

# 基于代谢组学分析金芪降糖片改善2型糖尿病大鼠脂代谢紊乱的作用机制

陈瑞<sup>1</sup>, 马宁宁<sup>1</sup>, 范姗姗<sup>1</sup>, 尹清晟<sup>1</sup>, 韩娟<sup>1</sup>, 贺云杰<sup>2</sup>, 朱晓丹<sup>2</sup>, 刘新元<sup>2</sup>,  
张艳军<sup>1</sup>, 庄朋伟<sup>1</sup>, 宋丽丽<sup>1\*</sup>

(1. 天津中医药大学 天津市中药药理学重点实验室, 天津 300193;  
2. 天津中新药业集团股份有限公司 隆顺榕制药厂, 天津 300457)

**[摘要]** 目的:从代谢组学角度探究金芪降糖片改善2型糖尿病大鼠脂代谢紊乱的作用机制。方法:雄性 Wistar 大鼠 45 只,采用高脂饲料喂养联合 3 次小剂量腹腔注射链脲霉素(STZ, 35 mg·kg<sup>-1</sup>)复制 2 型糖尿病模型,造模成功后随机分为正常组、模型组、金芪降糖片组。金芪降糖片组连续给药 4 周,给药结束后腹主动脉取血,利用半自动生化分析仪检测血脂水平,苏木精-伊红(HE)染色观察肝脏病理变化;采用 UPLC-Q-TOF-MS 对不同组别的血液样本进行检测,运用主成分分析(PCA)和偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)筛选正常组、模型组和金芪降糖片组之间的差异代谢物,结合质谱信息和公共数据库检索对差异代谢物进行鉴定并进行京都基因与基因组百科全书(KEGG)代谢通路分析。结果:与正常组比较,模型组大鼠血脂水平明显升高,金芪降糖片组血脂较模型组明显下降,模型组肝脏出现明显的脂肪粒细胞,金芪降糖片组肝细胞脂肪粒明显减少。模型组和正常组大鼠有 12 种内源性物质发生了显著性变化,经金芪降糖片干预后花生四烯酸,左旋肉碱,溶血磷脂酰胆碱(LysoPC)(17:0),LysoPC(P-18:0),LysoPC[22:4(7Z,10Z,13Z,16Z)],硬脂酰肉碱这 6 种代谢物水平出现了不同程度的回调,得到 1 条关键代谢通路——花生四烯酸代谢通路。结论:金芪降糖片对 2 型糖尿病脂代谢紊乱大鼠体内的差异代谢物有一定的回调作用,其作用机制主要与花生四烯酸代谢通路有关。

**[关键词]** 金芪降糖片; 代谢组学; 2 型糖尿病; 脂代谢紊乱; 生物标志物; 花生四烯酸; 溶血磷脂酰胆碱

**[中图分类号]** R22;R969.1;R284;R945;R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)20-0102-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20181806

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180702.0915.001.html>

**[网络出版时间]** 2018-07-02 15:05

## Mechanism of Jinqi Jiangtang Tablets on Improving Lipid Metabolism Disorder of Type 2 Diabetic Rats Based on Metabonomics

CHEN Rui<sup>1</sup>, MA Ning-ning<sup>1</sup>, FAN Shan-shan<sup>1</sup>, YIN Qing-sheng<sup>1</sup>, HAN Juan<sup>1</sup>, HE Yun-jie<sup>2</sup>,  
ZHU Xiao-dan<sup>2</sup>, LIU Xin-yuan<sup>2</sup>, ZHANG Yan-jun<sup>1</sup>, ZHUANG Peng-wei<sup>1</sup>, SONG Li-li<sup>1\*</sup>

(1. Tianjin Key Laboratory of Pharmacology of Chinese Materia Medica, Tianjin University of  
Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China;

2. Longshunrong Pharmaceutical Factory, Tianjin Zhongxin Pharmaceutical  
Group Co. Ltd., Tianjin 300457, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the mechanism of Jinqi Jiangtang tablets on improving lipid metabolism disorder in type 2 diabetic rats from the perspective of metabonomics. **Method:** Type 2 diabetes mellitus model was established in 45 male Wistar rats fed with high fat diet and 3 times of intraperitoneal injection of streptozotocin

