

# 黄芪六一汤对 2 型糖尿病模型大鼠 肾小管上皮葡萄糖重吸收的作用

许燕玲, 郑媛嘉, 李振, 温丽敏, 郭文峰\*  
(广州中医药大学脾胃研究所, 广州 510405)

**[摘要]** **目的:**观察黄芪六一汤对糖尿病大鼠血糖、糖化血红蛋白、血脂及肾小管上皮钠-葡萄糖共转运蛋白 2(SGLT2)的作用,探讨该方治疗糖尿病的疗效及其可能的作用机制。**方法:**将 77 只 SPF 级 SD 大鼠按体重随机分为 6 组,分别为正常组,模型组,二甲双胍组(0.15 g·kg<sup>-1</sup>),黄芪六一汤低、中、高剂量组(3.15, 6.30, 12.60 g·kg<sup>-1</sup>);糖尿病模型复制方法采用高脂高糖喂养 28 d 后,40 mg·kg<sup>-1</sup>体重剂量链脲佐菌素(STZ)腹腔注射造模。STZ 注射后第 7 天开始分别给予相应治疗药物灌胃,正常组、模型组同法灌胃相应体积的水。连续灌胃给药治疗 6 周,每周 1 次,禁食 6 h 后尾静脉取血测血糖,末次给药后禁食 12 h 后,给大鼠进行尾静脉取血测血糖,然后麻醉大鼠,腹腔静脉取血,处死动物后留取取肾、胰腺做病理切片苏木素-伊红(HE)染色检查。观察血糖、糖化血红蛋白、血脂四项、体重、进食量、肾组织 SGLT2 蛋白表达等指标。**结果:**各造模组的血糖均高于正常组( $P < 0.01$ ),血糖  $> 13.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。经过 6 周自行恢复后,模型组血糖仍显著高于正常组( $P < 0.01$ );二甲双胍组、黄芪六一汤中、高剂量组血糖均明显低于模型组( $P < 0.05$ )。模型组的糖化血红蛋白升高,高于正常组( $P < 0.01$ ),与模型组比较,二甲双胍、黄芪六一汤高剂量组糖化血红蛋白明显低于模型组( $P < 0.05$ )。造模组大鼠胰腺病理切片 HE 染色可见胰岛结构完整,说明本实验中并未造成胰岛的完全破坏。肾脏病理切片可见,各组大鼠肾脏肾小球、集合小管、近端及远端小管的结构完整,未见明显病理损害。各给药组大鼠肾组织 SGLT2 蛋白表达均有所降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。**结论:**高糖高脂饮食合并腹腔注射 STZ 致糖尿病大鼠模型肾组织 SGLT2 蛋白表达增高,黄芪六一汤能降低实验性糖尿病模型大鼠血糖、糖化血红蛋白,有降低模型大鼠肾组织中 SGLT2 蛋白表达的作用。部分抑制肾小管上皮葡萄糖重吸收可能是黄芪六一汤治疗糖尿病的作用之一。

**[关键词]** 糖尿病; 黄芪六一汤; 血糖; 糖化血红蛋白; 钠-葡萄糖共转运蛋白 2

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)11-0114-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017110114

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170309.1012.020.html>

**[网络出版时间]** 2017-03-09 10:12

## Effect of Huangqi Liuyi Tang on Glucose Re-absorption Via Renal Tubular Epithelial Cells in Type 2 Diabetes Model Rats

XU Yan-ling, ZHENG Yuan-jia, LI Zhen, WEN Li-min, GUO Wen-feng\*

(Piwei Insitute, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effect of Huangqi Liuyi Tang on diabetic rats' blood glucose, glycosylated hemoglobin, blood lipid and the renal tubular epithelial reabsorption of glucose transporter 2 (SGLT2), and explore its efficacy and possible mechanism in the treatment of diabetes. **Method:** The 77 SPF rats were randomly divided into 6 groups by weight: normal control group, model group, metformin group (0.15 g·kg<sup>-1</sup>), Huangqi Liuyi Tang low, middle and high dose groups (3.15, 6.30, 12.60 g·kg<sup>-1</sup>). Diabetes models were established by using high fat and high glucose diet for 28 days and then with intraperitoneal injection of

**[收稿日期]** 20161212(010)

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(81072753)

