

番石榴叶总黄酮促进糖尿病模型小鼠胰岛再生机制

李杰¹, 李东华², 涂正伟², 傅予³, 刘洪斌^{3*}, 张一², 宗春辉², 于强²

(1. 天津医科大学研究生院, 天津 300070; 2. 天津市南开医院, 天津 300100;
3. 天津市医药科学研究所, 天津 300020)

[摘要] **目的:**观察番石榴叶总黄酮对链脲佐菌素(streptozocin, STZ)糖尿病模型小鼠胰腺组织中胰腺十二指肠同源盒因子-1(pancreas-duodenumhomeobox-1, PDX-1), 神经元素3(neurogenin 3, Ngn3), NK6转录因子相关基因座1(NK6 transcription factor related locus 1, Nkx6.1)表达的影响, 探讨其促进胰岛 β 细胞再生的机制。**方法:**将STZ糖尿病模型小鼠随机分为模型组和治疗组, 治疗组包括番石榴叶总黄酮低、高剂量组及二甲双胍组, 另设10只正常小鼠为正常组。番石榴叶总黄酮低、高剂量组按小鼠体重分别以番石榴叶总黄酮0.198, 0.396 g·kg⁻¹·d⁻¹灌胃, 二甲双胍组以二甲双胍0.0875 g·kg⁻¹·d⁻¹灌胃, 正常组和模型组以等体积蒸馏水灌胃, 2周后检测其空腹血糖、体重, 苏木素-伊红(HE)染色观察胰岛病理形态学改变, 实时荧光定量聚合酶链反应(Real-time PCR)检测胰腺组织内胚胎期胰岛 β 细胞发育相关转录因子PDX-1, Ngn3, Nkx6.1 mRNA相对表达量。**结果:**与正常组比较, STZ糖尿病模型小鼠胰腺组织中PDX-1, Ngn3, Nkx6.1表达量明显下降($P < 0.01$); 与模型组比较, 番石榴叶总黄酮治疗组PDX-1, Ngn3, Nkx6.1 mRNA表达升高($P < 0.05$)。**结论:**番石榴叶总黄酮能上调糖尿病小鼠胰腺组织中PDX-1, Ngn3, Nkx6.1的表达; 胰岛 β 细胞再生机制可能与PDX-1, Ngn3, Nkx6.1 mRNA表达的上调有关。

[关键词] 番石榴叶总黄酮; 糖尿病; 胰岛再生; 胰腺十二指肠同源盒因子-1; 神经元素3; NK6转录因子相关基因座1

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)10-0116-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017100116

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170308.0946.030.html>

[网络出版时间] 2017-03-08 9:46

Mechanism of Flavonoids from *Psidium guajava* Leaves in Promoting Pancreatic Islets Regeneration in Mouse with Diabetes Mellitus

LI Jie¹, LI Dong-hua², TU Zheng-wei², FU Yu³, LIU Hong-bin^{3*},
ZHANG Yi², ZONG Chun-hui², YU Qiang²

(1. Graduate School, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China; 3. Tianjin Institute of Medical and Pharmaceutical Science, Tianjin 300020, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of flavonoids from *Psidium guajava* leaves on pancreatic duodenum homeobox-1 (PDX-1), neurogenin 3 (Ngn3), NK6 transcription factor-related locus 1 (Nkx6.1) expression in pancreas of streptozotocin (STZ)-induced diabetic mice, and explore the mechanism of pancreatic islets regeneration. **Method:** Diabetic mouse were randomly divided into model group and treatment groups, the latter included *P. guajava* leaves flavonoids low and high-dose groups and metformin group, and the other 10 normal mice were included into normal group. *P. guajava* leaves flavonoids low and high-dose groups were administered intragastrically with the doses of 0.198, 0.396 g·kg⁻¹·d⁻¹, metformin was 0.0875 g·kg⁻¹·d⁻¹, and normal group and model group were administered intragastrically with the same volume of distilled water. After two