**[收稿日期]** 20180321(016)

**[基金项目]** 国家教育部长江学者和创新团队发展计划项目(IRT\_14R41)

**[第一作者]** 陈瑞,在读硕士,从事方剂学研究,Tel:022-59596279,E-mail:jbwkzchenrui@163.com

**[通信作者]** \*宋丽丽,博士,实验师,从事中药分析和代谢组学研究,Tel:022-59596279,E-mail:sl0204@163.com

(STZ, 35 mg·kg<sup>-1</sup>). After successful modeling, the rats were randomly divided into normal group, model group and Jinqi Jiangtang tablets group. Jinqi Jiangtang tablets group was administered continuously for 4 weeks. At the end of administration, the blood was taken from the abdominal aorta and the blood lipid level was detected by a semi automatic biochemical analyzer, the pathological changes of the liver were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining; the blood samples in different groups were detected by UPLC-Q-TOF-MS. Principal component analysis (PCA) and partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) were used to screen the differential metabolites among the normal group, model group and Jinqi Jiangtang tablets group, these differential metabolites were identified by mass spectrometry information and public database retrieval, and their metabolic pathways of the Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) were analyzed. **Result:** Compared with the normal group, the level of blood lipid in the model group was significantly increased, the serum lipids in Jinqi Jiangtang tablets group were significantly lower than those in the model group. In the model group, obvious fatty granulocytes appeared in the liver, the hepatocyte fat granulocytes were significantly decreased in the administration group. There were 12 kinds of endogenous substances with significant changes in type 2 diabetes mellitus model group and the normal group. After intervention with Jinqi Jiangtang tablets, the levels of arachidonic acid, *L*-carnitine, lyso-phosphatidylcholine (LysoPC) (17:0), LysoPC (P-18:0), LysoPC [22:4 (7Z, 10Z, 13Z, 16Z)] and stearyl carnitine showed a different degree of callback. A key metabolic pathway, arachidonic acid pathway, was obtained by further analysis of the metabolic pathway. **Conclusion:** Jinqi Jiangtang tablets has a certain callback effect on the differential metabolites of lipid metabolism in rats with type 2 diabetes mellitus, and its mechanism is mainly related to arachidonic acid metabolic pathway.

[**Key words**] Jinqi Jiangtang tablets; metabonomics; type 2 diabetes; lipid metabolism disorder; biomarkers; arachidonic acid; lyso-phosphatidylcholine

糖尿病是一种以高血糖为主要临床特征的慢性代谢性疾病,近年来,许多研究已经证实糖尿病患者多伴有脂质代谢紊乱,从而导致多种心脑血管疾病,严重影响患者的生活质量以及生命安全<sup>[1-3]</sup>。糖脂代谢紊乱带来的糖、脂毒性和胰岛素抵抗在以 2 型糖尿病为代表的多种代谢性疾病的病理发生过程中扮演着重要角色。因此,如何有效改善糖尿病糖脂代谢紊乱并探究其具体的作用机制十分关键。

金芪降糖片源自《备急千金要方》中的黄连丸加减而成,由黄芪、黄连、金银花组成,具有清热益气的功效,临床用于治疗轻、中度非胰岛素依赖型糖尿病,能改善机体糖代谢和脂质代谢,恢复对胰岛素的敏感性,增强免疫功能<sup>[4-7]</sup>。并且金芪降糖片的提取物能不同程度的降低糖尿病小鼠的血糖、甘油三酯和胆固醇。其降血糖的作用机理主要与保护和修复胰岛功能有关,同时其提取物能有效降低脂类成分的吸收。代谢组学是研究生物体系代谢网络的一种技术,是效仿基因组学和蛋白质组学的研究思想,对生物体内所有代谢物进行定量分析,并寻找代谢物与生理病理变化相对关系的研究方式。目前,该技术被广泛用于药物研发、毒理学及药物作用机制研究等领域<sup>[8-9]</sup>。国内已经有学者采用代谢组学方

法研究中药对糖尿病伴代谢紊乱的作用,例如何百川等<sup>[8]</sup>采用代谢组学技术研究化浊解毒方对 2 型糖尿病大鼠糖脂代谢的影响,结果发现肝脏内胆胆汁酸、磷脂及视晶酸的代谢与该复方改善 2 型糖尿病的血糖、血脂和胰岛素水平有重要关系。本实验采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术,通过代谢组学技术研究 2 型糖尿病脂代谢紊乱的内源性生物标记物和金芪降糖片对该病证的治疗作用,从代谢物角度阐明该制剂改善 2 型糖尿病脂代谢紊乱的作用机制。

