

· 实验研究 ·

二甲双胍对糖尿病视网膜病变治疗作用的网络药理学分析

陈源 邢茜 黄正如

江苏省常熟市第二人民医院眼科 215500

通信作者:黄正如,Email:ccl2cox@163.com

【摘要】 目的 通过网络药理学方法研究二甲双胍治疗糖尿病视网膜病变(DR)的分子药效机制。**方法** 自 Pubchem 数据库获取二甲双胍的化学结构,通过 PharmMapper、SwissTargetPrediction 及 DrugBank 数据库获取药物作用的靶点基因;通过 GeneCards 和 DisGeNET 获取数据库内 DR 的致病基因。取二甲双胍的作用靶点基因与 DR 致病基因的交集,将交集内的基因作为二甲双胍治疗 DR 的目标基因。通过 STRING 数据库构建目标基因的蛋白-蛋白互作网络。通过 Metascape 对目标基因进行生物本体论和功能通路分析。**结果** 获取了 31 个二甲双胍治疗 DR 的目标基因。这些基因的生物过程主要富集于对缺氧的反应及核苷酸代谢等;细胞组件主要富集于微绒毛、细胞紧密连接等;分子功能主要富集于辅助因子结合、一氧化氮合成酶(NOS)活性等;功能通路富集于止血、血管内皮生长因子(VEGF)信号通路等。**结论** 二甲双胍主要通过影响细胞之间紧密连接、细胞缺氧反应、NOS 以及 VEGF 信号通路等控制 DR 的进展。

【关键词】 二甲双胍;糖尿病视网膜病变;药理学;基因

基金项目: 江苏省卫计委医学科研课题面上项目(H2017001);苏州市科技发展计划项目(SYSD2019017);常熟市卫健委科技发展计划项目(csqsq201907)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20191215-00543

Network pharmacology analysis of metformin against diabetic retinopathy

Chen Yuan, Xing Qian, Huang Zhengru

Department of Ophthalmology, Changshu No. 2 People's Hospital, Changshu 215500, China

Corresponding author: Huang Zhengru, Email: ccl2cox@163.com

[Abstract] Objective To explore the pharmacological molecular mechanisms of metformin against diabetic retinopathy (DR) based on network pharmacology approach. **Methods** After chemical constitution of metformin was acquired from Pubchem database, target genes of metformin were identified by PharmMapper, SwissTargetPrediction and DrugBank database, and the pathological genes were obtained from GeneCards and DisGeNET database. Subsequently, the intersection of metformin targets and pathologic targets of DR were served as therapeutic targets of metformin against DR. The construction of protein-protein interaction (PPI) network was constructed by STRING, gene ontology (GO) and functional pathway were analyzed by Metascape. **Results** Overall 31 therapeutic target genes of metformin against DR were obtained. Biological process of the PPI network was mainly enriched in reactive oxygen species metabolic process and nucleotide metabolism; cellular component was mainly enriched in microvillus and adherens junction; molecular function was mainly enriched in cofactor binding and nitric oxide synthase (NOS) activity. Functional pathway was mainly enriched in hemostasis and signaling by vascular endothelial growth factor (VEGF). **Conclusions** Metformin prevents the development of DR mainly through affecting cellular tight junctions and reaction to hypoxia, modulating NOS and VEGF signaling pathways.