[收稿日期] 20161208(014)

[基金项目] 天津市卫生和计划生育委员会中医中西医结合科研项目(2015042)

[第一作者] 李杰, 硕士, 从事中药治疗糖尿病药理学研究, Tel:13132150310, E-mail:m13373060671@163.com

[通讯作者] *刘洪斌, 博士, 研究员, 从事中西医结合治疗肝胆胰疾病的药理学研究, Tel:022-27313851, E-mail:jtss@sina.com

weeks of administration, fasting blood glucose and weight were measured. Pancreatic tissue was sliced, and observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. And Real-time PCR was used to investigate the mRNA expressions of PDX-1, Ngn3, Nkx6.1. **Result:** Compared with normal group, the expressions of PDX-1, Ngn3 and Nkx6.1 were decreased in pancreas of STZ-induced diabetic mice ($P < 0.05$). Compared with model group, the expressions of PDX-1, Ngn3 and Nkx6.1 were increased in *P. guajava* leaves flavonoids low and high-dose groups ($P < 0.05$). **Conclusion:** *P. guajava* leaves flavonoids can increase the expressions of PDX-1, Ngn3, Nkx6.1 in the pancreatic tissues in mouse with diabetes mellitus. Its mechanism of pancreatic islets β cell regeneration may be related to the increase in expressions of PDX-1, Ngn3, Nkx6.1.

[**Key words**] total flavonoids from *Psidium guajava* leaves; diabetes mellitus; pancreatic islets regeneration; pancreatic duodenum homeobox-1 (PDX-1); neurogenin 3 (Ngn3); NK6 transcription factor related locus 1 (Nkx6.1)

近年来,糖尿病患病率逐年攀升,根据国际糖尿病联盟(IDF)统计,2011 年全球糖尿病患者人数已达 3.7 亿,随着我国社会、经济的发展及人口老龄化进程的加速,糖尿病的患病率逐年增加^[1]。目前糖尿病的治疗以药物治疗、胰岛素替代治疗为主,此法虽能短期控制血糖水平,延缓其并发症,但无法治愈糖尿病,且有副作用,甚至有时还危及生命^[2]。因此研发治疗糖尿病的新药迫在眉睫。糖尿病的基本病理变化为胰岛 β 细胞的破坏及功能的丧失,因此,通过促使胰岛 β 细胞再生治疗糖尿病的方法倍受关注。目前,胰腺移植或单纯胰岛移植治疗糖尿病已取得重大进展,但受限于手术风险、供体来源及排斥反应等问题难以在临床广泛应用^[3-5]。此外,有研究发现,胰岛 β 细胞再生可通过成体 β 细胞的自我增殖、导管前体细胞的分化、成体干细胞分化及成年 α 细胞转化等途径实现,胚胎期调控胰岛发育的相关转录因子,如胰腺十二指肠同源盒因子-1 (pancreas-duodenumhomeobox-1, PDX-1),神经元素 3 (neurogenin 3, Ngn3), NK6 转录因子相关基因座 1 (NK6 transcription factor related locus 1, Nkx6.1) 等,在此过程中起关键性作用^[6-12]。因此,本课题组设想能否通过药物在体内诱导干细胞或其他细胞分化为 β 细胞,促进胰岛 β 细胞增殖或再生,目前此方面成功的研究报道甚少。番石榴叶为桃金娘科番石榴属植物番石榴的叶子,本课题组前期实验发现番石榴叶总黄酮能明显降低链脲佐菌素(STZ)糖尿病模型小鼠血糖水平,且促进胰岛 β 细胞增殖或再生,可能为其降糖机制之一^[13]。本实验通过观察番石榴叶总黄酮对 STZ 糖尿病小鼠胰腺中 3 个与胰岛 β 细胞再生有关的相关转录因子 PDX-1, Ngn3, Nkx6.1 表达的影响,探讨番石榴叶总黄酮促进胰岛 β 细胞增殖或再生的分子机制,为治疗糖尿病提供

