

# 黄芪葛根配伍调节糖尿病大鼠血糖血脂炎症的作用与机制

刘倩<sup>1,2</sup>, 范颖<sup>1,2\*</sup>, 李新<sup>3</sup>, 刘丽<sup>1,2</sup>, 李军<sup>1,2</sup>, 林庶茹<sup>1</sup>, 訾慧<sup>1,2</sup>

(1. 辽宁中医药大学 基础医学院, 沈阳 110847; 2 辽宁中医药大学 中医脏象理论及应用教育部重点实验室, 沈阳 110847; 3 辽宁中医药大学 信息工程学院, 沈阳 110847)

**[摘要]** **目的:**考察黄芪葛根配伍对糖尿病大鼠血糖、血脂及炎症的调节作用与机制,分析黄芪葛根配伍在降糖降脂抗炎过程中的交互作用。**方法:**66 只大鼠随机分为 6 组,除正常组外,其余各组采用链脲佐菌素(STZ)诱导糖尿病模型。正常组、模型组灌服蒸馏水(10 mL·kg<sup>-1</sup>),阳性药组灌服金芪降糖片混悬液(1.47 g·kg<sup>-1</sup>),黄芪组、葛根组、黄芪葛根汤组分别灌服黄芪水煎液(2.7, 1.35, 4.05 g·kg<sup>-1</sup>),连续给药 30 d 后处死。酶联免疫吸附试验法(ELISA)检测肝组织胰岛素(Ins),胰岛素受体(InsR),肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平;采用实时荧光定量聚合酶链式反应法(Real-time PCR)检测肝组织脂联素受体 1(AdipoR1),腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK),葡萄糖转运体-4(GLUT-4),过氧化物酶增殖体激活受体  $\alpha$ (PPAR $\alpha$ ),脂肪酸转运蛋白 4(FATP4),p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK) mRNA 相对表达量。**结果:**与模型组比较,黄芪、葛根及其配伍(黄芪葛根汤)能升高糖尿病大鼠肝脏 Ins(葛根组除外),InsR 水平,增加 AdipoR1,AMPK(葛根组除外),GLUT-4,PPAR $\alpha$ ,FATP4 mRNA 表达,降低 TNF- $\alpha$ (葛根组除外)水平,减少 p38 MAPK mRNA 表达( $P < 0.05$ )。在调节 InsR,PPAR $\alpha$  mRNA,TNF- $\alpha$  水平时,单用黄芪作用比两药合用效果好。**结论:**黄芪葛根配伍在调节血糖血脂炎症过程中各有侧重,其机制与升高肝脏 Ins 水平、增加 GLUT-4,FATP4 mRNA,降低 p38 MAPK mRNA 有关。

**[关键词]** 黄芪葛根配伍; 降糖; 降脂; 抗炎; 机制

**[中图分类号]** R2-0;R22;R24;R285.5;R277.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)11-0081-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20180941

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180214.2233.035.html>

**[网络出版时间]** 2018-02-23 1:12

## Effect and Mechanism of Astragali Radix-Puerariae Lobatae Radix Compatibility on Glucose-lipid and Inflammatory of Diabetes Rats

LIU Qian<sup>1,2</sup>, FAN Ying<sup>1,2\*</sup>, LI Xin<sup>3</sup>, LIU Li<sup>1,2</sup>, LI Jun<sup>1,2</sup>, LIN Shu-ru<sup>1</sup>, ZI Hui<sup>1,2</sup>

(1. Preclinical School, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Shenyang 110847, China; 2. Key Laboratory of TCM Theory and Applications of Education Ministry, Liaoning University of TCM, Shenyang 110847, China; 3. Information Engineering School, Liaoning University of TCM, Shenyang 110847, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the regulatory effect and mechanism of Astragali Radix-Puerariae Lobatae Radix compatibility on glucose-lipid and inflammation in diabetic rats and analyze their interaction in glucose and lipid lowering and anti-inflammatory process. **Method:** Total 66 rats were randomly divided into 6 groups. Except the normal group, diabetes model was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) in other groups. Distilled water (10 mL·kg<sup>-1</sup>) was given in normal group and model group; Jinqi Jiangtangpian suspension (1.47 g·kg<sup>-1</sup>) was given in positive control group; Astragali Radix (2.7 g·kg<sup>-1</sup>), Puerariae Lobatae Radix (1.35 g·kg<sup>-1</sup>), and Astragali Radix-Puerariae Lobatae Radix decoction (4.05 g·kg<sup>-1</sup>) were given respectively in corresponding treatment groups. After 30 days treatment, the rats were sacrificed. The contents of

