

麦冬提取物对胰岛素抵抗大鼠肝组织 miRNA-29a 及 FOXO3 表达的影响

王磊^{1*}, 秦玖刚², 王川²

(1. 南阳医学高等专科学校第一附属医院, 河南 南阳 473000;
2. 南阳医学高等专科学校临床医学系, 河南 南阳 473000)

[摘要] **目的:**探讨麦冬提取物对胰岛素抵抗大鼠肝组织中 miRNA-29a 及 FOXO3 表达的影响。**方法:**选取 60 只 SD 级雄性大鼠,随机选取 10 只为正常组,其余 50 只建立胰岛素抵抗大鼠模型,造模成功后分为模型组、麦冬提取物高、中、低剂量组、二甲双胍组 5 组,每组 10 只,麦冬提取物高、中、低剂量组分别给予 150,300,500 mg·kg⁻¹ 麦冬提取物灌胃给药干预,二甲双胍组给予 200 mg·kg⁻¹ 二甲双胍混悬液灌胃给药干预,正常组及模型组给予等体积的生理盐水,分别于给药 4,8 周后,检测各组大鼠体重(BW),肝重(LW),空腹血糖(FBG),血清总胆固醇(TC),甘油三酯(TG),空腹胰岛素(FINs),胰岛素敏感指数(ISI),肝脏指数(LI),C 肽;苏木素-伊红(HE)染色观察肝脏病理变化;采用实时荧光定量 PCR(Real-time PCR)检测肝组织 miRNA-29a,FOXO3 表达水平。**结果:**正常组大鼠饮食正常,皮毛整洁,精神状态良好,模型组大鼠精神萎靡、皮毛凌乱欠光泽,懒惰,麦冬提取物组及二甲双胍组大鼠皮毛欠光泽,有不同程度活动及饮食减少,精神状态优于模型组;麦冬提取物可明显降低胰岛素抵抗大鼠 BW,LW,LI,C 肽水平($P < 0.05$),明显降低 TC,TG,FINs 水平($P < 0.05$),显著升高 ISI 水平($P < 0.05$),改善大鼠胰岛素抵抗;麦冬提取物明显改善胰岛素抵抗模型大鼠脂肪变性,改善肝脏病理状态;麦冬提取物可明显下调 miRNA-29a 表达,上调 FOXO3 表达,且呈现一定剂量依赖性($P < 0.05$)。**结论:**麦冬提取物可明显改善胰岛素抵抗,推测其机制为下调 miRNA-29a 表达,上调 FOXO3 表达。

[关键词] 麦冬提取物; 胰岛素抵抗; miRNA-29a; 转录因子 FOXO3

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)01-0124-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2018010124

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171011.1351.010.html>

[网络出版时间] 2017-10-11 13:51

Effect of Ophiopogonis Radix Extract on Expressions of miRNA-29a and FOXO3 in Liver Tissues of Insulin Resistant Rats

WANG Lei^{1*}, QIN Jiu-gang², WANG Chuan²

(1. *The First Affiliated Hospital of Nanyang Medical College, Nanyang 473000, China;*
2. *Department of Clinical Medicine, Nanyang Medical College, Nanyang 473000, China*)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Ophiopogonis Radix extract on expressions of miRNA-29a and FOXO3 in liver tissues of insulin resistant rats. **Method:** A total of 60 male SD rats were selected, including 10 for normal control. The remaining 50 rats were randomly divided into model control group, high, medium and low-dose Ophiopogonis Radix extract groups, metformin positive control group 5, with 10 in each group. High, medium and low-dose Ophiopogonis Radix extract groups were given 150, 300, 500 mg·kg⁻¹ Ophiopogonis Radix extract, the positive control group was given 200 mg·kg⁻¹ metformin suspension through intragastric administration for intervention, while the normal control group and the model control group were given

[收稿日期] 20170720(005)

[基金项目] 河南省医学科技攻关计划项目(201503046)

