

· 药理 ·

## 津力达颗粒联合通心络胶囊对2型糖尿病 大鼠胰腺组织自噬的影响

孙颖<sup>1</sup>, 金鑫<sup>2</sup>, 郭勇英<sup>3,4</sup>, 刘红利<sup>1,2</sup>, 崔雯雯<sup>2</sup>, 魏聪<sup>4,5,6\*</sup>

- (1. 南京中医药大学, 南京 210046; 2. 黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150000;  
3. 河北医科大学, 石家庄 050017; 4. 河北以岭医药研究院, 石家庄 050035;  
5. 国家中医药管理局重点研究室(心脑血管络病), 石家庄 050035;  
6. 河北省络病重点实验室, 石家庄 050035)

**[摘要]** 目的:观察中药复方津力达颗粒联合通心络胶囊对2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)大鼠胰岛 $\beta$ 细胞超微结构损伤情况、胰岛 $\beta$ 细胞功能及胰腺组织自噬相关蛋白 Beclin-1, Atg7, p62 表达的影响。方法:采用高脂喂养结合小剂量链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)  $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{ ip}$  建立 T2DM 大鼠模型, 15 只雄性 SD 大鼠设为正常组正常饲料喂养, 75 只雄性 SD 大鼠高脂饲料喂养 6 周后 STZ 腹腔注射, 根据血糖随机分为:模型组、津力达组(JLD), 通心络胶囊组(TXL), 联合用药组(JT), 吡格列酮组(PLZ), JLD 组于模型成功后给予津力达颗粒( $3.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ), TXL 组于模型成功后给予通心络胶囊( $0.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ), JT 组于模型成功后给予津力达颗粒( $3.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )加通心络胶囊( $0.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ), PLZ 组于模型成功后给予吡格列酮( $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ), 连续 ig 6 周后, 检测空腹血糖及血清胰岛素以计算胰岛 $\beta$ 细胞功能指数, 电镜观察各组大鼠胰岛 $\beta$ 细胞超微结构; Western blot 方法检测胰腺组织 Beclin-1, Atg7, p62 蛋白的表达变化。结果:与正常组相比较, 模型组大鼠胰岛 $\beta$ 细胞损伤减轻, 胰岛 $\beta$ 细胞功能指数明显降低, 胰腺组织 Beclin-1, Atg7 蛋白表达明显减少, p62 蛋白表达明显增加( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 各给药组大鼠胰岛功能指数升高, Beclin-1, Atg7 表达升高, p62 蛋白表达减少( $P < 0.01$ ), 与 JLD, TXL 组比较, JT 组 Beclin-1, Atg7 表达升高, p62 蛋白表达减少( $P < 0.05$ )。结论:津力达颗粒联合通心络胶囊可以提高胰岛 $\beta$ 细胞功能指数, 其作用可能与促进胰岛自噬有关, 而维持胰腺组织自噬水平可能是延缓糖尿病进展的有效措施。

**[关键词]** 津力达颗粒; 通心络胶囊; 胰岛 $\beta$ 细胞; 胰腺; 自噬; Beclin-1; Atg7; p62

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)23-0092-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015230092

### Effects of Jinlida Particles and Tongxinluo Capsule on Pancreas Autophagy in Type 2 Diabetes Mellitus Mice

SUN Ying<sup>1</sup>, JIN Xin<sup>2</sup>, GUO Yong-ying<sup>3,4</sup>, LIU Hong-li<sup>1,2</sup>, CUI Wen-wen<sup>2</sup>, WEI Cong<sup>4,5,6\*</sup>

(1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China; 2. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150000, China; 3. Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China; 4. Hebei Yiling Medical Research Institute, Shijiazhuang 050035, China; 5. Key Research Centre of State Administration of Traditional Chinese Medicine (Collateral Disease of Cardiovascular), Shijiazhuang 050035, China; 6. Key Laboratory of Collateral Disease of Hebei Province, Shijiazhuang 050035, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effect of traditional Chinese herbal compound Jinlida particles (JLD) combined Tongxinluo capsule (TXL) on the ultrastructure and function of islet  $\beta$ -cells and the protein expressions of Beclin-1, Atg7 and p62 of pancreas in diabetic in type 2 diabetes mellitus (T2DM) mice. **Method:** T2DM mice were established by 6 weeks of high-fat diet combined with intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ). Fifteen healthy male mice were set as the normal group. Another 75 T2DM mice were randomly divided