## 1 材料

Microlab300 型半自动生化分析仪(荷兰 Vital Scientific 公司),ACQUITY I Class UPLC 型超高效液相色谱-Xevo G2 Q-TOF 型质谱联用仪(美国 Waters 公司),3-18K 型低温冷冻高速离心机(德国 Sigma 公司),One-Touch II 型微量快速血糖仪(美国强生公司),ABJ 80-4NM 型电子分析天平(德国 KERN 公司),UVS-3 型涡旋混合仪(北京优晟联合科技有限公司),SIM-F140AY65 型制冰机(日本三洋公司)。

金芪降糖片(天津中新药业集团股份有限公司隆顺榕制药厂,批号 10920027),链脲霉素(STZ,美国 Sigma 公司,批号 S0130),通用型低密度脂蛋白

胆固醇(LDL-C)试剂盒、通用型高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)试剂盒、通用型干粉总胆固醇(TC)试剂盒、通用型干粉甘油三酯(TG)试剂盒(中生北控生物科技股份有限公司,批号均为20162400518),高脂饲料(北京华阜康生物科技股份有限公司),水为娃哈哈纯净水,乙腈、甲醇、甲酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

4 周龄清洁级健康雄性 Wistar 大鼠 45 只, 体重(200 ± 10) g, 购于北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证号 SCXK(京)2014-0008, 由天津生物医学放射研究所实验动物中心饲养。本文涉及的动物实验经天津中医药大学动物伦理委员会批准, 批准号 2016005。

## 2 方法与结果

**2.1 复制糖尿病模型** Wistar 大鼠适应性喂养 1 周, 随机分为正常组(15 只)和高脂饲料组(30 只)。高脂饲料组大鼠喂养高脂饲料 3 周, 3 次小剂量(35 mg·kg<sup>-1</sup>)腹腔注射 STZ, 正常组在相同条件下注射等体积柠檬酸钠缓冲液(0.1 mol·L<sup>-1</sup>, pH 4.5, 剂量 0.005 mL·g<sup>-1</sup>)。1 周后, 检测各组大鼠体质量, 尾静脉取血检测所有大鼠空腹血糖(FBG)值 > 11.1 mmol·L<sup>-1</sup> 者即成为糖尿病模型大鼠, 剔除未成模大鼠。将大鼠随机分为 3 组, 每组 15 只。正常组和模型组灌胃给予蒸馏水, 金芪降糖片组灌胃给予相应药物, 每日固定时间按剂量 0.5 mg·kg<sup>-1</sup> 灌胃给药 1 次, 连续给药 4 周。

**2.2 血脂的检测** 给药治疗 4 周后隔夜禁食 12 h, 腹主动脉取血, 离心(3 000 r·min<sup>-1</sup>, 15 min, 下同)后取上层血清, 利用半自动生化分析仪检测 TC, TG, HDL-C, LDL-C 的水平, 考察金芪降糖片对 2 型糖尿病大鼠血脂的影响。