新的思路。

1 材料

1.1 动物 SPF 级健康雄性 BALB/c 小鼠,体重 18~22 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号 SCXK(京)2012-0001。分笼饲养于屏障级实验动物中心,每笼 5 只左右,控制温度 20~25 °C。小鼠自由摄食及饮水,食物由天津市南开医院实验动物中心提供。本动物实验经天津市医药科学研究所动物伦理委员会批准进行(编号 IMPS-EAEP-201501),实验动物符合伦理委员会规定。

1.2 药品及试剂 番石榴叶购自河北安国同义中药饮片有限公司,批号 13220422,经天津市三潭医院胡志强副主任药师鉴定为桃金娘科番石榴属植物番石榴 *Psidium guajava* 的干燥叶。STZ (Sigma 公司,批号 C8H15N307);罗康全活力型血糖试纸(罗氏公司);动物组织总 RNA 提取试剂盒,RealMasterMix (SYBR Green) (天根公司,批号分别为 03330, P4412);Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo 公司,批号 00176406);盐酸二甲双胍肠溶胶囊(君力达,北京圣永制药有限公司,国药准字 H10980064,0.25 g/粒)。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司设计、合成,PDX-1 (20 bp):上游 5'-CGGACCTTCCCGAATGGAA-3',下游 5'-TAGGCAGTACGGGTCCTCTT-3';Ngn3 (20 bp):上游 5'-AATTTACTCCAGCGCAGGGC-3',下游 5'-GGGACACTTGATGGTGAG-3';Nkx6.1 (19 bp):上游 5'-CCCGGAGTGATGCAGAGTC-3',下游 5'-ACGTGGTCTGCTGTGTTTT-3';GAPDH (20 bp):上游 5'-AATGCTGAAGCTCGGTGTGA-3',下游 5'-TGAGGTCAATGAAGGGGTCG-3'。

1.3 仪器 iQ5 型荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司);ND2000C 型超微量核酸蛋白测定仪(美国

Thermo 公司); Avanti J-30I 型高速离心机(美国 Beckman 公司); EG 1150H 型包埋机, EG 1150C 型冷动台, DM4000B 型显微镜, DM4000B 型图像采集仪, ASP 200S 型全自动组织脱水机(德国 Leica 公司); HH-2 型数显型恒温水浴锅(江苏荣华仪器制造有限公司)。

2 方法

2.1 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液配制 将蒸馏水 100 mL 中加入柠檬酸 2.1 g 配成 A 液, 将蒸馏水 100 mL 中加入柠檬酸钠 2.94 g 配成 B 液。将 A, B 液按 1:1.5 ~ 1:2 比例混合, 调节 pH 4.4, 即是所需配置 STZ 的柠檬酸缓冲液。注射时将 STZ 溶解于柠檬酸缓冲液配制为质量浓度 $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液, 配置过程避光, 按小鼠体重注射 STZ, 在 30 min 内注射完毕。

2.2 糖尿病小鼠模型制作 全部小鼠禁食(未禁水)约 15 h, 次日晨起, 称小鼠体重和经尾静脉采血检测空腹血糖作为造模前体重和血糖。雄性 BALB/c 小鼠按体重 $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 腹腔连续注射 STZ 5 d, 2 周后经小鼠尾静脉采血监测空腹血糖水平, 每隔 1 周检测 1 次, 待小鼠空腹血糖达到 $11.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 以后, 再每隔 3 d 检测 1 次, 连续 2 次空腹血糖浓度 $> 11.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为糖尿病小鼠模型成功, 3 次血糖平均值作为治疗前模型小鼠血糖。

2.3 分组 随机将造模成功的糖尿病模型小鼠分为糖尿病模型组, 番石榴叶总黄酮低剂量组, 番石榴叶总黄酮高剂量组, 二甲双胍组, 各 10 只, 另外取 10 只正常小鼠作为空白组。