[通信作者] * 王磊, 硕士, 主治医师, 从事内分泌学及其相关疾病的研究, Tel:13733135816, E-mail:wanglei19758@163.com

the same volume of saline. The levels of body weight (BW), liver weight (LW), fasting blood glucose (FBG), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), fasting insulin (FINs), insulin sensitivity index (ISI), liver index (LI) and C-peptide were measured by hematoxylin-eosin (HE) staining. The pathological changes in liver were observed, and the expressions of miRNA-29a and FOXO3 in liver tissues were detected by Real-time PCR at the 4th and 8th weeks after administration. **Result:** The rats in the normal control group were given normal diets, with clean skin and in a good mental state. The rats in the model control group were lethargic and lazy, with messy and dim skin. The *Ophiopogonis Radix* extract and the metformin groups had dim skin, with a better mental state than the model control group. *Ophiopogonis Radix* extract significantly reduced the levels of BW, LW, C-peptide and LI in insulin resistance rats ($P < 0.05$), significantly reduced the levels of TC, TG and FINs ($P < 0.05$), significantly increased ISI levels ($P < 0.05$), and improved insulin resistance in rats. *Ophiopogonis Radix* extract significantly relieved steatosis of rats in the insulin resistance model and pathological status of liver. *Ophiopogonis Radix* extract significantly down-regulated miRNA-29a expression, and up-regulated FOXO3 expression, in a dose-dependent manner ($P < 0.05$). **Conclusion:** *Ophiopogonis Radix* extract can significantly relieve insulin resistance, suggesting that its mechanism is down-regulation of miRNA-29a expression and up-regulation of FOXO3 expression.

[**Key words**] *Ophiopogonis Radix* extract; insulin resistance; miRNA-29a; FOXO3

流行病学调查结果显示^[1],全球范围内2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)发病率呈现出明显逐年上升趋势,其导致冠心病、肾功能衰竭、出血性脑血管病等并发症严重威胁了人类身体健康及生命安全。目前,西医有关T2DM发病机制尚未完全阐明,普遍认为胰岛素抵抗及胰岛 β 细胞损伤是其主要发病机制^[2-3]。中药因其安全性高,治疗多环节、多靶点、多层次成为了目前治疗T2DM研究的重要热点^[4]。麦冬因其具有降低血糖、抗胰岛素抵抗、调节机体免疫功能等作用^[5-6],在临床糖尿病治疗方面得到了广泛应用,但目前临床有关麦冬治疗T2DM具体作用机制研究报道甚少,且文献报道多为麦冬复方制剂,成分复杂,药理成分及作用机制不详。本研究选取主要成分为麦冬多糖的麦冬提取物为研究对象,观察其对胰岛素抵抗大鼠肝组织中miRNA-29a及FOXO3表达的影响,探讨其改善胰岛素抵抗机制,试图为麦冬提取物应用于临床治疗T2DM提供一定理论依据。

1 材料

1.1 动物 选取60只8周龄清洁级SD雄性大鼠,体重190~210 g,购自于华中科技大学同济医学院实验动物中心,动物合格证号SCXK(鄂)2010-0009,本实验经南阳医学高等专科学校伦理委员会批准进行,动物伦理委员会编号HUF2016-153。

1.2 试剂 猪油、蛋黄粉、胆固醇、胆盐(上海斯莱克有限公司,批号均为20160503);麦冬提取物(西安清乐生物科技有限公司,CAS号520-34-3);盐酸二甲双胍片(中美上海施贵宝制药有限公司,国药

准字H20023370);大鼠胰岛素酶联免疫吸附(ELISA)检测试剂盒(上海达为生物科技有限公司,批号200905);trizol(美国Invitrogen公司,货号15596026);10×PCR Buffer, dNTPs, *Taq* DNA聚合酶,6×Loading buffer(日本TaKaRa公司,批号均为DRR037);PCR,内参U6引物(由上海生工生物工程股份有限公司合成);SYBR PrimeScript RT-PCR Kit(日本Takara公司,货号DRR041A);琼脂糖(法国Biowest公司,货号111860)。

1.3 仪器 GM505B型Caresens血糖仪(韩国iSENS公司);AU2700全自动生化分析仪(日本Olympus公司);LEICA-RM2025组织切片机(德国Leitz公司);DU800紫外分光光度计(美国Beckman公司);ABI7700型实时荧光定量PCR(Real-time PCR)仪(美国ABI公司);5804R型低温离心机(德国Eppendorf公司);BH2型光学显微镜(日本Olympas公司);Mini-P3型垂直电泳仪及转模仪, Gel Doc 1000型凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司)。