**2.3 苏木精-伊红(HE)染色** 给药治疗 4 周后用 10% 水合氯醛麻醉, 取出大鼠肝脏, 利用 4% 多聚甲醛固定, 石蜡包埋, 切片厚 3 μm, 进行 HE 染色, 观察金芪降糖片对 2 型糖尿病大鼠肝脏病理切片的影响。

**2.4 代谢组学样品采集、制备及 UPLC-Q-TOF-MS 分析**

**2.4.1 采集** 正常组、模型组以及金芪降糖片组大鼠给药结束后取血, 离心后取上清液, 置 -80 °C 超低温冰箱冻存, 用于代谢组学研究。

**2.4.2 制备** 将冻存于 -80 °C 冰箱的血清样品取出, 室温下解冻。精密量取血清 100 μL, 加入乙腈 300 μL, 冰水浴超声 10 min, 涡旋混匀 1 min, 以

13 000 r·min<sup>-1</sup>, 4 °C 离心 15 min, 移取上清液进行 UPLC-Q-TOF-MS 分析。

**2.4.3 UPLC-Q-TOF-MS 分析** 色谱条件为 ACQUITY UPLC HSS C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm), 流速 0.3 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 40 °C, 进样量 5 μL, 流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 0.5 min, 1% B; 0.5 ~ 2 min, 1% ~ 50% B; 2 ~ 9 min, 50% ~ 99% B; 9 ~ 10 min, 99% B; 10 ~ 10.5 min, 99% ~ 1% B; 10.5 ~ 12 min, 1% B)。质谱条件为采用电喷雾电离源(ESI), 在正离子电离模式下进行质谱检测分析, 使用高纯氮气作为辅助喷雾电离与脱溶剂气体, 干燥气流速 10 L·min<sup>-1</sup>, 氮气温度 350 °C, 雾化气压力 310 kPa, 脱溶剂氮气流速 800 L·h<sup>-1</sup>, 锥孔反吹氮气流速 50 L·h<sup>-1</sup>。毛细管电离电压 3.0 kV, 四极杆扫描范围 *m/z* 50 ~ 1 500。

**2.5 数据统计** 将 UPLC-Q-TOF-MS 监测的数据, 按质量数生成总离子流色谱图(TIC), 由 MassLynx 4.1 工作站导出。原始数据转换成包含 *t-m/z* 离子对、样品名、峰强度的数据矩阵, 经过峰匹配、峰对齐、归一化处理并进行多元统计分析。采用 SIMCA-P12.0 进行偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA), 得到得分矢量图(score plot)。结合判别分析及多元统计方法从海量数据中挑选出若干最显著的代谢标记物。根据 PLS-DA 模型得到的变量重要性投影(VIP)值来选择贡献较大的差异变量, 然后再进行 *t* 检验, 将 VIP 值 > 1, *P* < 0.05 的代谢物作为潜在生物标志物。根据 score plot, 结合与 2 型糖尿病脂代谢关系及物质源性, 筛选出与金芪降糖片改善 2 型糖尿病脂代谢紊乱相关的内源性代谢物。数据利用 SPSS 19.0 软件处理。以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用单因素方差分析, 以 *P* < 0.05 表示有显著性差异。

**2.6 金芪降糖片对 2 型糖尿病大鼠血脂的影响** 见表 1。结果与正常组比较, 模型组的 TC, TG, LDL-C 均显著升高(*P* < 0.01); 相比模型组, 金芪降糖片组能明显降低 TC, TG, LDL-C 水平(*P* < 0.05), HDL-C 也明显降低并趋于正常组。表明金芪降糖片具有降低血脂的作用。

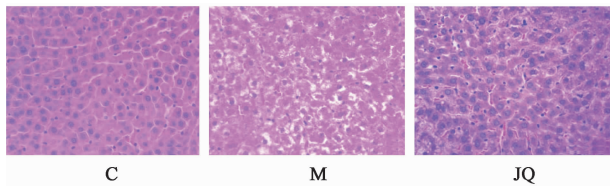
**2.7 金芪降糖片对 2 型糖尿病大鼠肝脏脂肪变性的影响** 见图 1。结果显示正常组大鼠肝细胞排列整齐, 大小均一, 结构完整, 胞质丰富; 模型组大鼠肝细胞排列紊乱, 核质多裂解, 与周围细胞间连接松散, 出现大量脂肪粒; 金芪降糖片组肝细胞结构较为完整, 细胞间连接紧密, 脂肪粒减少。提示金芪降糖片能有效减轻糖尿病大鼠肝脏组织的脂肪变性。

表 1 金芪降糖片对不同组别 2 型糖尿病大鼠血脂的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 15$ )

Table 1 Effect of Jinqi Jiangtang tablets on blood lipids of type 2 diabetic rats in different groups ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 15$ ) mmol·L<sup>-1</sup>

组别	HDL-C	TG	TC	LDL-C
正常	0.26 ± 0.03	1.38 ± 0.19	2.53 ± 0.24	0.39 ± 0.14
模型	0.42 ± 0.13 <sup>2)</sup>	4.45 ± 0.61 <sup>1)</sup>	6.75 ± 1.57 <sup>1)</sup>	4.35 ± 1.87 <sup>1)</sup>
金芪降糖片	0.28 ± 0.10 <sup>3)</sup>	2.75 ± 0.50 <sup>3)</sup>	3.42 ± 1.05 <sup>3)</sup>	2.04 ± 0.84 <sup>2,3)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ;与模型组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ 。



C. 正常组; M. 模型组; JQ. 金芪降糖片组(图 2~5 和表 2 同)

图 1 金芪降糖片对糖尿病大鼠肝脏病理切片的影响(HE, ×400)

Fig.1 Effect of Jinqi Jiangtang tablets on pathological section of liver in diabetic rats (HE, ×400)

