

左归丸对妊娠糖尿病大鼠血清相关指标及 胰腺PDX-1表达的影响

王超群^{1,2}, 王永辉², 刘涛², 许凯霞², 赵乐², 周然^{2*}

(1. 湖北中医药大学, 武汉 430065; 2. 山西中医药大学, 太原 030024)

[摘要] 目的:研究左归丸母代干预对妊娠糖尿病(GDM)模型大鼠血清及以胰腺指标改善作用的影响。方法:通过雌雄同笼及腹腔注射链脲佐菌素(STZ)的方法复制GDM孕鼠模型,采用随机数字表法将孕鼠分为正常组,模型组,门冬胰岛素组(20 U·kg⁻¹),左归丸低、中、高剂量组(2.5, 5.0, 10.0 g·kg⁻¹)。各组分别灌服相应药物2周,正常组和模型组予以等体积生理盐水,采用酶联免疫吸附测定(ELISA)检测大鼠血清胰岛素,空腹血糖(FBG),及炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-6(IL-6),白细胞介素-8(IL-8)的水平;蛋白免疫印迹法(Western blot),实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测大鼠胰腺十二指肠同源盒因子-1(PDX-1)蛋白及mRNA的表达水平。结果:与正常组比较,模型组大鼠空腹血糖及炎症因子TNF- α , IL-6均显著升高($P < 0.01$), IL-8水平明显升高($P < 0.05$),大鼠血清胰岛素水平、胰腺PDX-1蛋白及mRNA表达均显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,门冬胰岛素组血糖及血清炎症因子IL-8水平显著降低($P < 0.01$),血清胰岛素水平、胰腺PDX-1蛋白及mRNA表达均显著升高($P < 0.01$),左归丸中剂量组血糖及炎症因子TNF- α , IL-6, IL-8显著降低($P < 0.01$),血清胰岛素水平、胰腺PDX-1蛋白及mRNA表达均显著升高($P < 0.01$)。结论:左归丸可能通过降低GDM大鼠血清炎症因子水平,减少炎症反应及氧化应激反应的发生,以提升胰岛素的分泌,同时上调PDX-1蛋白和mRNA的表达,改善胰岛素抵抗,减少胰岛 β 细胞的损伤,降低大鼠血糖。

[关键词] 左归丸; 妊娠糖尿病; 胰腺十二指肠同源盒因子1; 炎症因子; 肿瘤坏死因子- α

[中图分类号] R2-0; R289; R587.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)19-0114-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201937

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200729.1742.007.html>

[网络出版日期] 2020-7-30 09:34

Effect of Zuoguiwan on Serum Related Indexes and Pancreatic PDX-1 Expression in GDM Rats

WANG Chao-qun^{1,2}, WANG Yong-hui², LIU Tao², XU Kai-xia², ZHAO Le², ZHOU Ran^{2*}

(1. HuBei University of Traditional Chinese Medicine(TCM), Wuhan 430065, China;

2. Shanxi University of TCM, Taiyuan 030024, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of maternal intervention of Zuoguiwan on the improvement of serum and pancreatic index in rats of gestational diabetes mellitus(GDM). **Method:** The GDM pregnant rats were replicated by monogamous cage and introneal injection of streptozotocin (STZ). The pregnant rats were randomly divided into normal group, model group, insulin group (20 U·kg⁻¹), and low, medium and high-dose Zuoguiwan groups (2.5, 5.0, 10.0 g·kg⁻¹). The insulin group was given hypodermic injection of portal winter insulin, all drug groups were respectively administrated with corresponding drugs for 2 weeks, once a day. Meanwhile, control group and model group were given physiological saline by gavage. After that, the levels of serum insulin, fasting plasma glucose(FBG), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) and IL-8

[收稿日期] 20200312(020)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81903951);山西中医药大学中医方剂新药创制科技创新团队项目(2018TD-004)