**[收稿日期]** 20150318(005)

**[基金项目]** 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2012CB518606);河北省自然科学基金项目(H2013106139)

**[第一作者]** 孙颖,在读博士,从事络病学说指导2型糖尿病治疗研究, Tel:13730106261, E-mail:sunying2006@126.com

**[通讯作者]** \*魏聪,博士,主任医师,从事络病学研究, Tel:13503205213, E-mail:weitem@163.com

into 5 groups: the model group, the JLD group ( $3.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ), the TXL group ( $0.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ), the combination group (JT,  $3.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1} + 0.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) and the pioglitazone (PLZ) group ( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ). At the 6th week, levels of serum glucose and insulin of each group were measured and the index of  $\beta$ -cell function in HOMA (HOMA- $\beta$ ) was calculated. The organelles injury of islet  $\beta$ -cells was investigated by transmission electron microscopy. Beclin-1, Atg7, p62 proteins were detected by Western blotting. **Result:** Compared with the normal group, the injury on islet  $\beta$ -cells was slight, the index of  $\beta$ -cell function in HOMA- $\beta$  was decreased, the protein expressions of Beclin-1 and Atg7 decreased and the p62 protein expression increased in the model group ( $P < 0.01$ ). Compared with model group, the index of  $\beta$ -cell function in HOMA- $\beta$  was increased, the protein expressions of Beclin-1 and Atg7 increased and the p62 protein expression decreased in the treatment groups ( $P < 0.01$ ). Moreover, the results were better in the JT group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** JLD and TXL could improve the islet  $\beta$ -cells function, the effect may be related to inducing islet autophagy and maintaining the pancreas level of autophagy. The later may be the crucial measures on the time delay of diabetes progression.

[**Key words**] Jinlida copsisule; Tongxinluo copsisule; islet  $\beta$  cells; pancreas; autophagy; Beclin-1; Atg7; p62

2 型糖尿病 (T2DM) 的发病率日益呈现上升趋势,我国糖尿病总体发病率为 11.6%,前驱糖尿病发病率为 50.1%<sup>[1]</sup>。研究证明胰岛  $\beta$  细胞的损伤和缺失是促进 2 型糖尿病的发展的重要因素,维持胰岛  $\beta$  细胞的功能和数量是治疗 T2DM 的关键靶点。自噬的实质是细胞内的“自我消化”,是一种依赖溶酶体的降解途径,主要负责降解长寿蛋白以及退化细胞器<sup>[2]</sup>,也是细胞对抗损伤和维持数量的重要保护机制。有实验证实,T2DM 大鼠胰腺组织自噬水平改变<sup>[3]</sup>,噻唑烷二酮类药物及双胍类药物均可提高胰岛细胞自噬水平以减少凋亡<sup>[4-5]</sup>。津力达颗粒及通心络胶囊是中医药复方制剂,是从“脾”论治 2 型糖尿病治法指导下的方剂组合,选用津力达颗粒以“运脾津”,以及通心络胶囊异病同治以“通脾络”,两药合用使得脾复健运。前期实验结果显示津力达对 2 型糖尿病大鼠胰岛  $\beta$  细胞具有保护作用<sup>[6]</sup>,通心络具有调节血脂的作用<sup>[7-8]</sup>。本实验拟明确 T2DM 大鼠胰岛  $\beta$  细胞损伤和胰腺组织自噬现象的变化,进一步观察津力达颗粒联合通心络胶囊对 T2DM 大鼠胰岛  $\beta$  细胞及胰岛自噬的调节作用。

## 1 材料

**1.1 动物及饲料** 健康雄性 SD 大鼠,90 只,SPF 级,体重(180~220) g,购于中国食品药品检定研究院,合格证号 SCXK(京)2009-0017。基础饲料购于河北医科大学实验动物中心。热量组成:碳水化合物 65.5%,脂肪 10.3%,蛋白质 24.2%,总热量为 348 kcal/100 g;自制高脂饲料热量组成:脂肪 59.8%,碳水化合物 20.1%,蛋白质 20.1%,总热量

