

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2020.01.014

实验研究

半夏泻心汤对过氧化氢叔丁醇诱导的 MIN6 细胞凋亡及 PI3K/AKT/FOXO1 信号通路的影响

杜立娟¹, 孙敏², 谈钰濛¹, 史丽伟¹, 杨亚男³, 张美珍¹,
张月颖¹, 郭赫³, 徐翔³, 韩旭³, 倪青^{*}

1. 中国中医科学院广安门医院, 北京市西城区北线阁 5 号, 100053; 2. 安徽大学生命科学院; 3. 北京中医药大学研究生院

摘要 目的 探讨半夏泻心汤治疗 2 型糖尿病的可能作用机制。方法 MIN6 细胞分为空白组、模型组、利拉鲁肽组及半夏泻心汤低、中、高剂量组, 半夏泻心汤低、中、高剂量组分别加入 0.25、0.5、1.0 mg/ml 浓度的半夏泻心汤 10 μ l 预处理 12 h, 利拉鲁肽组加入 0.18 μ g/ml 利拉鲁肽注射液 10 μ l 处理 12 h。半夏泻心汤各剂量组、利拉鲁肽组和模型组用过氧化氢叔丁醇 (TBHP) 孵育 4 h 建立细胞凋亡模型, MTT 法检测各组细胞的凋亡抑制率, Western blot 法检测各组细胞中蛋白激酶 B (AKT)、磷酸化蛋白激酶 B (p-AKT)、叉头转录因子 1 (FOXO1)、磷酸化叉头转录因子 1 (p-FOXO1) 及 P27 蛋白的表达。结果 与空白组比较, 模型组对 MIN6 细胞凋亡的抑制率明显升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 利拉鲁肽组及半夏泻心汤中、高剂量组凋亡抑制率均降低 ($P < 0.05$); 各干预组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与空白组比较, 模型组 p-AKT/AKT、p-FOXO1/FOXO1 表达明显下调, P27 表达明显上调 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 除半夏泻心汤低剂量组 p-FOXO1/FOXO1 外, 利拉鲁肽组及半夏泻心汤各剂量组 p-AKT/AKT、p-FOXO1/FOXO1 表达均明显上调, P27 表达均明显下调 ($P < 0.05$); 与半夏泻心汤高剂量组比较, 利拉鲁肽组、半夏泻心汤中剂量组 p-FOXO1/FOXO1 表达明显上调 ($P < 0.05$); 与半夏泻心汤低剂量组比较, 半夏泻心汤中、高剂量组及利拉鲁肽组 P27 表达均明显下调 ($P < 0.05$)。结论 半夏泻心汤可显著抑制 MIN6 胰岛 β 细胞的凋亡而发挥防治 2 型糖尿病的治疗作用, 以高剂量效果更佳, 其机制可能是通过激活 PI3K/AKT/FOXO1 信号通路, 从而调节相关蛋白表达。

关键词 2 型糖尿病; 胰岛 β 细胞; 半夏泻心汤; 细胞凋亡; PI3K/AKT/FOXO1 信号通路

2 型糖尿病的病理机制主要是胰岛素分泌不足和胰岛素抵抗, 而胰岛 β 细胞凋亡异常增多是导致胰岛素分泌不足和胰岛功能缺陷的重要原因^[1-2]。因此, 延缓与抑制 β 细胞凋亡是防治 2 型糖尿病的重要举措^[3]。研究表明, 半夏泻心汤具有良好的防治 2 型糖尿病及其并发症的作用, 可用于治疗 2 型糖尿病^[4]、糖尿病性腹泻^[5]、糖尿病胃轻瘫^[6]、肥胖^[7] 以及改善胰岛素抵抗、调节胃肠激素^[8] 等。基于此, 本研究拟探索半夏泻心汤对过氧化氢叔丁醇 (TBHP) 诱导的 MIN6 细胞凋亡的影响及其可能机制。

基金项目: 国家自然科学基金 (81373594); 北京市自然科学基金 (7132174)