2 方法

2.1 模型建立及分组处理 60只SD级雄性大鼠,适应性饲养1周后,采用随机方法选取10只大鼠作为正常组,饲以基础饲料(蛋白23%,碳水化合物67%,脂肪10%);其余50只采用高脂饲料(基础饲料78.9 g,猪油10 g,蛋黄粉10 g,胆固醇1 g,胆盐0.1 g)持续饲养,饲养9周后,一次性注射链脲佐菌素30 mg·kg⁻¹,建立胰岛素抵抗大鼠模型,以大鼠血糖浓度 ≥ 7.8 mmol·L⁻¹作为成模标准^[7]。造模成

功后分为模型组、麦冬提取物高、中、低剂量组、二甲双胍组 5 组, 每组各 10 只。麦冬提取物低、中、高剂量组分别给予 150, 300, 500 mg·kg⁻¹ 麦冬提取物灌胃给药进行干预^[6], 二甲双胍组给予 200 mg·kg⁻¹ 二甲双胍混悬液灌胃给药干预, 正常组及模型组均给予等体积生理盐水。药物组给药期间继续饲喂高脂饲料, 正常组及模型组均饲以基础饲料, 所有大鼠全程自由饮水。

2.2 一般情况观察 观察并记录各组大鼠精神、毛发、活动状态、饮食行为等情况。

2.3 样本采集 分别于药物干预 4, 8 周后, 每组按照体重随机选取 5 只大鼠进行样本采集, 大鼠称重后禁食 6 h, 取仰卧位固定, 乙醚麻醉后沿腹正中打开腹腔, 腹主动脉取血, 分离血清后 -20 °C 保存, 用于生化指标检测; 处死大鼠后迅速取出肝组织并称取肝脏湿重 (liver weight, LW), 计算肝脏指数 (LI = LW/BW × 100%); 每只大鼠于同一肝叶处切去小块肝组织置于 10% 甲醛溶液中固定, 用于制作组织切片, 剩余肝组织用于 Real-time PCR 检测, 置于冻存管中, 保存于 -80 °C 冰箱中。

2.4 生化指标检测 采用日本 Olympus 公司 AU2700 全自动生化分析仪检测禁食 6 h 后空腹血糖 (fasting plasma glucose, FPG), 糖化血红蛋白 (glycosylated hemoglobin, GHb), 三酰甘油 (triglyceride, TG), 总胆固醇 (total cholesterol, TC), C 肽水平。采用酶联免疫吸附法 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 检测空腹胰岛素 (fasting serum insulin, FINs) 水平。具体操作严格按照试剂盒使用说明进行。胰岛素敏感指数 (insulin sensitivity index, ISI) = ln[1/(FINs × FPG)]。

2.5 肝组织病理学形态观察 将肝组织标本依次置于 70%, 90%, 95% 乙醇, 无水乙醇中各 30 min, 随后置于二甲苯溶液中浸泡 30 min, 重复 2 次操作, 至肝组织呈现透明状, 放入石蜡后浸蜡 30 min, 重复 3 次操作, 将肝脏组织放入包埋框, 冷却后制作 5 μm 石蜡切片; 石蜡切片常规脱蜡后进行苏木素-伊红 (HE) 染色, 于光学显微镜下观察各组肝组织病理学形态。

2.6 Real-time PCR 检测肝组织 miRNA-29a, FOXO3 表达水平 trizol 法分别提取各组大鼠肝组织总 RNA, 所提 RNA 经测定吸光度 A₂₆₀/A₂₈₀ 均在 1.8 ~ 2.0, 提示所提 RNA 纯度较高, 无蛋白质及 DNA 残留。按照反转录试剂盒进行反转录过程, 反转录所得 cDNA, 用作 qRT-PCR 反应模板, qRT-PCR

反应总体积 10 μL: cDNA 1 μL, SYBR Primix Ex Taq™ 5 μL, 引物 0.6 μL, RNase H₂O 2.8 μL。qRT-PCR 反应条件为 95 °C 预变性 10 min, 95 °C 15 s, 58 °C 60 s, 72 °C 30 s 进行 30 个循环, 72 °C 延伸 10 min。以 U6 为内参, 每个样品均设置 3 个复孔, 结果采用 2^{-ΔΔC_t} 方法处理。引物序列见表 1。

表 1 miRNA-29a, FOXO3 Real-time PCR 扩增引物序列
Table 1 Primer sequences of miRNA-29a, FOXO3 and Real-time PCR amplification