[Key words] Metformin; Diabetic retinopathy; Pharmacology; Gene

Fund program: Medical Research Project of Jiangsu Health Commission (General Program) (H2017001); Suzhou Science and Technology Development Project (SYSD2019017); Science and Technology Development Project of Changshu Health Commission (csqsq201907)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20191215-00543

二甲双胍是一种双胍类降糖药,是目前治疗 2 型糖尿病的首选药物之一。糖尿病视网膜病变(diabetic

retinopathy, DR)是糖尿病的眼部主要并发症之一,是一种严重的致盲眼病。近期研究表明,服用二甲双胍的糖尿病患者其眼部并发症,如 DR 的发病率较服用其他降糖药物明显偏低^[1-2]。目前有关二甲双胍治疗 DR 药理机制的研究较少,具体机制尚不明确。网络药理学是基于系统生物学的理论,从多靶点的研究策略出发,将药物、靶点网络与生物系统网络相结合,以分析、观察药物对疾病干预和影响的新学科。通过网络药理学对药物进行研究有助于揭示药物作用机制,提高药物的治疗效果,降低毒性作用和不良反应。本课题组应用网络药理学分析二甲双胍对 DR 的治疗作用。

1 材料与方 法

1.1 二甲双胍的药物结构及药效基因靶点的获取

PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)是一个开源的有机小分子数据库,包含药物的化学结构、标识符、化学和物理性质、生物学作用等信息^[3];PharmMapper 数据库 (<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>)通过药效团映射方法,为给定的小分子(药物、自然产物及其他新发现化合物)确定潜在的作用靶点^[4];SwissTargetPrediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>)在线预测平台基于相似结构的活性分子具有相似功能的原理对化合物的作用靶点进行预测^[5];DrugBank 数据库 (<https://www.drugbank.ca/>)是一个整合并提供详细的药物数据信息及其作用靶点的数据库,该数据库所收集的数据均是有实验验证过的药物靶点信息^[6]。本研究自 PubChem 数据库获取二甲双胍的化学结构,将其代入 PharmMapper 和 SwissTargetPrediction 网站进行分析,预测获取二甲双胍的作用基因靶点;通过 DrugBank 数据库对二甲双胍实验所证实的作用靶点进行搜索。

1.2 DR 相关致病基因的获取

GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)整合了大量以基因为中心的数据,该数据库包含基因组学、转录组学、蛋白质组学以及遗传、临床和功能信息等,可用于搜索并提供综合的基因信息^[7]。DisGeNET 数据库 (<http://www.disgenet.org/>)包含了大量与人类疾病相关的基因数据,可用于探索疾病与基因之间的关系^[8]。本研究通过 GeneCards 和 DisGeNET 平台数据库搜索并获取数据库内 DR 相关基因。

1.3 二甲双胍治疗 DR 的药物作用靶点及其蛋白-蛋白互作网络的构建

STRING 数据库 (<http://string-db.org/>)可用于搜寻多个蛋白之间的相互作用,从而更加深入地了解蛋白之

间的功能及调控关系^[9]。本研究中将二甲双胍的靶点基因与 DR 致病基因取交集,以交集内的基因作为二甲双胍治疗 DR 的药物目标基因;再将这些基因经 STRING 数据库构建蛋白-蛋白互作网络(protein protein interaction network, PPI 网络),以综合评分>0.4 为标准构建 PPI 网络,网络中的节点代表蛋白,节点之间连接线的粗细与蛋白质之间的相关作用强度呈正相关。

1.4 二甲双胍治疗 DR 靶点基因的生物本体论及功能通路分析

Metascape (www.metascape.org/)是一款整合了多个权威数据库的基因功能注释分析工具,不仅能完成通路注释和生物过程注释,还能进行基因相关蛋白质网络和涉及的药物分析,该平台的数据每月更新 1 次,极大程度地保证了数据的时效性和可信度^[10]。基因本体论(gene ontology, GO)是多种生物本体语言中的一种,提供了如生物学途径、细胞组件、分子功能 3 层结构的系统定义方式,用于描述基因产物的功能^[11-12]。Reactome 是一个免费、开源、手动整理及经过同行评议的通路数据库,该数据库的数据更侧重于生化反应,能够提供直观的生物信息学工具^[13]。本研究通过 Metascape 平台进行 GO 及 Reactome 分析,将与二甲双胍治疗 DR 相关且最显著的前 12 位分析结果以气泡图的形式展示, $Q < 0.05$ 为差异有统计学意义。本研究的设计流程图见图 1。