**[收稿日期]** 20171022(007)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81273653)

**[第一作者]** 刘倩,在读博士,从事方剂配伍规律及其效应机制研究,Tel:024-31207165,E-mail: zuiaikobe@yeah.net

**[通信作者]** \*范颖,博士,教授、博士生导师,从事方剂配伍规律研究,Tel:024-31207165,E-mail: lzyfy@126.com

insulin (Ins), insulin receptor (InsR) and tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in rats liver tissue were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Real-time PCR was used to detect adiponectin receptors 1 (AdipoR1), AMP-activated protein kinase (AMPK), glucose transporter-4 (GLUT-4), peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) and fatty acid transport protein 4 (FATP4), and p38 mitogen-activated protein kinase (p38 MAPK) mRNA expression in rat liver tissues ( $P < 0.05$ ). **Result:** Astragali Radix, Puerariae Lobatae Radix and their compatibility increased the level of Ins (except Puerariae Lobatae Radix) and InsR, rised AdipoR1, AMPK (except Puerariae Lobatae Radix), GLUT-4, PPAR $\alpha$  and FATP4 mRNA, lowered TNF- $\alpha$  (except Puerariae Lobatae Radix) and p38 MAPK mRNA expression in liver tissues of diabetes rats. In regulating InsR, PPAR $\alpha$  mRNA and TNF- $\alpha$ , Astragali Radix showed better effect than the compatibility of Astragali Radix and Puerariae Lobatae Radix. **Conclusion:** Astragali Radix-Puerariae Lobatae Radix compatibility presented particular emphasis on lowering glucose-lipid and anti-inflammatory, and the mechanism may be associated with increasing the liver Ins, GLUT-4, FATP4 mRNA and lowering p38 MAPK mRNA levels.

[**Key words**] compatibility of Astragali Radix and Puerariae Lobatae Radix; lowering glucose; lowering lipid; anti-inflammation; mechanism

糖尿病作为全球影响人类健康的三大疾病之一,其发病率正逐年增加。国际糖尿病联盟数据显示,中国成年人糖尿病患病率已经超过 9 240 万,约占全国人口的 1/14<sup>[1]</sup>。西医学在调节血糖方面具有较好疗效,但长期治疗会出现费用昂贵、不良反应等问题。因此,寻求有效的治疗糖尿病药物迫在眉睫。

糖尿病属于中医学消渴范畴,早在《神农本草经》就有黄芪、葛根治疗消渴的记载。黄芪、葛根合用治疗消渴首见于《医学衷中参西录》的玉液汤,张锡纯认为“消渴之证,多由于元气不升……方中以黄芪为主,得葛根能升元气。使之阳升而阴应,自有云行雨施之妙也<sup>[2]</sup>。”课题组先期实验证明黄芪葛根配伍能够有效的降低糖尿病大鼠血糖、血脂,减少肝脏内炎症因子白细胞介素-12(IL-12),IL-15 表达水平,改善糖尿病引起的血糖、血脂异常及低度炎症状态,但其作用机制尚未明确<sup>[3]</sup>。腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)信号通路是细胞代谢的重要途径,可介导血糖、血脂的调控,同时又能参与炎症反应。本实验拟通过考察 AMPK 相关信号转导基因的表达与肝脏胰岛素(Ins)水平探究黄芪葛根配伍对糖尿病大鼠血糖、血脂和炎症反应的作用机制及交互作用。