为 501 kcal/100 g。

**1.2 药物及试剂** 链脲佐菌素 (STZ,美国 Sigma 公司,批号 S0130-18883080),津力达颗粒(石家庄以岭药业股份有限公司,批号 20120512),通心络胶囊(石家庄以岭药业股份有限公司,批号 20120924),血糖试纸(美国强生公司,批号 20082364),胰岛素放射免疫分析药盒(北京华英生物技术研究所,批号 121206032),Atg7,Beclin-1,P62 抗体(批号分别为 ab80639,ab62557,ab45416),均购于美国 Abcam 公司。

**1.3 仪器** JEM-1400 型透射电镜(日本电子株式会社),UVP320 型凝胶扫描系统(美国 UVP 公司),PY2-22A 型双恒定时电泳仪(北京市六一仪器厂)。

## 2 方法

**2.1 造模方法** 空腹血糖正常的健康 SD 大鼠,高脂饲料喂养 6 周后,以  $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的剂量一次性腹腔注射 STZ (pH 4.5),STZ 用  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液在冰浴中新鲜配制,72 h 后测定尾静脉血糖,以随机血糖  $16.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  者确定为 T2DM 大鼠<sup>[9]</sup>。

**2.2 分组与给药** 15 只雄性 SD 大鼠设为正常组,给予正常饲料;75 只雄性 SD 大鼠,给予高脂饲料 6 周后 ip STZ 造模,将造模成功的大鼠根据血糖随机分为 2 组:模型组、津力达组、通心络组、联用组、吡格列酮组。药物以纯水配制,津力达按照大鼠体重  $3.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  剂量、通心络按照大鼠体重  $0.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,联用组给予两药剂量叠加给予大鼠 ig,正常组及模型组给予纯水灌胃,给药 6 周。

## 2.3 指标检测方法

**2.3.1 胰岛  $\beta$  细胞功能指数 (HOMA- $\beta$ )** 实验末采集血液标本并测血糖 (FBG), 放射免疫法检测胰岛素 (FINS) 水平。根据 FBG, FINS 计算 HOMA- $\beta$ 。

$$\text{HOMA-}\beta = 20 \times \text{FINS} / (\text{FBG} - 3.5)$$

**2.3.2 电镜观察胰岛  $\beta$  细胞超微结构** 水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠, 仔细分离并截取约  $1 \text{ mm}^3$  大小胰尾部标本迅速投入 2.5% 戊二醛固定液中固定 2 h 以上, 用 PBS 充分清洗后, 放入饿酸中后固定, 再用 PBS 充分清洗, 乙醇梯度脱水, 丙酮脱水, 环氧树脂混合物包埋、聚合, 光镜下找到胰岛细胞初次定位, 用 Leica 超薄切片机切片, 厚度为 50 nm, 醋酸铀和柠檬酸铅双重电子染色, 透射电镜观察、摄片。

**2.3.3 Western blot 法检测胰腺组织自噬相关蛋白 Atg7, Beclin-1, P62 蛋白表达** 取大鼠胰尾部胰岛组织, 加入裂解液, 充分裂解并定量。SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 完毕后进行半干转膜, 转膜完毕取出 PVDF 膜, 置于含 5% 脱脂奶粉的 TTBS 封闭液中, 室温封闭 2 h。将封闭后的 PVDF 膜膜置入一抗稀释液  $4^\circ\text{C}$  缓慢摇动过夜, 洗膜后再与置入适量以 TTBS 1:10 000 稀释的辣根过氧化物酶标记的二抗溶液中反应 2 h。洗膜后, 抗体结合区带用化学发光法检测。以 GAPDH 作为内参照, 以目的基因吸光度/GAPDH 吸光度进行数据统计分析。

