

桂皮醛对糖尿病小鼠血糖水平的影响及机制

黄链莎¹, 刘铜华^{2*}, 孙文², 许光远³, 郭璇², 李迎真¹, 陈淑惠¹, 周鹏¹

(1. 深圳市宝安区中医院, 深圳 518133;

2. 北京中医药大学教育部中医养生学重点实验室, 北京 100029;

3. 首都医科大学附属复兴医院, 北京 100045)

[摘要] **目的:**观察桂皮醛(cinnamaldehyde, CA)降血糖作用,并探讨其作用机制。**方法:**6~8周龄雄性 db/db 小鼠 24 只,按血糖随机分为模型组,二甲双胍组(0.2 g·kg⁻¹),桂皮醛低剂量组(0.025 g·kg⁻¹)和桂皮醛高剂量组(0.05 g·kg⁻¹),每组 6 只,另设同周龄 C57BL/6J 小鼠 6 只为正常组。治疗 4 周后,检测各组小鼠空腹血糖(fasting blood glucose, FBG),总胆固醇(total cholesterol, TC),甘油三酯(total triglyceride, TG),游离脂肪酸(free fatty acids, FFA),天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST),血清胰岛素(fasting insulin, Fins)水平,计算胰岛素抵抗指数(homa insulin-resistance, HOMA-IR);取肝脏组织检测肝糖原含量以及高碘酸-希夫(periodic acid-Schiff stain, PAS)染色;采用实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR),蛋白免疫印迹法(Western blot)检测肝脏相关 mRNA 和蛋白表达。**结果:**治疗 4 周后,与模型组比较,CA 组小鼠体质量,FBG, Fins, HOMA-IR, 血脂明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),肝脏糖原含量显著升高;小鼠肝脏葡萄糖-6-磷酸酶(glucose-6-phosphate, G-6-P),磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK) mRNA 表达显著降低($P < 0.01$), p-蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt), p-糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β)蛋白表达显著升高($P < 0.01$)。**结论:**CA 具有降低血糖作用,相关机制可能是通过上调肝脏胰岛素信号通路 Akt, GSK-3 β 磷酸化水平,抑制 G-6-P, PEPCK mRNA 表达实现。

[关键词] 桂皮醛; 2 型糖尿病; 葡萄糖-6-磷酸酶(G-6-P)/磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(PEPCK); 蛋白激酶 B(Akt)/糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β)

[中图分类号] R22; R2-031; R285.5; R242 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)10-0095-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20180814

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180124.1232.001.html>

[网络出版时间] 2018-01-25 10:40

Effect and Mechanism of Cinnamaldehyde on Insulin Resistance in db/db Mice

HUANG Lian-sha¹, LIU Tong-hua^{2*}, SUN Wen², XU Guang-yuan³, GUO Xuan²,

LI Ying-zhen¹, CHEN Shu-hui¹, ZHOU Peng¹

(1. Baoan District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen 518133, China;

2. Key Laboratory of Health Cultivation of the Ministry of Education, Beijing University of Chinese Medicine,

Beijing 100029, China; 3. Fuxing Hospital, Capital Medical University, Beijing 100045, China)

[Abstract] **Objective:** To elucidate the effect and mechanism of cinnamaldehyde (CA) in improving blood glucose in obese db/db mice. **Method:** Twenty-four 6 to 8-week-old male db/db mice were randomly divided into model group, Metformin group, low-dose CA group and high-dose CA group according to their levels of blood glucose, with 6 in each group, while six C57BL/6J mice of the same age were included in normal group. After treatment for four weeks, fasting blood glucose (FBG), total cholesterol (TC), total triglyceride (TG), free fatty acids (FFA), aspartate aminotransferase (AST), fasting insulin (Fins), homa insulin-resistance (HOMA-IR), hepatic glycogen and PAS staining of liver were measured. Real-time PCR and Western blot were used to quantify

[收稿日期] 20170817(009)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81503550);广东省自然科学基金项目(2015A030310222)