2.8 血液样本的 TIC 见图 2。结果发现在 8.75, 9.51 min 的位置,模型组在此处出现较为明显的峰,而正常组峰形几乎不可见,金芪降糖片组在此处的峰形接近于正常组,说明不同组别大鼠血液中代谢物产物发生了不同程度的变化,金芪降糖片组相对于模型组有回调的趋势。

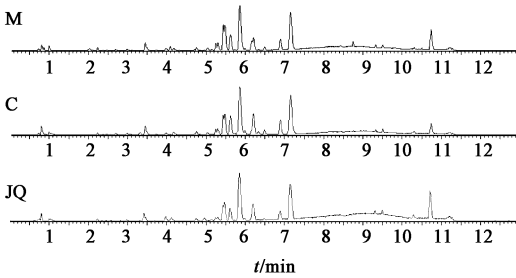


图 2 不同组别大鼠血液 UPLC-Q-TOF-MS 的总离子流

Fig.2 Total ion chromatograms of rat blood in different groups by UPLC-Q-TOF-MS

2.9 给药后大鼠血液代谢轮廓的分析 采用 SIMCA-P12.0 对模型组、正常组和金芪降糖片组的血液样本的实验数据进行主成分分析(PCA),用于评价模型组和正常组的聚类特征,见图 3。结果发现金芪降糖片组、模型组和正常组有显著区分 [ $R^2 X = 0.888$ ,  $Q^2$  (表示模型的可预测度) = 0.759],说明不同组别大鼠体内代谢产物发生了明显变化。为了更明显的看出不同组别大鼠体内的代谢物差异和变化

趋势,对 3 组数据进行 PLS-DA,见图 4(A)。结果  $R^2 X = 0.877$ ,  $Q^2 = 0.665$ ,说明该模型建模能力和预测能力较好。在 PLS-DA 的基础上进行置换检验,进一步考察模型的可靠性,  $R^2$  和  $Q^2$  在纵坐标轴上的截距分别为 0.149 和 -0.445,见图 4(B),说明该模型可靠。

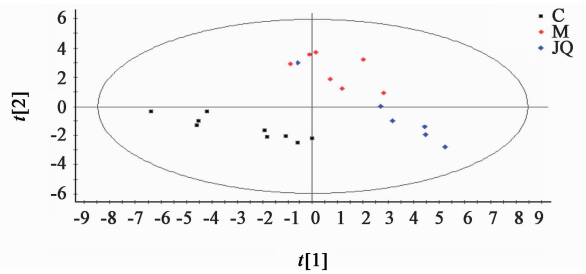
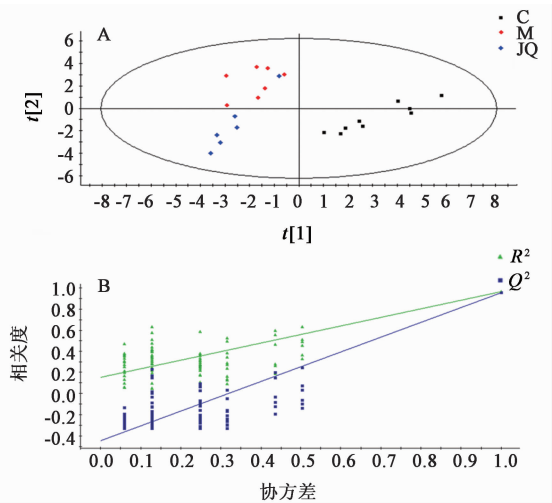


图 3 不同组别大鼠血液代谢物的 PCA 得分

Fig.3 PCA scores of blood metabolites of rats in different groups



A. PLS-DA 得分; B. PLS-DA 置换检验

图 4 不同组别大鼠血液代谢物的 PLS-DA

Fig.4 PLS-DA analysis of blood metabolites of rats in different groups

2.10 生物标志物的确定 对所得代谢轮廓进行多变量数据分析,其中 VIP 值  $> 1$ ,  $P < 0.05$  且倍数变化(FC)  $> 1.3$  来筛选差异代谢物,根据变量的保留时间和精确质荷比在 HMDB (<http://www.hmdb.ca>), METLIN (<http://www.metlin.scipps.edu>), KEGG (<http://www.kegg.com>) 数据库中检索潜在生物标志物,结果鉴定出了 12 个潜在生物标志物,见表 2。

