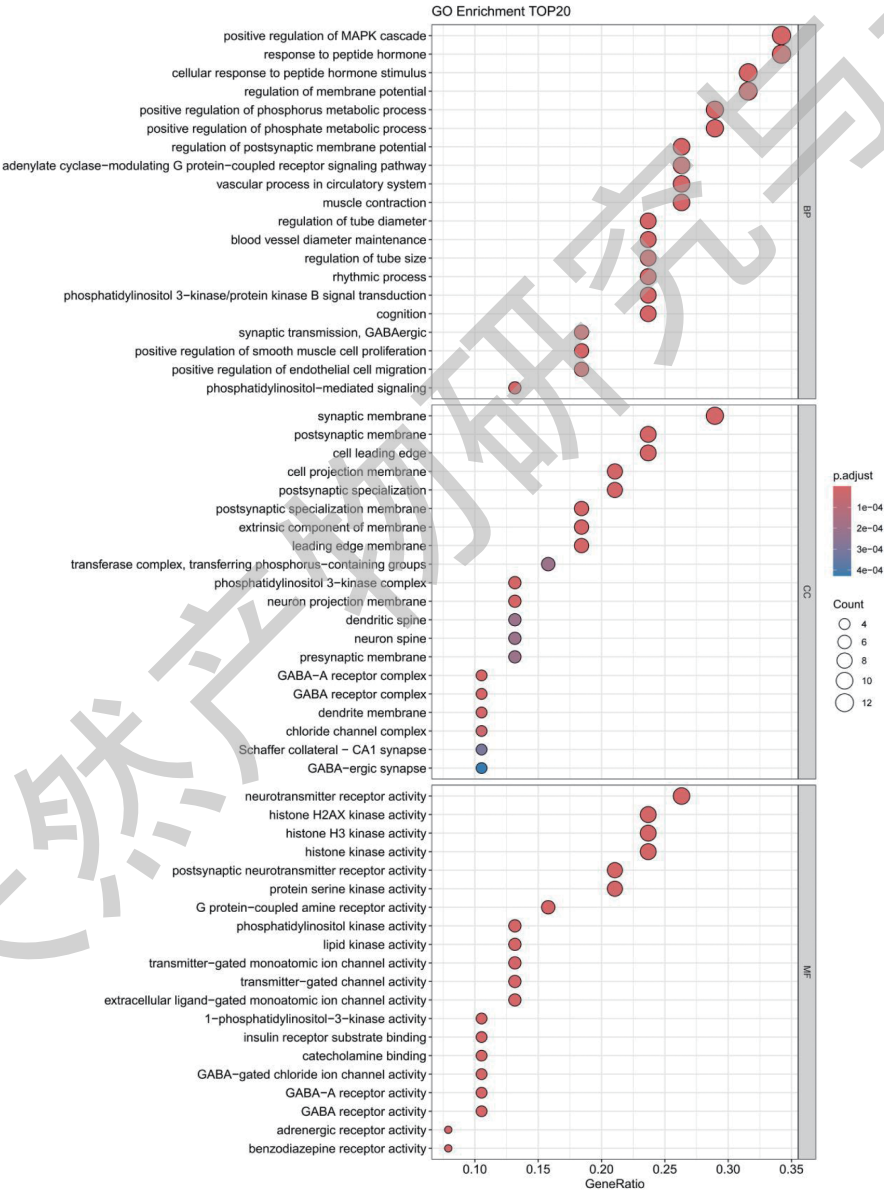


图 3 靶点的 GO 富集分析

Fig. 3 GO enrichment analysis of the targets

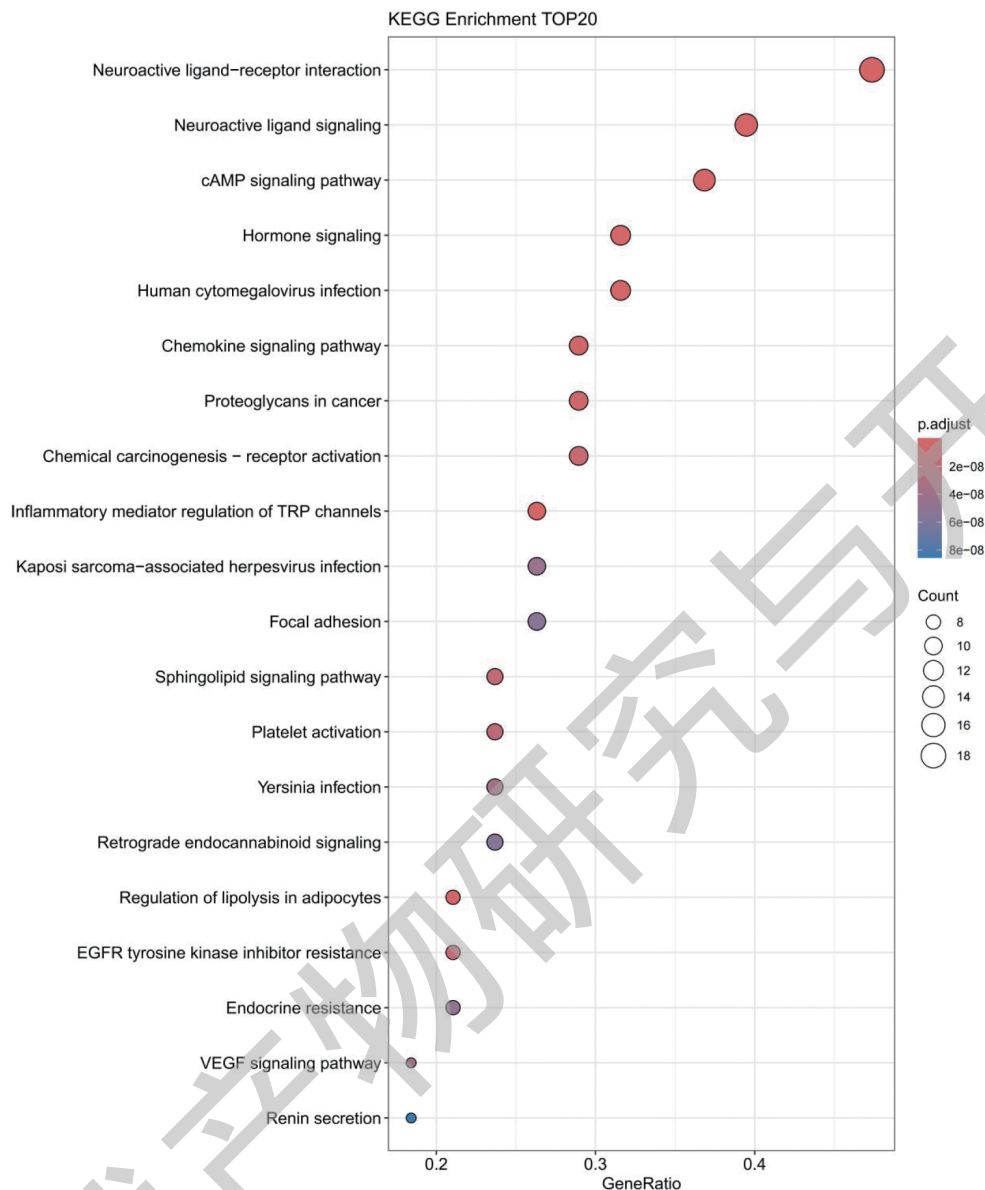


图4 靶点的KEGG富集分析

Fig.4 KEGG enrichment analysis of targets

的B链精氨酸19(Arg B:19)和22位残基(Arg B:22)的胍基阳离子之间形成盐桥和氢键作用;BBR的芳香环系统(靠近其C19位)与ADRB3的B链亮氨酸19位残基(Leu B:19)等疏水残基侧链之间形成的 π -烷基疏水和 π - σ 轨道相互作用;BBR的芳香环系统与ADRB3的Arg B:22残基之间存在 π -阳离子相互作用;此外,ADRB3的苏氨酸221位(Thr B:221)和谷氨酰胺1位(Gln B:1)也参与形成氢键,进一步稳定复合物结构。以上结果表明,BBR可能通过ADRB3干预T2DM(见图5)。

2.2 BBR对T2DM大鼠体质量、空腹血糖和糖耐量的影响