## 1 材料

**1.1 动物** SD 雄性大鼠,SPF 级,体质量(240 ± 20)g,购于辽宁长生生物技术有限公司,合格证号 SCXK(辽)2010-0001,普通饲料喂养。本实验动物开展符合辽宁中医药大学动物伦理委员会标准(编号 21000092013005)。

**1.2 药物** 黄芪(*Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*,产于内蒙古),葛根(*Pueraria lobata*,产于广西)(辽宁贵今生物医药有限公司)分别均由辽宁中医药大学李峰教授鉴定为豆科植物蒙古黄芪的干燥根和豆科植物野葛的干燥根;金芪降糖片(天津中新药业集团股份有限公司隆顺裕制药厂,批号 1112724)。

**1.3 试剂** 链脲佐菌素(STZ,美国 Sigma 公司,批号 40M1357);Ins,胰岛素受体(InsR)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(上海联硕生物技术有限公司,批号均为 201212);肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )ELISA 试剂盒(美国 R&D 公司,批号 201211);PrimeScript<sup>®</sup> RT reagent Kit with gDNA Eraser[宝生物工程(大连)有限公司,批号 DRR047A];Brilliant III Ultra-Fast SYBR<sup>®</sup> Green Realtime PCR Master Mix(德国安捷伦公司,批号 600882);引物合成由生工生物工程(上海)有限公司,序列见表 1。

**1.4 仪器** MR1822 型低温高速离心机(法国 Jouan SA 公司);DY89-2 型电动玻璃匀浆机(宁波新芝生物科技股份有限公司);CK2000 型组织研磨仪(北京托摩根生物科技有限公司);BioSpec-nano 型微量紫外分析系统(日本岛津公司),MyCycler 型梯度 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司);Stratagene Mx3000P 型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪(德国 Agilent Technologie 公司)。

## 2 方法

**2.1 造模与分组** 66 只大鼠随机分为 6 组,分别为正常组、模型组、阳性药组、黄芪组、葛根组、黄芪葛根配伍组(黄芪葛根汤组)每组 11 只。一次性予

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequence

| 基因                                      | 引物序列 5'-3'                | 扩增长度/bp |
|---|---------------------------|---------|
| 脂联素受体 1 (AdipoR1)                       | 上游 GTCAAACGTGACGGCTCTCC   | 78      |
|   | 下游 GATGGACACTTAGGCCTGTCC  |         |
| 腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK)                        | 上游 TGAGAAGCAGAAGCAGCAGC   | 97      |
|   | 下游 TTCTCCAATCTTCACTTTGCCG |         |
| 葡萄糖转运体 4 (GLUT-4)                       | 上游 GCCGGGACACTATACCCTAT   | 104     |
|   | 下游 TTCCCCATCTTCAGAGCCGAT  |         |
| 过氧化物酶增殖体激活受体- $\alpha$ (PPAR $\alpha$ ) | 上游 TCGTGGAGTCCTGGAAGTGA   | 176     |
|   | 下游 CTTCACTCTTGCTCGCCTC    |         |
| 脂肪酸转运蛋白 4 (FATP4)                       | 上游 TGCACAGCAGGTATTACCGA   | 124     |
|   | 下游 TGGCCAATCCCCACAATGTT   |         |
| p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 MAPK)                | 上游 GCACTACAACCAGACAGTGG   | 129     |
|   | 下游 GTCCCCGTCAGACGCATTAT   |         |
| $\beta$ -肌动蛋白 ( $\beta$ -actin)         | 上游 CGCGAGTACAACCTTCTTGC   | 70      |
|   | 下游 CGTCATCCATGGCGAACTGG   |         |

以大鼠腹腔注射 STZ 溶液  $46 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ <sup>[4-6]</sup>, 造模第 7 天尾静脉取血, 测定随机血糖, 大鼠血糖  $\geq 16.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  为造模成功, 剔除未成模的样本。

**2.2 药物制备** 中药材黄芪、葛根、黄芪葛根汤 (黄芪、葛根按 2:1 配伍) 分别加 10, 8, 6 倍水量煎煮 2.5, 2.0, 1.5 h, 浓缩药液至黄芪生药量  $0.27 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 葛根生药量  $0.135 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 黄芪葛根汤生药量  $0.405 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。冷却至常温后  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  冰箱保存, 备用。