由表 2 可知,花生四烯酸,左旋肉碱, LysoPC (17:0), LysoPC (P-18:0), LysoPC [22:4 (7Z, 10Z, 13Z, 16Z)], 硬脂酰肉碱在模型组大鼠血液中的含

表 2 各组大鼠血液中差异代谢物

Table 2 Differential metabolites in blood of rats in different groups

No.	$t_R$ /min	$m/z$	化合物	分子式	M <sup>1)</sup>	JQ <sup>2)</sup>	FC
1	4.711 7	468.308 8	1-十四酰-2-羟基卵磷脂[ LysoPC(14:0/0:0) ]	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub> NO <sub>7</sub> P	↓	↓	1.65
2	5.082 6	494.324 7	LysoPC[ 16:1(9Z) ]	C <sub>24</sub> H <sub>48</sub> NO <sub>7</sub> P	↓	↓	1.33
3	5.252 3	520.340 8	LysoPC[ 18:2(9Z,12Z) ]	C <sub>26</sub> H <sub>50</sub> NO <sub>7</sub> P	↓	↓	1.66
4	5.637 9	426.358 4	左旋肉碱	C <sub>25</sub> H <sub>47</sub> NO <sub>4</sub>	↑	↓	2.20
5	5.867 3	518.322 9	LysoPC[ 18:3(6Z,9Z,12Z) ]	C <sub>26</sub> H <sub>48</sub> NO <sub>7</sub> P	↓	↓	1.22
6	6.251 9	428.374 1	硬脂酰肉碱	C <sub>25</sub> H <sub>49</sub> NO <sub>4</sub>	↑	↓	7.22
7	6.264 2	510.355 8	LysoPC(17:0)	C <sub>25</sub> H <sub>52</sub> NO <sub>7</sub> P	↑	↓	2.61
8	6.373 0	572.371 4	LysoPC[22:4(7Z,10Z,13Z,16Z) ]	C <sub>30</sub> H <sub>54</sub> NO <sub>7</sub> P	↑	↓	1.59
9	6.526 4	508.376 2	LysoPC(P-18:0)	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub> NO <sub>6</sub> P	↑	↓	1.41
10	7.414 0	550.387 2	LysoPC[20:1(11Z) ]	C <sub>28</sub> H <sub>56</sub> NO <sub>7</sub> P	↓	↓	2.11
11	8.604 1	305.248 5	花生四烯酸	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	↑	↓	2.08
12	8.750 4	540.535 9	ceramide(d18:0/16:0)	C <sub>34</sub> H <sub>69</sub> NO <sub>3</sub>	↓	↓	1.28

注: <sup>1)</sup>与正常组相比, <sup>2)</sup>与模型组相比; ↑, 显著上升, ↓, 显著下降; LysoPC. 溶血磷脂酰胆碱。

量高于正常组大鼠,而在金芪降糖片组大鼠的血液含量则有所下降,趋近于正常组。表明金芪降糖片通过调节这 6 种代谢物发挥了治疗作用。将这 6 个代谢物质进行热图分析,见图 5。颜色的深浅代表活跃程度,蓝色表示相对不活跃,浅粉色代表相对

活跃。结果发现 3 组大鼠中 6 个标志物的表达模式存在差异。硬脂酰肉碱在模型组和金芪降糖片组明显活跃;而左旋肉碱在正常组和模型组的活跃度相对较低,金芪降糖片组活跃度有明显上升,说明金芪降糖片对左旋肉碱有一定的激活作用。

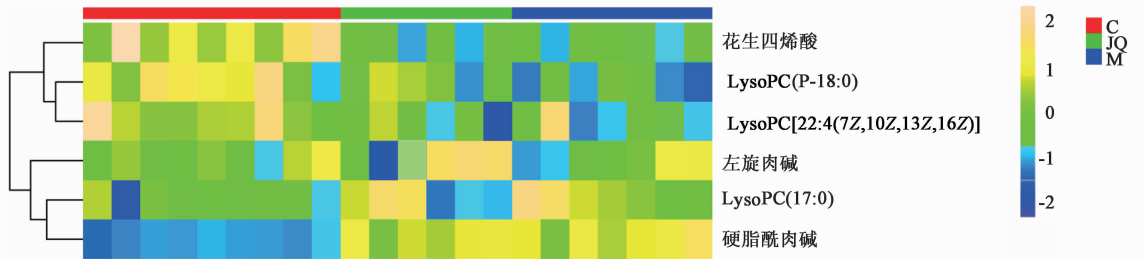


图 5 不同组别大鼠血液中差异生物标志物的热分析

Fig. 5 Heat map analysis of differential biomarkers in blood of rats from different groups