引物	序列 (5'-3')	长度/bp
miRNA-29a	上游 GCCCTAGCACCATCTGAAAT	237
	下游 GTGCAGGGTCCGAGG	
FOXO3	上游 CTCGCCAGATATACGAATGG	186
	下游 GCCGAGCTGTTGCTGTCA	
U6	上游 TACCCTGTAGAACCGAATTTGTG	159
	下游 TGCTGTCGTGGACTCG	

2.7 统计学分析 利用统计学软件 SPSS 19.0 进行数据统计学分析, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两两比较采用 *t* 检验, 多组比较采用方差分析, 以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠一般情况比较 正常组大鼠饮食正常, 皮毛整洁, 精神状态良好, 灵活好动, 模型组大鼠精神萎靡、皮毛凌乱欠光泽, 懒惰, 性情比较温顺, 麦冬提取物组及二甲双胍组大鼠皮毛欠光泽, 有不同程度活动及饮食减少, 但精神状态优于模型组。各组大鼠体重变化情况见表 2。

表 2 麦冬提取物对大鼠体重变化的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 2 Comparison of change of body weight of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	体重/g
正常	-	423.42 ± 24.06
模型	-	485.27 ± 46.45 ¹⁾
麦冬提取物	150	445.28 ± 38.47 ²⁾
	300	432.16 ± 32.49 ²⁾
	500	423.16 ± 22.19 ²⁾
二甲双胍	200	424.73 ± 21.35 ²⁾

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

3.2 麦冬提取物对各组大鼠 FPG, TC, TG, FINs, ISI 水平的影响 饲喂 4, 8 周, 各组大鼠 FPG 水平比较, 差异无统计学意义, 与正常组比较, 模型组大鼠 GHb, TC, TG, FINs 水平显著升高 (*P* < 0.05), ISI 水平显著降低 (*P* < 0.05)。饲喂 4, 8 周, 与模型组比较, 二甲双胍组及麦冬提取物组大鼠 GHb, TC, TG, FINs 水平明显低于模型组 (*P* < 0.05), ISI 水平明显高于模型组 (*P* < 0.05), 且二甲双胍组及麦冬提取

物组 FINs, ISI 水平与正常对照组比较, 差异无统计学意义。见表 3。

表 3 麦冬提取物对各组大鼠 FPG, TC, TG, FINs, ISI 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 3 Ophiopogonis Radix extract in rats FPG, TC, TG, FINs, ISI level ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	时间 /周	FPG /mmol·L ⁻¹	GHb /g·mL ⁻¹	TC /mmol·L ⁻¹	TG /mmol·L ⁻¹	FINs /mU·L ⁻¹	ISI
正常	-	4	6.40 ± 0.46	13.45 ± 3.27	1.32 ± 0.13	0.57 ± 0.32	2.23 ± 0.51	-2.63 ± 0.21
		8	6.79 ± 0.87	13.52 ± 3.30	1.64 ± 0.32	0.62 ± 0.34	1.19 ± 0.78	-1.90 ± 0.64
模型	-	4	6.51 ± 0.49	23.38 ± 4.56 ¹⁾	2.91 ± 0.43 ¹⁾	3.12 ± 0.83 ¹⁾	3.32 ± 0.75 ¹⁾	-3.03 ± 0.22 ¹⁾
		8	6.89 ± 0.88	26.45 ± 4.67 ¹⁾	3.64 ± 0.36 ¹⁾	3.72 ± 1.09 ¹⁾	3.16 ± 0.73 ¹⁾	-3.04 ± 0.23 ¹⁾
麦冬提取物	150	4	6.21 ± 0.36	22.29 ± 3.68 ¹⁾	2.65 ± 0.42 ¹⁾	1.89 ± 0.63 ^{1,2)}	2.83 ± 0.57 ²⁾	-2.81 ± 0.12 ²⁾
		8	6.37 ± 0.42	18.32 ± 4.06 ^{1,2)}	2.46 ± 0.37 ^{1,2)}	2.03 ± 0.71 ^{1,2)}	1.44 ± 0.75 ²⁾	-2.54 ± 0.52 ²⁾
	300	4	6.09 ± 0.29	17.66 ± 3.51 ^{1,2)}	2.43 ± 0.26 ^{1,2)}	1.66 ± 0.62 ^{1,2)}	2.42 ± 0.59 ²⁾	-2.67 ± 0.29 ²⁾
		8	6.46 ± 0.52	16.17 ± 3.36 ^{1,2)}	2.27 ± 0.32 ^{1,2)}	1.87 ± 0.64 ^{1,2)}	1.49 ± 0.67 ²⁾	-2.45 ± 0.46 ²⁾
	500	4	6.05 ± 0.40	14.02 ± 3.36 ²⁾	2.16 ± 0.34 ^{1,2)}	1.31 ± 0.57 ^{1,2)}	2.30 ± 0.52 ²⁾	-2.58 ± 0.31 ²⁾
		8	6.57 ± 0.56	13.67 ± 3.40 ²⁾	2.18 ± 0.26 ^{1,2)}	1.36 ± 0.60 ^{1,2)}	1.21 ± 0.77 ²⁾	-2.19 ± 0.62 ²⁾
二甲双胍	200	4	6.02 ± 0.61	13.58 ± 3.29 ²⁾	2.02 ± 0.34 ^{1,2)}	1.26 ± 0.52 ^{1,2)}	2.27 ± 0.72 ²⁾	-2.56 ± 0.28 ²⁾
		8	6.21 ± 0.39	13.60 ± 3.45 ²⁾	2.14 ± 0.23 ^{1,2)}	1.37 ± 0.58 ^{1,2)}	1.54 ± 0.69 ²⁾	-2.14 ± 0.64 ²⁾