**2.3 给药** 造模同日给药, 正常组、模型组给予蒸馏水  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 阳性药组给予金芪降糖片混悬液  $1.47 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 黄芪组、葛根组、黄芪葛根汤组分别给予黄芪水煎液  $2.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 葛根水煎液  $1.35 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 黄芪葛根汤  $4.05 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 造模同日灌胃给药, 各组连续给药 30 d。

**2.4 ELISA 法检测肝组织匀浆中 Ins, InsR, TNF- $\alpha$  的含量** 分别设 1 个空白孔, 6 个标准孔, 其余为待测样品孔。将对照品  $50 \text{ } \mu\text{L}$  或肝脏匀浆上清液  $40 \text{ } \mu\text{L}$  加入已包被抗体的酶标孔中, 每个样品孔加入生物素标记的二抗  $10 \text{ } \mu\text{L}$ 。每孔加入链霉亲和素-HRP  $50 \text{ } \mu\text{L}$ , 混匀, 盖上封板膜, 温育  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ , 60 min。弃去液体后, 每孔加入  $1 \times$  洗涤液  $350 \text{ } \mu\text{L}$ , 静置 30 s 后弃去液体, 反复清洗 5 次。每孔加  $50 \text{ } \mu\text{L}$  的显色剂 A, B 各  $50 \text{ } \mu\text{L}$ , 混匀, 盖上封膜,  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  避光显色, 15 min。每孔加入终止液  $50 \text{ } \mu\text{L}$ , 颜色由蓝变黄时, 反应终止。用  $450 \text{ nm}$  波长测吸光度 A, 通过绘制标准

曲线计算出肝组织匀浆中 Ins, InsR, TNF- $\alpha$  的含量。

**2.5 Real-time PCR 法检测肝组织匀浆中 AdipoR1, AMPK, GLUT-4, PPAR $\alpha$ , FATP4, p38 MAPK mRNA 的表达** 提取总 RNA, 用紫外分光光度计测定 RNA 浓度与纯度。按照逆转录合成 cDNA 试剂盒配制 RT 反应液:  $5 \times$  PrimeScript<sup>®</sup> Buffer  $24 \text{ } \mu\text{L}$ , PrimeScript<sup>®</sup> RT Enzyme Mix  $1 \text{ } \mu\text{L}$ , RT Primer Mix  $1 \text{ } \mu\text{L}$ , RNase Free H<sub>2</sub>O  $4 \text{ } \mu\text{L}$ , 去 DNA 反应液  $10 \text{ } \mu\text{L}$ , 反应条件为  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  5 min,  $42 \text{ }^\circ\text{C}$  1 h,  $85 \text{ }^\circ\text{C}$  5 min。配制 PCR 反应液:  $2 \times$  SYBR GreenRealtime PCR Master Mix  $10 \text{ } \mu\text{L}$ , RNase Free H<sub>2</sub>O  $3.7 \text{ } \mu\text{L}$ , 对照荧光染料  $0.3 \text{ } \mu\text{L}$ , 上游引物  $2 \text{ } \mu\text{L}$ , 下游引物  $2 \text{ } \mu\text{L}$ , RT 反应液  $2 \text{ } \mu\text{L}$ , 反应条件为  $94 \text{ }^\circ\text{C}$  预变性 3 min,  $94 \text{ }^\circ\text{C}$  变性 30 s,  $55 \text{ }^\circ\text{C}$  退火 30 s,  $72 \text{ }^\circ\text{C}$  延伸 30 s, 重复 40 个循环。用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算各组 AdipoR1, AMPK, GLUT-4, PPAR $\alpha$ , FATP4, p38 MAPK mRNA 相对表达量。