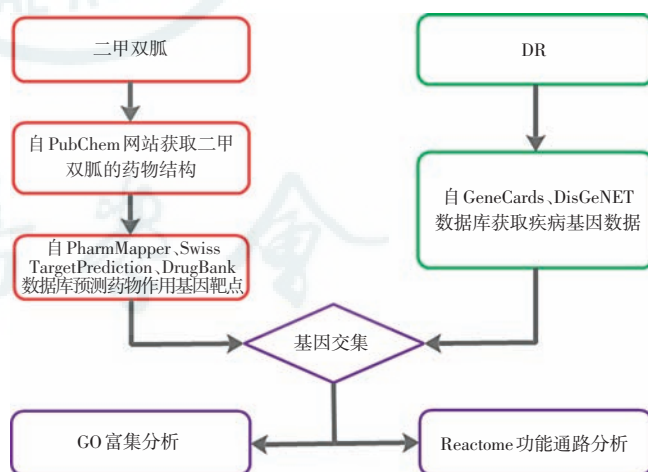


图 1 二甲双胍对 DR 治疗作用的分析设计流程图 DR:糖尿病视网膜病变;GO:基因本体论

Figure 1 Design flowchart of analysis in metformin against DR DR:diabetic retinopathy;GO:gene ontology

2 结果

2.1 二甲双胍的靶点基因和 DR 致病基因的获取

自 DrugBank 获取 8 个药物靶点基因;根据二甲双

胍的化学结构,自 PharmMapper 预测并获取 79 个靶点基因,自 SwissTargetPrediction 平台获取 33 个靶点基因。另外,自 GeneCards 网站获取 2 096 个 DR 致病基因,自 DisGeNET 平台获取 2 246 个致病基因。

2.2 二甲双胍对 DR 作用基因靶点及 PPI 网络构建

将药物靶点基因和 DR 致病基因取交集后获得 31 个二甲双胍作用于 DR 的靶点基因,通过 STRING 数据库构建这 31 个靶点基因的 PPI 网络(图 2)。