**[第一作者]** 许燕玲,在读硕士,从事中西医结合基础研究工作,Tel:020-36585080,E-mail:1183512027@qq.com

**[通讯作者]** \*郭文峰,博士,副教授,从事中西医结合基础研究工作,Tel:020-36585080,E-mail:guowenfeng@gzucm.edu.cn

streptozotocin at the dose of  $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  body weight. 7 days after STZ injection, corresponding drugs were given by gavage. Equivalent volume of water was given in the normal control group and model control group by the same method. Gavage medication lasted for six weeks, once a week. Venous blood from the tails was collected to measure blood glucose after 6-hour fasting; after fasting 12-hour at the last time of gavage, the venous blood from the tails was taken for blood glucose and then the rats were anaesthetized to collect the abdominal venous blood. The kidney and pancreas were taken for histopathological examination after the rats were sacrificed. The blood glucose, glycosylated hemoglobin, blood lipid, body weight, food intake, and the expression of renal tissue SGLT2 were observed. **Result:** The blood glucose levels in modeling groups were higher than those in normal control group ( $P < 0.01$ ), with a blood glucose value  $> 13.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ . After six weeks self-healing, the blood glucose level in model group was still significantly higher than that of normal control group ( $P < 0.01$ ); the blood glucose levels in metformin group, Huangqi Liuyi Tang in middle and high dose groups were lower than that in model group ( $P < 0.05$ ). Glycosylated hemoglobin level was increased in model group and higher than that in the normal control group ( $P < 0.01$ ). As compared with the model group, glycosylated hemoglobin level was decreased in metformin group and the Huangqi Liuyi Tang high dose group ( $P < 0.05$ ). In the pancreas pathological HE staining in model rats, complete pancreas islet structure was seen, indicating that islet was not destroyed completely in this experiment. Renal pathological slices showed that the structures of renal glomerulus, collections, tubular, proximal and distal tubule were complete in all groups, with no obvious pathological damages. After treatment, SGLT2 protein expression levels were reduced in various treatment groups ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** High sugar and high fat diet with intraperitoneal injection of STZ increased SGLT2 protein expression in kidney tissues of diabetic models. Huangqi Liuyi Tang can reduce blood glucose, glycosylated hemoglobin, and lower SGLT2 protein expression in diabetes model rats. Its treatment efficacy for diabetes may be associated with partial inhibition of renal tubular epithelial reabsorption of glucose.

[**Key words**] diabetes; Huangqi Liuyi Tang; blood glucose; glycosylated hemoglobin; sodium-glucose transport protein-2 (SGLT2)

糖尿病已成为一个巨大且越来越突出的全球健康问题。据国际糖尿病联盟 (IDF) 估计, 目前全球有 3.82 亿人患有糖尿病, 预计到 2035 年, 全球糖尿病患者人数可能高达 5.92 亿。而我国年龄标化的糖尿病患病率为 9.7%, 糖尿病前期患病率为 15.5%, 目前有 9 240 万成年人患病, 1.48 亿成年人处于糖耐量降低阶段, 成为糖尿病庞大的后备军 (资料来源为 2012 年 8 月 29 日—2012 年 9 月 1 日中华医学会第十一次全国内分泌年会 (糖尿病) 学术报告), 糖尿病已成为继心脑血管疾病、肿瘤之后的第 3 位严重危害人体健康的慢性非传染性疾病<sup>[1-2]</sup>。

中医药是糖尿病常用且疗效确切的辅助治疗手段。黄芪六一汤出自《太平惠民和剂局方》, 由黄芪、甘草 2 药组成, 原书记载本方“治男子、妇人诸虚不足, 肢体劳倦, 胸中烦悸, 时常焦渴, 唇口干燥, 能饮食。”因其药性相对平和, 寒热偏颇不明显, 因此在各证型中均为常用药味, 通过辨证加减可用于消渴不同证型, 成为消渴辨治的常用药及基础用药。现代著名中医学家姚国美在论治“三消”经验中记

载, “若大便如常, 小便清利, 脉虚而弱, 乃气虚不能输部津液, 宜黄芪六一散益气生津……”有研究者观察了黄芪六一汤对糖尿病大鼠血糖及胰腺的影响, 结果发现该方能显著降低糖尿病大鼠空腹血糖、糖化血红蛋白, 升高血清胰岛素水平, 且能改善胰岛损害<sup>[3]</sup>。其他黄芪六一汤治疗糖尿病的相关研究并不多见, 但本方仅由黄芪和甘草 2 味药物组成。单味药黄芪对糖尿病治疗作用的研究报道表明其具有降血糖、利尿、增强免疫力等作用, 其中黄芪总苷作为黄芪的重要药效成分, 众多研究证实其对肾脏及肾小球系膜细胞具有一定的保护作用, 能显著抑制高糖诱导的肾小球系膜细胞的异常增生肥厚, 从而抑制肾小球肥大和高滤过率<sup>[4-5]</sup>。甘草的粗提物或黄酮成分、甘草酸等化学成分能有效降低高脂饲料喂养的链脲霉素性糖尿病血糖值并改善葡萄糖耐量, 有效降低高血糖和糖化血红蛋白、血清胆固醇和三酰甘油水平等, 并能防止血清胰岛素水平的不足, 提高葡萄糖耐量及胰岛细胞数<sup>[6-9]</sup>。

本研究拟从影响肾小管上皮葡萄糖重吸收作用

方面探讨黄芪六一汤对高脂高糖饮食合并链脲佐菌素 (STZ) 腹腔注射诱导的糖尿病大鼠模型的治疗作用。

## 1 材料

**1.1 动物** 雄性 SPF 级 SD 大鼠 77 只, 体重 180 ~ 220 g, 鼠龄 6 ~ 8 周, 广州中医药大学实验动物中心, 许可证号 SYXK(粤)2013-0001。研究获得广州中医药大学实验动物伦理委员会审核批准。标准化饲养房笼子喂养, 以正常颗粒饲料喂养, 自由饮水。饲养环境温度 18 ~ 26 °C, 室内湿度保持 50% ~ 70%。每天光照时间为 8:00 ~ 22:00。