**2.6 统计学分析** 采用 SPSS 17.0 统计分析实验数据, 数据以  $\bar{x} \pm s$  形式表示。组间比较采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 加最小显著差数法 (LSD 法); 药物间的交互效应分析采用析因设计方差分析 (Factorial design ANOVA),  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对糖尿病大鼠肝脏 Ins, InsR 水平的影响** 与正常组比较, 模型组肝脏 Ins, InsR 水平明显降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 黄芪组、黄芪葛根汤组大鼠

肝脏Ins水平明显升高( $P < 0.05$ ),黄芪、葛根之间交互作用无统计学意义;与模型组比较,黄芪组、葛根组、黄芪葛根汤组大鼠肝脏 InsR 水平明显升高( $P < 0.05$ ),两药配伍不如单用黄芪效果明显。见表 2。

表 2 黄芪葛根汤对糖尿病大鼠肝脏 Ins,InsR 的影响( $\bar{x} \pm s, n = 11$ )  
Table 2 Effect of Huangqi Gegen decoction on level of Ins, InsR in diabetes rats livers ( $\bar{x} \pm s, n = 11$ )

| 组别    | 剂量/g·kg <sup>-1</sup> | Ins/mU·L <sup>-1</sup>    | InsR/μg·L <sup>-1</sup>    |
|-------|-----------------------|---------------------------|----------------------------|
| 正常    | -                     | 9.84 ± 0.74               | 55.08 ± 2.18               |
| 模型    | -                     | 7.37 ± 1.02 <sup>1)</sup> | 20.65 ± 1.04 <sup>1)</sup> |
| 金芪降糖片 | 1.47                  | 7.73 ± 0.87               | 33.47 ± 2.58 <sup>2)</sup> |
| 黄芪    | 2.70                  | 9.30 ± 0.81 <sup>2)</sup> | 33.85 ± 1.56 <sup>2)</sup> |
| 葛根    | 1.35                  | 7.93 ± 0.84               | 25.47 ± 1.45 <sup>2)</sup> |
| 黄芪葛根汤 | 4.05                  | 9.61 ± 0.85 <sup>2)</sup> | 32.10 ± 2.83 <sup>2)</sup> |

注:与正常组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较<sup>2)</sup> $P < 0.05$ (表 3~5 同)。

表 3 黄芪葛根汤对糖尿病大鼠肝脏 AdipoR1, AMPK, GLUT-4 mRNA 表达水平的影响( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )  
Table 3 Effect of Huangqi Gegen decoction on AdipoR1, AMPK, GLUT-4 mRNA expression in diabetes rats livers( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

| 组别    | 剂量/g·kg <sup>-1</sup> | AdipoR1                     | AMPK                        | GLUT-4                      |
|-------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 正常    | -                     | 1.000 ± 0.119               | 1.013 ± 0.211               | 1.003 ± 0.098               |
| 模型    | -                     | 0.147 ± 0.098 <sup>1)</sup> | 0.340 ± 0.120 <sup>1)</sup> | 0.267 ± 0.134 <sup>1)</sup> |
| 金芪降糖片 | 1.47                  | 0.527 ± 0.081 <sup>2)</sup> | 0.450 ± 0.070               | 0.613 ± 0.230 <sup>2)</sup> |
| 黄芪    | 2.70                  | 0.540 ± 0.095 <sup>2)</sup> | 0.670 ± 0.160 <sup>2)</sup> | 0.570 ± 0.060 <sup>2)</sup> |
| 葛根    | 1.35                  | 0.490 ± 0.161 <sup>2)</sup> | 0.573 ± 0.168               | 0.660 ± 0.138 <sup>2)</sup> |
| 黄芪葛根汤 | 4.05                  | 0.597 ± 0.076 <sup>2)</sup> | 0.647 ± 0.100 <sup>2)</sup> | 0.737 ± 0.025 <sup>2)</sup> |