* 通讯作者: 13701253942@163.com, (010) 88001023

1 材料与方法

1.1 细胞

小鼠胰岛瘤 β 细胞株 MIN6 购自中南大学现代分析测试中心细胞库。

1.2 实验药物

半夏泻心汤组成: 人参 9 g, 法半夏 12 g, 黄芩 9 g, 干姜 9 g, 黄连 3 g, 炙甘草 9 g, 大枣 20 g, 药物颗粒剂购自四川新绿色药业科技发展有限公司。称取 1 g 半夏泻心汤颗粒, 溶解于 20 ml 含 0.5% DMSO 的 DMEM 培养基中, 经 0.22 μ m 除菌过滤器过滤除菌即为半夏泻心汤母液。利拉鲁肽注射液 (批号 CP51279), 诺和诺德公司。

1.3 主要试剂与仪器

TBHP (货号: 75-91-2), 天津阿法爱莎公司;

DMEM 高糖培养基 (货号: SH30243.01)、0.25% 胰酶-EDTA (货号: SH30042.01), Hyclone 公司; 噻唑蓝 (MTT, 货号: 298-93-1), Sigma 公司; P27 (货号: 41299-1)、蛋白激酶 B (AKT, 货号: 21054-1)、磷酸化蛋白激酶 B (p-AKT, 货号: 11054-1)、叉头转录因子 1 (FOXO1, 货号: YT1757)、磷酸化叉头转录因子 1 (p-FOXO1, 货号: YP0113) 多克隆抗体, CST 公司; Bcl-2 相关 X 蛋白 (BAX, 货号: 50599-1-Ig) 多克隆抗体, Proteintech 公司; β -actin 单克隆抗体 (货号: M20011)、辣根过氧化物酶标记羊抗兔抗体 (货号: M21002)、羊抗小鼠抗体 (货号: M21001), Abmart 公司。

高速恒温冷冻离心机 (型号: 5424, Eppendorf 公司); 蛋白印迹电泳系统 (型号: Trans-Blot Turbo)、全自动凝胶成像系统 (型号: GelDoc EZ), Bio-Rad 公司; 转移电泳仪 (型号: DYCZ-26C, 北京六一仪器厂)。

1.4 MTT 法检测半夏泻心汤对 TBHP 诱导 MIN6 细胞凋亡的影响

MIN6 细胞以 5×10^3 个/孔种于 96 孔板中, 分为空白组、模型组、利拉鲁肽组及半夏泻心汤低、中、高剂量组。各组均给予 DMEM 高糖培养液, 细胞贴壁后半夏泻心汤低、中、高剂量组分别加入 0.25、0.5、1.0 mg/ml 浓度的半夏泻心汤 $10 \mu\text{l}$ 预处理 12 h, 利拉鲁肽组加入 0.18 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 利拉鲁肽注射液 $10 \mu\text{l}$ 预处理 12 h, 然后加入 400 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 的 TBHP 孵育 4 h, 模型组加入 400 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 的 TBHP 孵育 4 h。MTT 法检测吸光度值 (A), 计算抑制率 = $(1 - \text{实验组}/\text{空白组}) \times 100\%$ 。每组设 3 个复孔, 实验至少重复 3 次。

1.5 Western blot 法检测细胞中 AKT、p-AKT、FOXO1、p-FOXO1、P27 蛋白表达

按上述方法分组并处理细胞, 培养 12 h, 收集各组细胞, 用冰 PBS 冲洗 3 次, 加入 RIPA 裂解液

(含蛋白酶抑制剂和磷酸化酶抑制剂), 测细胞上清液蛋白浓度, 加入上样缓冲液, 混匀。按照配方配制 10% 分离胶和 5% 浓缩胶。按每孔 $15 \mu\text{l}$ 上样量缓慢加入到对应孔中, 进行 SDS-PAGE 电泳、转膜、牛奶封闭、孵育一抗和二抗, ECL 试剂显影, 曝光。实验以 β -actin 作为内参蛋白, 采用 Image-JV1.8.0 分析软件对 AKT、p-AKT、FOXO1、p-FOXO1、P27 蛋白表达进行灰度值分析。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 23.0 软件进行统计学分析, 数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 各组 MIN6 细胞凋亡抑制率比较