[第一作者] 黄链莎, 博士, 主治医师, 从事中医治未病研究, Tel: 0755-27806231, E-mail: lianshahuang@qq.com

[通信作者] * 刘铜华, 博士, 教授, 从事中医药防治糖尿病的基础和临床研究, Tel: 010-64286727, E-mail: thliu@vip.163.com

the mRNA and protein expressions of certain targets in liver. **Result:** It was found that the body weight, fast blood glucose, Fins, HOMA-IR, lipid were significantly decreased in the CA group compared with model group after the treatment for 4 weeks ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Hepatic glycogen was higher in the CA group than model group ($P < 0.01$). The mRNA expressions of glucose-6-phosphate (G-6-P), phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) in mice of CA group decreased significantly ($P < 0.01$), and the protein expressions of p-protein kinase B (Akt), p-glycogenkinase3 β (GSK3 β) in mice of CA group increased significantly ($P < 0.01$). **Conclusion:** It was demonstrated that CA may reduce the blood glucose in db/db mice by up-regulating the mRNA expressions of G-6-P and PEPCK, and down-regulating the protein expressions of p-Akt, p-GSK3 β in liver.

[**Key words**] cinnamaldehyde; type 2 diabetes; glucose-6-phosphate (G-6-P) /phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK); protein kinase B (Akt) /glycogenkinase3 β (GSK3 β)

近年由于生活习惯和饮食习惯的改变,糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 发病率呈急速上升趋势。据统计,截止到 2012 年全球糖尿病患者达到 3.71 亿人,预计到 2030 年将会接近 5.52 亿人^[1];我国糖尿病人数增长率 2011 年已达到 9.7%,居世界首位,其中 95% 以上都是 2 型糖尿病 (T2DM),更有接近 1.5 亿人极易发展为 T2DM^[2-3]。

糖代谢紊乱是糖尿病引起的机体代谢紊乱的主要方面,是心脑血管疾病、代谢性疾病的危险因素。研究表明,糖代谢过程中关键酶葡萄糖-6-磷酸酶 (glucose-6-phosphate, G-6-P), 糖原合成酶激酶-3 (GSK-3) 调控肝糖原生成和糖异生^[4-6]。G-6-P 是糖代谢过程中 6-磷酸葡萄糖转化为葡萄糖的限速酶,调控糖异生和糖原分解两大肝糖输出途径,G-6-P 活性及其基因表达水平的变化影响肝糖的输出和血糖水平^[7]。GSK-3 是调节肝脏糖异生过程的限速酶,包括 GSK-3 α 和 GSK-3 β 这 2 种亚型,其可以影响 G-6-P 的基因表达^[8];GSK-3 β 可以磷酸化糖原合成酶,抑制肝糖原合成,并使胰岛素受体底物-1 (IRS-1) 磷酸化,抑制胰岛素信号传导,产生胰岛素抵抗^[9]。因此,调控糖代谢过程中关键酶,抑制肝脏葡萄糖生成是抗糖尿病治疗的重要途径。

桂皮醛 (cinnamaldehyde, CA), 系樟科植物肉桂中烯醛类有机化合物,化学结构式 C_9H_8O 。有研究显示,CA 能够降低小鼠空腹血糖水平,改善胰岛素抵抗作用^[10-11];此外,还具有抗肥胖、抗炎、抗菌、降压以及保护神经和抗癌等多种药理作用^[12]。本实验旨在通过观察 CA 对自发性 2 型糖尿病模型 db/db 小鼠降糖作用,检测小鼠肝脏糖调节酶 G-6-P,磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 (phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK) 基因和蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt), GSK3 β 蛋白磷酸化水平表达,探讨 CA 降糖的作用机制。

1 材料

1.1 动物 6~7 周龄 SPF 级雄性 db/db 小鼠 24 只,体质量 (20 ± 4) g, 同周龄 C57BL/6J 小鼠 6 只,由南京大学生物医药研究院提供,合格证号 SCXK (苏)2010-0001。小鼠饲养于中国中医科学院中医基础理论研究所 SPF 级动物实验室,使用许可证号 SYXK (京)2016-0021,自由摄食饮水,于温度 21~25 $^{\circ}C$,湿度 45%~65%,12 h/12 h 光照-黑暗循环适应性喂养 1 周。db/db 小鼠给予全价高脂饲料喂养;C57BL/6J 小鼠给予普通全价营养饲料。经中国中医科学院中医基础理论研究所动物实验伦理审查通过,编号 2016-006。