2.11 代谢通路分析 将 UPLC-Q-TOF-MS 剔选出的代谢物数据导入 MetaboAnalyst 3.0 进行代谢通路查询,结果找到 1 条与金芪降糖片治疗 2 型糖尿病脂代谢紊乱相关的重要代谢通路——花生四烯酸代谢通路,见图 6。

### 3 讨论

在 2 型糖尿病脂质紊乱状态下,脂质在肝脏大量沉积,当肝脏内脂质蓄积的速度大于其代谢速度时,TG 会在肝细胞内过度累积,形成脂滴并诱发肝脏脂肪变性。说明脂质代谢紊乱和肝脏脂质沉积是肝脏脂肪变性的关键病因,本实验采用代谢组学技术研究金芪降糖片治疗 2 型糖尿病脂代谢紊乱的大鼠,结果在糖尿病大鼠模型中发现血脂明显升高,肝脏出现大量脂肪粒,给予金芪降糖片后发现肝细胞结构较为完整,细胞间连接紧密,脂肪粒减少,表明金芪降糖片对 2 型糖尿病大鼠肝脏脂肪变性有改善

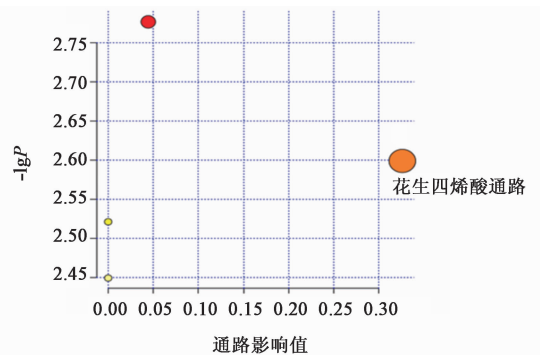


图 6 金芪降糖片组与模型组差异代谢物的代谢通路分析

Fig. 6 Metabolic pathway analysis of differential metabolites between Jinqi Jiangtang tablets group and model group

作用。这与已有研究报道金芪降糖片能改善糖尿病脂代谢紊乱的结果相吻合。在此基础上,本实验进一步研究了模型大鼠体内代谢物的变化情况,结果发现模型组与正常组相比有 12 个代谢物发生了

明显的变化,给予金芪降糖片后只有 6 个代谢物发生明显变化,分别为花生四烯酸,左旋肉碱, LysoPC (17:0), LysoPC (P-18:0), LysoPC [22:4 (7Z, 10Z, 13Z, 16Z)] 和硬脂酰肉碱,与模型组相比,这 6 个代谢物在金芪降糖片组有明显下调趋势。提示金芪降糖片可能通过调节这 6 个代谢物质来改善 2 型糖尿病脂代谢紊乱,并且代谢途径主要与花生四烯酸代谢通路相关。

花生四烯酸是一种多不饱和脂肪酸,其本身及其代谢产物在调控机体脂质代谢方面发挥重要作用。花生四烯酸能够降低脂肪细胞发育,能有效降低草鱼脂质蓄积,其作用机制是通过抑制脂肪生成和促进脂肪分解来实现的<sup>[10]</sup>。此外,花生四烯酸还与巨噬细胞的脂代谢密切相关,巨噬细胞内 TG 水平和脂滴的积累随着花生四烯酸浓度的升高而显著增加,同时出现泡沫化趋势,并且花生四烯酸能够阻碍 RAW264.7 细胞的脂质代谢<sup>[11]</sup>。在本实验中模型组的花生四烯酸的含量是升高的,而金芪降糖片组中的含量明显回调,说明金芪降糖片对其有降低作用。

LysoPC [22:4 (7Z, 10Z, 13Z, 16Z)] 和 LysoPC (P-18:0) 都是溶血磷脂,其是一种单甘油磷脂,磷酸胆碱部分占据了甘油取代位点。2 型糖尿病大血管病变包括脑梗死、冠心病、下肢动脉硬化等,是糖尿病患者重要的致死、致残原因。而血液中这些磷脂类的小分子物质对大血管的调节作用至关重要。LysoPC 具有细胞毒性,使内皮细胞变性、坏死、脱落,其含量高时会发生溶血反应,破坏纤溶和凝血系统的平衡;在组织中, LysoPC 能够运输甘油磷脂成分,如脂肪酸、磷脂酰甘油和胆碱。本实验的结果显示模型组的 LysoPC 水平高于正常组,药物治疗以后 LysoPC 含量显著降低。说明血液中的磷脂类物质正在逐渐降低成正常水平,预示着金芪降糖片可能是通过调节 LysoPC 水平来改善 2 型糖尿病的脂代谢紊乱。