注:与正常组同时间比较¹⁾P < 0.05;与模型组同时间比较²⁾P < 0.05(表 4,5 同)。

3.3 麦冬提取物对各组大鼠 BW, LW, LI 水平的影响 饲喂 4,8 周,与正常组比较,模型组大鼠 BW, LW, LI, C 肽水平均显著升高,差异有统计学意义 (P < 0.05); 饲喂 4,8 周,与模型组比较,麦冬提取

物组及二甲双胍组 BW, LW, LI, C 肽水平显著降低 (P < 0.05)。即麦冬提取物可明显降低胰岛素抵抗大鼠 BW, LW, LI, C 肽水平。见表 4。

3.4 麦冬提取物对各组大鼠肝组织病理学影响

表 4 麦冬提取物对各组大鼠 BW, LW, LI 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 4 Effect of Ophiopogonis Radix extract on levels of BW, LW and LI in rats of each group ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	时间/周	BW/g	LW/g	LI/%	C 肽/pmol·L ⁻¹
正常	-	4	418.25 ± 23.46	10.59 ± 0.87	2.56 ± 0.14	0.081 ± 0.005
		8	423.42 ± 24.06	13.47 ± 0.73	3.24 ± 0.26	0.082 ± 0.006
模型	-	4	463.16 ± 47.56 ¹⁾	19.50 ± 4.06 ¹⁾	4.33 ± 0.48 ¹⁾	0.099 ± 0.007 ¹⁾
		8	485.27 ± 46.45 ¹⁾	21.42 ± 3.17 ¹⁾	4.52 ± 0.43 ¹⁾	0.102 ± 0.009 ¹⁾
麦冬提取物	150	4	447.13 ± 40.32 ¹⁾	17.30 ± 0.67 ^{1,2)}	3.82 ± 0.36 ^{1,2)}	0.096 ± 0.008 ¹⁾
		8	445.28 ± 38.47 ²⁾	16.57 ± 0.59 ^{1,2)}	3.60 ± 0.32 ^{1,2)}	0.093 ± 0.006 ¹⁾
	300	4	423.22 ± 30.15 ²⁾	16.21 ± 0.46 ^{1,2)}	3.73 ± 0.28 ^{1,2)}	0.095 ± 0.005 ¹⁾
		8	432.16 ± 32.49 ²⁾	16.13 ± 1.25 ^{1,2)}	3.52 ± 0.32 ^{1,2)}	0.087 ± 0.007 ²⁾
	500	4	412.51 ± 26.45 ²⁾	16.10 ± 1.54 ^{1,2)}	3.65 ± 0.27 ^{1,2)}	0.086 ± 0.009 ²⁾
		8	423.16 ± 22.19 ²⁾	16.06 ± 1.72 ^{1,2)}	3.50 ± 0.31 ^{1,2)}	0.083 ± 0.008 ²⁾
二甲双胍	200	4	417.46 ± 25.78 ²⁾	14.21 ± 1.17 ^{1,2)}	3.68 ± 0.30 ^{1,2)}	0.085 ± 0.010 ²⁾
		8	424.73 ± 21.35 ²⁾	16.30 ± 0.69 ^{1,2)}	3.42 ± 0.23 ^{1,2)}	0.082 ± 0.009 ²⁾

