

平胃散对糖脂代谢紊乱小鼠血脂血糖和 HNF-1 β 表达的影响

林小凤¹, 廖凌虹^{1,2,3}, 陈继承⁴, 许珈齐⁵, 邵岩飞¹, 高碧珍^{1,2,3*}

(1. 福建中医药大学, 福州 350122; 2. 福建省中医健康状态辨识重点实验室, 福州 350122;
3. 中医证研究福建省高校重点实验室, 福州 350122; 4. 泉州市中医院, 福建泉州 362000;
5. 福建中医药大学附属第三人民医院, 福州 350122)

[摘要] 目的:观察平胃散对高脂饮食诱导的糖脂代谢紊乱小鼠血脂、血糖和肝细胞核因子-1 β (hepatocyte nuclear factor-1 β , HNF-1 β /TCF2)表达的影响,探讨平胃散调节糖脂代谢可能存在的分子机制。方法:40只SPF级C57BL/6J成年雄性小鼠随机分为正常组($n=8$)和造模组($n=32$),分别以普通饲料和高脂饲料喂养10周。第11周起,将造模组随机分为模型组,平胃散组($6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$),二甲双胍组($300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)和辛伐他汀组($2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$),每组8只。正常组及模型组只给予相同体积蒸馏水,即各组灌胃 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,通过药物干预4周。喂养期间对体质量、腹围、血脂、血糖和胰岛素进行连续监测。干预结束后取肝脏和肾脏组织检测HNF-1 β 的mRNA和蛋白表达。结果:第10周末,与正常组比较,造模组体质量,腹围,胆固醇(TC),甘油三酯(TG),低密度脂蛋白(LDL-C),高密度脂蛋白(HDL-C)和空腹血糖(FPG)均明显升高($P<0.05$),空腹胰岛素(FINS)明显降低($P<0.05$)。用药4周后,与正常组比较,模型组体质量、腹围、血脂和口服葡萄糖耐量试验(OGTT)4个时间段血糖均显著升高($P<0.01$),FINS,HNF-1 β 的mRNA和蛋白相对表达量均降低($P<0.05$)。与模型组比较,平胃散组体质量,腹围,TC,TG和OGTT 4个时间段血糖均降低($P<0.05$),FINS,HNF-1 β 的mRNA和蛋白相对表达量均升高($P<0.05$),二甲双胍组体质量,腹围,TC,TG,LDL-C,OGTT 4个时间段血糖均降低($P<0.05$),FINS,HNF-1 β 的mRNA和蛋白相对表达量均升高($P<0.05$),辛伐他汀组体质量、腹围、血脂均显著降低($P<0.01$),FINS,HNF-1 β 的mRNA和蛋白相对表达量均升高($P<0.05$)。结论:高脂饮食喂养10周即可建立良好的糖脂代谢紊乱小鼠模型,平胃散可能通过调节HNF-1 β 的表达来调节血脂和血糖水平。

[关键词] 平胃散; 血脂; 血糖; 肝细胞核因子-1 β (HNF-1 β); C57BL/6J小鼠

[中图分类号] R22;R24;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)16-0103-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181623

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180523.1533.013.html>

[网络出版时间] 2018-05-24 10:27

Effect of Pingweisan on Blood Lipid, Blood Glucose and HNF-1 β Expression in Mice with Glycolipid Metabolism Disorder

LIN Xiao-feng¹, LIAO Ling-hong^{1,2,3}, CHEN Ji-cheng⁴, XU Jia-qi⁵, SHAO Yan-fei¹, GAO Bi-zhen^{1,2,3*}

(1. Fujian University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Fuzhou 350122, China;

2. Fujian Key Laboratory of TCM Health State, Fuzhou 350122, China;

3. Key Laboratory of TCM Syndrome Research, Fujian Province University, Fuzhou 350122, China;

4. Quanzhou Hospital of TCM, Quanzhou 362000, China;

5. The Third People's Hospital of Fujian University of TCM, Fuzhou 350122, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Pingweisan on blood lipid, blood glucose and hepatocyte

[收稿日期] 20180225(007)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81273666);福建省中医药科研计划项目(wztn201309)