2.4 番石榴叶总黄酮的提取及含量测定 番石榴叶总黄酮由天津市南开医院药理实验室经乙醇回流提取, 过滤, 减压浓缩去掉乙醇, 蒸馏, 分离, 乙酸乙酯萃取, 减压浓缩, 蒸发等步骤提取。总黄酮含量测定以芦丁为对照品, 制作标准曲线, 以紫外分光光度法在 500 nm 波长处检测吸光度 A , 根据回归方程计算供试品溶液中总黄酮为 19.8%。

2.5 给药剂量及方法 参考前期实验, 番石榴叶总黄酮灌胃剂量分别为低剂量组 $0.198 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 高剂量组 $0.396 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。二甲双胍灌胃剂量为 $0.0875 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。将番石榴叶总黄酮提取物、二甲双胍溶于蒸馏水中, 根据糖尿病模型小鼠体重于每日按 $25 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃, 连续灌胃 2 周后, 经尾静脉检测小鼠空腹血糖水平, 每隔 3 d 检测 1 次, 3 次平均值为治疗后小鼠空腹血糖。脱颈处死小鼠, 剪取胰腺组织冻存。

2.6 小鼠胰岛苏木素-伊红(HE)染色 胰腺组织置于 4% 中性甲醛(pH 7.2)溶液中固定 24 h, 常规

脱水包埋、切片, HE 染色, 封片后光镜观察胰岛病理改变。

2.7 胰岛 β 细胞再生相关转录因子 mRNA 表达检测 取小鼠新鲜胰腺组织, 按照总 RNA 提取试剂盒说明书提取总 RNA; 然后按照 Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit 说明书采用 20 μL 的反应体系 [模板 RNA 5 μL , Oligo (dt) 18 primer 1 μL , Nulease-free water 6 μL , $5 \times$ Reaction Buffer 4 μL , RiboLock RNase Inhibitor 1 μL , 10 mM dNTP Mix 2 μL , RevertAid M-MuLV RT 1 μL] 混匀、离心, 然后放入水浴箱中逆转录 cDNA, 反应条件 42 $^{\circ}\text{C}$ 60 min, 70 $^{\circ}\text{C}$ 5 min; 进行 PCR 反应, 反应条件 95 $^{\circ}\text{C}$ 10 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 60 s, 45 个循环; 以 iQ5 型荧光定量 PCR 仪测定各基因表达情况, 通过溶解曲线得到目的基因的 C_t 值, 用相对定量法分析结果。各组与空白组比较其待测基因 mRNA 的相对表达水平 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 。

2.8 统计学处理 采用 SPSS 22.0 软件包, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计量资料均数间比较采用单因素方差分析, 两组间数据比较采用 LDS- t 检验, 每组内造模及治疗前后数据比较采用配对样本 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 番石榴叶总黄酮对小鼠体重及血糖变化的影响 正常组小鼠血糖差异无统计学意义, 体重小幅增加, 为正常生理性增加。与正常组比较, 模型组小鼠的体重明显减轻, 血糖明显升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 治疗后番石榴叶总黄酮低剂量组、高剂量组血糖显著降低, 体重增加 ($P < 0.05$), 且血糖与体重变化与番石榴叶总黄酮剂量呈相关性。见表 1, 2。

3.2 番石榴叶总黄酮对小鼠胰岛组织形态学的影响 正常组小鼠胰岛为圆形或者椭圆形的细胞团, 边界清晰, 胰岛数目和胰岛内细胞数均较多, 胰岛细胞质丰富, 细胞核呈圆形且居中; 模型组小鼠胰岛数量明显减少, 体积明显变小, 细胞间质增多, 胰岛内细胞数明显减少且体积缩小, 一部分胰岛组织结构完全萎缩, 与周围的外分泌部的滤泡交错混合, 不易区分; 番石榴叶总黄酮低剂量组小鼠胰岛数量仍较少, 呈散在零星点状分布, 胰岛内细胞数量少, 体积小, 胰岛 β 细胞少见; 番石榴叶总黄酮高剂量组小鼠胰岛数量较低剂量组有所增多, 完整团块状胰岛出现, 但体积较小, 胰岛内 β 细胞数量增多; 二甲双胍组小鼠胰岛数量明显增多, 胰岛呈完整团块状分布, 胰岛内 β 细胞数量明显增多, 细胞质较丰富。见图 1。