**1.2 药物及试剂** 黄芪六一汤由黄芪、甘草组成, 经广州中医药大学童家骅副教授鉴定分别为黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* 的干燥根, 甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 的干燥根和根茎, 根据现代处方用药及临床用药经验, 确定黄芪 60 g, 甘草 10 g, 药材总用量 70 g 为成人日用量, 并依据体表面积折算实验动物用量为本次研究的中剂量组剂量。以上 2 味药物按 6:1 比例混合, 纯水浸泡 30 min 后, 依次 6, 5, 4 倍量水煎 3 次, 3 次混合, 于旋转蒸发仪 75 °C 恒温下旋转蒸发浓缩至最终质量浓度 1.26 kg·L<sup>-1</sup> (1.26 g·mL<sup>-1</sup>) 的浓缩液, 冰箱储存, 临用时用蒸馏水配制成相应的浓度灌胃给药。盐酸二甲双胍 (中美上海施贵宝制药公司, 批号 AAA6009); STZ (美国 Sigma 公司, 批号 20151106490); 苏木素-伊红 (HE) 染色液 (北京雷根生物技术有限公司, 批号 1024A15); 多聚甲醛及生物素化二抗 (美国 Sigma 公司, 批号分别为 2015480, 19700160); DAB 显色剂 (碧云天公司, 批号 P0203); SGLT2 抗体 (英国 Abcam 公司, 批号 GR45438-1); 葡萄糖 (GLU), 总胆固醇 (TCHO), 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) (南京建成生物工程研究所, 批号分别为 20150804147, 20151106, 20151104, 20151103, 20151105); 大鼠 GhbA1c 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 试剂盒 (上海泛柯实业有限公司, 批号 201509)。普通饲料由广州中医药大学实验动物中心提供, 高脂高糖饲料购置广州市花都区信华实验动物养殖场, 配方为小麦 20%, 玉米 41%, 麸皮 15%, 豆粕 20%, 骨粉 2%, 鱼粉 2%, 猪油 15%, 蔗糖 20%, 蛋黄 6% (均为质量分数), 即普通饲料 59%, 猪油 15%, 蔗糖 20%, 蛋黄 6%。级别: 钴 60 辐射消毒。规格: 2 kg/袋, 真空包装。

**1.3 仪器** A15 型全自动生化仪 (西班牙 Biosystems

S. A 公司), 680 型酶标仪 (美国 Bio-Rad 公司), ACCU-CHEK Performa 型血糖仪 (德国 Roche 公司), XIR 型低温离心机 (美国 Thermo Scientific 公司)。

## 2 方法

**2.1 造模及分组** 本研究糖尿病大鼠模型参照文献 [10] 并经前期实验确定 STZ 剂量及造模、给药周期。SPF 级 SD 大鼠 77 只, 适应性饲养 3 d 后, 随机分组, 随机选择 13 只作为正常组, 给予基础饲料, 其余 64 只给予高脂高糖喂养。大鼠分别饲料喂养前测血糖, 然后各造模组高脂高糖饲料喂养 4 周, 隔日测量大鼠体重, 每天称量计算大鼠平均进食量, 4 周后大鼠禁食不禁水 12 h, 造模组大鼠腹腔注射 STZ (40 mg·kg<sup>-1</sup>, 用柠檬酸缓冲液注射前配制), 正常组腹腔注射柠檬酸缓冲液。注射 72 h 后, 尾静脉取血测定随机血糖, 随机血糖 > 13.0 mmol·L<sup>-1</sup> 作为大鼠糖尿病模型造模成功的参考标准。造模成功的大鼠随机分为模型组、二甲双胍组、黄芪六一汤低、中、高剂量组。

**2.2 分组治疗** 根据“常用实验动物及人的体表面积比例”计算大鼠灌胃给药量。黄芪六一汤高、中、低剂量组分别以 12.60, 6.30, 3.15 g·kg<sup>-1</sup> 体重灌胃给以黄芪六一汤水煎液, 二甲双胍组以 150 mg·kg<sup>-1</sup> 体重灌胃盐酸二甲双胍水溶液, 正常组和模型组给予灌胃等体积的水, 连续灌胃给药 6 周。

**2.3 动物处理** 实验过程中, 每天记录大鼠体重与平均进食量。每周尾静脉取血测定 1 次血糖。实验结束时, 禁食 12 h 后对大鼠进行称重、麻醉。常规方法解剖, 腹腔静脉取血, 分别抗凝分离血浆, 非抗凝血分离留取血清, 4 °C 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min, 离心管分装, 置于超低温冰箱 -80 °C 储存待测相应指标。分离脏器, 摘除大鼠胰腺和肾脏, 用生理盐水浸洗, 滤纸擦干, 称质量记录后, 取胰腺浸于 4% 多聚甲醛, 肾脏剥离表面膜, 冠状面切成两半, 一半浸于 4% 多聚甲醛, 肾脏取两小块分别存于冻存管中, 置于 -80 °C 超低温冰箱保存。

### 2.4 指标检测

**2.4.1 大鼠体重与平均进食量** 大鼠适应性饲养 3 d, 测空腹血糖, 然后造模组大鼠高脂高糖喂养 4 周, 正常组普通饲料喂养。每日记录大鼠体重及平均进食量。4 周后, 大鼠 STZ 腹腔注射前禁食 12 h 过夜测空腹血糖, STZ 腹腔注射 72 h 后测随机血糖, 去除血糖值 < 13.0 mmol·L<sup>-1</sup> 的大鼠, 1 周后再测空腹血糖, 空腹血糖 > 7.0 mmol·L<sup>-1</sup> 为造模成功, 大鼠开始分组灌胃给药。