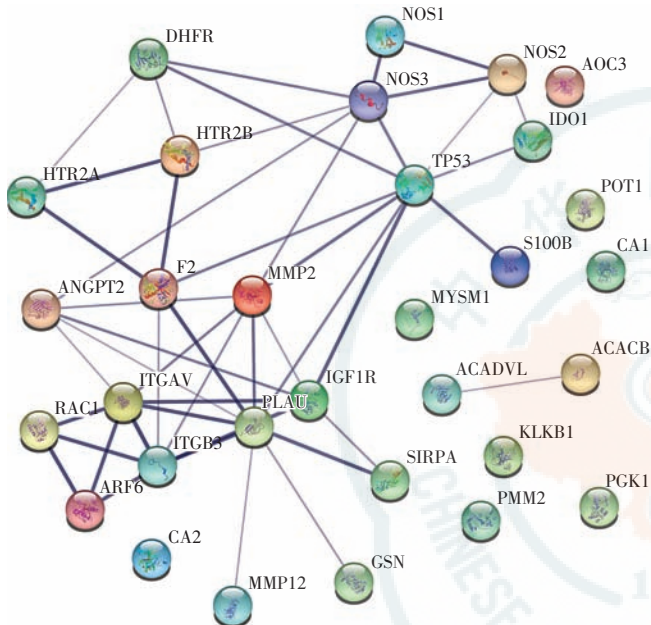


图 2 二甲双胍治疗 DR 药物靶基因的 PPI 网络 注:ACACB:乙酰辅酶 A 羧化酶 β ;ACADVL:酰基辅酶 A 脱氢酶很长链;ANGPT2:血管生成素 2;AOC3:含铜胺氧化酶 3;ARF6:ADP 核糖基化因子 6;CA:碳酸酐酶;DHFR:二氢叶酸还原酶;F2:凝血因子 2;GSN:凝溶胶蛋白;HTR:5-羟色胺受体;IDO1:吲哚胺 2,3-双加氧酶 1;IGF1R:胰岛素样生长因子 1 受体;ITGAV:整合素 α V;ITGB3:整合素 β 3;KLKB1:激肽释放酶 B1;MMP:基质金属蛋白酶;MYSM1:Myb 样 SWIRM 和 MPN 结构域 1;NOS:一氧化氮合成酶;PGK1:磷酸甘油激酶 1;PLAU:纤溶酶原激活物,尿激酶;PMM2:磷酸甘露糖变位酶 2;POT1:端粒保护蛋白 1;RAC1:RAC 家族小 GTP 酶 1;S100B:S100 钙结合蛋白 B;SIRPA:信号调节蛋白 α ;TP53:肿瘤蛋白 53

Figure 2 PPI network of target genes in metformin against DR

Note: ACACB: acetyl-CoA carboxylase beta; ACADVL: acyl-CoA dehydrogenase very long chain; ANGPT2: angiopoietin 2; AOC3: amine oxidase copper containing 3; ARF6: ADP ribosylation factor 6; CA: carbonic anhydrase; DHFR: dihydrofolate reductase; F2: coagulation factor 2; GSN: gelsolin actin; HTR: 5-hydroxytryptamine receptor; IDO1: indoleamine 2,3-dioxygenase 1; IGF1R: insulin like growth factor 1 receptor; ITGAV: integrin subunit alpha V; ITGB3: integrin subunit beta 3; KLKB1: kallikrein B1; MMP: matrix metalloproteinase; MYSM1: Myb like, SWIRM and MPN domains 1; NOS: nitric oxide synthase; PGK1: phosphoglycerate kinase 1; PLAU: plasminogen activator, urokinase; PMM2: phosphomannomutase 2; POT1: protection of telomeres 1; RAC1: Rac family small GTPase 1; S100B: S100 calcium binding protein B; SIRPA: signal regulatory protein alpha; TP53: tumor protein 53

2.3 二甲双胍对 DR 作用基因靶点的功能富集分析

GO 分析及 Reactome 功能通路富集分析结果表

明,二甲双胍作用于 DR 的靶点基因,其生物学途径主要富集于对缺氧的反应及核苷酸代谢等;细胞组件主要富集于胰岛素生长因子及其受体复合体、细胞紧密连接、细胞微绒毛等;分子功能主要富集于辅助因子结合、一氧化氮合成酶(nitric oxide synthase, NOS)活性、四氢生物蝶呤结合、精氨酸结合等方面。Reactome 通路富集于止血、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)信号通路,血管壁细胞表面相互作用、吞噬细胞中活性氧和活性氮产生等(图 3)。