表 1 番石榴叶总黄酮对小鼠体重变化的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of flavonoids from *Psidium guajava* leaves on changes in body weight of mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

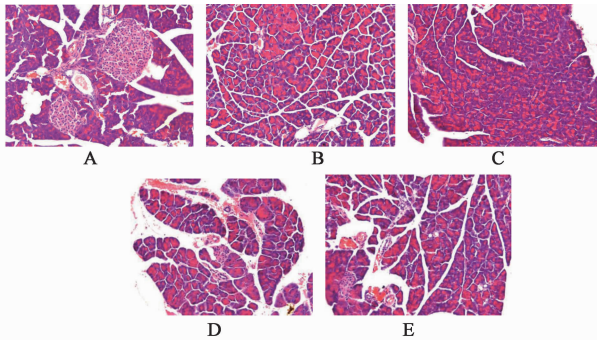
组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	造模前	造模后	治疗后
正常	-	19.33 ± 0.97	19.87 ± 1.05	20.48 ± 0.99
模型	-	19.01 ± 0.79	15.45 ± 0.83 ¹⁾	15.10 ± 0.22 ¹⁾
番石榴叶总黄酮	0.198	19.09 ± 0.80	15.46 ± 0.36 ²⁾	16.41 ± 1.25 ²⁾
	0.396	19.16 ± 0.75	14.96 ± 0.50 ²⁾	16.31 ± 0.59 ²⁾
二甲双胍	0.087 5	18.95 ± 0.82	15.13 ± 0.78 ²⁾	17.63 ± 0.74 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ (表 2 同)。

表 2 番石榴叶总黄酮对小鼠的血糖变化的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of flavonoids from *Psidium guajava* leaves on changes in blood glucose of mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	造模前	造模后	治疗后
正常	-	4.15 ± 0.82	4.03 ± 0.55	4.03 ± 0.61
模型	-	3.92 ± 0.65	16.86 ± 2.27 ¹⁾	16.66 ± 1.93 ¹⁾
番石榴叶总黄酮	0.198	3.98 ± 0.64	15.37 ± 1.69 ²⁾	11.44 ± 1.16 ²⁾
	0.396	4.23 ± 0.81	16.08 ± 2.11 ²⁾	9.51 ± 1.15 ²⁾
二甲双胍	0.087 5	4.65 ± 0.71	16.52 ± 1.83 ²⁾	8.25 ± 1.71 ²⁾



A. 正常组; B. 模型组; C. 番石榴叶总黄酮低剂量组; D. 番石榴叶总黄酮高剂量组; E. 二甲双胍组

图 1 番石榴叶总黄酮对各组大鼠胰岛病理组织形态学变化的影响 (HE, ×100)

Fig. 1 Effect of flavonoids from *Psidium guajava* leaves on islet histological changes (HE, ×100)

3.3 番石榴叶总黄酮对小鼠胰岛 β 细胞再生相关转录因子 mRNA 表达的影响

与正常组比较,模型

组小鼠胰腺组织 PDX-1, Ngn3, Nkx6.1 mRNA 表达显著降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,番石榴叶总黄酮高剂量组及二甲双胍组小鼠胰腺组织 PDX-1, Ngn3, Nkx6.1 mRNA 的表达量均明显升高 ($P < 0.05$),番石榴叶总黄酮低剂量组 Nkx6.1 mRNA 表达量明显升高 ($P < 0.05$);且 PDX-1, Ngn3, Nkx6.1 mRNA 表达量与番石榴叶总黄酮剂量呈相关性。见表 3。