[第一作者] 王超群,在读博士,从事方剂效用及其物质基础研究,E-mail:1529971436@qq.com

[通信作者] *周然,博士生导师,从事方剂效用及其物质基础研究,E-mail:zhour58@sohu.com

were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), protein and gene expression levels of Pancreas-duodenal homologous box factor-1 (PDX-1) were respectively detected by Western blot and real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR). **Result:** Compared with normal group, FBG, TNF- α and IL-6 levels of pregnant rats in model group increased significantly ($P < 0.01$), the level of IL-8 increased uniformly ($P < 0.05$), and serum insulin level, protein and gene expression levels of PDX-1 decreased significantly ($P < 0.01$). Compared with model group, FBG and serum IL-8 levels of pregnant rats in insulin group were significantly lower ($P < 0.01$), while serum insulin level, protein and gene expression levels of PDX-1 increased significantly ($P < 0.01$). FBG, IL-8, IL-6 and TNF- α levels in serum of pregnant rats in medium-dose Zuoguiwan group decreased obviously, meanwhile serum insulin level, protein and gene expression levels of PDX-1 increased significantly ($P < 0.01$). **Conclusion:** Zuoguiwan may promote the secretion of insulin by reducing the serum inflammatory factors in GDM rats, and at the same time up-regulate the expression of PDX-1 protein and gene, so as to restrain insulin resistance, reduce the damage of pancreatic cells and improve the blood glucose of rats.

[Key words] Zuoguiwan; gestational diabetes; pancreatico duodenal box factor-1 (PDX-1); inflammatory factors; tumor necrosis factor- α

妊娠糖尿病(GDM)是指妇女在妊娠期间首次发现的以血糖水平异常升高为表现的代谢性疾病^[1],其对孕妇及胎儿的不良影响较大,常导致不良妊娠结局。胰腺十二指肠同源盒因子-1(PDX-1)是胰岛细胞形成、胰腺发育及维持胰岛 β 细胞功能的重要因子^[2]。有研究发现,长期置于高糖环境中可使PDX-1的基因位点发生突变,抑制其与胰岛素基因元件的结合,使其转录活化率降低,从而阻碍了胰岛素分泌,反之,则促进胰岛素分泌^[3],所以,提高PDX-1的表达有助于糖尿病的改善。近年来研究表明,炎性因子也可通过直接损害胰岛 β 细胞,或增强胰岛素抵抗,而引发糖尿病的发生,所以,降低炎性因子的含量在妊娠糖尿病的治疗中也至关重要^[4]。

妊娠糖尿病属于“妊娠消渴”范畴,《黄帝内经·灵枢·本脏》中载:“肾脆则瘕病消痰易伤”,中医认为肾脏作为五脏之根本,与消渴病的发生关系密切。左归丸出自《景岳全书》,是滋阴补肾、填精益髓的名方^[5]。经过多年临床应用和实验的总结,在以肾阴亏虚为病机的多种疾病中广泛应用,以阴虚燥热为病机的消渴病也不例外,而糖耐量减低(IGT)是糖尿病发病的前期病理阶段。课题组前期研究发现,左归丸有助于缓解子代胰岛素抵抗的发生^[6],本实验预在前期研究的基础上探讨其对GDM大鼠空腹血糖、血清胰岛素及胰腺PDX-1表达的影响。

1 材料

1.1 动物 75只SPF级雄性SD大鼠,9周龄,体质

量(260 \pm 20)g,150只SPF级雌性SD大鼠,13周龄,体质量(300 \pm 20)g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号SCXK(京)2016-0006,适应性喂养1周后开始实验。实验室温度(20 \pm 2) $^{\circ}$ C,湿度(40 \pm 10)%。本实验获得山西中医药大学实验动物伦理委员会批准(批号2019LL077)。

1.2 药物与试剂 左归丸(河南仲景宛西制药股份有限公司,批号190001),左归丸药物实际用量按人体与大鼠体表面积折算后,打粉,并用温水溶解至2.5,5,10 mg \cdot kg⁻¹,置冰箱4 $^{\circ}$ C保存,备用。链脲佐菌素(STZ,美国Sigma公司,批号990706);门冬胰岛素注射液[诺和诺德(中国)制药有限公司,批号JVGR829-1];胰岛素,白细胞介素(IL)-6,IL-8,肿瘤坏死因子- α (TNF- α)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(武汉华联生物技术有限公司,批号分别为RA20092, RA20607, RA20553, RA20034);兔抗PDX-1多克隆抗体(上海佰晔生物科技中心,批号A10173); β -肌动蛋白(β -actin抗体),SDS-PAGE凝胶制备试剂盒(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号分别为G2026, GB12001, G2003);辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗大鼠二抗(武汉博士德生物工程有限公司,批号BA1050)。