1.2 药物与试剂 CA (成都普瑞法科技有限公司,批号 C10054406,纯度 98%);葡萄糖测定试剂盒、甘油三酯 (total triglyceride, TG) 试剂盒、总胆固醇 (total cholesterol, TC) 试剂盒、游离脂肪酸 (free fatty acids, FFA) 试剂盒、天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 试剂盒 (中生北控生物科技股份有限公司,批号分别为 YZB/京 0111-2013, 146961, YZB/京 0698-2010, YZB/京 06997-2010, YZB/国 2080-2003);胰岛素 (fasting insulin, Fins) 试剂盒 (北京华英生物技术研究所,批号 20162400316);诺和灵 R 生物合成人胰岛素 (丹麦诺和诺德公司,国药准字 J20100117);PCR 反转录试剂盒 (美国 Promega 公司,批号 0000076581);糖原染色试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司,批号 20150423);肝糖原检测试剂盒 (南京建成生物工程研究所,批号 A043);磷酸化蛋白激酶 B (phosphorylated protein kinase B, p-Akt), 磷酸化糖原合成酶激酶-3 β (phosphorylated-GSK-3 β , p-GSK3 β), β -肌动蛋白 (β -actin) 单克隆抗体,羊抗兔 II 抗 (美国 CST 公司,批号分别为 0019, 0006, 0010, 0026);ECL 发光液 (美国 Bio-Rad 公司,批号

170-5060); G-6-P, PEPCK mRNA 引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成, 见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequence

引物	序列	长度/bp
G-6-P	上游 5'-TGGTTGGGATTCTGGGCTGT-3'	23
	下游 5'-TCTACACCCAGTCCCTTGAG-3'	20
PEPCK	上游 5'-ATGCCTCCTCAGCTGCATA-3'	25
	下游 5'-TTACATCTGCGTGATTCTCTGTT-3'	23
GAPDH	上游 5'-TGAAGCAGGCATCTGAGGG-3'	19
	下游 5'-CGAAGGTGAAGAGTGGGAG-3'	21

1.3 仪器 7160 型全自动生化仪(日本日立公司); r-911 型全自动放免计数仪(中国科技大学实业总公司); E9032 型酶标仪(美国 Promega 公司); 7500 型 Real-time PCR 仪(美国 ABI 公司); 1658001 型垂直电泳仪、转移槽, XRS + 型凝胶成像仪(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 分组与给药 选小鼠适应性喂养 1 周后, 尾静脉采血检测血糖, 不同日随机血糖 $\geq 11.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为成模标准, 将 db/db 小鼠按血糖值随机分层分组, 分别为模型组, 二甲双胍组, CA 低剂量组, CA 高剂量组, 每组 6 只; 另 C57BL/6J 小鼠 6 只为正常组, 共 30 只。给药剂量根据人体给药剂量按照体表面积法折算为小鼠剂量^[13-14], 二甲双胍组 $0.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; CA 低剂量组 $0.025 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; CA 高剂量组 $0.05 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。所有药物由生理盐水配制, 给药量按 $0.01 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 体质量灌胃给药, 其余组给以等体积生理盐水, 1 次/d, 连续 4 周。

2.2 观察指标及检测方法

2.2.1 标本采集与处理 药物干预 4 周后取材, 禁食不禁水 12 h, 麻醉, 腹主动脉取血, 离心取血清用于血液生化指标检测; 迅速剖取肝脏, 放入液氮冻存待用。

2.2.2 一般情况观察 观察各组小鼠一般状态(精神状态、活动情况、毛色等), 每 2 周检测 1 次体质量、空腹血糖。

2.2.3 血液生化指标检测 葡萄糖氧化酶法检测各组小鼠空腹血糖(FBG); 放免法检测血清 TC, TG, FFA, AST, Fins, 计算胰岛素抵抗指数(homa insulin-resistance, HOMA-IR) = $\text{FBG} \times \text{血清胰岛素水平} / 22.5$ 。

2.2.4 小鼠肝糖原含量测定 取一定量肝组织(质量 $< 100 \text{ mg}$), 生理盐水洗 1 次, 滤纸吸干; 按试剂盒说明将组织和碱性液体混合研磨, 沸水煮 5 min, 室温冷却, 酶标仪设定 620 nm 波长, 检测吸光度 A。