**2.3.4 统计学分析** 采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析, 数据均用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用单因素方差分析, 以  $P < 0.05$  为差别有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对 T2DM 大鼠胰岛  $\beta$  细胞功能指数的影响** 由于灌胃导致大鼠死亡及血糖不符合要求的大鼠之外, 与正常组比较, 模型组大鼠胰岛  $\beta$  细胞功能指数明显降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型组大鼠比较, 各用药组胰岛功能指数增加 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 津力达及通心络对 FBG, FINS, HOMA- $\beta$  的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Effects of Jinlida and Tongxinluo on FBG, FINS, HOMA- $\beta$  ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	<i>n</i>	FBG / $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	FINS / $\text{mU} \cdot \text{L}^{-1}$	HOMA- $\beta$
正常	-	12	7.11 $\pm$ 0.73	20.05 $\pm$ 1.61	101.14 $\pm$ 11.46
模型	-	9	22.84 $\pm$ 1.14 <sup>1)</sup>	13.37 $\pm$ 1.05 <sup>1)</sup>	13.90 $\pm$ 1.24 <sup>1)</sup>
津力达	3.0	10	15.26 $\pm$ 4.41 <sup>3)</sup>	16.32 $\pm$ 1.15 <sup>2)</sup>	21.04 $\pm$ 4.75 <sup>3)</sup>
通心络	0.4	12	18.71 $\pm$ 4.36	15.29 $\pm$ 2.82	15.84 $\pm$ 1.84
联合用药	3.0 + 0.4	12	13.45 $\pm$ 3.58 <sup>3,4)</sup>	17.04 $\pm$ 1.51 <sup>2,5)</sup>	30.67 $\pm$ 4.25 <sup>3,4,5)</sup>
吡格列酮	0.01	10	15.53 $\pm$ 4.52 <sup>2)</sup>	16.65 $\pm$ 1.05	24.47 $\pm$ 2.39 <sup>3)</sup>

注: 与正常组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较<sup>2)</sup> $P < 0.05$ , <sup>3)</sup> $P < 0.01$ ; 与津力达组比较<sup>4)</sup> $P < 0.05$ ; 与通心络组比较<sup>5)</sup> $P < 0.05$  (表 2 同)。

## 3.2 对 T2DM 大鼠胰岛 $\beta$ 细胞超微结构的影响

正常大鼠胰岛  $\beta$  细胞胞质内见多个分泌颗粒, 内有多个内质网及核糖体, 核膜完整, 核染色质分布均匀; 模型组大鼠胰岛  $\beta$  细胞线粒体空泡, 分泌颗粒不规则, 胞质核质肿胀, 核膜消失, 染色质肿胀; 各给药组大鼠胰岛  $\beta$  细胞可见少量线粒体嵴消失及空泡化, 胞质局部肿胀, 核质无肿胀, 核染色质分布较均匀。见图 1。

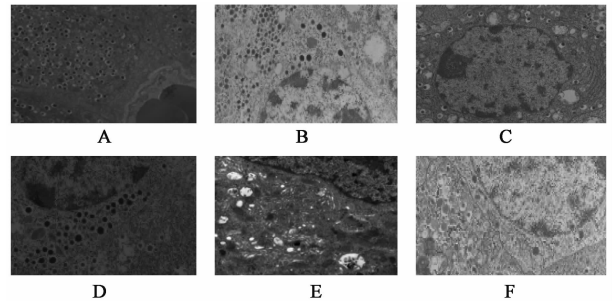


图 1 津力达联合通心络对大鼠胰岛  $\beta$  细胞超微结构的影响 (电镜,  $\times 15 000$ )

Fig. 1 Effects of Jinlida and Tongxinluo on structures of islet  $\beta$  cell (Electron microscopy,  $\times 15 000$ )

**3.3 对 T2DM 大鼠胰腺组织自噬相关蛋白 Beclin-1, Atg7, p62 蛋白表达的影响** 与正常组比较, 模型组大鼠胰腺组织 Beclin-1, Atg7 蛋白表达显著降低, p62 蛋白表达升高, 具有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较, 各用药组 Beclin-1, Atg7 蛋白表达升高, p62 表达降低, 结果均具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 其中联用组 Atg7 蛋白表达高于通心络组 ( $P < 0.05$ ), 联用组 p62 蛋白表达低于通心络组和津力达组 ( $P < 0.05$ )。见表 2, 图 2。

表 2 津力达及通心络对 Beclin-1, Atg7, p62 蛋白表达的影响 ( $x \pm s$ )  
Table 2 Effects of Jinlida and Tongxinluo on Beclin-1, Atg7, p62 protein expression ( $x \pm s$ )