PPARα mRNA 水平明显升高( $P < 0.05$ ),两药配伍不如单用黄芪效果明显。与模型组比较,黄芪组、黄芪葛根汤组大鼠肝脏 FATP4 mRNA 水平升高( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 4 黄芪葛根汤对糖尿病大鼠肝脏 PPARα, FATP4 mRNA 表达水平的影响( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )  
Table 4 Effect of Huangqi Gegen decoction on PPARα, FATP4 mRNA expression in diabetes rats liver( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

| 组别    | 剂量/g·kg <sup>-1</sup> | PPARα                       | FATP4                       |
|-------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 正常    | -                     | 1.013 ± 0.191               | 1.000 ± 0.601               |
| 模型    | -                     | 0.210 ± 0.105 <sup>1)</sup> | 0.380 ± 0.115 <sup>1)</sup> |
| 金芪降糖片 | 1.47                  | 0.563 ± 0.180 <sup>2)</sup> | 0.450 ± 0.080               |
| 黄芪    | 2.70                  | 0.927 ± 0.118 <sup>2)</sup> | 0.710 ± 0.184 <sup>2)</sup> |
| 葛根    | 1.35                  | 0.620 ± 0.096 <sup>2)</sup> | 0.587 ± 0.242               |
| 黄芪葛根汤 | 4.05                  | 0.760 ± 0.209 <sup>2)</sup> | 0.730 ± 0.183 <sup>2)</sup> |

3.4 对糖尿病大鼠肝脏 p38 MAPK mRNA 表达水平及 TNF-α 含量的影响 与正常组比较,模型组肝脏 p38 MAPK mRNA 表达水平明显升高,模型组肝

脏 TNF-α 含量明显增高( $P < 0.05$ )。与模型组比较,黄芪组、葛根组、黄芪葛根汤组 p38 MAPK mRNA 表达水平明显降低( $P < 0.05$ ),黄芪、葛根之间交互作用无统计学意义。与模型组比较,黄芪组、黄芪葛根汤组 GLUT-4 mRNA 水平明显升高( $P < 0.05$ )。见表 3。

3.3 对糖尿病大鼠肝脏 PPARα, FATP4 mRNA 表达水平的影响 与正常组比较,模型组肝脏 PPARα, FATP4 mRNA 表达水平明显降低( $P < 0.05$ )。与模型组比较,黄芪组、葛根组、黄芪葛根汤组大鼠肝脏

脏 TNF-α 含量明显增高( $P < 0.05$ )。与模型组比较,黄芪组、葛根组、黄芪葛根汤组 p38 MAPK mRNA 表达水平明显降低( $P < 0.05$ ),黄芪、葛根之间交互作用无统计学意义。与模型组比较,黄芪组、黄芪葛根汤组大鼠肝脏 TNF-α 水平明显降低( $P < 0.05$ ),两药配伍不如单用黄芪效果明显。见表 5。

表 5 黄芪葛根汤对糖尿病大鼠肝脏 p38 MAPK mRNA, TNF-α 的影响( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 5 Effect of Huangqi Gegen decoction on p38 MAPK mRNA and TNF-α expression in diabetes rats liver( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | 剂量/g·kg <sup>-1</sup> | p38 MAPK mRNA<br>(n = 3)    | TNF-α (n = 11)<br>/μg·L <sup>-1</sup> |
|-------|-----------------------|-----------------------------|---------------------------------------|
| 正常    | -                     | 1.010 ± 0.199               | 35.90 ± 1.29                          |
| 模型    | -                     | 3.133 ± 0.205 <sup>1)</sup> | 73.70 ± 2.14 <sup>1)</sup>            |
| 金芪降糖片 | 1.47                  | 2.813 ± 0.244 <sup>2)</sup> | 49.31 ± 5.01 <sup>2)</sup>            |
| 黄芪    | 2.70                  | 1.856 ± 0.191 <sup>2)</sup> | 43.97 ± 1.76 <sup>2)</sup>            |
| 葛根    | 1.35                  | 2.766 ± 0.037 <sup>2)</sup> | 50.92 ± 1.77                          |
| 黄芪葛根汤 | 4.05                  | 1.783 ± 0.195 <sup>2)</sup> | 48.31 ± 3.19 <sup>2)</sup>            |