1.3 仪器 EL204型万分之一电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];Centrifuge 5424R型离心机(德国Eppendorf公司);MK3型酶标仪(美国Thermo公司);DHG-9023A型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);Real-time System型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪

(美国Bio-Rad公司);双垂直DYCZ-24DN电泳仪及转印电泳仪(北京六一仪器厂);TSY-B型脱色摇床(武汉塞维尔生物科技有限公司)。

2 方法

2.1 孕鼠制备 225只SD大鼠(雌性150只,雄性75只)适应性喂养1周后,雌鼠禁食不禁水12h,检测空腹血糖,以空腹血糖 $\leq 6.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 作为纳入标准。合格大鼠以雌、雄2:1合笼过夜,次日晨雌鼠阴道涂片镜检见精子者定为受孕,记为妊娠第0天,未受孕雌鼠予以剔除。

2.2 造模、分组及给药 于妊娠第0天按随机数字表法,将孕鼠抽取15只,作为正常组,所有孕鼠均于受孕当日禁食12h,除正常组外,其余孕鼠参照文献[7]经腹腔注射STZ $45 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,制备GDM孕鼠模型,正常组予等体积的柠檬酸缓冲液。于妊娠第3天剪尾测孕鼠血糖,参照GDM的IADPSG诊断标准^[8],若空腹血糖值 $\geq 6.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,餐后1h血糖 $\geq 10.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,或餐后2h血糖 $\geq 8.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,均视为GDM建模成功,剔除未成模孕鼠。造模成功后GDM孕鼠均分为高糖模型组,门冬胰岛素组,左归丸低、中、高剂量组,于妊娠第3天开始,各组分别按 $10 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃,正常组和模型组灌胃给予等体积生理盐水,左归丸各剂量组灌胃剂量按人与动物体表面积折算关系换算,即大鼠的用药剂量相当于成人临床用药量的6.3倍,即左归丸低、中、高剂量组分别按 $2.5, 5, 10 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量灌胃,门冬胰岛素组按 $20 \text{ U}\cdot\text{kg}^{-1}$ 皮下注射,1次/d,连续给药至妊娠第16天。

2.3 指标检测

2.3.1 大鼠一般情况观察 给药过程及结束后,观察大鼠的摄食量、饮水量、精神状态、毛色、小便情况。

2.3.2 ELISA检测大鼠空腹血糖、血清胰岛素、炎症因子TNF- α , IL-6, IL-8的含量 末次给药12h后取材,前一晚禁食不禁水,次日清晨检测大鼠空腹血糖后,予以10%水合氯醛溶液腹腔注射麻醉,腹主动脉取血,离心半径8cm, $3000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心20min,分离血清。按照ELISA试剂盒说明书步骤操作,检测大鼠血清胰岛素及炎症因子含量。

2.3.3 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠胰腺组织PDX-1蛋白的表达 于妊娠第16天处死孕鼠,分离大鼠胰腺。胰腺组织加入RIPA裂解后匀浆, 4°C , $15000\times g$ 离心5min,取上清液。将提取的总蛋白按照4:1加入5 \times 蛋白上样缓冲液,沸水浴

15min使蛋白变性。准备10%SDS-PAGE凝胶,加样后电泳,之后转至PVDF膜上,脱脂牛奶室温封闭1h,加入一抗(1:1000) 4°C 过夜,用TBST室温下脱色摇床上清洗3次,加入二抗(1:3000),室温孵育30min,脱色摇床清洗3次,加入ECL发光液后,显影,用Alpha软件处理系统分析目标条带的灰度值。

2.3.4 Real-time PCR检测大鼠胰腺组织PDX-1 mRNA的表达 大鼠胰腺组织匀浆后,依照试剂盒说明进行总RNA提取,取各组RNA样本置于离心管中,用ddH₂O定容至12L,于PCR仪上 65°C 保温5min,迅速置冰上冷却,依次加入5 \times Reaction Buffer 4 μL , $10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ dNTP Mix 2 μL , RiboLock RNAase抑制剂1 μL 和RevertAi M-MuLV逆转录酶1 μL ,混匀,于Real-time PCR仪上 42°C 保温60min,结束后 80°C 保温5min灭活反转录酶;按试剂说明书配制Real-time PCR反应体系,放入扩增仪中,反应条件为 95°C 预变性10min, 95°C 变性15s, 60°C 退火60s,共40个循环。采用2^{- $\Delta\Delta\text{C}_t$} 法表示PDX-1的mRNA相对表达量。引物序列由武汉塞维尔生物科技有限公司设计合成,引物序列见表1。