[第一作者] 林小凤,在读硕士,从事内分泌与代谢性疾病临床与基础研究,E-mail:284712038@qq.com

[通信作者] *高碧珍,硕士,教授,从事痰证相关疾病的生物学基础研究,Tel:0591-22861513,E-mail:gbz688@163.com

nuclear factor-1 β (HNF-1 β /TCF2) expression in mice with glycolipid metabolism disorder induced by high-fat diet, in order to explore the possible molecular mechanism of Pingweisan in regulating glucose and lipid metabolism in mice. **Method:** A total of 40 specific pathogen free (SPF) C57BL/6J adult male mice were randomly divided into normal group ($n=8$) and model group ($n=32$), which were respectively fed with normal diet and high-fat diet for 10 weeks. Since the 11th week, the model group was randomly divided into model group ($n=8$), Pingweisan group ($n=8$), metformin group ($n=8$) and simvastatin group ($n=8$). The Pingweisan group was given Pingweisan 6 000 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹, the metformin group was given metformin 300 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹, the simvastatin group was given simvastatin 2 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹, and the normal group and model group were given the same volume of distilled water only; that is to say, each group was given by gavage 10 mL \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹ for 4 weeks. During feeding, body weight, abdominal circumference, blood lipids, blood glucose and insulin were continuously monitored. After the intervention, liver and kidney tissues were taken to detect the mRNA and protein expression of HNF-1 β . **Result:** At the end of the 10th week, compared with the normal group, the weight, abdominal circumference, total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and fasting plasma glucose (FPG) of the model group increased ($P<0.05$), while fasting insulin (FINS) decreased ($P<0.05$). After 4 weeks of treatment, compared with the normal group, the body weight, abdominal circumference, blood lipid and 4 hours of blood glucose of oral glucose tolerance test (OGTT) of the model group were significantly increased ($P<0.01$). Relative mRNA and protein expressions of FINS and HNF-1 β were decreased ($P<0.05$). Compared with the model group, the weight, abdominal circumference, TC, TG, and OGTT 4 hours of blood glucose of the Pingweisan group were all decreased ($P<0.05$), whereas the relative mRNA and protein expressions of FINS and HNF-1 β were all increased ($P<0.05$). The body weight, abdominal circumference, TC, TG, LDL-C, OGTT 4 hours of blood glucose of the metformin group were all decreased ($P<0.05$), and the relative mRNA and protein expressions of FINS and HNF-1 β were all increased ($P<0.05$). The body weight, abdominal circumference and the blood lipid of the simvastatin group were significantly decreased ($P<0.01$), and the relative mRNA and protein expressions of FINS and HNF-1 β were increased ($P<0.05$). **Conclusion:** After 10 weeks of high-fat diet, a mouse model of glycolipid metabolism disorder can be established. Pingweisan can regulate the blood lipid and blood glucose levels by regulating the expression of HNF-1 β .

[**Key words**] Pingweisan; blood lipid; blood glucose; hepatocyte nuclear factor-1 β (HNF-1 β); C57BL/6J mice

随着生活水平的提高,高脂肪、高热量食物摄入增多,以肥胖、高血脂、高血糖为主要表现的糖脂代谢紊乱的发病率逐年升高^[1-3],严重威胁广大民众的健康。如何发挥中医药在代谢紊乱疾病治疗中的特色与优势,成为关注的焦点。平胃散出自宋代《太平惠民和剂局方》,由苍术、厚朴、陈皮、甘草加生姜和大枣组成,为中医祛湿的经典方,具有燥湿运脾,行气和胃之功效。研究发现平胃散可不同程度地降低糖脂代谢紊乱人群及小鼠模型的血脂和血糖,但机制不明^[4-8]。肝细胞核因子-1 β (hepatocyte nuclear factor-1 β , HNF-1 β /TCF2)是一种在胰岛 β 细胞、肝脏和肾脏等组织表达的转录因子,控制着胚胎时期胰腺的特化、生长和分化,与2型糖尿病和青少年起病的成年型糖尿病-5 (maturity onset diabetes of

the young5, MODY5)的产生密切相关,对调节血脂、血糖水平起着重要的作用^[9-13]。本研究拟通过观察平胃散对糖脂代谢紊乱小鼠糖脂水平及HNF-1 β 表达变化的影响,从而对平胃散调节糖脂代谢紊乱的效果及其作用机制进行探讨,为平胃散的临床应用提供依据。