2.2.5 肝糖原(PAS)染色检测糖原变化 实验结束时, 取肝脏放入 10% 甲醛固定 48 h, 常规石蜡包埋, $4 \mu\text{m}$ 切片; 按糖原染色试剂盒步骤染色, 梯度乙醇、二甲苯脱水, 中性树脂封片, 光镜下观察肝糖原含量变化。

2.2.6 实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测相关 mRNA 表达 冻存的小鼠肝组织, 采用 trizol 法提取组织总 RNA, 按反转录试剂盒步骤进行反转录, 得到 cDNA; $20 \mu\text{L}$ 反应体系扩增, 反应条件: $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 10 min, $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 15 s, $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 1 min, 共 40 次循环; $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 15 s, $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 15 s 溶解。运用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 相对定量法比较各组目标 mRNA 表达差异。

2.2.7 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测相关蛋白表达 小鼠肝组织 RIPA 蛋白裂解液提取总蛋白; 12.5% SDS-PAGE gel, 100 V 凝胶电泳 2 h, 100 A 半干法凝胶转膜 2 h, 封闭 30 min, 一抗(1:1 万) $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵育过夜; 洗膜后二抗(1:1 万)室温孵育 1 h。凝胶成像系统成像, 蛋白条带用 Image J 7.0 图像分析, 以目的蛋白与内参蛋白 β -actin 灰度比值来表示蛋白表达水平。

2.3 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件处理数据, 用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较, 满足方差齐性时用 LSD 检验, 不满足方差齐性时用非参数检验; $P < 0.05$ 表示有统计学差异。

3 结果

3.1 CA 对小鼠一般情况的影响 喂养 4 周后, 正常组小鼠精神良好, 动作灵活, 反应灵敏, 皮毛光泽。与正常组比较, 模型组小鼠经高脂饲料喂养后, 体质量显著增高($P < 0.01$)(表 2), 并出现多饮、多尿、多食、皮毛无光泽等现象。与模型组比较, CA 治疗组有类似表现, 但多饮、多尿、多食程度较低, 皮毛较有光泽。

3.2 CA 对小鼠 FBG 的影响 与正常组比较, 模型组 FBG 水平显著升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 干预 4 周时 CA 高、低剂量组 FBG 明显降低($P < 0.05, P < 0.01$); 说明 CA 有改善 db/db 小鼠高血糖作用。见表 2。

3.3 CA 对小鼠胰岛素抵抗、肝糖原含量的影响 与正常组比较, 模型组小鼠 Fins, HOMA-IR 水平显著

表 2 CA 对小鼠体重及 FBG 的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Effect of CA on fasting glucose and body weight of mice($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	体质量/g	FBG/ $mmol \cdot L^{-1}$		
			干预前	干预 2 周	干预 4 周
正常	-	26.72 ± 1.08	4.22 ± 0.71	4.70 ± 0.52	4.30 ± 0.54
模型	-	38.90 ± 2.13 ²⁾	12.15 ± 0.68 ²⁾	16.25 ± 1.10 ²⁾	19.32 ± 1.42 ²⁾
二甲双胍	0.2	31.60 ± 1.62 ⁴⁾	12.28 ± 0.87	8.83 ± 0.93 ⁴⁾	10.23 ± 1.09 ⁴⁾
CA	0.025	35.70 ± 2.46	12.30 ± 0.90	16.02 ± 0.89	17.55 ± 0.89 ³⁾
	0.05	32.40 ± 1.38 ⁴⁾	12.05 ± 1.04	15.22 ± 0.71	15.67 ± 0.76 ⁴⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~6 同)。

升高($P < 0.01$),肝糖原含量显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,二甲双胍组,CA 高、低剂量组 Fins, HOMA-IR 水平降低($P < 0.05, P < 0.01$),肝糖原含量显著升高($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 3。