表1 PCR引物序列

Table 1 Primer sequence of PCR

引物	序列(5'-3')	长度/bp
PDX-1	上游 AATCCACCAAAGCTCACGCG	237
	下游 TCCACTTCATGCGACGGTTTT	
β -actin	上游 TGCTATGTTGCCCTAGACTTCG	240
	下游 GTTGGCATAGAGGTCTTTACGG	

2.4 统计学分析 采用SPSS 23.0软件分析,所有数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组内比较用t检验,组间比较用LSD方差分析,相关性比较采用线性回归,不符合正态性分布时进行正态性校正,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠一般情况观察 与正常组比较,其他组大鼠均出现多饮、多食、多尿、消瘦的变化,且大鼠的精神状态萎靡低下,其毛色枯槁无光泽且散乱,活动度明显减少,并且孕鼠的死亡现象明显;与模型组比较,门冬胰岛素组及左归丸各剂量组大鼠多饮、多食、多尿的情况明显减少,大鼠精神状态好转,毛发虽有不整但有光泽,且孕鼠死亡情况减少。

3.2 对大鼠空腹血糖的影响 与正常组比较,模型

组大鼠空腹血糖显著升高($P<0.01$);与模型组比较,在灌胃1,2周后,门冬胰岛素组大鼠空腹血糖显著降低($P<0.01$),左归丸中剂量组的空腹血糖亦明显

降低,差异有统计学意义($P<0.05$);门冬胰岛素组及左归丸各剂量组两两比较,差异无统计学意义。见表2。

表2 左归丸对大鼠空腹血糖的影响($\bar{x}\pm s, n=15$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	造模前	妊娠第3天	妊娠第9天	妊娠第16天
正常	-	4.1±0.7	4.5±0.6	4.4±0.4	3.9±0.6
模型	-	4.0±0.4	13.7±2.7 ²⁾	13.4±2.5 ²⁾	13.5±1.9 ²⁾
门冬胰岛素	20 ⁵⁾	4.3±0.6	14.5±2.0 ²⁾	7.4±2.7 ⁴⁾	6.9±2.4 ⁴⁾
左归丸	2.5	3.8±0.7	15.5±3.5 ²⁾	11.7±2.6 ²⁾	11.7±1.8 ²⁾
	5.0	4.1±0.6	13.7±1.7 ²⁾	9.4±1.8 ³⁾	8.2±1.4 ³⁾
	10.0	4.0±0.6	13.2±2.0 ²⁾	10.3±2.4 ²⁾	10.6±2.2 ²⁾

注:与正常组比较,¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与模型组比较,³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$,⁵⁾表示剂量单位为U·kg⁻¹(表3,4同)。

3.3 对大鼠血清胰岛素的影响 与正常组比较,模型组大鼠血清胰岛素水平明显降低($P<0.05$);与模型组比较,门冬胰岛素组及左归丸中、高剂量组胰岛素水平显著升高($P<0.01$),左归丸低剂量组无明显差异;门冬胰岛素组及左归丸中、高剂量组间两两比较,差异无统计学意义。见表3。

表3 左归丸对大鼠血清胰岛素的影响($\bar{x}\pm s, n=15$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	胰岛素/mU·L ⁻¹
正常	-	12.38±1.40
模型	-	10.13±0.90 ¹⁾
门冬胰岛素	20 ⁵⁾	15.17±1.89 ⁴⁾
左归丸	2.5	10.97±1.59 ¹⁾
	5.0	15.31±2.00 ⁴⁾
	10.0	14.96±2.18 ⁴⁾