1 材料

1.1 动物 40只SPF级C57BL/6J成年雄性小鼠,体质量(20 \pm 2)g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,合格证号SCXK(沪)2012-0002。本实验已获得福建中医药大学实验动物伦理委员会批准(编号3501020096434)。动物饲养于福建中医药大学实验动物中心SPF级屏障系统,许可证号SYXK(闽)2009-0001,温度(24 \pm 2) $^{\circ}$ C,相对湿度(55 \pm

10)% , 12 h 的明暗周期(光照时间为每日 8:00 至 20:00) , 自由摄食饮水。

1.2 动物饲料 普通饲料(上海斯莱克实验动物有限公司): 5% 的脂肪, 5% 的蛋白质, 23% 的碳水化合物, 总热值 $25 \text{ kJ} \cdot \text{kg}^{-1}$; 高脂饲料(D12492, Research Diet): 34.9% 的脂肪, 34.9% 的蛋白质, 26.2% 的碳水化合物, 总热值 $21\,924 \text{ kJ} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

1.3 药物及试剂 平胃散由苍术 12 g, 厚朴 9 g, 陈皮 6 g, 炙甘草 3 g 组成, 中药饮片购自福建中医药大学国医堂, 均经由福建中医药大学药学院杨成梓教授鉴定, 符合 2015 年版《中国药典》鉴定规范; 二甲双胍(中美上海施贵宝制药有限公司, 国药准字 H20023370); 辛伐他汀(广州南新制药有限公司, 国药准字 H20010750); 总胆固醇(TC), 甘油三酯(TG), 高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C), 低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所, 批号分别为 20160412, 20160415, 20160415, 20160415); 空腹胰岛素(FINS)测试盒(上海西唐生物科技有限公司, 批号 201605112); cDNA 逆转录试剂盒, 实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)试剂盒(日本 TaKaRa 公司, 批号分别为 AK8606, AK5601), 辣根过氧化物酶标记山羊抗兔免疫球蛋白(Ig)G(H+L); 辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG(H+L)(上海碧云天生物技术公司, 批号分别为 120104, 116816); β -肌动蛋白(β -actin)抗体(美国 Sigma-Aldrich 公司, 批号 065M837V); HNF-1 β 抗体(英国 Abcam 公司, 批号 GR193624-1)。

1.4 仪器 Mastercycle 型 Real-time PCR 仪(德国 Eppendorf 公司); NanoDrop 2000 型超微量紫外分光光度计(美国 Thermo 公司); Trans-Blot SD 型半干转印槽, PowerPac 型垂直电泳系统, ChemiDoc XRS + 型化学发光成像系统(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 药物制备 平胃散水煎 2 次, 每次 30 min, 过滤后浓缩至含生药量 $600 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 分装成瓶, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存备用。临用前, 用 0.9% 生理盐水将研磨后的二甲双胍和辛伐他汀配成质量浓度分别为 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 和 $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 溶液。

2.2 动物模型的建立 适应性喂养 1 周后, 按体质量随机分为 2 组, 分别为正常组 8 只, 以普通饲料喂养, 造模组 32 只, 以高脂饲料喂养, 连续喂养 10 周。实验期间每隔 2 周测量各组小鼠的体质量和腹围, 并于第 4 周, 第 10 周末, 禁食不禁水 12 h 后眼眶静

脉丛采血 0.3 mL , 分离血清, 测血脂(TC, TG, LDL-C, HDL-C)和空腹胰岛素(FINS), 尾静脉取血 0.1 mL 测空腹血糖(FPG)。操作过程按说明书进行。造模成功标准: 造模组体质量、腹围、空腹血糖、血脂与正常组比较, 差异有统计学意义即表明糖脂代谢紊乱模型造模成功^[14-16]。