各组大鼠肝组织 HE 染色后,光学显微镜下观察结果可见,正常组肝组织形态学无异常,模型组肝组织肝细胞表达,细胞浆内出现大量大小不等脂肪空泡样变,肝细胞中有脂肪填充,呈重度脂肪变性;麦冬提取物组及二甲双胍组肝细胞脂肪变性不同程度改善,肝细胞形态大致正常,脂肪变性细胞数目减少,肝细

胞胞浆内脂肪滴减少或者消失,麦冬提取物组随麦冬提取物浓度增加,改善程度增加。见图 1。

3.5 麦冬提取物对各组大鼠肝组织 miRNA-29a, FOXO3 mRNA 表达的影响 饲喂 4,8 周,与正常组比较,模型组 miRNA-29a mRNA 水平明显升高 (P < 0.05), FOXO3 mRNA 水平明显降低 (P < 0.05), 与

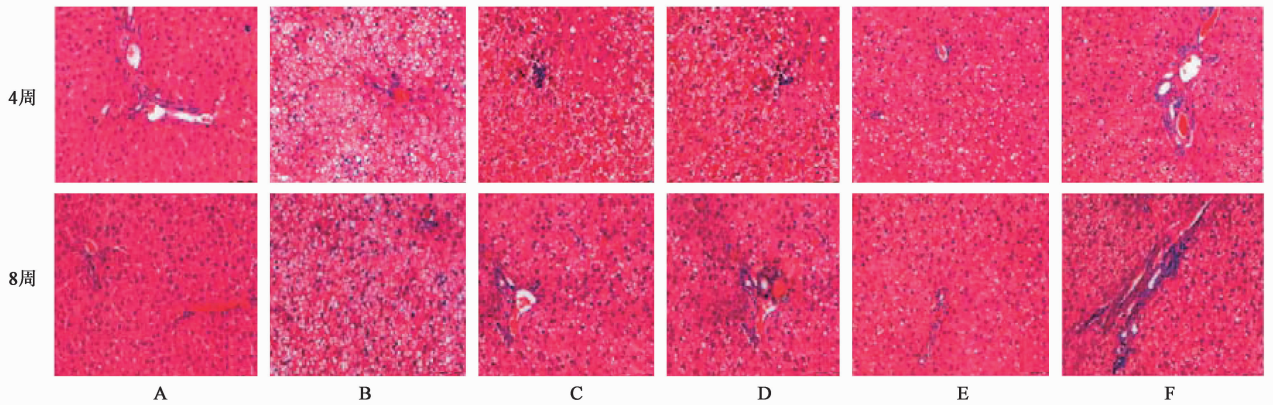


图 1 麦冬提取物对各组大鼠肝组织病理学影响(HE, ×200)

Fig. 1 Pathological effect of *Ophiopogon Radix* extract on liver tissue of rats in each group(HE, ×200)

模型组比较,麦冬提取物组及二甲双胍组 miRNA-29a mRNA 水平明显降低($P < 0.05$),FOXO3 mRNA 水平明显升高($P < 0.05$),且麦冬提取物组呈现一定剂

依赖性($P < 0.05$);饲喂 4,8 周后,麦冬提取物高剂量组、二甲双胍组 miRNA-29a, FOXO3 mRNA 水平与正常组比较,差异无统计学意义。见表 5。