表 3 CA 对小鼠胰岛素抵抗、肝糖原含量的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 3 Effect of CA on Fins, HOMA-IR, hepatic glycogen of mice($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	Fins/ $mU \cdot L^{-1}$	HOMA-IR	肝糖原/ $mg \cdot g^{-1}$
正常	-	9.09 ± 0.81	1.74 ± 0.29	8.68 ± 0.98
模型	-	18.12 ± 1.19 ²⁾	15.14 ± 1.65 ²⁾	4.48 ± 0.94 ²⁾
二甲双胍	0.2	11.83 ± 1.48 ⁴⁾	5.36 ± 0.71 ⁴⁾	7.58 ± 0.57 ⁴⁾
CA	0.025	15.99 ± 1.23 ³⁾	12.50 ± 1.42 ³⁾	5.60 ± 0.63 ³⁾
	0.05	12.36 ± 1.41 ⁴⁾	8.62 ± 1.20 ⁴⁾	7.00 ± 0.53 ⁴⁾

3.4 CA 对小鼠血脂、肝功能的影响 与正常组比较,模型组小鼠 TC, TG, FFA 水平明显升高($P < 0.05, P < 0.01$);与模型组比较,二甲双胍组,CA 高剂量组 TC, TG, FFA 水平明显降低($P < 0.05, P < 0.01$);各组小鼠血清 AST 水平无显著差异性。见表 4。

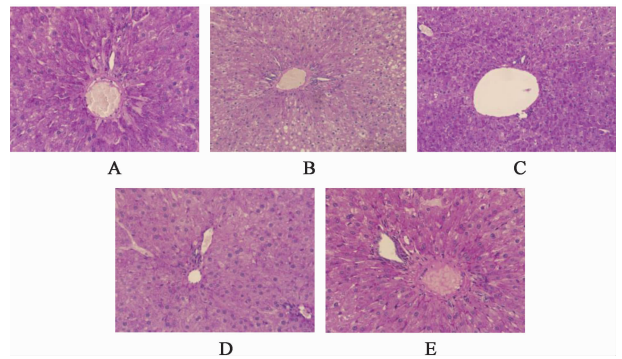
表 4 CA 对小鼠血脂、肝功能的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 4 Effect of CA on serum lipid, AST of mice($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	TC/ $mmol \cdot L^{-1}$	TG/ $mmol \cdot L^{-1}$	FFA/ $mmol \cdot L^{-1}$	AST/ $U \cdot L^{-1}$
正常	-	1.80 ± 0.24	0.62 ± 0.13	0.38 ± 0.01	24.02 ± 5.77
模型	-	2.85 ± 0.16 ¹⁾	1.50 ± 0.19 ³⁾	0.69 ± 0.04 ²⁾	24.25 ± 1.79
二甲双胍	0.2	1.88 ± 0.21 ⁴⁾	0.87 ± 0.17 ⁴⁾	0.44 ± 0.03 ³⁾	23.38 ± 2.25
CA	0.025	2.38 ± 0.57 ³⁾	1.36 ± 0.23	0.58 ± 0.07	23.42 ± 2.42
	0.05	2.07 ± 0.22 ⁴⁾	0.98 ± 0.13 ³⁾	0.47 ± 0.05 ³⁾	23.72 ± 2.01

3.5 CA 对小鼠肝组织糖原沉积的影响 小鼠药物干预 4 周后,正常组肝细胞可见丰富紫红色糖原颗粒散布于肝细胞内;与正常组相比,模型组胞质少量

紫红色糖原颗粒散布,且见肝细胞脂肪变性;二甲双胍组,CA 高、低剂量组较之正常组,细胞质中紫红色糖原颗粒散布降低,与模型组相比,细胞质中紫红色糖原颗粒丰富,细胞脂肪样变较轻。见图 1。



A. 正常组;B. 模型组;C. 二甲双胍组;D. CA 低剂量组;E. CA 高剂量组(图 2 同)

图 1 CA 对小鼠肝组织糖原沉积的影响(PAS, ×400)

Fig.1 Effect of CA on glycogen deposition in liver of mice(PAS, ×400)

3.6 CA 对小鼠肝脏 G-6-P, PEPCK mRNA 表达的影响 与正常组比较,模型组小鼠肝脏 G-6-P, PEPCK mRNA 表达显著升高($P < 0.01$);药物干预 4 周后,二甲双胍组,CA 高、低剂量组小鼠肝脏 G-6-P, PEPCK mRNA 表达较模型组明显降低($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 5。