2.3 实验动物分组、给药 将造模成功的 32 只小鼠按体质量随机分为模型组、平胃散组、二甲双胍组和辛伐他汀组。按照人与动物剂量换算常规算法即小鼠给药剂量为人的 12 倍计算用药量, 具体给药剂量如下, 平胃散组给予平胃散 $6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 二甲双胍组给予二甲双胍 $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 辛伐他汀组给予辛伐他汀 $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 正常组及模型组只给予相同体积蒸馏水, 即各组灌胃 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 分别干预 4 周。干预期间正常组普通饲料喂养, 其余各组高脂饲料喂养。

2.4 取材 给药 4 周后, 禁食不禁水 12 h 后称体质量, 测量腹围, 进行口服葡萄糖耐量试验(OGTT): 测空腹血糖后, 腹腔注射葡萄糖水溶液 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 于负荷后 30, 60, 120 min 测尾静脉血葡萄糖。摘眼球取血约 1 mL , 分离血清, 分装保存于 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱, 用于检测血脂(TC, TG, LDL-C, HDL-C)和空腹胰岛素(FINS)。操作过程按说明书进行。摘眼球取血后, 颈椎脱臼处死, 取对应同部位肾脏组织和肝脏组织大小约 $0.5 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$, $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冻存, 用于 HNF-1 β 的 mRNA 和蛋白相对表达量检测。

2.5 Real-time PCR 测定 HNF-1 β 的 mRNA 表达水平 HNF-1 β , β -actin 基因引物序列见表 1。取同一个 cDNA 为模板进行 HNF-1 β , β -actin 的 PCR 反应。反应体系为 cDNA $2 \text{ } \mu\text{L}$, 引物 $0.5 \text{ } \mu\text{L}$, $2 \times \text{SYBR Green PCR Master Mix}$ 试剂 $12.5 \text{ } \mu\text{L}$, 加超纯水至终体积为 $25 \text{ } \mu\text{L}$ 。反应参数为 $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 30 s, 40 个循环($95 \text{ }^\circ\text{C}$ 5 s, $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 60 s, $72 \text{ }^\circ\text{C}$ 30 s), Melt Curve。得出各反应的扩增曲线和 C_t 值。采用相对定量公式 $F = 2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算各组样本的 mRNA 相对表达量。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequence

引物名称	引物序列	长度/bp
HNF-1 β	上游 5'-TGGTACGTGAGAAAGCAACG-3'	20
	下游 5'-GGTCGTAGGCCTGGTACAAA-3'	
β -actin	上游 5'-GGCTGTATTCCCCTCCATCG-3'	200
	下游 5'-CCAGTTGCTAACAATGCCATGT-3'	

2.6 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 测定 HNF-1 β 蛋白表达水平 用加有 PMSF 酶的 RIPA 裂解液提取组织蛋白, BCA 法检测蛋白浓度。取待测蛋白, 每孔上样 40 μ g, 采用 10% SDS-PAGE 胶进行电泳。电泳后将蛋白转印到 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h, 再用一抗 (HNF-1 β , 1:800; β -actin, 1:2 000) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, TBST 洗膜, 二抗 (抗兔, 1:4 000; 抗鼠, 1:5 000) 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h, TBST 洗膜, ECL 显色, 扫描 PVDF 膜并采用 Image J 软件对其进行灰度值测定, 对比各组间蛋白表达的差异。

表 2 高脂饮食喂养对小鼠体质量、腹围的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of high-fat diet on body weight and abdominal circumference in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	体质量/g					
		0 周	2 周	4 周	6 周	8 周	10 周
正常	8	18.65 \pm 0.90	21.62 \pm 1.13	25.05 \pm 1.26	26.68 \pm 1.01	28.21 \pm 1.17	29.41 \pm 1.26
造模	32	18.65 \pm 0.90	24.85 \pm 1.35 ²⁾	29.53 \pm 2.40 ²⁾	34.12 \pm 3.04 ²⁾	38.39 \pm 3.98 ²⁾	42.01 \pm 4.61 ²⁾
组别	n	腹围/cm					
		0 周	2 周	4 周	6 周	8 周	10 周
正常	8	6.66 \pm 0.30	6.78 \pm 0.34	6.97 \pm 0.33	7.40 \pm 0.21	7.80 \pm 0.34	7.77 \pm 0.34
造模	32	6.66 \pm 0.30	7.20 \pm 0.33 ²⁾	8.09 \pm 0.38 ²⁾	8.60 \pm 0.41 ²⁾	9.30 \pm 0.39 ²⁾	9.41 \pm 0.60 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 3 同)。