#### 4 讨论

糖尿病是以胰岛素分泌不足或胰岛素抵抗,导致血糖升高、血脂异常的代谢性疾病。肝脏是 Ins 作用的重要靶器官,正常情况下 Ins 与 InsR 特异性结合,激活胰岛素信号通路发挥其生物学作用。当肝脏 Ins 敏感性下降时会导致机体血糖升高,肝脏内脂质合成增加,甘油三酯(TG)含量增多<sup>[7]</sup>。本实验结果显示,黄芪葛根配伍对糖尿病大鼠肝脏 Ins 作用效果优于单用黄芪;黄芪调节 InsR 的效果优于两者合用,说明黄芪与葛根配伍在调节 InsR 时具有拮抗作用。由此推测,黄芪葛根配伍可能通过升高 Ins 水平而改善血糖。

AMPK 被称为“能量感受器”,参与调节细胞代谢,保持机体能量平衡。高糖状态下,AMPK 能被脂联素(APN)与 AdipoR1 的复合体激活,调控下游的 GLUT-4,PPAR $\alpha$ ,脂肪酸转运蛋白(FAT/CD36),p38 MAPK 等相关靶因子,参与调节血糖、血脂和炎症等相关反应<sup>[8-9]</sup>。GLUT-4 是体内葡萄糖跨膜转运的重要因子,AMPK 能够增加 GLUT-4 基因表达促进葡萄糖摄取,从而降低血糖<sup>[10]</sup>。本实验结果显示,在调节 AdipoR1, GLUT-4 mRNA 表达方面,黄芪葛根配伍作用效果优于单一用药,但在调节 AMPK mRNA 表达时,两者配伍不如单一黄芪效果佳,说明黄芪葛根配伍并不能影响 AdipoR1/AMPK 相关转导。由此推断,先期证明的黄芪葛根配伍能够降糖,其机制与两药合用直接作用于肝脏 GLUT-4 有关。

PPAR $\alpha$  能够参与调控胆固醇(CHO)代谢、转运等多个环节,促进肝脏的脂肪代谢,改善胰岛素抵抗<sup>[11-12]</sup>。FATP4 是肝脏内的跨膜转运蛋白,FAT/CD36 能把长链脂肪酸传递给 FATP4 转运至细胞内,参与 TG,CHO 的合成或其他代谢<sup>[13-14]</sup>。本实验结果显示,调节 PPAR $\alpha$  mRNA 的表达时,黄芪与葛根配伍具有拮抗作用,不如单用黄芪效果佳;调节 FATP4 mRNA 的表达时,黄芪葛根配伍效果优于单一黄芪。由此推断,先期实验证实的黄芪葛根配伍降低 CHO 效果优于单一用药,其机制可能与两药合用调控 FATP4 mRNA 有关;黄芪降低 TG 效果优于两药合用,其机制与黄芪促进 PPAR $\alpha$  mRNA 的表达有关。

肝脏作为重要的代谢器官,常受到炎症反应的损害<sup>[15]</sup>。p38 MAPK 作为正常免疫与炎症反应的重要因子,能被 AMPK 磷酸化激活,与炎症因子 IL-12, IL-15 分泌密切相关<sup>[16-17]</sup>。同时活化的 p38 MAPK 能够促进 TNF- $\alpha$  表达,加重机体炎症<sup>[18]</sup>。本实验结

果显示,在降低 p38 MAPK mRNA 表达方面,黄芪葛根配伍优于单一用药;调节 TNF- $\alpha$  水平时,两者配伍具有拮抗作用,不如单用黄芪好。由此推测,先期实验证实的黄芪葛根配伍降低 IL-15 优于单一用药,可能与其降低 p38 MAPK mRNA 表达有关。

综上所述,黄芪葛根配伍的降糖机制可能与其增加肝脏 Ins 水平, GLUT-4 mRNA 表达,促进 Ins 信号转导有关。在调节血脂方面,其机制可能与促进肝脏 FATP4 mRNA 表达,改善脂质代谢,调节 CHO 有关。黄芪葛根配伍对糖尿病大鼠抗炎的机制可能与其抑制肝脏 p38 MAPK mRNA, IL-15 表达有关。本研究发现,在调节不同靶点时,黄芪、葛根及配伍发挥作用的效用不同,说明中药在治疗疾病时具有选择性发挥效应的特点。中药治疗疾病具多成分、多靶点、多机制的特点,因此,仍需进一步的实验来明确黄芪葛根配伍治疗糖尿病的机制,为临床的新药研发提供理论依据与实验基础。