3 讨论

研究报告,未服用二甲双胍的糖尿病患者视网膜中央静脉阻塞(central retinal vein occlusion, CRVO)和视网膜分支静脉阻塞(branch retinal vein occlusion, BRVO)的患病风险分别是无糖尿病人群的 3.7 倍和 2.4 倍,而服用二甲双胍能够使糖尿病患者发生 CRVO 的风险降至无糖尿病人群患病风险的 2.4 倍,使糖尿病患者发生 BRVO 的风险降至未患病水平^[14]。另有研究报告,服用二甲双胍的糖尿病患者眼部并发症的患病率明显低于服用其他降糖药的糖尿病患者,差异有统计学意义,二甲双胍能够显著降低糖尿病患者发生眼部并发症的风险($OR = 0.23$)^[1]。一项针对病程超过 15 年的 2 型糖尿病人群的回溯性研究显示,长期服用(≥ 5 年)二甲双胍者,其 DR 进展至重度非增生期及增生期的风险明显低于未服用者($OR = 0.37$)^[2],但糖尿病性黄斑水肿(diabetic macular edema, DME)的发生率在二者之间差异无统计学意义。虽然二甲双胍不能控制 DME 的发生,却能裨益抗 VEGF 药物对 DME 的治疗效果。张哲等^[15]研究发现服用二甲双胍的 DME 患者对抗 VEGF 药物治疗的反应明显优于未服用者,针对 DME 进行玻璃体腔注射抗 VEGF 药物术后 3 个月,联合二甲双胍药物组的黄斑中心凹视网膜厚度的恢复率明显优于单纯抗 VEGF 治疗组;进一步体外实验结果表明,二甲双胍联合康柏西普能够显著抑制 VEGF 对视网膜血管内皮细胞迁移、增生的诱导作用,其效果优于单独使用康柏西普,其机制可能为二甲双胍抑制血管内皮细胞中蛋白激酶 C 和 VEGF 受体的表达,从而发挥与抗 VEGF 药物的协同治疗作用。在机制研究中发现,二甲双胍还能通过降低氧化应激对视网膜色素上皮细胞的损害,减少视网膜神经节细胞的凋亡^[16-17],通过抑制多种炎性因子,如核因子 κ B p65、细胞间黏附因子、单核细胞趋化蛋白-1、白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)和 VEGF 受体 2 的磷酸化等,抑制视网膜血管新生,延缓 DR 进程^[18-20]。

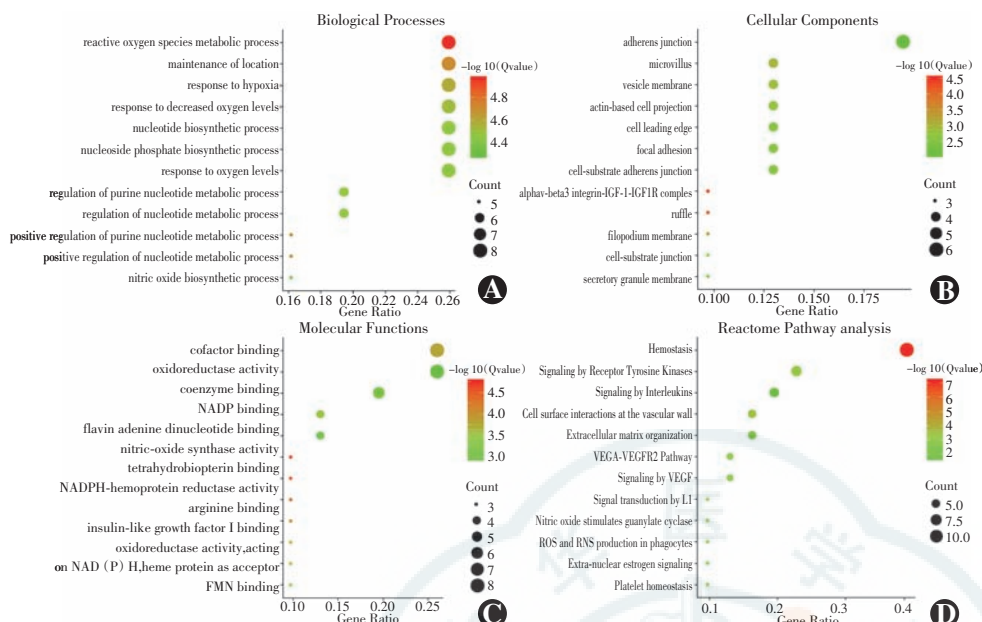


图3 二甲双胍治疗 DR 目标基因的生物本体论及功能通路分析 A:生物学途径 B:细胞组件 C:分子功能 D:功能通路

Figure 3 Gene ontology and functional pathway analysis of target genes in metformin against DR A:biological process B:cellular component C:molecular function D:functional pathway analysis