4 讨论

糖尿病为常见病、多发病,其基础病理变化为胰岛 β 细胞的凋亡及功能的丧失,导致胰岛素分泌量减少。增加体内具有分泌胰岛素功能的胰岛 β 细胞数量成为治疗糖尿病最理想的方法。如果能在糖尿病早期运用某种药物激活胰岛发育相关的关键转录因子的表达,促进体内胰岛 β 细胞再生,糖尿病的治疗将发生革命性转变。

表 3 番石榴叶总黄酮对小鼠胰腺组织 PDX1, Ngn3, Nkx6.1 mRNA 相对表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of flavonoids from *Psidium guajava* leaves on PDX1, Ngn3, Nkx6.1 mRNA expressions of mice pancreatic tissues ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	PDX-1	Ngn3	Nkx6.1
正常	-	1.006 ± 0.124	1.008 ± 0.143	1.020 ± 0.227
模型	-	0.142 ± 0.322 ¹⁾	0.342 ± 0.030 ¹⁾	0.213 ± 0.036 ¹⁾
番石榴叶总黄酮	0.198	0.185 ± 0.054	0.370 ± 0.020	0.306 ± 0.035 ²⁾
	0.396	0.394 ± 0.095 ²⁾	0.480 ± 0.076 ²⁾	0.409 ± 0.039 ²⁾
二甲双胍	0.087 5	0.527 ± 0.104 ²⁾	0.643 ± 0.068 ²⁾	0.552 ± 0.072 ²⁾

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

胚胎期胰岛 β 细胞的发育是一复杂的过程,受一系列的转录因子的调控。Pdx-1, Ngn3, Nkx6.1 均为胚胎期调控胰岛发育的重要转录因子。PDX-1 是胰腺发育的“总开关”, PDX-1 的活化可诱导干细胞向胰腺定向分化与发育。研究发现, 胰腺内外分泌细胞均起源于 PDX-1 阳性前体细胞群^[14-16], 而成熟胰岛 β 细胞中 PDX-1 的失活又可导致 β 细胞功能的受损, 诱发糖尿病^[17]。这表明 PDX-1 对胰岛的发育以及成熟 β 细胞功能维持均起重要作用, PDX-1 阳性的细胞可视为胰腺前体细胞。Ngn3 阳性的细胞则可认为是胰岛前体细胞, 胰腺内表达 Ngn3 的细胞可分化为所有 5 种类型胰岛内分泌细胞, 对胰岛的内分泌细胞定向分化起关键作用^[18-19]。此外, Ngn3 还可刺激胰岛 β 细胞的增殖, 促进导管来源的 β 细胞前体细胞的增殖及向 β 细胞的分化^[19]。Nkx6.1 特异性的诱导 β 细胞发育, 是 β 细胞成熟与增殖必不可少的一个调控因子。有研究表明, 在胚胎发育时期缺少 Nkx6.1 会导致 β 细胞形成异常, 而不影响胰腺中其他细胞的分化与发育^[20], 这表明 Nkx6.1 具有高度特异性。此外, Nkx6.1 可表达于成熟 β 细胞, 以此维持其正常功能。由此得出, Pdx-1, Ngn3, Nkx6.1 与胰岛再生关系密切, 可将其视为胰岛细胞再生标志。