3.4 对大鼠血清炎性因子的影响 与正常组比较,模型组大鼠血清炎性因子TNF- α 及IL-6表达显著升高($P<0.01$),IL-8明显升高($P<0.05$);与模型组比较,门冬胰岛素组IL-8显著降低($P<0.01$),而TNF- α , IL-6无明显差异;左归丸中剂量组TNF- α , IL-6及IL-8均显著降低($P<0.01$);左归丸高剂量组TNF- α ,

IL-8明显降低($P<0.05$),而IL-6无明显变化;门冬胰岛素组及左归丸各剂量组两两比较,差异无统计学意义。见表4。

表4 左归丸对大鼠血清炎性因子的影响($\bar{x}\pm s, n=15$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TNF- α	IL-6	IL-8
正常	-	56.37±10.17	203.14±26.22	37.95±5.17
模型	-	87.21±12.30 ²⁾	278.21±29.47 ²⁾	49.83±6.62 ¹⁾
门冬胰岛素	20 ⁵⁾	69.84±17.54	260.09±27.27	28.73±9.54 ⁴⁾
左归丸	2.5	78.59±14.64	352.04±22.06	40.21±10.49
	5.0	58.42±13.29 ⁴⁾	233.61±18.18 ⁴⁾	33.12±6.38 ⁴⁾
	10.0	65.84±11.38 ³⁾	290.37±26.67	35.07±8.00 ³⁾

3.5 对大鼠胰腺组织PDX-1蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组PDX-1蛋白表达显著降低($P<0.01$);与模型组比较,门冬胰岛素组及左归丸各剂量组PDX-1蛋白表达均显著升高($P<0.01$);与门冬胰岛素组比较,左归丸低剂量组PDX-1蛋白表达显著降低($P<0.01$),左归丸中剂量组PDX-1蛋白表达显著升高($P<0.01$);与左归丸低剂量组比较,左归丸中剂量组PDX-1蛋白表达显著升高($P<0.01$);与左

归丸中剂量组比较,左归丸高剂量组PDX-1蛋白表达显著降低($P<0.01$)。见表5,图1。

3.6 对大鼠胰腺组织PDX-1 mRNA表达的影响

与正常组比较,模型组PDX-1 mRNA表达显著降低($P<0.01$);与模型组比较,门冬胰岛素组及左归丸各剂量组PDX-1 mRNA表达均显著升高($P<0.01$);与门冬胰岛素组比较,左归丸中、高剂量组PDX-1 mRNA表达均显著升高($P<0.01$);与左归丸低剂量

表5 左归丸对大鼠胰腺PDX-1蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=15$)

Table 5 Effect of Zuoguiwan on expression of PDX-1 protein in pancreas($\bar{x}\pm s, n=15$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	PDX-1/ β -actin
正常	-	0.19±0.04
模型	-	0.10±0.03 ¹⁾
门冬胰岛素	20 ⁷⁾	0.26±0.01 ^{2,4,5)}
左归丸	2.5	0.20±0.03 ^{2,3,5)}
	5.0	0.31±0.02 ^{2,3,4,6)}
	10.0	0.24±0.02 ^{2,3,5)}

注:与正常组比较¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较²⁾ $P<0.01$;与门冬胰岛素组比较³⁾ $P<0.01$;与左归丸低剂量组比较⁴⁾ $P<0.01$;与左归丸中剂量组比较⁵⁾ $P<0.01$;与左归丸高剂量组比较⁶⁾ $P<0.01$; ⁷⁾表示剂量单位为U·kg⁻¹(表6同)。

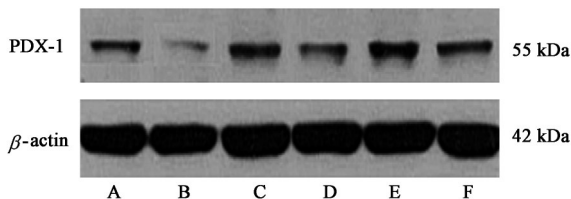


图1 左归丸对大鼠胰腺组织PDX-1蛋白表达电泳

Fig. 1 Electrophoresis of PDX-1 protein expression in pancreatics of SD rats by Zuoguiwan

组比较,左归丸中剂量组PDX-1 mRNA表达显著升高($P<0.01$);与左归丸中剂量组比较,左归丸低、高剂量组PDX-1 mRNA表达显著降低($P<0.01$)。见表6