糖尿病导致视网膜微血管改变,早期即可引起视网膜缺氧^[21],本研究中生物学途径结果表明,二甲双胍可改善 DR 中视网膜细胞对缺氧的反应,进而改善视网膜功能。DR 中视网膜血管内皮细胞之间的紧密连接受损,导致血-视网膜屏障破坏,进而出现视网膜出血、硬性渗出等病理改变;本研究的细胞组件分析结果表明二甲双胍能够作用于细胞紧密连接,在维持血-视网膜屏障过程中发挥作用。二甲双胍的分子功能主要富集于辅助因子结合、NOS 活性、四氢生物蝶呤结合、精氨酸结合等方面。四氢生物蝶呤是 NOS 的辅因子,而精氨酸是一氧化氮的前体,以上结果提示二甲双胍治疗 DR 的药效作用与 NOS 的调控相关。NOS 是合成一氧化氮的关键酶,根据其来源不同分为内皮型 NOS (endothelial nitric oxide synthase, eNOS)、诱导型 NOS (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 和神经型 NOS。NOS 在 DR 的发展进程中发挥着重要作用。在敲除 *eNOS* 基因的 C57/B6 小鼠经链脲菌素诱导的糖尿病模型中, *eNOS*^{-/-} 小鼠较年龄匹配的野生型小鼠 DR 发病更早且更为严重;糖尿病 *eNOS*^{-/-} 小鼠视网膜毛细血管网的内皮细胞损失较野生型更多,其毛细血管基底膜的增厚和视网膜神经胶质细胞增生也更为明显;然而, Al-Kharashi^[21] 发现虽然敲除了 *eNOS* 基因,但糖尿病小鼠视网膜内一氧化氮含量却增加,这是由于糖尿病小鼠的视网膜血管内皮细胞中 iNOS 表达上升,导致一氧化氮含量增多^[22],结果提示 iNOS 和

eNOS 在 DR 的进程中可能发挥不同作用。在 iNOS 与 DR 的相关研究中发现 DR 大鼠视网膜内 iNOS 上升的同时,缓激肽 1 型受体、羧肽酶 M、IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α 、VEGF-A 及其受体 VEGF-R2 等与炎症、氧化应激、血管功能等相关的细胞因子表达也升高,而选择性抑制 iNOS 后,这些细胞因子的表达得到逆转^[23]。糖尿病相关血管病变的研究表明,二甲双胍可以通过上调 eNOS 的表达来改善血糖波动环境中血管内皮细胞的功能障碍^[24-26]。在癌症、子痫及糖尿病周围神经病变的研究中发现,二甲双胍能够通过抑制

iNOS 的表达达到抑制炎症反应的作用^[27-29]。以上结果提示,二甲双胍可能通过 NOS 途径影响 DR 的进程。

本研究应用网络药理学方法对二甲双胍治疗 DR 的药效机制进行了分析,结果表明二甲双胍主要通过影响细胞缺氧反应、细胞之间紧密连接、NOS 以及 VEGF 信号通路等多个方面控制 DR 进展。本课题组将在接下来的研究中对网络药理学分析结果进行进一步的生物学实验验证。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 陈源:论文操作、论文撰写、数据整理、统计分析;黄正如、邢茜:论文修改

参考文献

- Maleškić S, Kusturica J, Gušić E, et al. Metformin use associated with protective effects for ocular complications in patients with type 2 diabetes-observational study [J]. Acta Med Acad, 2017, 46 (2) : 116-123. DOI:10. 5644/ama2006-124. 196.
- Li Y, Ryu C, Munie M, et al. Association of metformin treatment with reduced severity of diabetic retinopathy in type 2 diabetic patients [J/OL]. J Diabetes Res, 2018, 2018 : 2801450 [2020-05-25]. https://www. ncbi. nlm. nih. gov/pmc/articles/PMC5952500/. DOI: 10. 1155/2018/2801450.
- Kim S, Chen J, Cheng T, et al. PubChem 2019 update: improved access to chemical data [J/OL]. Nucleic Acids Res, 2019, 47 (D1) : D1102-1109 [2020-03-01]. https://www. ncbi. nlm. nih. gov/pmc/articles/PMC6324075/. DOI: 10. 1093/nar/gky1033.
- Wang X, Shen Y, Wang S, et al. PharmMapper 2017 update: a web server for potential drug target identification with a comprehensive target pharmacophore database [J/OL]. Nucleic Acids Res, 2017, 45 (W1) : W356-W360 [2020-03-12]. https://www. ncbi. nlm. nih. gov/pmc/