干预治疗期间,Con组体质量平稳上升,Mod组在干预第8周达到峰值,随后体质量下降。干预末期,与Mod组体质量相比,Met组与BBR-M组体质量表现出较为明显的增高趋势($P < 0.05$)(见图6A)。

与Con组相比,Mod组和治疗组FBG显著升高($P < 0.01$),在干预第四周开始,与Mod组相比,治疗组血糖显著降低($P < 0.01$)(见图6B)。

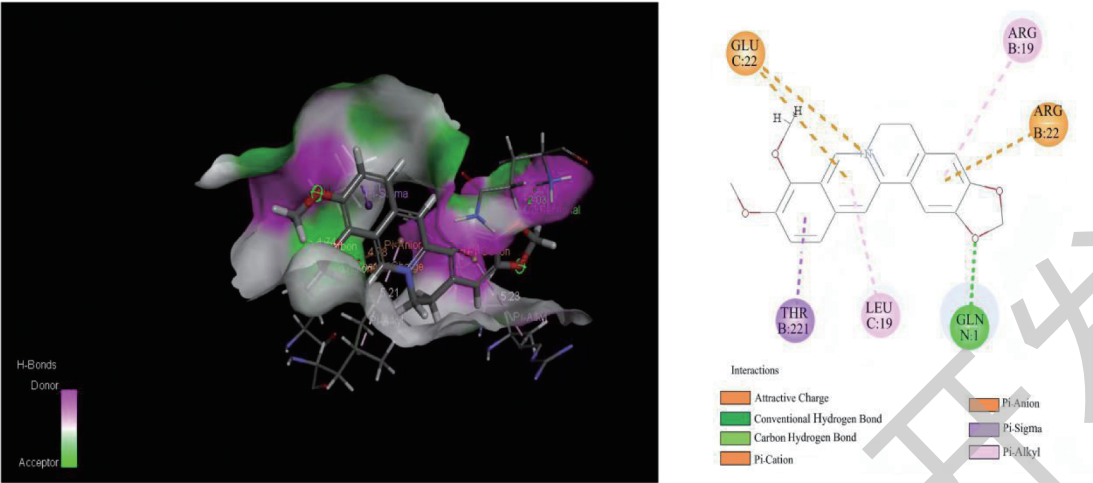


图5 BBR 与 ADRB3 分子对接验证

Fig. 5 Validation of molecular docking of BBR with ADRB3

各组大鼠予以腹腔注射胰岛素发现,与 0 min 相比,各组大鼠血糖在 30 ~ 60 min 均有下降趋势,在第 90 min 时稍有回升。与 Con 组相比,Mod 组大鼠血糖在各时间点均显著升高($P < 0.01$);与 Mod 组相比,各治疗组大鼠血糖在各时间点均显著下降

($P < 0.01$);其中 BBR-M 组在第 30、60、90、120 min 时下降更为显著($P < 0.01$)(见图 6C)。研究表明,BBR 能有效改善糖尿病大鼠的体质量、血糖和糖耐量。