表 1 示, 与空白组比较, 模型组对 MIN6 细胞凋亡抑制率明显升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 利拉鲁肽组及半夏泻心汤中、高剂量组细胞凋亡抑制率均降低 ($P < 0.05$); 半夏泻心汤中、高剂量组及利拉鲁肽组组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 各组 AKT、p-AKT、FOXO1、p-FOXO1、P27 蛋白表达比较

表 1 示, 与空白组比较, 模型组 p-AKT/AKT、p-FOXO1/FOXO1 表达明显下调, P27 表达明显上调 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 利拉鲁肽组及半夏泻心汤低、中、高剂量组 p-AKT/AKT 表达明显上调、P27 表达明显下调, 利拉鲁肽组及半夏泻心汤中、高剂量组 p-FOXO1/FOXO1 表达均明显上调 ($P < 0.05$)。利拉鲁肽组及半夏泻心汤各剂量组组间 p-AKT/AKT 表达比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与半夏泻心汤高剂量组比较, 利拉鲁肽组、半夏泻心汤中剂量组 p-FOXO1/FOXO1 表达均有明显上调 ($P < 0.05$)。半夏泻心汤中剂量组与

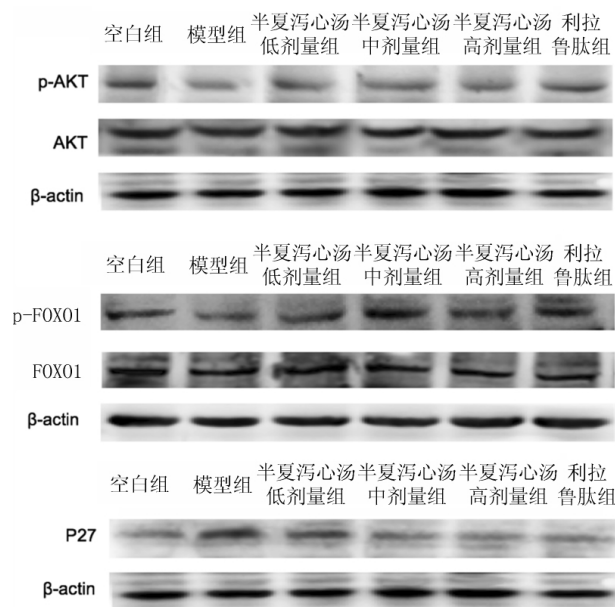
表 1 各组 MIN6 细胞 p-AKT/AKT、p-FOXO1/FOXO1、P27 表达及细胞凋亡抑制率比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	孔数	p-AKT/AKT	p-FOXO1/FOXO1	P27	抑制率 (%)
空白组	3	0.80 $\pm$ 0.12	1.18 $\pm$ 0.08	0.45 $\pm$ 0.07	0.03 $\pm$ 0.08
模型组	3	0.41 $\pm$ 0.04*	0.57 $\pm$ 0.03*	1.04 $\pm$ 0.15*	0.48 $\pm$ 0.02*
利拉鲁肽组	3	0.65 $\pm$ 0.05 Δ	1.15 $\pm$ 0.04 Δ #	0.64 $\pm$ 0.12 Δ ▲	0.26 $\pm$ 0.07 Δ
半夏泻心汤低剂量组	3	0.70 $\pm$ 0.07 Δ	0.63 $\pm$ 0.04	0.85 $\pm$ 0.10 Δ	0.41 $\pm$ 0.04
半夏泻心汤中剂量组	3	0.76 $\pm$ 0.05 Δ	1.07 $\pm$ 0.09 Δ #	0.64 $\pm$ 0.10 Δ ▲	0.34 $\pm$ 0.06 Δ
半夏泻心汤高剂量组	3	0.75 $\pm$ 0.13 Δ	0.80 $\pm$ 0.08 Δ	0.52 $\pm$ 0.09 Δ ▲	0.27 $\pm$ 0.08 Δ