表 5 CA 对小鼠肝脏 G-6-P, PEPCK mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 5 Effect of CA on expressions of CA on G-6-P, PEPCK mRNA in mice liver($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	G-6-P	PEPCK
正常	-	0.96 ± 0.05	1.02 ± 0.10
模型	-	1.47 ± 0.15 ²⁾	1.54 ± 0.11 ²⁾
二甲双胍	0.2	1.01 ± 0.14 ⁴⁾	0.98 ± 0.07 ⁴⁾
CA	0.025	1.30 ± 0.10 ³⁾	1.32 ± 0.12 ³⁾
	0.05	1.08 ± 0.09 ⁴⁾	1.13 ± 0.07 ⁴⁾

3.7 CA 对小鼠肝脏 p-Akt, p-GSK3 β 蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组小鼠肝脏 Akt, GSK3 β 蛋白磷酸化水平显著降低 ($P < 0.01$); 药物干预 4 周后,二甲双胍组,CA 高、低剂量组小鼠肝脏 Akt, GSK3 β 蛋白磷酸化水平较模型组明显升高 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见图 2,表 6。

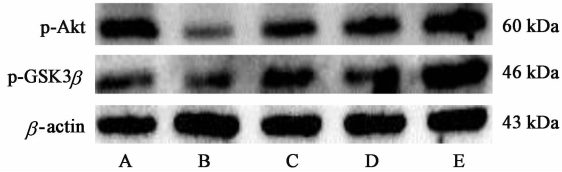


图 2 小鼠肝脏蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of protein strip of liver in mice

表 6 CA 对小鼠肝脏 p-Akt, p-GSK3 β 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 6 Effect of CA on protein expression of CA on p-Akt, p-GSK3 β in mice liver ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	p-Akt/ β -actin	p-GSK3 β / β -actin
正常	-	1.0 \pm 0.08	1.02 \pm 0.10
模型	-	0.47 \pm 0.1 ²⁾	0.54 \pm 0.11 ²⁾
二甲双胍	0.2	0.87 \pm 0.05 ⁴⁾	0.98 \pm 0.07 ⁴⁾
CA	0.025	0.57 \pm 0.08 ³⁾	1.32 \pm 0.12 ³⁾
	0.05	0.78 \pm 0.10 ⁴⁾	1.13 \pm 0.07 ⁴⁾

4 讨论

糖尿病是一种慢性代谢性疾病,以血糖慢性持续性升高并伴有糖、脂肪、蛋白质代谢紊乱为主要表现。目前其发病机制主要认为与能量代谢紊乱、氧化应激、炎症反应、内质网应激、线粒体功能受损等相关^[8-12],其中糖代谢紊乱是贯穿了整个疾病过程,有效控制血糖水平是糖尿病防治的重要环节。肝脏是糖代谢的主要器官,在糖原贮存和糖异生方面发挥重要作用,在多种糖代谢相关酶如 G-6-P,糖原磷酸酶,GSK-3 等作用下发挥对糖代谢的调控。而糖尿病过程中各种致病因素影响糖代谢相关酶的活性或基因表达,导致糖代谢紊乱。因此,调节糖代谢酶异常是治疗糖尿病的一条重要调节。CA 是传统中药肉桂的活性成分,研究表明,CA 具有保护胰岛 β 细胞、促进骨骼肌细胞转运载体-4 (GLUT-4) 转运等,发挥降糖作用^[13-14],但机制研究尚少。本研究以自发性 T2DM db/db 小鼠为模型,通过给予 CA 进行干预发现,CA 能够显著降低小鼠 FBG 水平,同时降低血清 Fins 水平,HOMA-IR,降低体质量和血脂,增加肝糖原含量。

GSK-3 包括 GSK-3 α , GSK-3 β 两个亚型, GSK-3 β

发挥主要作用^[15]。GSK-3 β 是糖原合成的限速酶,同时也是胰岛素信号通路中胰岛素受体底物-1 (IRS-1) 激酶,能够促使 IRS-1 多个氨基酸残基磷酸化,参与胰岛素信号传导的调节^[16]。Akt 是胰岛素信号通路上关键分子,调控下游多个效应靶点,其中 GSK-3 β 是 Akt 下游调控糖原合成的一个重要分支^[14],具体来说,胰岛素激活胰岛素信号通路,导致 Akt 磷酸化,磷酸化的 Akt 致 GSK-3 β 发生磷酸化而失活^[17],从而减少糖原分解。