各组大鼠在灌胃葡萄糖溶液后血糖明显升高,

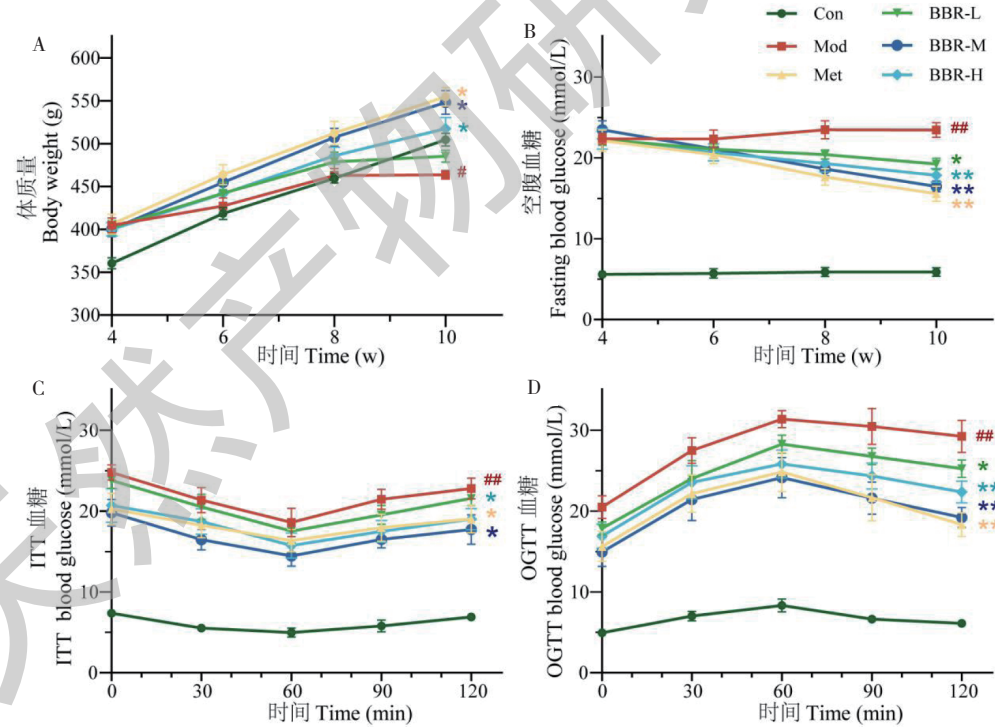


图6 BBR 对 T2DM 大鼠体重、空腹血糖和糖耐量的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 6 Effects of BBR on body weight, fasting blood glucose and sugar tolerance in T2DM rats($\bar{x} \pm s, n = 3$)

注:与 Con 组相比, $^{\#}P < 0.05$, $^{##}P < 0.01$;与 Mod 组相比, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$,下同。Note:Compared with Con group, $^{\#}P < 0.05$, $^{##}P < 0.01$;Compared with Mod group, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$,the same below.

尤其灌胃 60 min 后达到峰值,120 min 后 Mod 组大鼠血糖仍处于较高水平,但各治疗组血糖水平均有明显下降趋势。与 Con 组相比,Mod 组大鼠血糖水平在各时间点均明显上升($P < 0.01$);与 Mod 组相比,各治疗组大鼠血糖在各时间点均显著降低($P < 0.05$)。尤其在 0 ~ 90 min 内各时间点的血糖水平差异均有统计学意义($P < 0.05$)(见图 6D)。

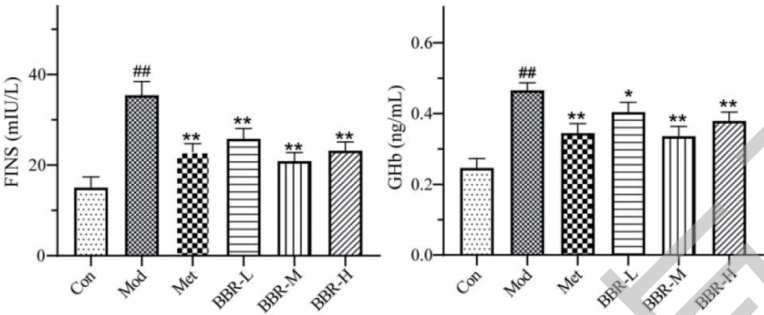


图7 BBR对T2DM大鼠血清胰岛素抵抗相关指标的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 7 Effect of BBR on serum insulin resistance related indexes in T2DM rats($\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.4 BBR对T2DM大鼠血清脂代谢水平的影响

如图8所示,与Con组比较,Mod组大鼠TC、TG、AST和ALT水平显著升高($P < 0.01$);与Mod

2.3 BBR对T2DM大鼠血清胰岛素抵抗相关指标的影响

如图7所示,与Con组比较,Mod组大鼠血清FINS及GHb水平升高($P < 0.01$);与Mod组比较,各组大鼠血清胰岛素及GHb水平下降($P < 0.05$)。BBR能有效减轻糖尿病大鼠的胰岛素抵抗。