表 3 高脂喂养 4,10 周后对小鼠理化指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of high fat diet on physical and chemical indexes of mice after 4 and 10 weeks' feeding ($\bar{x} \pm s$)

喂养周数	n	组别	TC / $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	TG / $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	LDL-C / $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	HDL-C / $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	FPG / $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	FINS / $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
4 周	8	正常	2.22 \pm 0.14	1.55 \pm 0.39	2.36 \pm 0.18	1.19 \pm 0.04	6.30 \pm 1.15	6.01 \pm 0.16
	32	造模	2.36 \pm 0.29	1.74 \pm 0.30	3.27 \pm 0.20 ¹⁾	1.53 \pm 0.38	7.31 \pm 1.57	6.00 \pm 0.65
10 周	8	正常	2.31 \pm 0.50	1.55 \pm 0.45	3.20 \pm 0.63	1.63 \pm 0.24	6.58 \pm 1.04	7.09 \pm 0.52
	32	造模	3.14 \pm 0.55 ¹⁾	1.74 \pm 0.58	4.51 \pm 0.56 ¹⁾	3.00 \pm 0.62 ¹⁾	9.66 \pm 1.53 ¹⁾	6.40 \pm 0.57 ¹⁾

3.2 对糖脂代谢紊乱小鼠理化指标, OGTT 的影响

给药 4 周后, 模型组体质量、腹围、血脂均高于正常组, FINS 低于正常组 ($P < 0.01$); 平胃散组体质量、腹围, TC, TG 均低于模型组, FINS 高于模型组 ($P < 0.05$); 二甲双胍组体质量、腹围, TC, TG, LDL-C 均低于模型组, FINS 高于模型组 ($P < 0.05$); 辛伐他汀组体质量、腹围、血脂均低于模型组, FINS 高于模型组 ($P < 0.01$); 辛伐他汀组 LDL-C 显著低于二甲双胍组 ($P < 0.01$), HDL-C 低于平胃散组 ($P < 0.05$)。见表 4。给药 4 周后, 模型组 4 个时间段血糖均高于正常组 ($P < 0.01$); 平胃散组、二甲双胍组 4 个时间段血糖均低于模型组 ($P < 0.05$); 辛伐他

2.7 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件对数据进行处理, 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计量资料两组间比较采用独立样本 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 小鼠糖脂代谢紊乱模型 与正常组比较, 造模组体质量、腹围于第 2 周开始显著增加 ($P < 0.01$)。第 4 周末, 造模组 LDL-C 高于正常组 ($P < 0.05$)。第 10 周末, 造模组 TC, LDL-C, HDL-C 和 FPG 均高于正常组, FINS 低于正常组 ($P < 0.05$)。见表 2, 3。

汀组 30 min 血糖, 60 min 血糖, 120 min 血糖均低于模型组 ($P < 0.05$)。见表 5。

3.3 对糖脂代谢紊乱小鼠 HNF-1 β mRNA 和蛋白相当表达量的影响 在肝脏和肾脏组织中, 模型组与各治疗组 HNF-1 β mRNA 和蛋白相对表达量均低于正常组 ($P < 0.05$); 各治疗组 HNF-1 β mRNA 和蛋白相对表达量均高于模型组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 平胃散组 HNF-1 β mRNA 和蛋白相对表达量均低于辛伐他汀组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 二甲双胍组 HNF-1 β 的蛋白相对表达量低于辛伐他汀组 ($P < 0.05$)。见图 1, 表 6。