注: p-AKT, 磷酸化蛋白激酶 B; AKT, 蛋白激酶 B; p-FOXO1, 磷酸化叉头转录因子 1; FOXO1, 叉头转录因子 1; 与空白组比较,

* $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$; 与半夏泻心汤低剂量组比较, $\Delta P < 0.05$; 与半夏泻心汤高剂量组比较, $\Delta P < 0.05$

利拉鲁肽组 p-FOXO1/FOXO1 表达比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与半夏泻心汤低剂量组比较,半夏泻心汤中、高剂量组及利拉鲁肽组的 P27 表达均明显下调 ($P < 0.05$),而半夏泻心汤中、高剂量组与利拉鲁肽组 P27 表达比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。



注: p-AKT,磷酸化蛋白激酶 B; AKT,蛋白激酶 B;
p-FOXO1,磷酸化叉头转录因子 1; FOXO1,叉头转录因子 1
图 1 各组 MIN6 细胞 AKT、p-AKT、FOXO1、p-FOXO1、
P27 蛋白表达电泳图

3 讨论

2 型糖尿病属中医学“消渴”。消渴的病名最早载于《素问·奇病论篇》,曰“其气上溢,转为消渴”。中医学认为,消渴的病因较为复杂,包括先天禀赋不足、后天饮食失节、情志失调、劳欲过度、外感六淫、过服温燥、年老久病等。消渴的基本病机是本虚(阴液亏虚)标实(燥热偏盛),脾虚胃热、胃肠失调是消渴发生的重要病机,且痰瘀是其重要的致病因素。半夏泻心汤出自《伤寒论》,方中半夏为君,散结消痞;干姜为臣,温中散寒;黄连、黄芩清泻胃热,人参、大枣益气补脾为佐;甘草补脾和中、调和诸药为使。全方共奏寒热平调、辛开苦降、补泻同施、化痰行瘀之效。

2 型糖尿病是一种渐进性疾病,既往普遍认为胰岛素抵抗在其疾病的进展过程中占主要位置,现在更倾向于胰岛 β 细胞分泌胰岛素不足在 2 型糖尿病发病中的重要作用^[8-10]。研究表明,2 型糖尿病患者胰岛 β 细胞数量显著减少^[11],胰岛 β 细胞

功能障碍是 2 型糖尿病发生的重要条件,而造成细胞功能障碍的重要因素则是胰岛 β 细胞凋亡^[12]。因此,β 细胞凋亡在 2 型糖尿病的发生发展过程中起了重要的作用^[13]。本研究结果发现,半夏泻心汤中、高剂量组均可显著抑制胰岛 β 细胞的凋亡,说明半夏泻心汤具有较好的抑制胰岛 β 细胞凋亡、保护胰岛细胞的作用。

PI3K/AKT 信号通路在胰岛细胞的生长、增殖、分化以及新陈代谢中具有重要的调节作用^[14-15]。PI3K 在一系列上游或旁路信号分子的刺激下,作用于其下游的 AKT 使其磷酸化,FOXO1 是 PI3K/AKT 信号通路的下游因子之一,激活的 AKT 可通过使 FOXO1 的 Ser256 及 Thr24 两个位点发生磷酸化进而核排除,FOXO1 转录因子从细胞核内移位出来并滞留在细胞质中不能与 DNA 结合,从而达到抑制细胞凋亡的作用^[16-17]。既往研究^[18-20]结果表明,半夏泻心汤及有效组分可抑制细胞的凋亡,上调 p-AKT 蛋白的表达。P27 蛋白是一种具有细胞周期和细胞分裂控制的有抗癌作用的蛋白,属于细胞周期素依赖性蛋白激酶抑制剂(CDKI)的家族成员之一,在细胞分裂、增殖凋亡、细胞间黏附等的调控中发挥着重要作用^[21]。P27 是 PI3K/AKT 信号通路的重要下游效应因子^[22]。有研究^[23]结果提示,PI3K 激活导致 p-AKT 活化增加,活化的 AKT 可能下调 P27 的表达进而抑制细胞凋亡。