G-6-P 是肝脏糖代谢过程中 6-磷酸葡萄糖转化为葡萄糖的限速酶,调控糖异生和糖原分解两大肝糖输出途径,在胰岛素抵抗和糖尿病大鼠机体中其活性和基因表达水平显著增加^[18]。研究表明,G-6-P 的基因表达受 GSK-3 调节,选择性抑制 GSK-3 能够降低 G-6-P 的基因表达^[19]。因此,胰岛素信号通路可以通过 Akt 磷酸化失活 GSK-3 β 抑制 G-6-P 的活性和表达,降低肝糖输出。PEPCK 是调节肝脏糖异生另一限速酶,能够催化草酰乙酸 (OAA) 转变成磷酸烯醇型丙酮酸 (PEP),为糖异生重要生化过程^[20]。糖尿病导致 PEPCK 活性和基因表达显著增强,加快肝糖异生、升高血糖,其基因表达也受胰岛素信号通路调节,活化的 Akt 能够下调 PEPCK 基因表达,抑制糖异生^[21-29]。本研究发现 CA 干预 4 周后 db/db 小鼠肝脏 G-6-P, PEPCK mRNA 表达显著降低, Akt, GSK-3 β 磷酸化水平显著升高,提示 CA 通过调节肝组织 Akt, GSK-3 β 磷酸化水平以及 G-6-P, PEPCK mRNA 表达来发挥降糖作用。

总之,CA 作为肉桂的主要活性成分之一,具有明确的降糖、抗肥胖的作用,其可以上调肝脏胰岛素信号通路 Akt, GSK-3 β 磷酸化水平,抑制 G-6-P, PEPCK 基因表达,发挥降低血糖作用,这些为其降糖机制进一步研究提供了实验依据。

[参考文献]

[1] Roberts E, Jones L, Blackman A, et al. The prevalence of diabetes mellitus and abnormal glucose metabolism in the inpatient psychiatric setting: a systematic review and Meta-analysis [J]. Gen Hosp Psychiatry, 2017, doi: 10.1016/j.genhosppsy.2017.01.003.

[2] 谢利芳, 许志华, 郭凯霞. 2 型糖尿病胰岛素抵抗研究进展 [J]. 科学技术与工程, 2010, 10 (15): 3664-3669, 3672.

[3] ZHANG Y Y, LI C, YAO G F, et al. Deletion of macrophage mineralocorticoid receptor protects hepatic steatosis and insulin resistance through ER α /HGF/MET pathway [J]. Diabetes, 2017, 66 (6): 1535-1547.