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	<i>n</i>	Beclin-1	Atg7	p62
正常	-	12	0.87 $\pm$ 0.08	0.42 $\pm$ 0.04	0.32 $\pm$ 0.01
模型	-	9	0.42 $\pm$ 0.03 <sup>1)</sup>	0.10 $\pm$ 0.05 <sup>1)</sup>	1.85 $\pm$ 0.07 <sup>1)</sup>
津力达	3	10	0.65 $\pm$ 0.03 <sup>2)</sup>	0.29 $\pm$ 0.02 <sup>2)</sup>	0.6 $\pm$ 0.02 <sup>3)</sup>
通心络	0.4	12	0.53 $\pm$ 0.04 <sup>2)</sup>	0.18 $\pm$ 0.02 <sup>2)</sup>	0.72 $\pm$ 0.02 <sup>3)</sup>
联合用药	3.0 + 0.4	12	0.68 $\pm$ 0.02 <sup>3)</sup>	0.35 $\pm$ 0.04 <sup>3,5)</sup>	0.54 $\pm$ 0.01 <sup>3,4,5)</sup>
吡格列酮	0.01	10	0.56 $\pm$ 0.02 <sup>2)</sup>	0.28 $\pm$ 0.08 <sup>2)</sup>	0.68 $\pm$ 0.01 <sup>3)</sup>

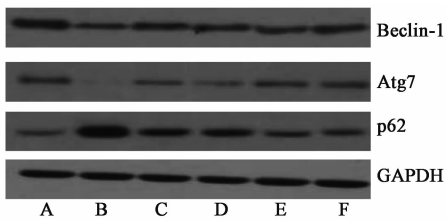


图 2 津力达及通心络对 Beclin-1, Atg7, p62 蛋白表达的影响  
Fig. 2 Effects of Jinlida and Tongxinluo on Beclin-1, Atg7, p62 protein expression

#### 4 讨论

T2DM 是由多种病因引起的以慢性高血糖、胰岛  $\beta$  细胞损伤为特征的代谢紊乱,伴有因胰岛素分泌或作用缺陷引起的糖、脂肪和蛋白质代谢异常。胰岛  $\beta$  细胞的结构、功能损伤是造成 T2DM 进展的重要原因,如何保护胰岛  $\beta$  细胞一直是 2 型糖尿病治疗中的重点,维持胰岛  $\beta$  细胞的数量及功能对阻止糖尿病进展有重要意义。胰腺组织是胰岛  $\beta$  细胞的生存环境,T2DM 模型高脂及化学损伤诱导慢性胰腺组织炎症和甘油三酯异位沉积,胰腺组织的损伤又导致胰岛  $\beta$  细胞线粒体功能障碍,使活性氧类生成,造成胰岛  $\beta$  细胞功能改变。自噬可调控胰腺内分泌环境,以影响胰岛  $\beta$  细胞的功能<sup>[10]</sup>。

自噬是一个将自身细胞质内受损蛋白或受损细胞器包被进入囊泡,并与溶酶体融合形成自噬溶酶体,降解其所包裹的内容物的过程,降解的细胞内成分可以提供营养或原料供给细胞循环再利用,以实现细胞的代谢需要和细胞器的更新。近年研究显示,自噬对于维持胰岛  $\beta$  细胞的结构和功能等具有重要意义。自噬是细胞对外源性应激的快速适应性反应,当营养和能量缺乏时,其降解产物氨基酸、核苷酸、游离脂肪酸等可供物质能量循环;当细胞遭受氧化应激时,自噬作为细胞的防御机制清除细胞内受损的细胞器、有害的蛋白质等,保护细胞免受损害<sup>[11]</sup>。增强胰岛细胞自噬水平已成为药物新的作用靶点,如噻唑烷二酮类药物可以通过 AMPK 通路激活自噬进而抑制胰岛细胞凋亡,二甲双胍通过激活自噬提高胰岛  $\beta$  细胞功能<sup>[4-5]</sup>。

Atg7 是自噬相关蛋白,自噬增强时其表达增加。研究报道,特异性敲出小鼠胰岛  $\beta$  细胞内 Atg7 蛋白,小鼠胰岛  $\beta$  细胞凋亡增多,细胞增殖能力下降,伴随胰岛  $\beta$  细胞量的减少,胰岛素分泌功能下降,从而引起高血糖<sup>[12]</sup>,被公认为自噬的标志蛋白<sup>[13]</sup>。p62 是一种泛肽结合蛋白,介导哺乳动物细胞中泛素化蛋白质的自噬性降解。它可以作用为检