本研究结果显示,与空白组相比,模型组 p-AKT/AKT、p-FOXO1/FOXO1 表达明显下调,细胞凋亡率及 P27 表达明显上调,说明造模成功。与模型组相比,利拉鲁肽组及半夏泻心汤中、高剂量组 p-AKT/AKT、p-FOXO1/FOXO1 表达均明显上调,细胞凋亡率及 P27 表达明显下调,提示各药物干预组均有较好的抑制细胞凋亡的作用,半夏泻心汤与利拉鲁肽注射液效果相当。与半夏泻心汤高剂量组相比,利拉鲁肽组、半夏泻心汤中剂量组 p-FOXO1/FOXO1 表达均明显上调;与半夏泻心汤低剂量组相比,半夏泻心汤中、高剂量组、利拉鲁肽组的 P27 表达均明显下调;半夏泻心汤不同剂量组均可上调 p-AKT 和 p-FOXO1 蛋白的表达、下调 P27 蛋白的表达,结果说明半夏泻心汤可能是通过活化 PI3K/AKT 信号通路,上调 p-AKT 的表达,从而作用于其下游的 FOXO1,上调 p-FOXO1 蛋白的表达,并下调 P27 蛋白的表达,从而发挥抑制胰岛细胞凋亡的作用,其中半夏泻心汤中、高剂量效