- [4] Mues C, ZHOU J, Manolopoulos K N, et al. Regulation of glucose-6-phosphatase gene expression by insulin and metformin [J]. *Horm Metab Res*, 2009, 41 (10): 730-732.
- [5] Kumar M, Rawat P, Khan M F, et al. Phenolic glycosides from *dodecadenia grandiflora* and their G-6-P inhibitory activity [J]. *Fitoterapia*, 2010, 81 (6): 475-479.
- [6] MacAulay K, Woodgett J R. Targeting glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) in the treatment of type 2 diabetes [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2008, 12 (10): 1265-1274.
- [7] Hicks J, Wartchow E, Mierau G. Glycogen storage diseases: a brief review and update on clinical features, genetic abnormalities, pathologic features, and treatment [J]. *Ultrastruct Pathol*, 2011, 35 (5): 183-196.
- [8] Lochhead P A, Coghlan M, Rice S Q, et al. Inhibition of GSK-3 selectively reduces glucose-6-phosphatase and phosphoenolpyruvate carboxykinase gene expression [J]. *Diabetes*, 2001, 50 (5): 937-946.
- [9] Jope R S, Yuskaitis C J, Beurel E. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): inflammation, diseases, and therapeutics [J]. *Neurochem Res*, 2007, 32 (4/5): 577-595.
- [10] ZHU R, LIU H, LIU C, et al. Cinnamaldehyde in diabetes: a review of pharmacology, pharmacokinetics and safety [J]. *Pharmacol Res*, 2017, 122: 78-89.
- [11] Khare P, Jagtap S, Jain Y, et al. Cinnamaldehyde supplementation prevents fasting-induced hyperphagia, lipid accumulation, and inflammation in high-fat diet-fed mice [J]. *Biofactors*, 2016, 42 (2): 201-211.
- [12] 张利青, 张占刚, 付岩, 等. 桂皮醛药理作用的研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2015, 40 (23): 4568-4572.
- [13] XIAO Y, WU Q Q, JIANG X H, et al. Cinnamaldehyde attenuates pressure overload-induced cardiac fibrosis *via* inhibition of endothelial mesenchymal transition [J]. *Natl Med J China*, 2017, 97 (11): 869-873.
- [14] ZUO J, ZHAO D, YU N, et al. Cinnamaldehyde ameliorates diet-induced obesity in mice by inducing browning of white adipose tissue [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42 (4): 1514-1525.
- [15] Bouret S, Levin B E, Ozanne S E. Gene-environment interactions controlling energy and glucose homeostasis and the developmental origins of obesity [J]. *Physiol Rev*, 2015, 95 (1): 47-82.
- [16] Marseglia L, Manti S, D'Angelo G, et al. Oxidative stress in obesity: a critical component in human diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 16 (1): 378-400.
- [17] ZHONG P, WU L, QIAN Y, et al. Blockage of ROS and NF- κ B-mediated inflammation by a new chalcone L6H9 protects cardiomyocytes from hyperglycemia-induced injuries [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852 (7): 1230-1241.
- [18] Salvadó L, Palomer X, Barroso E, et al. Targeting endoplasmic reticulum stress in insulin resistance [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2015, 26 (8): 438-448.
- [19] WU J, YAN L J. Streptozotocin-induced type 1 diabetes in rodents as a model for studying mitochondrial mechanisms of diabetic β cell glucotoxicity [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2015, 2 (8): 181-188.
- [20] 王芳, 侯霖芯, 马明杰, 等. 桂皮醛对高脂喂养小鼠糖脂代谢影响的实验研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2015, 15 (35): 6822-6825.
- [21] Hosni A A, Abdel-Moneim A A, Abdel-Reheim E S, et al. Cinnamaldehyde potentially attenuates gestational hyperglycemia in rats through modulation of PPAR γ , proinflammatory cytokines and oxidative stress [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 88: 52-60.
- [22] GAO C, Hölischer C, LIU Y, et al. GSK3: a key target for the development of novel treatments for type 2 diabetes mellitus and Alzheimer disease [J]. *Rev Neurosci*, 2012, 23 (1): 1-11.
- [23] Ghaderi S, Alidadiani N, Dilaver N, et al. Role of glycogen synthase kinase following myocardial infarction and ischemia-reperfusion [J]. *Apoptosis*, 2017, 22 (7): 887-897.
- [24] WANG J, YIN H, HUANG Y, et al. Panax quinquefolius saponin of stem and leaf attenuates intermittent high glucose-induced oxidative stress injury in cultured human umbilical vein endothelial cells *via* PI3K/Akt/GSK-3 β pathway [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, doi: 10. 1155/2013/196283.
- [25] Onuma H, Oeser J K, Nelson B A, et al. Insulin and epidermal growth factor suppress basal glucose-6-phosphatase catalytic subunit gene transcription through overlapping but mechanisms [J]. *Biochem J*, 2008, 417 (2): 611-620.
- [26] Lochhead P A, Coghlan M, Rice S Q, et al. Inhibition of GSK-3 selectively reduces glucose-6-phosphatase and phosphoenolpyruvate carboxykinase gene expression [J]. *Diabetes*, 2001, 50 (5): 937-946.
- [27] McGill-Vargas L, Gastaldelli A, LIANG H, et al. Hepatic insulin resistance and altered gluconeogenic pathway in premature baboons [J]. *Endocrinology*, 2017, doi: 10. 1210/en. 2016-1806.
- [28] 郑琪, 李友山. 四效散对糖尿病足溃疡大鼠创面愈合的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23 (22): 114-118.
- [29] Hall R K, Granner D K. Insulin regulates expression of metabolic genes through divergent signaling pathways [J]. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 1999, 10 (2): 119-133.

[责任编辑 张丰丰]