测自噬流量大小的标志物。p62 积聚证实胰岛  $\beta$  细胞内出现严重的自噬缺陷<sup>[14]</sup>。当自噬功能受损时,胰岛  $\beta$  细胞浆内多聚泛素蛋白质表达和 p62 的表达增加。Beclin-1 蛋白在自噬过程中起着重要作用,与一些协同因子共同来调节脂质激酶 Vps-34,诱导自噬发生,且研究发现,Beclin-1 主要表达在胰岛细胞中,而在外分泌组织中极少有表达<sup>[15-16]</sup>。

T2DM 时机体可发生氧化应激损伤、营养因子匮乏等病理生理改变,自噬水平根据环境不同而被代偿性激活或被抑制。有些研究发现,T2DM 患者胰岛组织中参与自噬之后的过程的蛋白表达减少,提示自噬水平受损<sup>[17]</sup>;而有些研究发现,T2DM 模型小鼠中胰腺组织中自噬水平升高<sup>[3]</sup>,且作为影响自噬水平的重要因素的氧化应激水平发生了变化<sup>[18]</sup>,提示 T2DM 模型小鼠胰腺组织自噬水平代偿性增加。T2DM 中自噬的两种不同变化情况可能是因为:营养物质和胰岛素与氧化应激共同调节自噬,过多的营养素和胰岛素能抑制自噬,而氧化应激反应则可激活自噬,糖尿病前期多伴有肥胖,过多的营养素和胰岛素能抑制自噬,后期因胰岛素缺乏,氧化应激增强等原因自噬代偿性增强,但也可能因蛋白质降解增加,导致血中氨基酸增加,从而通过激活 mTOR 途径抑制自噬<sup>[19]</sup>;对动物体内实验的自噬水平检测存在技术局限:自噬研究中的技术问题之一是缺乏方便可靠的方法来检测自噬,检测自噬水平的过程可能对自噬的过程进行了封锁,这些困难在动物模型上尤为突出;一定范围内的刺激可激活或抑制自噬活性,但这并非自噬的平衡状态,自噬体数量会随时间波动出现不同的高峰<sup>[20]</sup>。随着在体实验中自噬检测手段的进步,这些问题可能会被解决,但不管 T2DM 过程中胰腺组织自噬是代偿性增加还是自噬水平受损,提高细胞自噬水平均为治疗 T2DM 的靶点之一。

津力达颗粒由人参、丹参、黄精等药物组成的中药复方,具有健脾运津之功效,前期临床研究表明,津力达用于 T2DM 安全有效,药理研究表明,津力达具有保护胰岛细胞、调节糖脂代谢等作用<sup>[21-22]</sup>;通心络胶囊是由人参、水蛭、赤芍等药物组成的中药复方,前期药理学研究表明,通心络可降低代谢紊乱大鼠总胆固醇,对胰岛  $\beta$  细胞的具有保护作用<sup>[7-8]</sup>。故在制备高脂喂养联合 STZ 损伤模型的基础上,首先观察 T2DM 大鼠胰岛  $\beta$  细胞结构、功能及胰腺自噬情况,进而研究津力达颗粒联合通心络胶囊对胰腺组织自噬的影响。本研究结果显示,

T2DM 大鼠胰岛  $\beta$  细胞功能降低,自噬水平降低,说明 T2DM 大鼠胰岛细胞功能受到损伤,其机制可能与自噬水平受到抑制有关。给予津力达颗粒及通心络胶囊处理后,大鼠胰岛  $\beta$  细胞结构损伤减轻,功能增强,自噬相关蛋白表达有所提高,提示津力达及通心络可以减轻胰岛  $\beta$  细胞损伤,并可提高胰岛细胞自噬水平。本研究结果表明,津力达颗粒联合通心络胶囊可能是通过改善胰腺组织自噬水平,以达到对 T2DM 模型大鼠胰岛  $\beta$  细胞结构功能的保护作用,这可能为 T2DM 的治疗提供新思路,为糖尿病临床防治用药提供实验依据,但其通过何种信号转导途径激活胰腺组织自噬水平仍有待于深入研究。

[参考文献]

[1] Xu Y, Wang L, He J, et al. Prevalence and control of diabetes in Chinese adults[J]. JAMA, 2013, 310(9): 948-959.