**2.4.2 大鼠糖化血红蛋白检测** 大鼠灌胃 6 周后,大鼠处死,取大鼠血清,ELISA 方法测糖化血红蛋白。

**2.4.3 大鼠血脂四项的检测** 取大鼠血浆全自动生化分析仪测定血浆总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇及低密度脂蛋白胆固醇。

**2.4.4 免疫组化检测大鼠肾小管上皮葡萄糖重吸收转运蛋白 SGLT2 表达** 采用 SABC 法,Image J 软件计算相对表达量,进行组间比较。取肾脏组织,4% 多聚甲醛固定。制作蜡块、切片、贴片。然后将切片进行脱蜡、水化,抗原修复后,正常山羊血清封闭,滴加 SGLT2 一抗,4 ℃ 过夜,PBS 洗涤后,滴加生物素化二抗,37 ℃ 20 min,PBS 洗后滴加 SABC,于 37 ℃ 20 min,PBS 洗后 DAB 显色,蒸馏水洗后,苏木素复染后脱水、透明、封片、镜检拍照,计算蛋白表达积分吸光度 IA 的相对值。

**2.4.5 大鼠胰腺胰岛组织苏木素-伊红(HE)染色观测** 实验结束时,放血处死大鼠,摘取胰腺组织,10% 甲醛固定,常规石蜡包埋,病理切片,HE 染色,

光镜观察胰岛形态。

**2.5 统计学分析** 采用 SPSS 16.0 统计软件进行统计分析,计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,多样本均数间比较采用单因素方差分析,方差齐性时,采用 LSD 法,S-N-K-C 法,方差不齐时,采用 Games-Howell 检测,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对糖尿病大鼠体重的影响** 实验前各组大鼠体重相当,正常组大鼠体重持续上升,各造模组给予高脂高糖饲料喂养后,体重增长速度不如正常饲料喂养组,经过 4 周高脂高糖饲料喂养后,各造模组大鼠体重低于正常组 ( $P < 0.05$ );STZ 注射后各造模组大鼠造模后体重均下降,然后逐渐趋于平稳,各组体重均明显低于正常组 ( $P < 0.01$ ),各给药组并未见明显改善实验动物体重减轻的趋势。STZ 造模后造模组进食量明显增加,且伴随饮水量增多及尿量多,与临床糖尿病“三多一少”的典型症状完全符合。见表 1。

表 1 黄芪六一汤对糖尿病模型大鼠体重的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	实验前	STZ 注射前	治疗第 3 周	治疗第 6 周
正常	-	203.6 ± 10.8	407.5 ± 34.8	472.9 ± 40.1	491.3 ± 42.5
模型	-	204.0 ± 10.7	384.5 ± 27.5	302.6 ± 38.8 <sup>2)</sup>	295.5 ± 37.0 <sup>2)</sup>
二甲双胍	0.15	207.0 ± 11.9	379.1 ± 23.3 <sup>1)</sup>	298.1 ± 36.7 <sup>2)</sup>	284.9 ± 45.6 <sup>2)</sup>
黄芪六一汤	3.15	199.2 ± 8.9	392.5 ± 27.4	303.5 ± 41.9 <sup>2)</sup>	296.9 ± 41.0 <sup>2)</sup>
	6.30	202.5 ± 13.3	372.3 ± 31.2 <sup>1)</sup>	313.9 ± 56.0 <sup>2)</sup>	299.5 ± 55.0 <sup>2)</sup>
	12.60	200.5 ± 8.1	367.7 ± 32.7 <sup>1)</sup>	274.1 ± 35.8 <sup>2)</sup>	263.7 ± 39.3 <sup>2)</sup>

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

**3.2 对糖尿病大鼠血糖的影响** 高脂高糖喂养 4 周后各组血糖没有明显变化。腹腔注射 STZ 造模后,与正常组比较,各造模组血糖显著升高 ( $P < 0.01$ );治疗第 3 周,与模型组比较,二甲双胍组血糖明显降低 ( $P < 0.05$ );中药治疗组血糖均有不同程

度降低,其中黄芪六一汤中剂量组血糖显著降低 ( $P < 0.05$ )。治疗第 6 周,与模型组比较,各治疗组血糖均有降低,二甲双胍组血糖显著降低 ( $P < 0.05$ );黄芪六一汤中、高剂量组血糖明显低于模型组 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 黄芪六一汤对糖尿病模型大鼠血糖的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	实验前	STZ 注射前	治疗第 3 周	治疗第 6 周
正常	-	6.0 ± 0.5	6.6 ± 1.1	5.8 ± 0.8	4.8 ± 0.3
模型	-	6.3 ± 0.7	30.7 ± 3.9 <sup>1)</sup>	28.2 ± 4.5 <sup>1)</sup>	28.4 ± 5.0 <sup>1)</sup>
二甲双胍	0.15	6.2 ± 0.7	33.0 ± 0.8 <sup>1)</sup>	17.4 ± 7.2 <sup>2)</sup>	17.2 ± 5.5 <sup>2)</sup>
黄芪六一汤	3.15	6.2 ± 0.8	30.9 ± 3.1 <sup>1)</sup>	23.8 ± 4.1	25.2 ± 4.8
	6.30	6.4 ± 0.6	30.6 ± 5.3 <sup>1)</sup>	21.8 ± 4.9 <sup>2)</sup>	20.2 ± 5.3 <sup>2)</sup>
	12.60	6.0 ± 0.5	32.1 ± 2.4 <sup>1)</sup>	23.4 ± 4.4	18.9 ± 4.6 <sup>2)</sup>