组比较,各组大鼠血清TC、TG、AST和ALT水平均在一定程度上降低($P < 0.05$);研究结果表明,BBR能有效改善脂代谢水平。

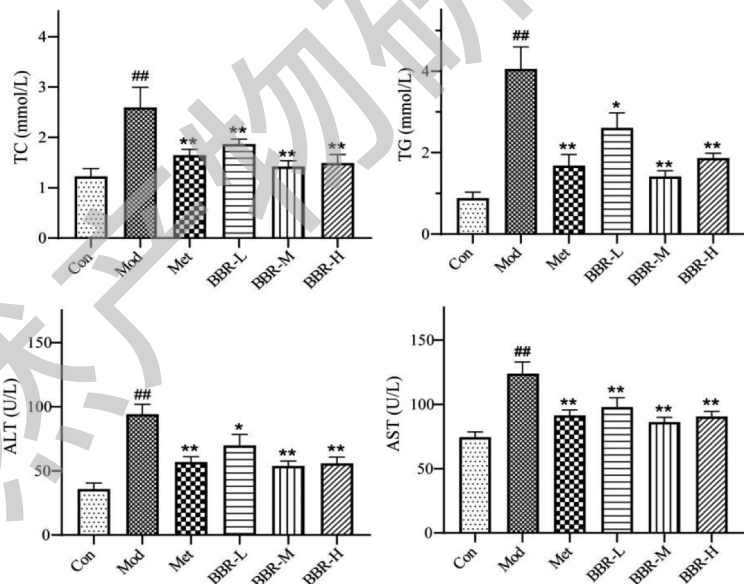


图8 BBR对T2DM大鼠血清脂代谢水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 8 Effect of BBR on serum lipid metabolism levels in T2DM rats($\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.5 BBR对T2DM大鼠肝脏脂滴蓄积的影响

如图9所示,油红O染色结果显示,Con组大鼠肝脏无明显红染脂滴,Mod组可见脂滴蓄积,且分布广泛;而各治疗组脂滴蓄积及分布均有所改善($P <$

0.05)。

2.6 BBR对T2DM大鼠脂肪组织形态学变化的影响

HE染色结果(见图10)显示,Con组大鼠脂肪细胞形态正常,Mod组大鼠脂肪细胞表现出不规则

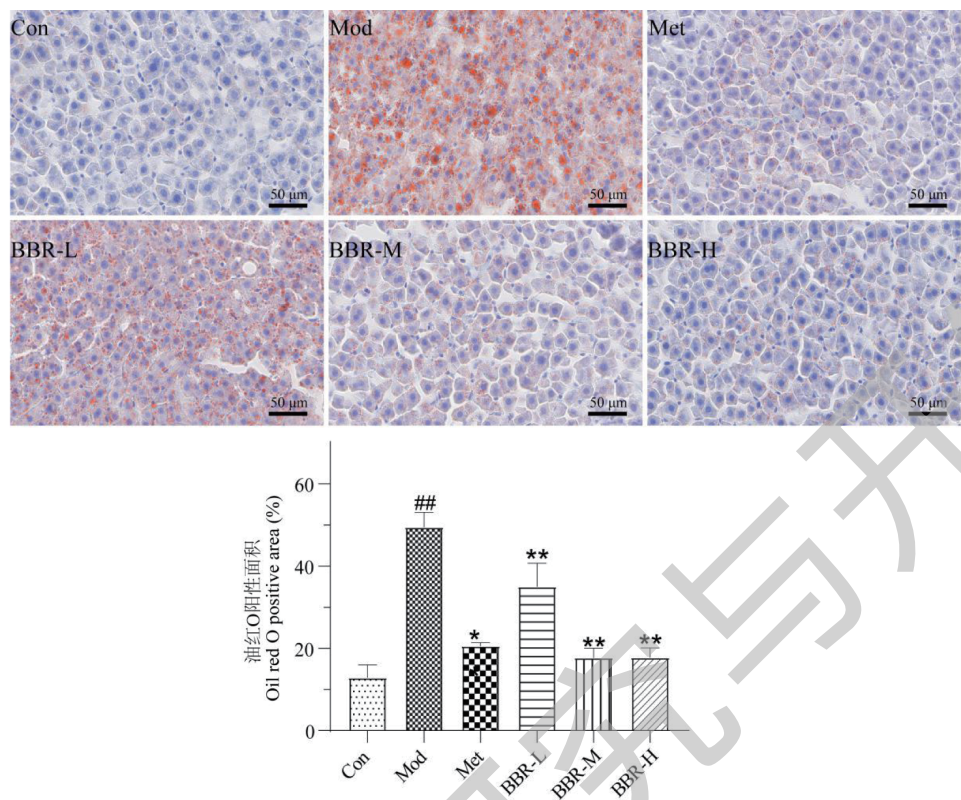


图 9 BBR 对 T2DM 大鼠肝脏脂滴蓄积的影响 (40 × $\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 9 Effect of BBR on hepatic lipid droplet accumulation in T2DM rats (40 × $\bar{x} \pm s, n = 3$)

的排列和明显的肥大, Met 组和 BBR 剂量组脂肪细胞形态明显改善。结果表明, BBR 可有效缓解 T2DM 大鼠的脂肪细胞肥大。

2.7 BBR 对 T2DM 大鼠脂肪组织中脂肪沉积相关因子表达的影响

前期实验结果表明, BBR-M 治疗效果更为显著, 故 BBR-M 为本实验的最佳治疗剂量, 后期实验

选择 BBR-M 组进行验证。如图 11 所示, 与 Con 组相比, Mod 组大鼠脂肪组织中 FAS、PPAR γ 和 C/EBP α 蛋白表达升高, HSL 和 ATGL 蛋白表达降低 ($P < 0.01$); 与 Mod 组比较, BBR-M 组大鼠脂肪 FAS、PPAR γ 和 C/EBP α 表达降低, HSL 和 ATGL 表达升高 ($P < 0.01$)。说明 BBR 能够改善 T2DM 大鼠脂肪组织中脂肪沉积相关因子表达。