表6 左归丸对大鼠胰腺PDX-1 mRNA表达的影响($\bar{x}\pm s, n=15$)

Table 6 Effect of Zuoguiwan on mRNA expression of PDX-1 in pancreas of rats($\bar{x}\pm s, n=15$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	PDX-1
正常	-	1.21±0.11
模型	-	0.70±0.09 ¹⁾
门冬胰岛素	20 ⁷⁾	0.95±0.07 ^{2,5,6)}
左归丸	2.5	1.12±0.14 ^{2,5)}
	5.0	1.40±0.04 ^{2,3,4,6)}
	10.0	1.28±0.04 ^{2,3,5)}

4 讨论

作为妊娠期常见的并发症之一,GDM近年来国内外发病率逐年上升,但其发病机制目前尚不明确,为了改善妊娠结局,发掘阻断其发病机制的治疗方法至关重要。妊娠糖尿病属于中医“妊娠消渴”的范畴,《黄帝内经·灵枢·五变》云:“五脏皆柔弱,善病消瘵”,《黄帝内经·灵枢·本脏》中言:“肾脆则瘵病消瘵易伤”,故中医认为消渴病的发生则

之于五脏虚损,其中肾脏虚损为之根本,因此本实验在前期研究的基础上选取补肾剂左归丸予以干预,方中重用熟地黄、鹿角胶、龟板胶等育阴涵阳,用山茱萸、山药、枸杞子、菟丝子、川牛膝等平补肝肾之阴阳,共奏益肾滋阴,填精补髓之功。

作为维持胰岛细胞分化、胰腺发育及胰岛素分泌的关键因子,PDX-1在血糖代谢的整个过程中都发挥重要作用^[9]。因结构决定功能,一方面在蛋白水平,PDX-1蛋白的氨基端^[10],可以与胰岛素基因启动子结合,调节胰岛素基因的转录和胰岛素分泌颗粒的释放,同时还可以调控胰岛素分泌细胞的分化,从而维持机体的血糖平衡。另一方面,PDX-1也可以在基因水平调节胰岛素基因及其相关基因的表达,研究发现,PDX-1基因表达降低会引起“血糖感受器”GLUT2蛋白表达的下降,以影响线粒体功能,导致胰岛素水平的下降^[11]。因此,PDX-1在糖尿病发病的整个过程,在蛋白和基因水平发挥着双重调节作用。

近年来,炎症反应在糖尿病的发病机制中备受关注。糖尿病被认为是一种“慢性低度炎性状态”,其发病与炎症、免疫密切相关。TNF- α 是代谢炎症的关键因子^[12],可直接侵害胰岛 β 细胞,影响其功能,降低胰岛素的分泌,导致糖尿病的发生,同时,还可以通过上调蛋白磷酸酶的转录,抑制胰岛素的敏感性,介导胰岛素抵抗,引发糖尿病^[13]。IL-6是由巨噬细胞分泌的引起氧化应激反应的炎症因子,可在GDM患者的血清中明显升高,引起胰岛素抵抗,或在一定程度上引起 β 细胞的功能损伤,从而导致糖尿病^[14-16]。并且糖尿病大鼠血清IL-8亦明显升高,参与炎症反应,阻碍糖尿病并发症的伤口愈合。同时,作为炎症趋化因子,IL-8可以趋化淋巴细胞导致部分 β 细胞的损坏,引起糖尿病的发生^[17-18]。

本实验通过复制大鼠GDM模型,予以不同剂量左归丸干预后发现,与模型组相比,大鼠精神状态好转,活动度增加,毛发光泽,多尿现象好转,死亡情况减少;血清胰岛素水平升高,空腹血糖水平下降;并且相关炎症因子TNF- α ,IL-6,IL-8水平均显著降低,其中,左归丸中剂量组变化最明显,说明左归丸对GDM大鼠的糖尿病有改善作用。同时,与正常组相比,模型组大鼠胰腺组织PDX-1蛋白和mRNA表达均显著降低,左归丸干预后,各治疗组较模型组均显著升高,同样左归丸中剂量组的作用明显,说明左归丸可以上调大鼠胰腺PDX-1蛋白和mRNA的表达。