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

**3.3 对糖尿病大鼠糖化血红蛋白的影响** 模型组糖化血红蛋白检测值显著高于正常组 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较,各治疗组糖化血红蛋白均有不同程度降低,其中二甲双胍、黄芪六一汤高剂量组糖化血红蛋白明显低于模型组 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

**3.4 对糖尿病大鼠血脂的影响** 高脂高糖喂养合并 STZ 腹腔注射所复制的糖尿病模型大鼠, TCHO, TG, HDL-C 与 LDL-C 均没有明显改变,黄芪六一汤低、中、高剂量及二甲双胍在本次实验中对糖尿病模型大鼠的血脂也没明显影响。见表 4。

**3.5 对高脂高糖合并 STZ 造模的糖尿病大鼠胰腺的影响** 从图中可见,正常组胰腺结构完整,有散

表 3 黄芪六一汤对糖尿病模型大鼠糖化血红蛋白的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Table 3 Effect of Huangqi Liuyi Tang on glycated hemoglobin in rats of diabetic model ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	糖化血红蛋白/nmol·L <sup>-1</sup>
正常	-	1 311.75 ± 261.74
模型	-	1 635.02 ± 324.51 <sup>1)</sup>
二甲双胍	0.15	1 352.54 ± 134.82 <sup>2)</sup>
黄芪六一汤	3.15	1 612.07 ± 248.71
	6.30	1 557.73 ± 184.45
	12.60	1 353.77 ± 201.77 <sup>2)</sup>

表 4 黄芪六一汤对糖尿病模型大鼠 TCHO, TG, HDL-C 与 LDL-C 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Table 4 Effect of Huangqi Liuyi Tang on TCHO, TG, HDL-C and LDL-C in rats of diabetic model ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ ) mmol·L<sup>-1</sup>

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	TCHO	TG	HDL-C	LDL-C
正常	-	1.40 ± 0.28	0.70 ± 0.15	1.06 ± 0.19	0.40 ± 0.16
模型	-	1.44 ± 0.59	0.50 ± 0.32	1.17 ± 0.39	0.35 ± 0.17
二甲双胍	0.15	1.17 ± 0.20	0.43 ± 0.20	0.98 ± 0.17	0.39 ± 0.11
黄芪六一汤	3.15	1.30 ± 0.39	0.43 ± 0.27	1.08 ± 0.31	0.38 ± 0.18
	6.30	1.43 ± 0.42	0.49 ± 0.20	1.07 ± 0.29	0.44 ± 0.12
	12.60	1.34 ± 0.26	0.41 ± 0.21	1.14 ± 0.12	0.37 ± 0.12

在的胰岛结构,模型组未见明显胰腺组织的损害,仍有胰岛结构可见,各给药组胰腺结构未见明显异常,散在胰岛结构依旧可见。说明本次实验 40 mg·kg<sup>-1</sup>体重剂量 STZ 对大鼠并未造成胰岛的完全破坏,该动物模型类似于 2 型糖尿病的临床特征。见图 1。

**3.6 对高脂高糖合并 STZ 造模的糖尿病大鼠肾脏的影响** 各组大鼠肾脏肾小球、集合小管、近端及远端小管的结构基本完整,除了偶见肾小管上皮空泡化变,余未见明显病理损害。可见本次实验中,40 mg·kg<sup>-1</sup>体重剂量的 STZ 对大鼠肾脏并未造成明显实质性损害,各药物治疗组也无明显肾脏毒性。见图 2。

**3.7 对高脂高糖合并 STZ 造模的糖尿病大鼠肾小管上皮葡萄糖重吸收转运蛋白 SGLT2 的影响** 本研究采用免疫组化方法观察各组对肾小管上皮 SGLT2 蛋白表达的影响。高糖高脂饮食合并腹腔注射 STZ 致糖尿病大鼠模型肾组织葡萄糖转运体蛋白表达增高 ( $P < 0.01$ ),经过治疗,各给药组大鼠肾组织 SGLT2 表达均有所降低,其中作用较为明显的是黄芪六一汤高剂量组,能明显降低模型大鼠肾组

织中 SGLT2 表达的作用 ( $P < 0.01$ )。见图 3。

表 5 黄芪六一汤对糖尿病模型大鼠肾小管上皮 SGLT2 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