- articles/PMC57938401. DOI:10.1093/nar/gkx374.
- [5] Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules [J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47 (W1) : W357-W364 [2020-03-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6602486/>. DOI:10.1093/nar/gkx382.
- [6] Wishart DS, Feunang YD, Guo AC, et al. DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018 [J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46 (D1) : D1074-D1082 [2020-03-12]. https://www.onacademic.com/detail/journal_1000040179676010_835c.html. DOI:10.1093/nar/gkx1037.
- [7] Stelzer G, Rosen N, Plaschkes I, et al. The GeneCards Suite: from gene data mining to disease genome sequence analyses [J/OL]. *Curr Protoc Bioinformatics*, 2016, 54 (1) : 1.30.1-1.30.33 [2020-03-20]. <https://currentprotocols.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cpbi.5>. DOI:10.1002/cpbi.5.
- [8] Piñero J, Ramírez-Anguita JM, Sañch-Pitarch J, et al. The DisGeNET knowledge platform for disease genomics; 2019 update [J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48 (D1) : D845-D855 [2020-03-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7145631/>. DOI:10.1093/nar/gkz1021.
- [9] Szklarczyk D, Gable AL, Lyon D, et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets [J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47 (D1) : D607-607D613 [2020-03-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6323986/>. DOI:10.1093/nar/gky1131.
- [10] Zhou Y, Zhou B, Pache L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets [J/OL]. *Nat Commun*, 2019, 10 (1) : 1523 [2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6447622/>. DOI:10.1038/s41467-019-09234-6.
- [11] Ashburner M, Ball CA, Blake JA, et al. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium [J]. *Nat Genet*, 2000, 25 (1) : 25-29. DOI:10.1038/75556.
- [12] The Gene Ontology Consortium. The Gene Ontology Resource: 20 years and still GOing strong [J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47 (D1) : D330-D338 [2020-03-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6323945/>. DOI:10.1093/nar/gky1055.
- [13] Fabregat A, Jupe S, Matthews L, et al. The reactome pathway knowledgebase [J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46 (D1) : D649-D655 [2020-03-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5753187/>. DOI:10.1093/nar/gkx1132.
- [14] Lin TC, Hwang DK, Hsu CC, et al. Protective effect of metformin against retinal vein occlusions in diabetes mellitus-A nationwide population-based study [J/OL]. *PLoS One*, 2017, 12 (11) : e0188136 [2020-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5685597/>. DOI:10.1371/journal.pone.0188136.
- [15] 张哲, 刘竹青, 刘巨平, 等. 二甲双胍联合抗血管内皮生长因子药物治疗糖尿病视网膜病变的可能协同作用 [J]. *中华眼底病杂志*, 2018, 34 (5) : 453-457. DOI:10.3760/cma.j.issn.1005-1015.2018.05.008.
- Zhang Z, Liu ZQ, Liu JP, et al. The synergistic effect of metformin and anti-vascular endothelial growth factor in the treatment of diabetic retinopathy [J]. *Chin J Ocul Fundus Dis*, 2018, 34 (5) : 453-457. DOI:10.3760/cma.j.issn.1005-1015.2018.05.008.
- [16] Kim YS, Kim M, Choi MY, et al. Alpha-lipoic acid reduces retinal cell death in diabetic mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503 (3) : 1307-1314. DOI:10.1016/j.bbrc.2018.07.041.
- [17] Kim YS, Kim M, Choi MY, et al. Metformin protects against retinal cell death in diabetic mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 492 (3) : 397-403. DOI:10.1016/j.bbrc.2017.08.087.