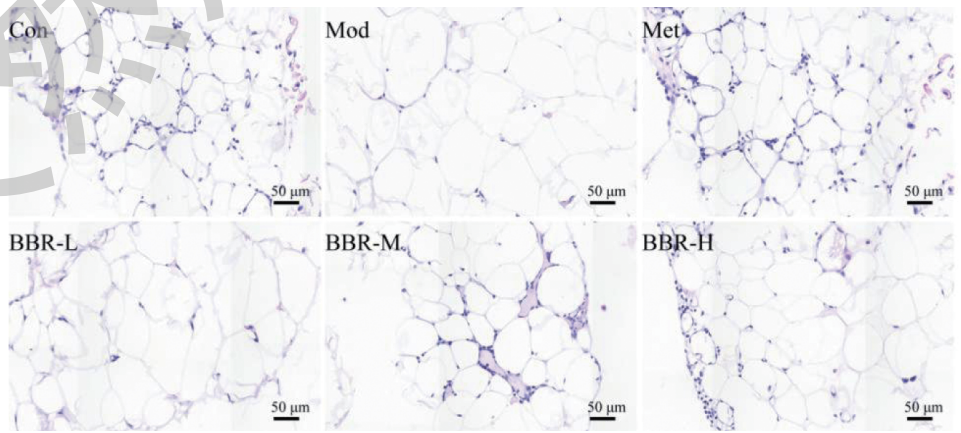


图 10 BBR 对 T2DM 大鼠脂肪组织形态学变化的影响 (40 ×)

Fig. 10 Effect of BBR on morphological changes of adipose tissue in T2DM rats (40 ×)

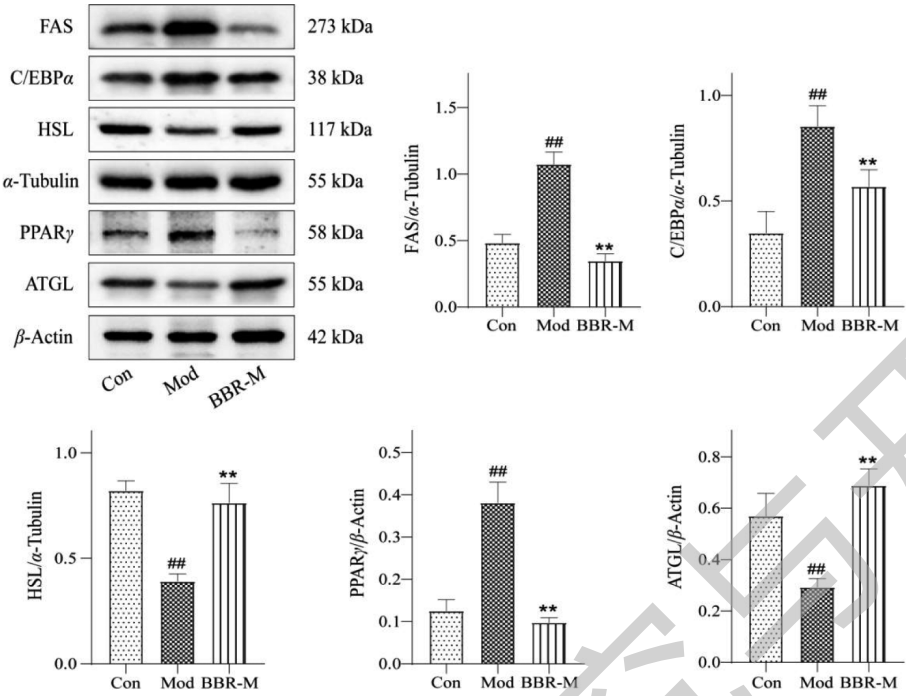


图 11 BBR 对于脂肪组织的分解相关蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 11 Effect of BBR on the expression of catabolism-related proteins in adipose tissue($\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.8 BBR 对 T2DM 大鼠脂肪组织中脂肪分解相关因子表达的影响

如图 12 所示, IHC 结果进一步直观呈现了 FAS、PPAR γ 、C/EBP α 、HSL 和 ATGL 蛋白在脂肪组织中的定位与表达变化, 阳性表达的部位呈棕黄色或棕褐色。与 Con 组相比, Mod 组的 FAS、PPAR γ 和 C/EBP α 表达显著升高($P < 0.01$), HSL 和 ATGL 表达显著降低($P < 0.01$), 与 Mod 组相比, BBR-M 组中的 FAS、PPAR γ 和 C/EBP α 表达降低($P < 0.01$), HSL 和 ATGL 表达显著升高($P < 0.01$)。

2.9 BBR 通过 $\beta 3$ -AR 通路改善 T2DM 大鼠脂肪沉积

如图 13 所示, 与 Con 组相比, Mod 组大鼠脂肪组织中 $\beta 3$ -AR、PGC1 α 和 UCP1 表达降低($P < 0.01$); 与 Mod 组比较, BBR-M 组大鼠脂肪 $\beta 3$ -AR、PGC1 α 和 UCP1 表达升高($P < 0.01$)。与 BBR-M 组相比, BBR + 拮抗剂组 $\beta 3$ -AR、PGC1 α 和 UCP1 明显降低, 说明 BBR 能够通过激活 $\beta 3$ -AR 通路改善 T2DM 大鼠脂肪组织沉积。

3 讨论与结论

肥胖型 T2DM 属中医学“脾瘴”范畴, 全小林院士认为“中满内热、膏浊为患”是肥胖型 T2DM 的主

要病机^[12]。肥胖型 T2DM 患者肥大的脂肪细胞可代谢产生多种生物活性物质如脂肪细胞因子、炎症因子和代谢产物等。BBR 是一种主要从黄连中分离的药理成分。自 20 世纪 80 年代起, BBR 便被证实对改善血脂异常和高血糖有益, 如今更被视为治疗 T2DM 的潜在药物^[13]。本研究结果显示, 与模型组比较, BBR 干预 6 周可以降低血糖, 改善糖耐量, 促进胰岛素和 GHb 分泌, 进一步增强 T2DM 大鼠胰岛素敏感性。本研究油红 O 染色和 HE 染色结果显示 T2DM 大鼠脂肪组织脂质异常蓄积, 这会诱导胰岛细胞脂毒性损害, 破坏胰岛素分泌功能, BBR 干预后可有效改善血糖、血脂和胰岛素异常, 降低大鼠 TC、TG、ALT 和 AST 水平, 可能与其抑制肝脂生成或促进脂质分解相关, 这表明 BBR 增加脂肪细胞葡萄糖摄取、增强胰岛素刺激的葡萄糖转运, 对胰岛素敏感性产生有益影响。