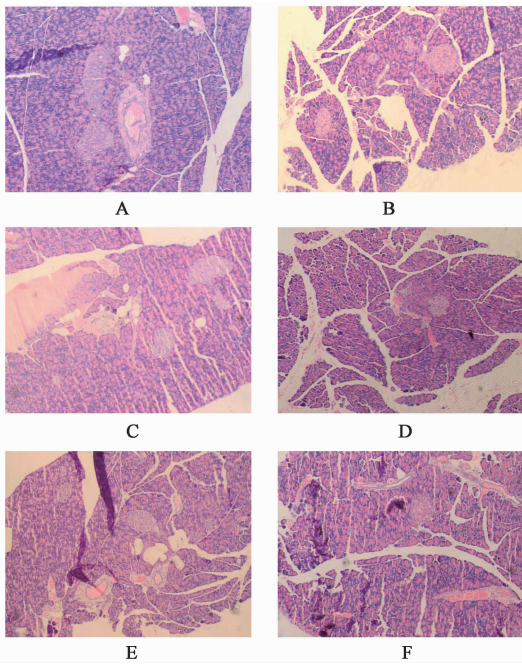
Table 5 Effect of Huangqi Liuyi Tang on expression of renal tubular epithelium SGLT2 in rats of diabetic model ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	SGLT2/%
正常	-	1.52 ± 0.23
模型	-	2.08 ± 0.40 <sup>1)</sup>
二甲双胍	0.15	1.87 ± 0.26
黄芪六一汤	3.15	1.75 ± 0.35 <sup>2)</sup>
	6.30	1.78 ± 0.28 <sup>2)</sup>
	12.60	1.62 ± 0.19 <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>  $P < 0.01$ 。

#### 4 讨论

SGLT2 抑制剂是近年来治疗 2 型糖尿病的非胰岛素依赖有效新型疗法及研究热点之一。健康成人每天大概有 180 g 葡萄糖从肾小球滤过,滤过的葡萄糖几乎都被近曲小管细胞膜表面的葡萄糖转运蛋白重吸收。如果滤过的葡萄糖量超过了这些转运蛋白所能负载的重吸收量,那么就会出现糖尿<sup>[11]</sup>。



A. 正常组; B. 模型组; C. 二甲双胍组; D. 黄芪六一汤 3.15 g·kg<sup>-1</sup>组; E. 黄芪六一汤 6.30 g·kg<sup>-1</sup>组; F. 黄芪六一汤 12.60 g·kg<sup>-1</sup>组(图 2, 3 同)

图 1 黄芪六一汤对糖尿病模型大鼠胰腺组织病理学的影响(HE, ×200)

Fig.1 Effect of Huangqi Liuyi Tang on pancreatic tissue pathology in rats of diabetic model(HE, ×200)

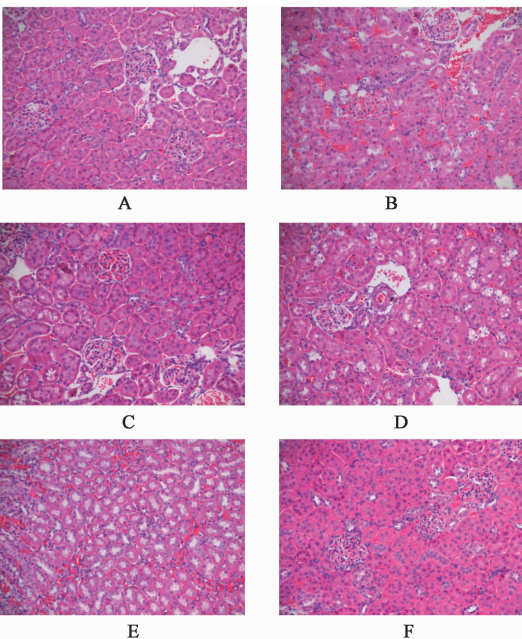


图 2 黄芪六一汤对糖尿病模型大鼠肾组织病理学的影响(HE, ×200)

Fig.2 Effect of Huangqi Liuyi Tang on nephridial tissue pathology in rats of diabetic model(HE, ×200)

SGLT2 是肾小管上皮葡萄糖重吸收的关键转运蛋白, SGLT2 抑制剂正是作用在肾近曲小管上的葡萄

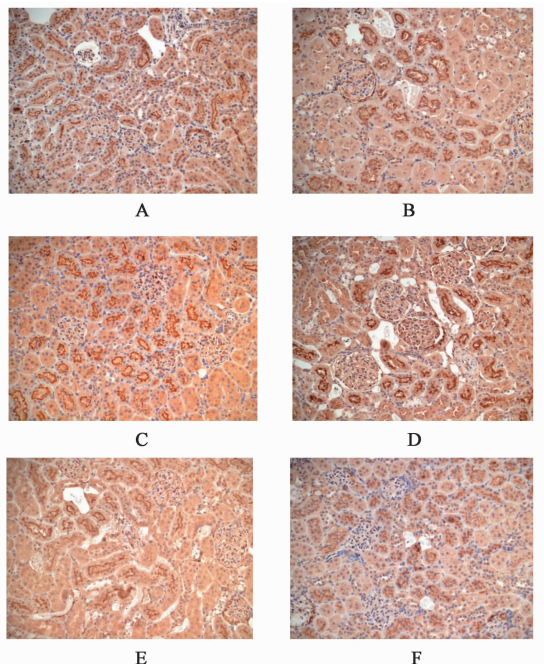


图 3 黄芪六一汤对糖尿病模型大鼠肾小管上皮 SGLT2 蛋白表达的影响(免疫组化, ×200)