- [18] Han J, Li Y, Liu X, et al. Metformin suppresses retinal angiogenesis and inflammation *in vitro* and *in vivo* [J/OL]. *PLoS One*, 2018, 13 (3) : e0193031 [2020-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5841739/>. DOI:10.1371/journal.pone.0193031.
- [19] 韩静, 闫小龙, Xiaoxi Qiao. 二甲双胍对炎症状态下人视网膜血管内皮细胞生物学行为的保护作用及其机制 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2017, 35 (7) : 581-585. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.07.002.
- Han J, Yan XL, Qiao XX. Protection effects of metformin on biological behaviour of human vascular endothelial cells under inflammatory conditions [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2017, 35 (7) : 581-585. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.07.002.
- [20] Yi QY, Deng G, Chen N, et al. Metformin inhibits development of diabetic retinopathy through inducing alternative splicing of VEGF-A [J/OL]. *Am J Transl Res*, 2016, 8 (9) : 3947-3954 [2020-05-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5040692/>.
- [21] Al-Kharashi AS. Role of oxidative stress, inflammation, hypoxia and angiogenesis in the development of diabetic retinopathy [J]. *Saudi J Ophthalmol*, 2018, 32 (4) : 318-323. DOI:10.1016/j.sjopt.2018.05.002.
- [22] Li Q, Verma A, Han PY, et al. Diabetic eNOS-knockout mice develop accelerated retinopathy [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010, 51 (10) : 5240-5246. DOI:10.1167/iovs.09-5147.
- [23] Othman R, Vaucher E, Couture R. Bradykinin type 1 receptor-inducible nitric oxide synthase: a new axis implicated in diabetic retinopathy [J/OL]. *Front Pharmacol*, 2019, 10 : 300 [2020-03-24]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6449803/>. DOI:10.3389/fphar.2019.00300.
- [24] An H, He L. Current understanding of metformin effect on the control of hyperglycemia in diabetes [J/OL]. *J Endocrinol*, 2016, 228 (3) : R97-106 [2020-03-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5077246/>. DOI:10.3389/fphar.2019.00300.
- [25] Yu JW, Deng YP, Han X, et al. Metformin improves the angiogenic functions of endothelial progenitor cells via activating AMPK/eNOS pathway in diabetic mice [J/OL]. *Cardiovasc Diabetol*, 2016, 15 : 88 [2020-03-07]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4912824/>. DOI:10.1186/s12933-016-0408-3.
- [26] Sambe T, Mason RP, Dawoud H, et al. Metformin treatment decreases nitroxidative stress, restores nitric oxide bioavailability and endothelial function beyond glucose control [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 98 : 149-156. DOI:10.1016/j.biopha.2017.12.023.
- [27] Fan H, Yu X, Zou Z, et al. Metformin suppresses the esophageal carcinogenesis in rats treated with NMBzA through inhibiting AMPK/mTOR signaling pathway [J]. *Carcinogenesis*, 2019, 40 (5) : 669-679. DOI:10.1093/carcin/bgy160.
- [28] Hu J, Zhang J, Zhu B. Protective effect of metformin on a rat model of lipopolysaccharide-induced preeclampsia [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2019, 33 (6) : 649-658. DOI:10.1111/fcp.12501.
- [29] Lós DB, Oliveira WH, Duarte-Silva E, et al. Preventive role of metformin on peripheral neuropathy induced by diabetes [J/OL]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 74 : 105672 [2020-03-24]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567576919306812>. DOI:10.1016/j.intimp.2019.05.057.

(收稿日期:2019-12-15 修回日期:2020-11-08)

(本文编辑:刘艳 施晓萌)