T2DM 患者体内 WAT 与 BAT 分化失衡, 会出现脂肪组织摄取利用或储存葡萄糖的能力减弱, 会导致脂肪细胞数目和大小的改变, 并引起皮下脂肪组织的过度扩张以及异位沉积, 同时影响脂联素(adiponectin, APN) 和瘦素(leptin, LP) 等多种脂肪因子的释放, 出现 APN 和 LP 在机体调节失衡, 造成

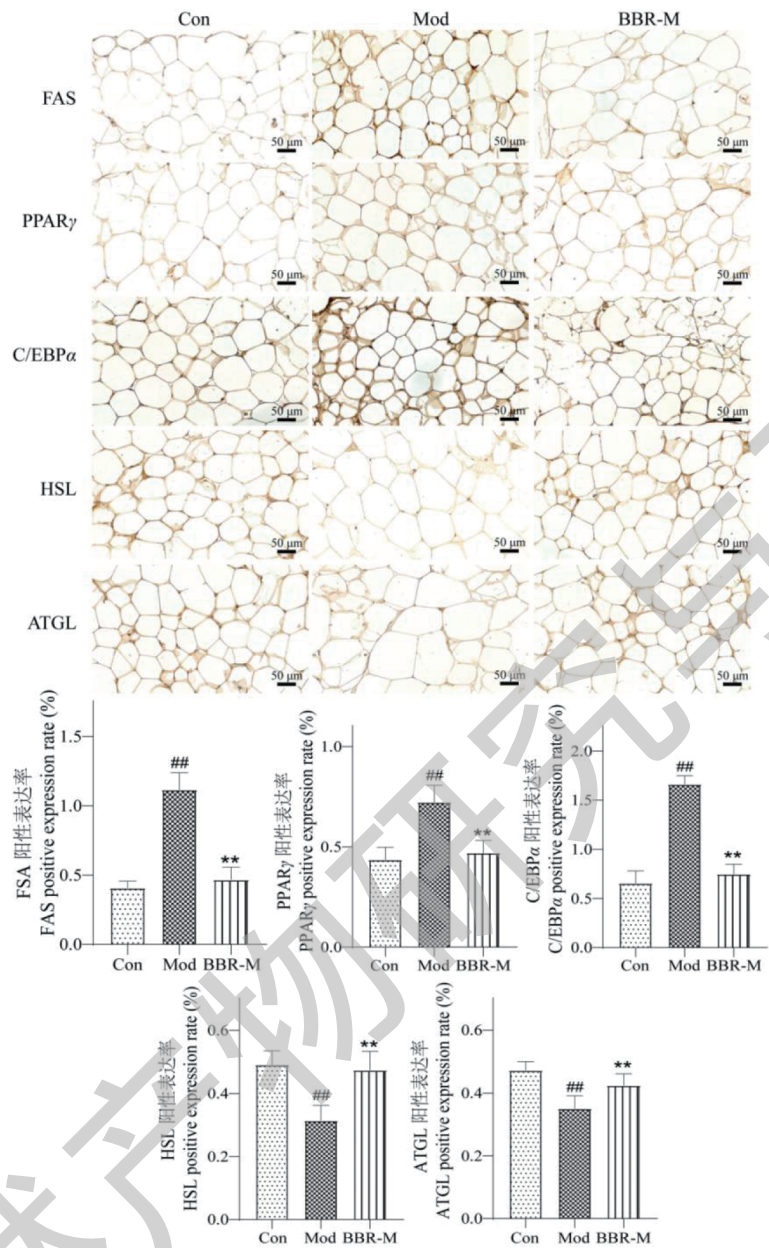


图 12 BBR 对 T2DM 大鼠脂肪组织中脂肪分解相关因子表达的影响 ($60\times;\bar{x}\pm s,n=3$)

Fig. 12 Effect of BBR on the expression of lipolysis-related factors in adipose tissue of T2DM rats ($60\times;\bar{x}\pm s,n=3$)

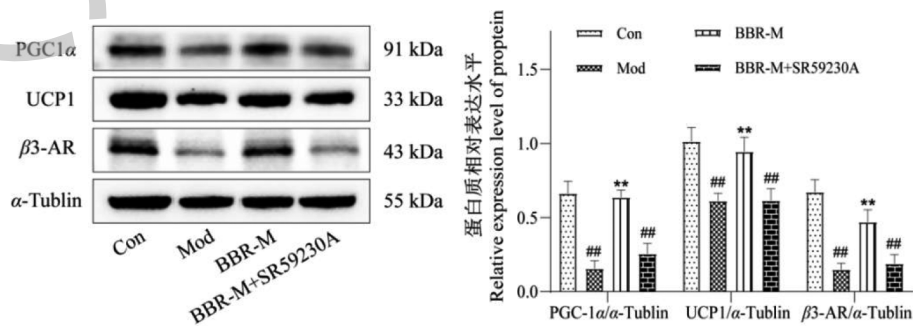


图 13 BBR 通过 β 3-AR 对大鼠脂肪组织沉积的影响 ($\bar{x}\pm s,n=3$)