黄酮类化合物是番石榴叶中主要生物活性成分, 诸多研究表明, 番石榴叶黄酮提取液具有抗氧化和降血糖作用^[21-22]。本实验 HE 染色发现, 番石榴叶总黄酮治疗组胰岛数量及 β 细胞数量较模型组明显增多, 体积明显增大, 变化幅度随剂量增大而增大; PCR 结果显示, 与模型组比较, 番石榴叶总黄酮治疗组 PDX-1, Ngn3, Nkx6.1 mRNA 表达量明显升高; 实验提示胰岛及胰岛 β 细胞增殖或再生明显, 且再生程度与番石榴叶总黄酮剂量呈相关性, 再生机制与激活 Pdx-1, Nkx6.1, Ngn3 等转录因子有关。故番石榴叶总黄酮提取物能一定程度上促进胰岛 β 细胞再生, 激活胚胎期调控胰腺发育的相关转录因子 Pdx-1, Nkx6.1, Ngn3, 可能为其促进 β 细胞的再生机制之一。因此, 可以推测番石榴叶总黄酮的降糖机制与通过促进胰岛 β 细胞再生有关。胰腺 β 细胞再生的调控网络复杂, 途径繁多, 是诸多转录因子协同作用的结果, 故番石榴叶总黄酮促胰岛 β 细胞再生的具体途径仍有待深入研究; 另外实验发现, 治疗组 3 个转录因子表达量均有上调, 但与正常组比较, 仍有较大差距。因此, 番石榴叶总黄酮促胰岛 β 细胞再生的效力也有待考验。

[参考文献]

[1] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版) [J]. 中国糖尿病杂志, 2014, 22(8): 2-41.

[2] Lee D D, Grossman E, Chong A S. Cellular therapies for type 1 diabetes [J]. Horm Metab Res, 2008, 40(2): 147-154.

[3] Limbert C, Path G, Jakob F, et al. Beta-cell replacement and generation; Strategies of cell-based therapy for type 1 diabetes mellitus [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2008, 79(3): 389-399.

[4] Rother K I, Harlan D M. Challenges facing islet transplantation for the treatment of type 1 diabetes mellitus [J]. J Clin Invest, 2004, 114(7): 877-883.

[5] Matteucci E, Giampietro O. Proposal open for discussion: defining agreed diagnostic procedures in experimental diabetes research [J]. J Ethnopharmacol, 2008, 115(2): 163-172.

[6] Lee H C, Bonner-Weir S, Weir G C, et al. Compensatory adaption to partial pancreatectomy in the rat [J]. Endocrinology, 1989, 124(3): 1571-1575.

[7] Mina P, Brooke L, James L, et al. Regulation of pancreatic β -cell regeneration in the normoglycemic 60% partial-pancreatectomy mouse [J]. Diabetes, 2006, 55(12): 3289-3298.

[8] Dor Y, Brown J, Martinez O I, et al. Adult pancreatic beta-cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation [J]. Nature, 2004, 429(6987): 41-46.

[9] Thorel F, Népote V, Avril I, et al. Conversion of adult pancreatic alpha-cells to beta-cells after extreme beta-cell loss [J]. Nature, 2010, 464(7292): 1149-1154.

[10] Maria-Engler S S, Correa-Giannella M L, Labriola L, et al. Co-localization of nestin and insulin and expression of islet cell markers in long-term human pancreatic nestin-positive cell cultures [J]. J Endocrinol, 2004, 183(3): 455-467.

[11] Akinci E, Banga A, Greder L V, et al. Reprogramming of pancreatic exocrine cells towards a beta (β) cell character using Pdx1, Ngn3 and MafA [J]. Biochem J, 2012, 442(3): 539-550.

[12] 邓武权, 吴惠玲, 陈兵. 胰岛细胞的发育、再生及置换 [J]. 解放军医学杂志, 2011, 36(11): 1240-1242.

[13] 郭胜男, 刘洪斌, 李东华, 等. 番石榴叶总黄酮对糖尿病小鼠肝脏葡萄糖代谢及胰岛素信号通路的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(4): 166-170.

[14] Moibi J A, Gupta D, Jetton T L, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma regulates

expression of PDX-1 and NKX6.1 in INS-1 cells [J]. Diabetes, 2007, 56(1):88-95.

[15] 唐小龙, 郭敏, 张涓, 等. PDX1 与 NeuroD1 联合诱导 L02 细胞 NKX6.1 和 GLUT2 的表达 [J]. 中国病理生理杂志, 2009, 25(1):163-167.