Fig.3 Effect of Huangqi Liuyi Tang on SGLT2 expression of renal tubular epithelium in rats of diabetic model(IHC, ×200)

糖转运体, 通过部分地抑制经由 SGLT2 的葡萄糖重吸收, 使一部分葡萄糖从尿液中排出, 而达到降低血糖的作用。2015 年美国糖尿病协会诊疗标准首次将 SGLT2 抑制剂列入二线治疗药物之一。SGLT2 抑制剂可降低 HbA1c 0.5% ~ 7%, 低血糖的风险较低, 还可减轻体重、降低血压、降低血尿酸水平和白蛋白尿<sup>[12-13]</sup>。

黄芪六一汤是中医临床治疗消渴的常用方剂。黄芪六一汤在《太平惠民和剂局方》中所描述主治病症, 当为消渴病, 多属现代医学糖尿病范畴。姚国美在论治“三消”经验中记载, “若大便如常, 小便清利, 脉虚而弱, 乃气虚不能输部津液, 宜《宣明》黄芪六一汤益气生津……。”黄芪、甘草二药广泛见于诸多医家消渴临证验案。现有研究表明黄芪六一汤对实验性糖尿病动物模型具有降低血糖的作用, 现有研究表明其降血糖作用靶点并不明确, 可能与多个环节相关<sup>[3]</sup>。本次实验研究拟观察其降血糖的作用及其是否可能与抑制肾小管葡萄糖重吸收有关。

黄芪六一汤能益气生津, 是治疗消渴的基础方, 对 2 型糖尿病具有辅助治疗作用。现代药理研究表明黄芪具有降血糖、利尿、增强免疫力等作用, 其中黄芪总苷作为黄芪有效提取成分之一已被多次证实其对肾脏及肾小球系膜细胞具有一定的保护作用, 能显著抑制高糖诱导的肾小球系膜细胞的异常增生

肥厚,从而抑制肾小球肥大和高滤过率<sup>[4-5]</sup>,肾小管上皮细胞葡萄糖重吸收降低,增加尿液的排出量。甘草的粗提物或黄酮成分、甘草酸等化学成分能有效降低高脂饲料喂养的 STZ 性糖尿病血糖值并改善葡萄糖耐量,有效降低高血糖和糖化血红蛋白、血清胆固醇和三酰甘油水平等,并能防止血清胰岛素水平的不足,提高葡萄糖耐量及胰岛细胞数<sup>[6-9]</sup>。黄芪、甘草 2 味药配伍成方,成为临床治疗糖尿病的基础方剂,虽然有大量的针对该方的临床及实验研究,但其益气生津作用的现代科学机制尚未得到明确阐释。

本实验研究结果表明,黄芪六一汤对高脂高糖饲养合并 STZ 腹腔注射所致的糖尿病大鼠模型具有降血糖、降低糖化血红蛋白的作用。高糖高脂饮食合并腹腔注射 STZ 致糖尿病大鼠模型肾组织 SGLT2 表达增高。导致模型大鼠肾小管上皮 SGLT2 表达增加的原因可能是因为模型动物血糖升高,肾小球滤过的葡萄糖量增加,进而导致需要从肾小管重吸收的葡萄糖量增加。而 SGLT2 作为肾小管上皮葡萄糖重吸收的关键转运蛋白,为了重吸收更大量的原尿中的葡萄糖,必然会导致肾小管上皮中葡萄糖转运蛋白表达增加。黄芪六一汤对 2 型糖尿病模型大鼠的降血糖、降低糖化血红蛋白作用,依据现有研究报道,尚且无法明确确定该方药的作用机制。本次研究观察到黄芪六一汤有降低模型大鼠肾组织中 SGLT2 表达的作用。现有 SGLT2 抑制剂按其结构主要分为 O-芳基抑制剂, C-芳基抑制剂, S-糖苷抑制剂和 N-糖苷抑制剂,目前研究较多的为 O-芳基抑制剂和 C-芳基抑制剂。黄芪和甘草 2 药均含有大量的皂苷类成分,该类成分的降血糖作用已有众多研究证实<sup>[14-20]</sup>。结合本次研究观察所见,笔者推测黄芪六一汤降血糖的作用,可能与部分抑制肾小管上皮葡萄糖经 SGLT2 的重吸收有一定的关系,进一步的确认需要更多研究的支持,包括黄芪六一汤有效成分化学结构的确认比对、肾小管上皮葡萄糖重吸收的测定、葡萄糖重吸收转运蛋白的更多研究等。

#### [参考文献]

[1] Gulliford M C. Controlling non-insulin-dependent diabetes mellitus in developing countries [J]. Int J Epidemiol, 1995, 24(S1):S53-S59.  
[2] Rathmann W, Giani G. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030 [J]. Diabetes Care, 2004, 27(10):2568-2569.  
[3] 陈玉兴,黄雪君,杜铁良,等. 黄芪六一汤对糖尿病大