#### [参考文献]

- [1] 廖涌. 中国糖尿病的流行病学现状及展望[J]. 重庆医科大学学报, 2015, 40(7): 1042-1045.
- [2] 张锡纯. 医学衷中参西录[M]. 北京: 中医古籍出版社, 2016: 83.
- [3] 刘焯, 李艳敏, 郝明芬, 等. 基于析因设计考察黄芪葛根汤配伍对糖尿病大鼠肝组织 IL-12, IL-15 的影响及其交互关系[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(6): 144-148.
- [4] 郭学军, 邹移海, 吴凌, 等. 链脲佐菌素诱导 SD 和 Wistar 大鼠糖尿病模型的影响因素[J]. 中国实验动物学报, 2008, 16(4): 301-304.
- [5] 杨金晶, 杨秋萍. 链脲佐菌素诱导糖尿病动物模型的体会[J]. 昆明医学院学报, 2008, 29(2B): 164-166.
- [6] 李楠, 孙云峰, 范颖, 等. 两种实验性糖尿病模型血糖血脂的比较研究[J]. 辽宁中医杂志, 2011, 38(6): 1220-1222.
- [7] 何百川, 薛超, 韩一益, 等. 佩兰对 2 型糖尿病合并脂代谢紊乱大鼠肝脏 DGAT2 表达的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2017, 44(3): 607-610.
- [8] Lim C T, Kola B, Korbonits M. AMPK as a mediator of hormonal signaling [J]. Endocrinol, 2010, 44(2): 87-97.
- [9] GU W Q, LI X Y, LIU C Q, et al. Globular adiponectin augments insulin secretion from pancreatic islet beta cells at high glucose concentrations [J]. Endocrine, 2006, 30(2): 217-221.
- [10] McGee S L, Hargreaves M. Exercise and skeletal muscle

- glucose transporter 4 expression; molecular mechanisms [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2006, 33 (4): 395-399.
- [11] LI F, Patterson A D, Krausz K W. Metabolomics reveals an essential role for peroxisome proliferator-activated receptor in bile acid homeostasis [J]. J Lipid Res, 2012, 53 (8): 1625-1635.
- [12] GUAN Y, Breyer M D. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): novel therapeutic targets in renal disease [J]. Kidney Int, 2001, 60 (1): 14-30.
- [13] Jordy A B, Kraakman M J, Gardner T, et al. Analysis of the liver lipidome reveals insights into the protective effect of exercise on high-fat diet-induced hepatosteatosis in mice [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2015, 308 (9): E778-E791.
- [14] Stal A. A current review of fatty acid transport proteins (SLC27) [J]. Pflugers Arch, 2004, 447 (5): 722-727.
- [15] 王沛明, 陈文, 张祎, 等. 基于 p38 MAPK 通路初探大黄黄芩配伍对内毒素血症模型大鼠肝脏炎症的调节机制 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41 (18): 3425-3431.
- [16] 刘晓冬, 刘树铮, 马淑梅, 等. 低剂量 X 射线照射对 J774A.1 细胞 IL-12 和 p38MAPK 表达的影响 [J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2002, 20 (4): 271-274.
- [17] 张鑫, 周振华, 李曼, 等. 重组 HBcAg 激活 p38 MAPK 信号通路增加髓源性树突状细胞 IL-15 的分泌 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2017, 33 (3): 289-294.
- [18] 吕翠岩, 张胜容, 赵文景, 等. 糖痹康对高糖环境下大鼠雪旺细胞 p38 MAPK、TNF- $\alpha$  及 VCAM-1 表达的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2016, 31 (2): 396-400.
- [责任编辑 全燕]