表 4 平胃散对糖脂代谢紊乱小鼠理化指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 4 Effect of Pingweisan on physical and chemical indexes in mice with glycolipid metabolism disorder ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	体质量 /g	腹围 /cm	TC /mmol·L ⁻¹	TG /mmol·L ⁻¹	LDL-C /mmol·L ⁻¹	HDL-C /mmol·L ⁻¹	FINS /μg·L ⁻¹
正常	-	28.94 ± 1.07	7.77 ± 0.17	2.64 ± 0.27	0.91 ± 0.10	1.80 ± 0.21	1.10 ± 0.28	6.92 ± 0.47
模型	-	48.31 ± 3.13 ²⁾	10.13 ± 0.47 ²⁾	4.66 ± 0.47 ²⁾	1.64 ± 0.30 ²⁾	3.38 ± 0.20 ²⁾	3.10 ± 0.67 ²⁾	5.64 ± 0.17 ²⁾
平胃散	6 000	45.83 ± 3.61 ⁴⁾	9.77 ± 0.62 ⁴⁾	4.10 ± 0.32 ⁴⁾	1.37 ± 0.11 ⁴⁾	3.08 ± 0.11 ²⁾	2.88 ± 0.17 ⁵⁾	5.87 ± 0.42 ³⁾
二甲双胍	300	44.83 ± 3.50 ³⁾	9.69 ± 0.66 ³⁾	4.10 ± 0.36 ⁴⁾	1.13 ± 0.18 ⁴⁾	3.12 ± 0.42 ^{3,6)}	2.84 ± 0.55	6.65 ± 0.44 ⁴⁾
辛伐他汀	2	42.93 ± 3.16 ⁴⁾	9.28 ± 0.40 ⁴⁾	3.70 ± 0.49 ⁴⁾	1.06 ± 0.06 ⁴⁾	2.66 ± 0.24 ⁴⁾	2.28 ± 0.75 ⁴⁾	6.28 ± 0.35 ⁴⁾

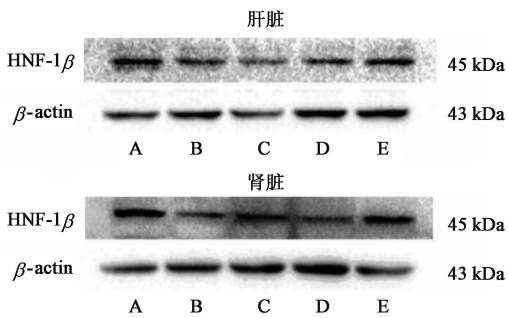
注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$;与辛伐他汀组比较⁵⁾ $P < 0.05$, ⁶⁾ $P < 0.01$ (表 5, 6 同)。

表 5 平胃散对糖脂代谢紊乱小鼠 OGTT 血糖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 5 Effect of Pingweisan on of blood glucose OGTT in mice with glycolipid metabolism disorder ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

mmol·L⁻¹

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	0 min	30 min	60 min	120 min
正常	-	6.73 ± 1.22	17.82 ± 2.58	13.06 ± 2.51	10.58 ± 2.94
模型	-	9.30 ± 0.97 ²⁾	29.86 ± 3.55 ²⁾	23.98 ± 2.04 ²⁾	17.34 ± 1.02 ²⁾
平胃散	6 000	8.42 ± 1.26 ³⁾	26.22 ± 2.84 ⁴⁾	20.46 ± 2.18 ⁴⁾	15.50 ± 2.08 ⁴⁾
二甲双胍	300	7.37 ± 1.76 ⁴⁾	24.74 ± 2.80 ³⁾	19.34 ± 2.35 ⁴⁾	11.38 ± 1.58 ⁴⁾
辛伐他汀	2	8.72 ± 2.48	24.32 ± 3.85 ⁴⁾	18.28 ± 3.57 ⁴⁾	12.14 ± 0.91 ⁴⁾



A. 正常组; B. 模型组; C. 平胃散组; D. 二甲双胍组; E. 辛伐他汀组

图 1 各组小鼠肝脏和肾脏组织中 HNF-1β 蛋白表达

Fig. 1 Expression of HNF-1β protein in liver and kidney tissues of mice in each group