鼠血糖、胰岛素、糖化血红蛋白、细胞形态影响随机平行对照研究 [J]. 实用中医内科杂志, 2014, 28(9):113-116.  
[4] 栾家杰. 黄芪皂苷对实验性糖尿病动物肾脏保护作用及其机制研究 [D]. 合肥:安徽医科大学, 2012.  
[5] 孙立. 黄芪甲苷对高糖所致人肾小球系膜细胞损伤的保护作用及其调控 NADPH 氧化酶/ROS/Akt/NF- $\kappa$ B 信号通路的机制研究 [D]. 合肥:安徽医科大学, 2014.  
[6] Dushkin M, Khrapova M, Kovshik G, et al. Effects of rhaponticum carthamoides versus glycyrrhiza glabra and punica granatum extracts on metabolic syndrome signs in rats [J]. BMC Complement Altern Med, 2014, 14(1):33.  
[7] Kataya H H, Hamza A A, Ramadan G A, et al. Effect of licorice extract on the complications of diabetes nephropathy in rats [J]. Drug Chem Toxicol, 2011, 34(2):101-108.  
[8] SEN S, Roy M, Chakraborti A S. Ameliorative effects of glycyrrhizin on streptozotocin-induced diabetes in rats [J]. J Pharm Pharmacol, 2011, 63(2):287-296.  
[9] 杜华晟,张瑞斌,王璞,等. 甘草提取液对糖尿病大鼠肾脏的保护作用 [J]. 山东大学学报:医学版, 2010, 48(8):1-4.  
[10] Moon H I. Effect of osajin and pomiferin on antidiabetic effects from normal and streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Nat Prod Commun, 2014, 9(12):1723-1724.  
[11] YU L, HOU P, LV J C, et al. A novel sodium-glucose co-transporter 2 gene (SGLT2) mutation contributes to the abnormal expression of SGLT2 in renal tissues in familial renal glucosuria [J]. Int Urol Nephrol, 2014, 46(11):2237-2238.  
[12] Usiskin K, Kline I, Fung A, et al. Safety and tolerability of canagliflozin in patients with type 2 diabetes mellitus: pooled analysis of phase 3 study results [J]. Postgrad Med, 2014, 126(3):16-34.  
[13] Toderika Y, Ferguson N. Canagliflozin: a new class of antidiabetic agent targeting the sodium-glucose cotransporter [J]. Cardiol Rev, 2014, 22(2):97-104.  
[14] 张明发,沈雅琴. 甘草抗动脉粥样硬化和抗血栓形成研究进展 [J]. 西北药学杂志, 2011, 26(3):222-226.  
[15] Kuroda M, Mimaki Y, Sashida Y, et al. Phenolics with PPAR-gamma ligand-binding activity obtained from licorice (*Glycyrrhiza uralensis* roots) and ameliorative effects of glycyrrin on genetically diabetic KK-A(y) mice [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2003, 13(24):

- 4267-4272.
- [16] Mae T, Kishida H, Nishiyama T, et al. A licorice ethanolic extract with peroxisome proliferator-activated receptor-gamma ligand-binding activity affects diabetes in KK-Ay mice, abdominal obesity in diet-induced obese C57BL mice and hypertension in spontaneously hypertensive rats [J]. J Nutr, 2003, 133 (11): 3369-3377.
- [17] Nakagawa K, Kishida H, Arai N, et al. Licorice flavonoids suppress abdominal fat accumulation and increase in blood glucose level in obese diabetic KK-A (y) mice [J]. Biol Pharm Bull, 2004, 27 (11): 1775-1778.
- [18] LI S, LI W, WANG Y, et al. Prenylflavonoids from *Glycyrrhiza uralensis* and their protein tyrosine phosphatase-1B inhibitory activities [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2010, 20(18): 5398-5401.
- [19] LI W, LI S, LIN L, et al. Bioassay-guided isolation and quantification of the alpha-glucosidase inhibitory compound, glycyrrhisoflavone, from *Glycyrrhiza uralensis* [J]. Nat Prod Commun, 2010, 5 (7): 1049-1053.
- [20] 肖峰,胡雅国,吴石楠,等. 黄芩皂苷提取物对糖尿病大鼠肾脏的保护作用[J]. 中国中药杂志, 2015, 40 (10): 2014-2018.

[责任编辑 周冰冰]

## 《中国实验方剂学杂志》简介

《中国实验方剂学杂志》主编为吴以岭院士,由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中华中医药学会共同主办。以报道、介绍中医药研究为主旨的专业性学术期刊,创刊于1995年10月,目前为半月刊。

随着中医药政策扶持力度的加大和中医药科技创新的振兴,在中医药事业蓬勃发展的进程中,《中国实验方剂学杂志》也进入快速发展阶段! 以下是本刊在各权威数据库中的最新评价数据及收录情况:

- ①中国知网《中国学术期刊影响年报》(2016年版):影响力指数(CI)学科排序3/122(中医药类122本期刊中排第3名);复合影响因子1.319,学科排序9/122;
- ②万方数据《中国科技期刊引证报告(扩刊版)》: H指标为16,总被引频次15 664,复合影响因子1.620,在中医药类122本期刊中排序分别为第2,2,11名;
- ③入选“中国科学引文数据库来源期刊”(CSCD 2015—2016);
- ④入选最新版《北大中文核心期刊要目总览》(2014年版);
- ⑤入选“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊2016年版);
- ⑥被评为“RCCSE 中国权威学术期刊(A+)”(《中国学术期刊评价研究报告(武大版)(2017—2018)》)。