[2] Kirkin V, McEwan D G, Novak I, et al. A role for ubiquitin in selective autophagy[J]. Mol Cell, 2009, 34(3): 259-269.

[3] 栾云. 小檗碱对 2 型糖尿病大鼠胰腺组织自噬相关蛋白的影响[D]. 武汉:华中科技大学, 2013.

[4] Wu J, Wu J, Yang L, et al. Rosiglitazone protects against palmitate-induced pancreatic beta-cell death by activation of autophagy via 5'-AMP-activated protein kinase modulation[J]. Endocrine, 2013, 44:87-98.

[5] Jiang Y, Huang W, Wang J, et al. Metformin plays a dual role in MIN6 pancreatic  $\beta$  cell function through AMPK-dependent autophagy[J]. Int J Biol Sci, 2014(3):268-277.

[6] 史婧丽,吴莹,宋玉萍,等. 津力达颗粒对糖尿病大鼠胰岛  $\beta$  细胞的保护作用[J]. 第二军医大学学报, 2012,33(4):121-123.

[7] 黄晓忠,刘晓颖,余细勇,等. 通心络对高血压、高血糖合并高胆固醇血症大鼠的治疗作用[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(2):224-227.

[8] 庞洁. “运脾津、通脾络”治疗消渴(2 型糖尿病)理论及实验研究[D]. 南京:南京中医药大学, 2014.

[9] 刘德慧,邢翔飞. 2 型糖尿病大鼠模型的特点及评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(12):212-214.

[10] Marsh B J, Soden C, Alarcón C, et al. Regulated autophagy controls hormone content in secretory-deficient

pancreatic endocrine  $\beta$ -cells [J]. Mol Endocrinology, 2007, 21(9): 2255-2269.

[11] Choi S E, Lee S M, Lee Y J, et al. Protective role of autophagy in palmitate-induced INS-1 beta-cell death [J]. Endocrinology, 2009, 150(1):126-134.

[12] Jung H S, Chung K W, Kim J W, et al. Loss of autophagy diminishes pancreatic beta cell mass and function with resultant hyperglycemia[J]. Cell Metab, 2008(4):318-324.

[13] Shibata M, Yoshimura K, Furuya N, et al. The MAP1-LC3 conjugation system is involved in lipid droplet formation [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 382(2):419-423.

[14] Marsh B J, Soden C, Alarcon C, et al. Regulated autophagy controls hormone content in secretory-deficient pancreatic endocrine beta-cells [J]. Mol Endocrinol, 2007,21(9):2255-2269.

[15] Cao Y, Klionsky D J. Physiological functions of Atg6/Beclin 1: a unique autophagy-related protein [J]. Cell Res, 2007, 17(10): 839-849.

[16] 谷昭艳. Annexin 1 对增龄相关胰岛  $\beta$  细胞增殖与自噬功能的影响及机制探讨[D]. 北京:军医进修学院, 2012.

[17] Masini M, Bugliani M, Lupi R, et al. Autophagy in human type 2 diabetes pancreatic beta cells [J]. Diabetologia, 2009, 52(6):1083-1086.

[18] 李步满,高彦彬,吴丽丽,等. 糖脂平对 2 型糖尿病大鼠糖、脂毒性及胰腺组织氧化应激的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(14):139-143

[19] 何梦婷,高丽辉,李玲. 自噬与 2 型糖尿病相关性的研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2014, 41(3): 301-306.

[20] Koga H, Kaushik S, Cuervo A M. Altered lipid content inhibits autophagic vesicular fusion [J]. FASEB J, 2010, 24(8): 3052-3065.

[21] 张喜芬,杨立波,孙利,等. 津力达颗粒治疗 2 型糖尿病随机双盲临床研究[J]. 疑难病杂志, 2013, 12(5):351-353.

[22] 金鑫,张彦芬,秘尧,等. 津力达对高脂诱导的胰岛素抵抗 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠骨骼肌胆固醇相关基因的影响 [J]. 中国药理学通报, 2014, 30(11):1600-1604.

[责任编辑 周冰冰]