Fig. 1 Effect of BBR on adipose tissue deposition in rats via β 3-AR ($\bar{x}\pm s,n=3$)

机体内分泌失调触发慢性炎症,产生脂毒性损害靶器官。研究证实加味温胆汤^[14]、桑叶^[15]和葛根^[16]等中医药治疗肥胖型 T2DM 的研究都集中于降低肥胖型 T2DM 大鼠的 FBG 和减轻糖耐量受损,调节胆汁酸生物合成代谢,改善胰岛素信号传导和糖脂代谢,减轻炎症损伤,进而提高组织的胰岛素敏感性,改善 IR。本研究结果显示,BBR 可明显改善 T2DM 大鼠肝脏脂质沉积,有效缓解 T2DM 大鼠的脂肪细胞肥大,表明 BBR 发挥了调解基础代谢率、调控饮食的作用,并可能影响了 APN 和 LP 等多种脂肪因子的释放,进而维持糖脂代谢的平衡,增加胰岛素敏感性。在维持糖脂代谢平衡的过程中,脂肪酶 HSL 能水解甘油三酯、甘油二酯、甘油一酯和胆甾基酯等,在脂肪的合成及分解代谢中发挥重要作用^[17]。合成酶 ATGL 具有转酰基酶活性发生转酰基反应,可将酰基链从甘油三酯转移到羟基脂肪酸并使脂肪酸酯化,从而产生 FAHFA,改善 T2DM 葡萄糖耐量和胰岛素敏感性。本研究结果显示,BBR 降低 T2DM 大鼠脂肪组织中 FAS、PPAR γ 和 C/EBP α 的蛋白表达,提高 HSL 和 ATGL 的蛋白表达,调节脂代谢,改善 T2DM 大鼠脂肪沉积,这可能是因为 BBR 减少过氧化物酶体增殖物激活受体的表达,并降低对脂肪生成的刺激,而且 PPAR γ 和 C/EBP α 的相互补充并能控制 FAS 的表达,也降低了 T2DM 大鼠的 WAT 脂肪生成^[18]。另一方面可能因为 BBR 增加了 HSL 和 ATGL 的表达,催化三酰基甘油降解以及 TG 的水解,进一步调节 T2DM 大鼠的脂代谢。

BBR 是治疗 T2DM 的潜在药物,对血脂异常和高血糖有益,而且 BBR 通过抑制巨噬细胞浸润、促炎巨噬细胞极化和细胞外基质异常沉积来缓解脂肪组织炎症和纤维化。研究表明 BBR 可以直接作用于磷脂酶 A2 (phospholipase A2, PLA2)、NIMA 相关激酶 7 (NIMA-related kinase 7, NEK7) 和 β -分泌酶 1 (β -site APP-cleaving enzyme 1, BACE1) 等靶点^[19]。BBR 能够增强与 PLA2 的结合效率,而 PLA2 在水解过程中会释放花生四烯酸等脂肪酸能促进脂肪组织的脂解;BBR 还可以直接作用于 NEK7 以抑制炎症反应,减轻胰岛素抵抗;但关于 BBR 是否能够直接作用于 β 3-AR 进而影响脂肪脂质代谢并未见相关报道。本研究通过网络药理学分析得出,BBR 共包含 105 个活性成分,可通过 99 个靶点防治 T2DM,表明 BBR 治疗 T2DM 具有多成分、多靶点的特点。拓扑分析结果显示,BBR 治疗 T2DM 可能与孕激素

受体 (progesterone receptor, PR)、磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 α (phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha, PI3K α)、磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 β (phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit beta, PI3K β) 和 β 3-AR 等靶点有关。KEGG 富集分析结果显示,99 个潜在的治疗靶点共涉及 140 多条信号通路,结果提示 BBR 能够调节炎症介导的 TRP (transient receptor potential, TRP) 通道、神经活性配体、内分泌抵抗和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 等通路,从而对 T2DM 产生治疗作用,其治疗机制主要涉及 cAMP 对激素合成和分泌、肾素分泌、脂肪细胞脂肪分解等。分子对接结果显示, β 3-AR 与 BBR 具有较好的结合力,考虑 β 3-AR 可作为 BBR 治疗 T2DM 的主要治疗靶点。Western blot 和免疫组织化学结果显示,BBR 灌胃治疗后 β 3-AR 表达增加,且脂肪组织的 PGC1 α 和 UCP1 表达增加,可能是因为 BBR 促进交感神经释放去甲肾上腺素,激活脂肪细胞膜上 β 3-AR 因子的表达, β 3-AR 通过 G 蛋白激活腺苷酸环化酶 (adenylyl cyclase, AC) 生成 cAMP 并激活 PKA^[20],PKA 促进 PGC1 α 的合成,随后 PGC1 α 直接结合 UCP1 启动子并增强其转录,与此同时 β 3-AR 表达的增加激活了核因子 E2 相关因子-2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, NRF2) 通路,NRF2 与 PGC1 α 协同放大 UCP1 的表达^[21],大量的 UCP1 嵌入线粒体内膜形成质子通道,导致质子梯度消散,能量以热量释放,显著增加能量消耗,热量消耗促进脂肪分解,减少脂质堆积,从而改善胰岛素敏感性和糖脂代谢^[22]。同时 β 3-AR 也升高了 FAHFAs 代谢和 FAHFAs 合成酶合成,进一步促进 APN 和 LP 分泌,进一步降低胰岛素抵抗,增强 T2DM 大鼠的脂代谢。