表 5 饲喂 4,8 周后,麦冬提取物对各组大鼠肝组织 miRNA-29a, FOXO3 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 5 Effect of *Ophiopogon Radix* extract on expression of miRNA-29a, FOXO3 mRNA in liver tissues of rats after 4,8 weeks of feeding ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	miRNA-29a		FOXO3	
		4 周	8 周	4 周	8 周
模型	-	0.97 ± 0.09 ¹⁾	0.98 ± 0.10 ¹⁾	0.96 ± 0.10 ¹⁾	0.95 ± 0.12 ¹⁾
正常	-	0.41 ± 0.06	0.42 ± 0.07	2.47 ± 0.18	2.60 ± 0.21
麦冬提取物	150	0.62 ± 0.10 ^{1,2)}	0.59 ± 0.09 ^{1,2)}	1.42 ± 0.13 ^{1,2)}	1.54 ± 0.14 ^{1,2)}
	300	0.54 ± 0.08 ^{1,2)}	0.51 ± 0.07 ^{1,2)}	1.78 ± 0.15 ^{1,2)}	1.86 ± 0.17 ^{1,2)}
	500	0.42 ± 0.07 ²⁾	0.40 ± 0.06 ²⁾	2.46 ± 0.17 ²⁾	2.57 ± 0.19 ²⁾
二甲双胍	200	0.44 ± 0.09 ²⁾	0.45 ± 0.10 ²⁾	2.40 ± 0.16 ²⁾	2.43 ± 0.17 ²⁾

4 讨论

T2DM 是一组以高血糖为共同特征的内分泌代谢性疾病。目前,我国 T2DM 发病年龄日渐低龄化,发病率呈现出明显逐年上升趋势^[8],T2DM 已成为继心脑血管性疾病、肿瘤之后严重威胁人类生命安全的慢性疾病。西药治疗 T2DM 具有降血糖作用强、临床起效较快等优点,但其缺乏整体协调性,且常伴有明显副作用。诸多研究表明^[9-10],中药治疗 DM 具有多靶点、多途径、多环节等综合治疗优势,中药研究成为了目前治疗 DM 研究的重要热点。

祖国医学认为,T2DM 属消渴病范畴^[11],因过食肥甘饮食,致中焦失于健运,体内甘味物质残留过多而积聚成为甘浊之邪,痰瘀互阻,导致患者血糖升高及各种并发症产生。基于此理论,本研究采用高脂饲料作为“甘美多肥”致病因素饲喂 SD 大鼠,其

所致直接后果为大鼠体重增加,肥胖,痰湿瘀血内生,以血糖浓度 $\geq 7.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 作为成模标准进行后续实验研究。目前普遍认为^[12],胰岛素抵抗及胰岛 β 细胞分泌功能缺陷是 T2DM 的主要始动因素。研究具有改善胰岛素抵抗作用药物对于临床治疗 T2DM 具有十分重要的临床意义。麦冬为百合科干燥块根中药,临床多用于治疗阴虚癆嗽、内热消渴、心烦失眠、肺燥干咳、肠燥便秘等^[13]。近年来,临床有关麦冬提取物研究日益增多,麦冬多糖作为麦冬主要有效成分提取物,因其具有降低血糖的作用,在临床糖尿病及并发症治疗方面研究陆续增多^[14-15],但临床报道多以实验研究多见,其治疗糖尿病具体作用机制尚未完全阐明。因此本研究旨在探讨麦冬提取物对胰岛素抵抗大鼠肝组织中 miRNA-29a 及 FOXO3 表达的影响,试图为麦冬提取物应用于临床

治疗 T2DM 提供一定理论依据。

本研究结果表明,饲喂 4,8 周,模型组大鼠 TC, TG, FINs 水平显著升高,ISI 水平显著降低,提示高脂饲料诱导 SD 大鼠脂质代谢紊乱,同时 FINs 水平升高,ISI 水平降低可判断大鼠发生胰岛素抵抗,经药物干预,麦冬提取物能够有效改善高脂饲料诱导胰岛素抵抗大鼠脂质代谢,改善大鼠胰岛素抵抗;观察各组大鼠肝组织病理学变化结果可见,麦冬提取物可明显改善胰岛素抵抗模型大鼠脂肪变性,改善肝脏病理状态。microRNAs 是一种可以特异性结合靶向 mRNA 的短序列非编码 RNA,通过转录调控机体关键蛋白表达,参与多种重要生理学过程^[16]。研究表明^[17],miR-29a 在机体葡萄糖摄取,维持机体葡萄糖平衡等重要生理过程中发挥重要作用,对机体胰岛素分泌及抵抗过程中起重要调控作用。转录因子 FOXO 家族基因在细胞周期调节、葡萄糖内环境稳定等生理活动中扮演重要角色^[18],在胰岛素抵抗及糖尿病发病之间起着重要连接作用;本研究结果表明,模型组 miRNA-29a 水平明显高于正常组,FOXO3 水平明显低于正常组,提示 miRNA-29a 上调,FOXO3 下调可能是胰岛素抵抗发生的机制之一,经麦冬提取物干预,胰岛素抵抗模型大鼠肝组织 miRNA-29a 明显下调,FOXO3 显著上调,说明麦冬提取物可明显下调 miRNA-29a 表达,上调 FOXO3 表达,基于此,本研究推测,麦冬提取物之所以具有改善胰岛素抵抗大鼠脂质代谢,改善胰岛素抵抗的作用机制为下调 miRNA-29a 表达,上调 FOXO3 表达。