表 6 平胃散对糖脂代谢紊乱小鼠肝脏和肾脏中 HNF-1β mRNA 和蛋白相当表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 6 Effect of Pingweisan on expression of HNF-1β mRNA and protein in mice with glycolipid metabolism disorder ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	肝		肾	
		HNF-1β mRNA	HNF-1β/β-actin 蛋白	HNF-1β mRNA	HNF-1β/β-actin 蛋白
正常	-	1.05 ± 0.37	0.29 ± 0.02	1.00 ± 0.05	0.46 ± 0.02
模型	-	0.59 ± 0.06 ¹⁾	0.20 ± 0.04 ²⁾	0.72 ± 0.20 ¹⁾	0.33 ± 0.05 ¹⁾
平胃散	6 000	0.78 ± 0.05 ^{3,5)}	0.25 ± 0.08 ^{4,5)}	0.88 ± 0.38 ^{3,5)}	0.38 ± 0.07 ^{3,5)}
二甲双胍	300	1.03 ± 0.37 ³⁾	0.22 ± 0.06 ^{3,5)}	0.94 ± 0.38 ³⁾	0.37 ± 0.06 ^{3,5)}
辛伐他汀	2	0.94 ± 0.34 ³⁾	0.25 ± 0.02 ³⁾	0.90 ± 0.06 ³⁾	0.39 ± 0.08 ³⁾

4 讨论

本研究通过高脂饲料喂养 C57BL/6J 小鼠发现,高脂喂养后小鼠肥胖指标出现较早(2 周),且表现为腹型肥胖。随着高脂饲料摄入时间的不断延长,体质量、腹围逐渐增加并相继出现高血脂、高血糖,这与其他学者研究结果一致^[14-17],说明高脂饮食喂养 10 周可较为成功地复制出良好的糖脂代谢紊乱小鼠模型。值得一提的是 C57BL/6J 在高脂喂养 10 周后血脂四项 TC, TG, LDL-C, HDL-C 均升高,与人类的高脂血症 TC, TG, LDL-C 升高, HDL-C 降低的特征不符。这可能是由于高脂饮食导致大鼠短

期内代偿性升高 HDL, 促进胆固醇的逆向转运。高脂饮食容易导致糖脂代谢紊乱, 从而引起肥胖、高脂

血症、糖尿病等疾病的发生。从中医角度看, 高脂饮食易导致脾失健运, 脾不能为胃行其津液, 脾不散

精,物不归正,化则为痰、为湿、为浊、为脂,痰湿内蕴是其核心病机之一^[18-19],运脾化湿是其主要治法。平胃散具有燥湿运脾,行气和胃之功效,能有效降低血脂、血糖。近年来相关研究也证实了这一点。高静静^[4]通过研究表明,平胃散不仅能有效干预痰湿体质人群血脂异常前的中医证候,而且能显著降低血脂各项理化指标。刘俊等^[6]研究发现平胃散合葛根汤加减可降低代谢综合征患者的体质量、腹围、血压、血糖及糖化血红蛋白。陈芳等^[7]研究发现平胃散可能影响湿阻中焦证大鼠糖酵解途径中血清葡萄糖含量。本研究发现,平胃散治疗后,小鼠体质量、腹围及OGTT 4个时间段血糖,TC, TG均低于模型组, FINS 高于模型组, 差异有统计学意义,提示平胃散可减轻糖脂代谢紊乱小鼠的肥胖,改善糖脂代谢紊乱小鼠血脂、血糖、胰岛素水平。进一步为平胃散的临床应用提供可靠的实验依据。