综上所述,本研究基于网络药理学及 T2DM 大鼠 BBR 治疗验证,初步明确 BBR 通过激活 β 3-AR 通路促进脂代谢,调控大鼠脂肪沉积,改善胰岛素抵抗,有效调节肥胖 T2DM 大鼠脂代谢平衡。

数据可用性声明: 本篇论文的关联数据可在 ScienceDB 数据库 (<https://doi.org/10.57760/sciencedb.nprd.00373>) 中访问获取。

参考文献

- 1 Gao WP, Wang MW, Xu WJ, et al. Modified Weiling deco-

- tion inhibited excessive autophagy via AKT/mTOR/ULK1 pathway to alleviate T2DM; Integrating network pharmacology and experimental validation [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 347:119753.
- 2 Contreras C, Nogueiras R, Diéguez C, et al. Hypothalamus and thermogenesis: Heating the BAT, browning the WAT [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2016, 438:107-115.
 - 3 Gou LN, Yin XJ, Ma R, et al. *Abelmoschus esculentus* prevents obesity-related metabolic disorders by increasing the activity of brown adipose tissue and white adipose browning via activating AMPK [J]. *J Funct Foods*, 2025, 128:106787.
 - 4 Liu C, Wang J, Wei Y, et al. Fat-specific knockout of *Mecp2* upregulates *Slpi* to reduce obesity by enhancing browning [J]. *Diabetes*, 2020, 69:35-47.
 - 5 Xu YH, Hua Q, He X, et al. Mechanism of liposoluble components of *Artemisia integrifolia* L. bud in regulating type 2 diabetes mellitus based on network pharmacology and experimental validation [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2025, 37:965-973.
 - 6 Balas L, Feillet-coudray C, Durand T. Branched Fatty acyl esters of hydroxyl fatty acids (FAHFs), appealing beneficial endogenous fat against obesity and type-2 diabetes [J]. *Chemistry*, 2018, 24:9463-9476.
 - 7 Yang CY, Lu QW, Luo S, et al. Berberine inhibits atherosclerosis by regulating lipophagy via targeting Wnt5a/NPC1 signaling pathway [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2023, 29:62-68.
 - 8 Araj-khodaei M, Ayati MH, Azizi Z, et al. Berberine-induced glucagon-like peptide-1 and its mechanism for controlling type 2 diabetes mellitus: a comprehensive pathway review [J]. *Arch Physiol Biochem*, 2024, 130:678-685.
 - 9 Abdillan AM, Yun JW. Capsaicin induces ATP-dependent thermogenesis via the activation of TRPV1/ β 3-AR/ α 1-AR in 3T3-L1 adipocytes and mouse model [J]. *Arch Physiol Biochem*, 2024, 755:109975.
 - 10 Rahbani JF, Roesler A, Hussain MF, et al. Creatine kinase B controls futile creatine cycling in thermogenic fat [J]. *Nature*, 2021, 590:480-485.
 - 11 Kamal MM, El-abhar HS, Abdallah DM, et al. Mirabegron, dependent on β 3-adrenergic receptor, alleviates mercuric chloride-induced kidney injury by reversing the impact on the inflammatory network, M1/M2 macrophages, and claudin-2 [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 126:111289.
 - 12 Bai Y, Bai YN, Lian FM, Research on experience of TONG Xiao-lin in the treatment of lipid metabolism disorder in obesity induced type 2 diabetes melitus [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm* (中华中医药杂志), 2017, 32:1114-1116.
 - 13 Li M, Zhou WJ, Dang YQ, et al. Berberine compounds improves hyperglycemia via microbiome mediated colonic TGR5-GLP pathway in db/db mice [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 132:110953.
 - 14 Yao FY, Han YY, Zhang KY, et al. Based on the PI3K/Akt-GLUT4 pathway to explore the effect of Jiawei Wendan decoction in improving IR in obesity T2DM rats [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med* (中华中医药学刊): 1-11 [2025-04-16]. <https://link.cnki.net/urlid/21.1546.R.20250317.1904.026>.
 - 15 Li DX, Xu SQ, Jiang H, et al. Gut microbiota and intestinal FXR signaling involved in the alleviation of mulberry (*Morus alba* L.) leaf ethanol extract on type 2 diabetes mellitus in db/db mice [J]. *J Funct Foods*, 2024, 123:106600.
 - 16 Gong P, Wang JT, Wang S, et al. Metabolomic analysis of the puerarin hypoglycemic activity via AMPK-mTOR and PPAR γ -NF- κ B signaling pathways [J]. *Phytomedicine*, 2024, 130:155546.
 - 17 Wang Y, Xu ZH, Yan LK, et al. Mechanism of berberine in improving adipocytic IR by mediating BMAL1: CLOCK complex and regulating glucose and lipid metabolism [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2024, 49:4586-4596.
 - 18 Lee SY, Kim MH, Bae CS, et al. Unripe citrus unshiu peel inhibited pre-adipocyte's differentiation via leptin-PPAR γ /FAS pathway and pro-inflammatory cytokines' release [J]. *J Funct Foods*, 2023, 107:105681.
 - 19 Sun PH, Wang ZY, Ma YC, et al. Advance in identified targets of berberine [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16:1500511.
 - 20 Tabuchi C, Sul HS. Signaling pathways regulating thermogenesis [J]. *Front Endocrinol*, 2021, 12:595020.
 - 21 Chang SH, Jang J, Oh S, et al. Nrf2 induces Ucp1 expression in adipocytes in response to β 3-AR stimulation and enhances oxygen consumption in high-fat diet-fed obese mice [J]. *BMB Rep*, 2021, 54:419-424.
 - 22 Vinnai B, Arianti R, Fischer-posovszky P, et al. The importance of thiamine availability in the thermogenic competency of human adipocytes [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2025, 599:112483.