果更佳。

综上所述,半夏泻心汤具有显著抑制 MIN6 细胞凋亡的作用,其机制可能与激活 PI3K/AKT/FOXO1 信号通路进而调节下游蛋白的表达有关。

参考文献

- [1] FARILLA L, HUI H, BERTOLOTTO C, et al. Glucagon-like peptide-1 promotes islet cell growth and inhibits apoptosis in Zucker diabetic rats [J]. *Endocrinology*, 2002, 143(11): 4397-4408.
- [2] WEIR GC, LAYBUTT DR, KANETO H, et al. Beta-cell adaptation and decompensation during the progression of diabetes [J]. *Diabetes*, 2001, 50(Suppl 1): S154-S159.
- [3] 孙颖, 刘红利, 崔雯雯, 等. 中药对胰岛 β 细胞的保护机制研究概述 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(18): 215-219.
- [4] 邹耀武. 半夏泻心汤治疗脾虚胃热型消渴病 60 例疗效观察 [J]. *云南中医中药杂志*, 2014, 35(2): 34-36.
- [5] 周强, 全小林, 刘桂芳, 等. 经方新用之全小林教授运用半夏泻心汤医案四则 [J]. *中医药信息*, 2010, 27(4): 11-13.
- [6] 刘波. 半夏泻心汤治疗糖尿病胃轻瘫临床观察 [J]. *航空航天医学杂志*, 2018, 29(9): 105-106.
- [7] 赵昱, 周丽波, 董柳, 等. 辛开苦降法治疗肥胖 2 型糖尿病的临床研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2007, 25(12): 22-24.
- [8] 陆学工, 许卫兵. 半夏泻心汤治疗糖尿病胃轻瘫的疗效观察及对糖化血红蛋白胃动素的影响 [J]. *四川中医*, 2014, 32(12): 61-63.
- [9] MA L, LI X, WANG Y, et al. Cu(II) inhibits hIAPP fibrillation and promotes hIAPP-induced beta cell apoptosis through induction of ROS-mediated mitochondrial dysfunction [J]. *J Inorg Biochem*, 2014, 140: 143-152. doi: 10.1016/j.jinorgbio. 2014. 07. 002.
- [10] SAISHO Y. β -cell dysfunction: Its critical role in prevention and management of type 2 diabetes [J]. *World J Diabetes*, 2015, 6(1): 109-124.
- [11] COSTES S, LANGEN R, GURLO T, et al. β -Cell failure in type 2 diabetes: a case of asking too much of too few? [J]. *Diabetes*, 2013, 62(2): 327-335.
- [12] ZHANG Y, YIN F, LIU J, et al. Geniposide protects pancreatic INS-1E β cells from hIAPP-induced cell damage: Potential involvement of insulin degrading-enzyme [J]. *Cell Biol Int*, 2015, 39(4): 373-378.
- [13] MARTINEZ-MORENO JM, GARCIA-CABALLERO M. Influences of the diabetes surgery on pancreatic β -cells mass [J]. *Nutr Hosp*, 2013, 28(Suppl 2): 88-94.
- [14] XIA P, XU XY. PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in cancer stem cells: from basic research to clinical application [J]. *Am J Cancer Res*, 2015, 5(5): 1602-1609.
- [15] BERTACCHINI J, HEIDARI N, MEDIANI L, et al. Targeting PI3K/AKT/mTOR network for treatment of leukemia [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72(12): 2337-2347.
- [16] KIM DH, PARK MH, LEE EK, et al. The roles of FoxOs in modulation of aging by calorie restriction [J]. *Biogerontol*, 2015, 16(1): 1-14.
- [17] NOZHAT Z, HEDAYATI M. PI3K/AKT pathway and its mediators in thyroid carcinomas [J]. *Mol Diagn Ther*, 2016, 20(1): 13-26.
- [18] 姜成, 刘芬, 鄢春锦, 等. 半夏泻心汤对幽门螺杆菌诱导 GES-1 细胞凋亡及 Bax 表达的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2014, 29(8): 2631-2634.
- [19] 杜立娟, 孟祥, 倪青. 半夏泻心汤对 H₂O₂ 诱导的 RIN-m5F 细胞凋亡的影响及其机制研究 [J]. *北京中医药*, 2017, 36(6): 494-499.
- [20] 倪青, 汪升蕙, 黄静. 益气活血中药对糖尿病心肌病大鼠心肌细胞凋亡的影响 [J]. *北京中医药*, 2016, 35(6): 560-563, 617.
- [21] KIM DH, LEE HI, NAM ES, et al. Reduced expression of the cell-cycle inhibitor p27Kip1 is associated with progression and lymph node metastasis of gastric carcinoma [J]. *Histopathology*, 2000, 36(3): 245-251.
- [22] GUO R, WEI L, QIAO Y, et al. Blockage of PI3K/PKB/P27kip1 signaling pathway can antagonize 17 β -estradiol-induced Ishikawa proliferation and cell cycle progression [J]. *Chin Med J*, 2006, 119(3): 242-245.
- [23] 姜艳艳, 张连民. PI3K-p-AKT 和 P27 在子宫内膜癌组织中的表达及意义 [J]. *中外医疗*, 2014, 33(28): 57-58.

Effects of *Banxia Xiexin Decoction* (半夏泻心汤) on TBHP-induced MIN6 Cell Apoptosis and PI3K/AKT/FOXO1 Signaling Pathway

DU Lijuan¹, SUN Min², TAN Yumeng¹, SHI Liwei¹, YANG Yanan³, ZHANG Meizhen¹, ZHANG Yueying¹, GUO He³, XU Xiang³, HAN Xu³, NI Qing¹

1. Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053; 2. College of Life Sciences, Anhui University; 3. Graduate School, Beijing University of Chinese Medicine

ABSTRACT Objective To investigate the possible mechanism of type 2 diabetes treated by *Banxia Xiexin Decoction* (半夏泻心汤). **Methods** MIN6 cells were divided into a blank group, a model group, a liraglutide group, and *Banxia Xiexin Decoction* low dose, medium dose and high dose group. *Banxia Xiexin Decoction* low dose, medium