HNF-1 β 位于第17号染色体长臂(17q21.3)含9个外显子,所编码蛋白由557个氨基酸构成,包含3个功能区。在胰岛 β 细胞、肝脏、肾脏等组织均有表达。其靶基因主要有左旋丙酮酸激酶(L-pyruvate kinase, PKL),葡萄糖转运蛋白-2(glucose transporter-2, GLUT-2)及胰岛素基因。研究证实^[9-13], HNF-1 β 通过调节以上基因的表达,在调节 β 细胞分泌、维持正常血糖和血脂水平中起重要作用。本研究中模型组 HNF-1 β 的 mRNA 和蛋白相对表达量均低于正常组,而经平胃散干预后, HNF-1 β 的 mRNA 和蛋白相对表达量均较模型组升高,推测平胃散可能通过促进 HNF-1 β 的表达而影响 PKL, GLUT-2 及胰岛素的功能,抑制肝糖异生和脂肪分解氧化,促进葡萄糖摄取、糖酵解、脂肪合成与贮存等作用,从而调节糖脂代谢水平。本研究仅从 HNF-1 β 单一因子初步探讨平胃散改善糖脂代谢紊乱小鼠血脂、血糖的机制,其降脂降糖机制是否有其他因子参与,以及通过哪些信号通路进行调节还有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 黄晶晶,尹莲花,许艺惠,等.肥胖、体脂率、血脂水平异常与糖尿病前期的关系探讨[J].湖南中医杂志,2016,32(6):4-6.

[2] 陈其龙,华春芬,周伯华,等.平湖水成人超重肥胖现状与糖尿病、高血压、血脂异常的关系[J].上海预防医学,2016,28(6):361-365.

[3] 尹培颖.体检人群体质量指数、血压、血脂、血糖检测分析及护理[J].大家健康,2016,10(1):258.

[4] 高静静.平胃散对血脂异常病前状态(痰湿质)的临

床疗效观察[D].长春:长春中医药大学,2015.

[5] 张国庆,张聚府,赵金伟.芩连平胃散治疗湿热困脾证2型糖尿病及对血糖和血脂的影响[J].陕西中医,2011,32(4):425-426.

[6] 刘骏,吴露露,张青蓝.葛根芩连汤合平胃散加味方配合西药治疗代谢综合征30例临床研究[J].江苏中医药,2009,41(5):28-29.

[7] 陈芳,张丰华,黄秀深,等.平胃散不同提取部位对湿阻中焦证大鼠糖酵解途径的影响[J].湖南中医杂志,2018,34(2):134-136.

[8] 李建,张洁瑛,孙鹏,等.平胃散合桂枝芍药知母汤加减治疗慢性痛风性关节炎的疗效机制[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(1):180-185.

[9] Bingham C, Hattersley A T. Renal cysts and diabetes syndrome resulting from mutations in hepatocyte nuclear factor-1beta [J]. Nephrol Dial Transplant, 2004, 19(11):2703-2708.

[10] Edghill E L, Bingham C, Ellard S, et al. Mutations in hepatocyte nuclear factor-1beta and their related phenotypes[J]. J Med Genet, 2006, 43(1):84-90.

[11] 马帅,郭振奎,丁文字,等.1个早发糖尿病合并肾发育异常家系的HNF1 β 基因分析[J].山东医药,2016,56(14):52-54.

[12] 王亚超,郭振奎,荣海钦.早发糖尿病合并肝囊肿家系肝细胞核因子1 β 基因的突变研究[J].临床荟萃,2013,28(6):640-642.

[13] 贾贺堂,张素华,纪立农,等.北京地区早发糖尿病家系MODY5基因突变的筛查[J].第三军医大学学报,2006,28(19):1952-1954.

[14] 孙璐,唐咸玉,张鹏,等.益气化痰活血法改善超重/肥胖2型糖尿病患者糖脂代谢紊乱及肥胖抑制素的临床观察[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(6):180-185.

[15] 崔明霞,李瑞莲,李文广,等.小鼠代谢综合征模型的特征及西布曲明的治疗作用研究[J].中国药理学通报,2009,25(5):621-625.

[16] 王敏.五甲基槲皮素改善DIO小鼠代谢异常和NAFLD的作用及机制研究[D].武汉:华中科技大学,2016.

[17] GAO B Z, CHEN J C, LIAO L H, et al. Erchen decoction prevents high-fat diet induced metabolic disorders in C57BL/6 mice [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2015, 2015:501272.

[18] 廖凌虹,李灿东,黄守清,等.肥胖病的中医病理因素及其与血清脂肪因子相关性的研究[J].中华中医药杂志,2012,27(12):3057-3060.

[19] 陈淑娇,李灿东,赖新梅,等.160例代谢综合征患者中医证候特点研究[J].中华中医药杂志,2015,30(3):689-692.

[责任编辑 周冰冰]