综上所述,左归丸可能通过上调大鼠胰腺组织PDX-1 mRNA的表达,提升其蛋白的表达,从而提高PDX-1与胰岛素分泌细胞基因的结合,改善胰岛 β 细胞的功能,修复胰腺损伤,提升胰岛素的分泌,降低GDM大鼠的空腹血糖;另一方面,左归丸可以下调GDM大鼠血清炎症因子的表达,减缓炎症反应和氧化应激反应的发生,减少胰岛 β 细胞的损伤,改善GDM大鼠的血糖水平,但左归丸对PDX-1的调节和炎症反应之间是否存在关联,还有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] EIMER G, CIARA M, KILLALEA A, et al. Maternal obesity and dyslipidemia associated with gestational diabetes mellitus (GDM) [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2020, 33(1): 67-71.
- [2] WANTHANEE H C, KHAMCHAN A, NAVINEE W M, et al. Hesperidin ameliorates pancreatic β -cell dysfunction and apoptosis in streptozotocin-induced diabetic rat model [J]. *Life Sci*, 2019, 235: 1-9.
- [3] 周鹏飞. 2型糖尿病大鼠模型的建立及其胰腺组织INS和PDX-1表达变化的初步研究[D]. 扬州:扬州大学, 2018.
- [4] 付丽君. 血脂、脂质转运蛋白和炎症因子对GDM及其新生儿体重的影响[D]. 唐山:华北理工大学, 2019.
- [5] 孙琳琳,任公平,王书慧,等. 从脏腑辨证谈左归丸的临床运用[J]. *中医学报*, 2011, 4(39): 145-146.
- [6] 王悦尧,王永辉,许凯霞,等. 左归丸对GDM大鼠胎盘组织11 β -HSD1表达的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(11): 127-130.
- [7] 王悦尧. 左归丸对宫内高糖环境出生大鼠IGT的预防作用及机制研究[D]. 成都:成都中医药大学, 2015.
- [8] 王红红,骆硕,董巍巍,等. 妊娠糖尿病IADPSG新诊断标准与母婴结局分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2019, 40(18): 2205-2208.
- [9] GALLEGO F Q, SINZATO Y K, MIRANDA C A, et al. Pancreatic islet response to diabetes during pregnancy in rats [J]. *Life Sci*, 2018, 214(2018): 1-10.
- [10] SAFI S Z, QVIST R, ONG G, et al. Stimulation of β -adrenergic receptors plays a protective role via increased expression of RAF-1 and PDX-1 in hyperglycemic rat pancreatic islet (RIN-m5F) cells [J]. *Arch Med Sci*, 2017, 13(2): 471-479.
- [11] RAFATI R, JALAL R, ASOODEH A, et al. Association of rs12255372 (TCF7L2) and D76N (PDX-1) polymorphisms with type 2 diabetes in a population living in northeast Iran [J]. *Arch Iran Med*, 2015, 18(6): 376-378.
- [12] 付茜茹. 糖尿病辨证失范及黄芪葛根组分配伍调节胰岛素分泌的机制研究[D]. 沈阳:辽宁中医药大学, 2019.
- [13] 左娇娇,王晓霞,张定华,等. 炎症因子在糖尿病前期发病中的作用研究进展[J]. *中国医药导报*, 2020, 17(3): 38-40, 44.
- [14] FADAEI R, BAGHERI N, HEIDARIAN E, et al. Serum levels of IL-32 in patients with type 2 diabetes mellitus and its relationship with TNF- α and IL-6 [J]. *Cytokine*, 2019, doi: 10.1016/j.cyto.2019.154832.
- [15] 章惺惺. Ndr2、IL-6与糖尿病微血管病变相关性研究及机制探讨[D]. 苏州:苏州大学, 2017.
- [16] 王焯,朱向东. 葛根苓连汤对2型糖尿病ZDF大鼠CRP、TNF- α 、IL-6的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(21): 130-134.
- [17] 王迪. 白念珠菌对高糖环境HaCa T细胞表达TLR2与IL-8的影响[D]. 天津:天津医科大学, 2018.
- [18] 刘晓燕,朱金照,王艳丽,等. 肝源性糖尿病患者体内IP-10和IL-8表达分析[J]. *福建医药杂志*, 2018, 40(2): 30-32.

[责任编辑 孙丛丛]