dose and high dose group were respectively added 10 μ l of *Banxia Xiexin Decoction* at concentration of 0.25, 0.5, 1.0 mg/ml pretreated for 12 h, and 0.18 μ g/ml Liraglutide Injection was added to the liraglutide group for 12 h. All groups of *Banxia Xiexin Decoction*, the liraglutide group and the model group used tert-butanol hydrogen peroxide (TBHP) to establish cell apoptosis model. MTT method was used to detect the cell apoptosis rate of each group, and Western blot method was used to detect the expression of cellular protein kinase B (AKT), phosphorylated protein kinase B (p-AKT), forkhead transcription factor 1 (FOXO1), phosphorylated forkhead transcription factor 1 (p-FOXO1) and P27 protein. **Results** Compared with the blank group, the inhibition rate of MIN6 cells in the model group was significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the inhibition rates of the liraglutide group and the *Banxia Xiexin Decoction* medium dose and high dose group were all reduced ($P < 0.05$). There was no significant difference between the intervention groups ($P > 0.05$). Compared with the blank group, the expression of p-AKT/AKT, p-FOXO1/FOXO1 in the model group was significantly down-regulated, and the expression of P27 was significantly up-regulated ($P < 0.05$). Compared with the model group, except p-FOXO1/FOXO1 in the *Banxia Xiexin Decoction* low dose group, the expression of p-AKT/AKT, p-FOXO1/FOXO1 in the liraglutide group and different dose of *Banxia Xiexin Decoction* groups were significantly up-regulated, and the expression of P27 was significantly down-regulated ($P < 0.05$). Compared with the *Banxia Xiexin Decoction* high-dose group, the expression of p-FOXO1/FOXO1 in the liraglutide group and the *Banxia Xiexin Decoction* medium-dose group was significantly up-regulated ($P < 0.05$). Compared with the *Banxia Xiexin Decoction* low-dose group, the expression of P27 in *Banxia Xiexin Decoction* medium-dose and high-dose group, and the liraglutide group was significantly down-regulated ($P < 0.05$). **Conclusion** The medium and high dose of *Banxia Xiexin Decoction* can significantly inhibit the apoptosis of MIN6 islet β cells to treat type 2 diabetes, and it is more effective at high doses. The mechanism may be activating the PI3K/AKT/FOXO1 signaling pathway to regulate the expression of related proteins.

Keywords type 2 diabetes; islet β cells; *Banxia Xiexin Decoction* (半夏泻心汤); cell apoptosis; PI3K/AKT/FOXO1 signaling pathway

(收稿日期: 2019-01-30; 修回日期: 2019-11-01)

编辑: 王利芬

(上接第 62 页)

Four Diagnosis Comprehensive Analysis Intellectualization: Development Status and Pahts

ZHAO Wen^{1,2}, ZHANG Jia³, XU Jiajun^{1,2}, XIN Jiliang^{1,2}, ZHOU Chang'en^{1,2}, LI Shaozi³, LI Candong^{1,2}

1. Research Base of Traditional Chinese Medicine Syndrome, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, 350122;

2. Key Laboratory of Chinese Medicine Health Status Differentiation of Fujian Province; 3. Xiamen University

ABSTRACT In order to ensure the correctness of Chinese medicine diagnosis, in addition to the accuracy and objectivity of the single diagnosis information, it is more important to integrate the four diagnosis. The research on the objective collection and analysis system of the four diagnosis information of traditional Chinese medicine has made breakthroughs, laying a foundation for the research on the fusion of objective information of the four diagnosis. However, the classification criteria of different diagnosis equipment are not uniform, and the sources of information are different, which restricts the integration of the four diagnosis. In this paper, by combing the research on the intellectualization of four diagnosis of traditional Chinese medicine in recent years, including inspection, listening and smelling, inquiring, and pulse diagnosis, and combining the current status of the research on intellectualization of the four diagnosis integration in its initial stage, an attempt is made from the perspective of multi-source data fusion, with the help of collaborative training method, multi-core learning method, and subspace-based learning method to improve the integration and accuracy of the four diagnosis integration, and explore the possible path for intelligentization of the four diagnosis integration.

Keywords four diagnosis integration; traditional Chinese medicine intellectualization; multi-source data fusion; collaborative training method; multi-core learning method; subspace-based learning method

(收稿日期: 2019-07-04; 修回日期: 2019-08-09)

编辑: 崔京艳