左旋肉碱是一种促使脂肪转化为能量的类氨基酸,能有效降低胆固醇和 TG 的水平,保护血管,降低血脂, Colucci 等<sup>[12]</sup>报道,左旋肉碱可以降低老年患者的 TG 和 LDL 水平。YUN 等<sup>[13]</sup>研究发现,对于高脂饮食诱导肥胖的大鼠,左旋肉碱与藤黄果及大豆肽的混合物可以减少内脏脂肪的积累,改善血脂异常状态。Shojaei 等<sup>[14]</sup>研究发现补充肉碱与泛癸利酮能降低维持性血液透析患者的血清脂蛋白水平,并且 2 型糖尿病患者口服左旋肉碱可以降低氧化型 LDL-C 水平。本实验模型组中的左旋肉碱较

正常组是升高的,但由于 2 型糖尿病的脂代谢水平异常,促使左旋肉碱在体内不断累积,无法正常参与到代谢中来。给予金芪降糖片后,其水平逐步降低,趋于正常水平,进一步调节了血脂水平,调节了 2 型糖尿病脂代谢的紊乱状态。

#### [参考文献]

- [1] 徐杰,李伟,杨辉. 脂代谢紊乱对 2 型糖尿病患者心血管疾病发生和病死率的影响[J]. 岭南心血管病杂志, 2017, 23(6): 759-763.
- [2] 龚娅婷,张璐妮,邵玉,等. 脂代谢紊乱引起的胞外高 5'-AMP 水平在 2 型糖尿病中的作用[J]. 吉林医药学院学报, 2017, 38(2): 141-144.
- [3] 田凯,董豪杰. 2 型糖尿病合并高血压患者心脑血管病变相关危险因素分析[J]. 中国民族民间医药, 2014, 23(10): 82-83.
- [4] 袁雪海,吕楠,靳学海,等. 新工艺金芪降糖片降糖和调脂作用研究[J]. 中草药, 2015, 46(21): 3219-3222.
- [5] 杨凤艳,于敬,罗刚,等. 新工艺金芪降糖片对糖尿病小鼠血糖血脂的影响[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(3): 677-678.
- [6] 杨丽,徐利满,朱晓丹,等. 金芪降糖片对糖尿病引发的认知功能障碍的影响及机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(1): 146-152.
- [7] 王月,王涛,吴建霞,等. 金芪降糖片组分体外抗糖尿病的作用及机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(16): 105-109.
- [8] 何百川,章清华,薛超,等. 基于代谢组学对化浊解毒方治疗 2 型糖尿病大鼠的糖脂代谢研究[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(5): 1897-1900.
- [9] 郭慧,崔扬,王秋红,等. 基于代谢组学技术的中药复方研究近况[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(1): 213-219.
- [10] 田晶晶. 花生四烯酸 (ARA) 对草鱼脂质代谢的影响及其机制分析[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2017.
- [11] 马云青. 花生四烯酸对巨噬细胞脂质积累和细胞周期影响的研究[D]. 长春:吉林大学, 2016.
- [12] Colucci S, Mori G, Vaira S, et al. L-Carnitine and isovaleryl L-carnitine fumarate positively affect human osteoblast proliferation and differentiation *in vitro* [J]. Calcified Tissue Int, 2005, 76(6): 458-465.
- [13] YUN J K, Kim K Y, MIN S K, et al. A mixture of the aqueous extract of *Garcinia cambogia*, soy peptide and L-carnitine reduces the accumulation of visceral fat mass in rats rendered obese by a high fat diet [J]. Genes Nutr, 2008, 2(4): 353-358.
- [14] Shojaei M, Djalali M, Khatami M, et al. Effects of carnitine and coenzyme Q10 on lipid profile and serum levels of lipoprotein (a) in maintenance hemodialysis patients on statin therapy [J]. Iran J Kidney Dis, 2011, 5(2): 114-118.

[责任编辑 刘德文]