综上所述,本研究结果表明,麦冬提取物可明显改善胰岛素抵抗,推测其机制为下调 miRNA-29a 表达,上调 FOXO3 表达。中药成分复杂,且胰岛素抵抗涉及糖尿病、高血压等多个系统疾病,发病机制复杂,麦冬提取物下调 miRNA-29a 表达,上调 FOXO3 表达参与胰岛素抵抗的具体信号通路,值得进一步深入探究。

[参考文献]

[1] 汪会琴,胡如英,武海滨,等. 2 型糖尿病报告发病率研究进展[J]. 浙江预防医学, 2016, 28(1): 37-39.

[2] 田思敏,唐明敏,刘洋,等. 2 型糖尿病胰岛素抵抗发生机制的研究进展[J]. 新疆医科大学学报, 2015, 38(10):1317-1320.

[3] Yabe D, Seino Y, Fukushima M, et al. Cell dysfunction versus insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes in east asians[J]. Current Diabetes

Reports, 2015, 15(6):36-38.

[4] 朱友文,宋灿,霍海如,等. 中药在 2 型糖尿病中的治疗和胰岛素抵抗中的研究进展[J]. 世界中医药, 2015, 10(1):135-137.

[5] 张璐欣,周学谦,李德坤,等. 麦冬多糖的化学组成、分析方法和药理作用研究进展[J]. 药物评价研究, 2017, 40(2):279-284.

[6] 曲志成,孙其伟,高普. 麦冬及其提取物治疗糖尿病的研究进展[J]. 国际中医中药杂志, 2013, 35(3): 274-276.

[7] 王春怡,李卫民,高英. 黄芪葛根汤对 2 型糖尿病大鼠胰岛素抵抗及 PPAR- γ mRNA 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5):152-155.

[8] 邵永强,樊丽辉,李江峰,等. 温州市居民糖尿病患病率及危险因素调查研究[J]. 中国预防医学杂志, 2015, 16(12):966-971.

[9] 孟祥云,郭树明,杨丽霞. 中药植物多糖对 2 型糖尿病胰岛素抵抗的作用机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(8):220-225.

[10] 凌启迪. 中药治疗糖尿病的优点[J]. 医药导报, 2015, 34(s1):71-72.

[11] 冷雪,谷丽艳,朱芳. 2 型糖尿病中医证型流行病学调查及其中医病因病机初探[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(3):732-735.

[12] Bergman R N, Finegood D T, Kahn S E. The evolution of β -cell dysfunction and insulin resistance in type 2 diabetes[J]. Eur J Clin Invest, 2015, 32(s3):35-45.

[13] 沙建平,马红英,陈晓文,等. 麦冬对糖尿病大鼠胰岛 β 细胞的保护作用[J]. 成都中医药大学学报, 2014, 37(3):23-24.

[14] 宁萌,潘亮,谢文利,等. 麦冬提取物的降糖作用及其抗胰岛素抵抗的机制研究[J]. 解放军医学杂志, 2013, 38(1):26-29.

[15] 刘彦娜,梁艳,王广基. 麦冬提取物中多种皂苷类成分的药代动力学[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(9):137-142.

[16] 崔琳,刘卫红,高原,等. miR-29a 靶基因 ITC β_1 -3'UTR 萤光素酶报告基因质粒的构建及对心肌成纤维细胞增殖的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(17):102-107.

[17] YANG W M, Jeong H J, Park S Y, et al. Induction of miR-29a by saturated fatty acids impairs insulin signaling and glucose uptake through translational repression of IRS-1 in myocytes[J]. Febs Lett, 2014, 588(13):2170-2172.

[18] 陈娟,李伟,孙子林. 叉头转录因子与糖尿病及其并发症的相关研究进展[J]. 中国糖尿病杂志, 2015, 23(10):946-948.

[责任编辑 邹晓翠]