[16] Kaneto H, Nakatani Y, Miyatsuka T, et al. PDX-1/VP16 fusion protein, together with NeuroD or Ngn3, markedly induces insulin gene transcription and ameliorates glucose tolerance [J]. Diabetes, 2005, 54(4):1009-1022.

[17] Fujitani Y, Fujitani S, LUO H, et al. Ptf1a determines horizontal and amacrine cell fates during mouse retinal development [J]. Development, 2006, 133(22):4439-4450.

[18] Desgraz R, Herrera P L. Pancreatic neurogenin 3-expressing cells are unipotent islet precursors [J]. Development, 2009, 136(21):3567-3574.

[19] Gerrish K, Van Velkinburgh J C, Stein R. Conserved transcriptional regulatory domains of the pdx-1 gene [J]. Mol Endocrinol, 2004, 18(3):533-548.

[20] Hald J, Sprinkel A E, Ray M, et al. Generation and characterization of Ptf1a antiserum and localization of Ptf1a in relation to Nkx6.1 and Pdx1 during the earliest stages of mouse pancreas development [J]. J Histochem Cytochem, 2008, 56(6):587-595.

[21] 林燕如, 丁利君. 番石榴叶中黄酮类物质提取及其抗氧化性研究 [J]. 现代食品科技, 2007, 23(10):58-61.

[22] 王波, 黄承钰, 王烨源, 等. 番石榴叶水提取物对糖尿病小鼠胰岛形态结构和功能的影响 [J]. 卫生研究, 2009, 38(5):613-616.

[责任编辑 张丰丰]

《中国实验方剂学杂志》2016 年度优秀论文获奖名单

题目	作者	单位	刊期
苦参碱凝胶剂的制备及体外释药特性考察	徐和, 戴领, 沈成英, 白金霞, 申宝德, 袁海龙	成都中医药大学药学院	201401
炎琥宁联合阿奇霉素治疗小儿支原体肺炎的疗效及安全性的 Meta 分析	罗钦宏, 梁锦枝, 黄艳琼, 古子娟	广州中医药大学	201401
肝郁、脾虚和肝郁脾虚证模型大鼠下丘脑-垂体-甲状腺轴功能的变化及柴疏四君子汤的作用	赵荣华, 谢鸣, 李聪, 张敬升, 刘进娜, 王帮众	北京中医药大学基础医学院	201402
中药联合抗风湿药治疗类风湿性关节炎活动期的临床观察	马进, 陈岷, 李获, 陈璐, 卢喆	四川省人民医院	201405
多枝雾水葛化学成分	刘旭阳, 谢郁峰, 张慧, 刘天竹, 文畅, 郭丽冰	广东药学院中药学院	201406
复方血栓通胶囊抗血栓作用的实验研究	聂勇胜, 文思, 刘静, 黄萍, 吴清和, 操红缨	广州中医药大学	201408
女贞子化学成分与药理作用研究进展	刘亭亭, 王萌	天津中医药大学	201414
柴蝎丹参汤对气滞血瘀型不稳定型心绞痛患者炎症细胞因子的影响	黄柳向, 程丑夫, 王敏	湖南中医药大学第一附属医院	201501
桃红四物汤对早期闭合性骨折祛瘀生新作用的初步探讨	季兆洁, 韩岚, 彭代银, 陈卫东, 李珊珊, 周贞贞, 朱光宇	安徽中医药大学药学院, 等	201503
黄芪药材中黄芪甲苷 UPLC-ELSD 含量测定方法的优化	刘和平, 彭招华, 张润容, 黄静, 黄文漳, 曹晖	丽珠医药集团国家中药现代化工程技术研究中心	201505

注:2016 年获奖论文产生自 2014—2015 年发表的较高被引论文(年总被引频次前 100 名),经责任编辑推荐,平衡不同栏目,同行编委评选,编委会年会通过并公布。按刊出时间排序。