

肉桂对糖尿病大鼠肠促胰素效应的调节作用

顾嘉琪, 覃骊兰, 苏榕, 黄敏, 韦义, 许强*
(广西中医药大学药学院, 南宁 530001)

[摘要] **目的:**探讨通过建立链脲佐菌素(STZ)诱导的糖尿病(DM)大鼠模型,观察肉桂对DM大鼠肠促胰素效应的药理学作用,并基于胰高血糖素样肽-1(GLP-1)、二肽基肽酶-4(DPP-4)蛋白探讨其作用机制。**方法:**40只SD大鼠随机分为空白组、模型组、西格列汀组($0.1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、肉桂低、高剂量组($0.45, 0.9\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),除空白组外采用高脂饲料喂养联合腹腔注射STZ($40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)建立DM大鼠模型。给药干预时间为8周,观察大鼠状态、体质量、饮水量、摄食量、空腹血糖(FBG)等情况,采用苏木素-伊红(HE)染色观察大鼠胰腺病理变化,采用免疫组化法检测DM大鼠胰腺中胰高血糖素蛋白表达,生化法检测大鼠血清脂代谢指标总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL)及高密度脂蛋白(HDL)水平。酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测大鼠血清中糖化血红蛋白、胰岛素、胰高血糖素、GLP-1、葡萄糖依赖性促胰岛素多肽(GIP)含量。采用蛋白免疫印迹法(Western blot)检测DM大鼠胰腺中GLP-1、DPP-4的蛋白表达。**结果:**各组干预8周后,与正常组比较,模型组大鼠体质量、空腹血糖、TC、TG、LDL、糖化血红蛋白、胰高血糖素、胰岛素、胰岛素抵抗指数显著升高($P<0.01$),HDL、GLP-1、GIP明显降低($P<0.05, P<0.01$);与模型组比较,肉桂各剂量组大鼠体质量、空腹血糖、TC、TG、LDL、糖化血红蛋白、胰高血糖素、胰岛素、胰岛素抵抗指数明显降低($P<0.05, P<0.01$),HDL、GLP-1、GIP明显升高($P<0.05, P<0.01$)。HE染色结果显示,肉桂各剂量组胰岛细胞形态明显好转,未出现细胞核密集现象。免疫组化结果显示,与模型组比较,肉桂各剂量组胰高血糖素蛋白在胰岛细胞中央明显减少,含量下降。Western blot结果显示,与正常组比较,模型组大鼠DPP-4的蛋白表达水平显著升高($P<0.01$),GLP-1的蛋白表达水平显著降低($P<0.01$);与模型组比较,肉桂高剂量组DPP-4的蛋白表达水平明显降低($P<0.05$),GLP-1的蛋白表达水平表达明显升高($P<0.05$)。**结论:**肉桂可有效降低DM大鼠血糖,改善肠促胰素效应,进而发挥降糖作用,作用机制可能是通过激活调控DPP-4和GLP-1蛋白来实现。

[关键词] 糖尿病; 肉桂; 肠促胰素效应; 二肽基肽酶-4(DPP-4); 胰高血糖素样肽-1(GLP-1); 内分泌

[中图分类号] R2-0;R33;R289;R587.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)12-0104-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20230438

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20230320.1325.001.html>

[网络出版日期] 2023-03-21 13:37:50

Cinnamomi Cortex Regulates Incretin Effect in Diabetic Rats

GU Jiaqi, QIN Lilan, SU Rong, HUANG Min, WEI Yi, XU Qiang*

(School of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the pharmacodynamic effects of Cinnamomi Cortex on the incretin effect in the rat model of diabetes mellites (DM) induced by streptozotocin (STZ) and explore the underlying mechanism from glucagon-like peptide-1 (GLP-1) and dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4). **Method:** Forty SD rats were randomly assigned into blank, model, sitagliptin ($0.1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), and low- and high-dose Cinnamomi Cortex (0.45 and $0.9\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, respectively) groups. The DM rat model was established by a high-fat diet combined with intraperitoneal injection of $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ STZ in other groups except the blank group. The intervention lasted for 8 weeks. The status, body weight, water intake, food intake, and fasting blood glucose (FBG) of the rats were

[收稿日期] 2022-12-08

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81873190);广西中医药大学2020年引进博士科研启动基金项目(2020BS018);桂派中医师承教育项目

[第一作者] 顾嘉琪,在读硕士,从事中药药性理论与临床研究,E-mail: gujiaqi000@126.com

[通信作者] *许强,博士,讲师,从事六经辨治内分泌疾病研究,E-mail: tcmhacker@sina.com

observed and determined. Hematoxylin-eosin staining was employed to reveal the pathological changes of the pancreas, and immunohistochemistry to detect the expression of glucagon in the pancreas. Biochemical assay was employed to measure the serum levels of lipid metabolism indexes such as total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low-density lipoprotein (LDL), and high-density lipoprotein (HDL). Enzyme-linked immunosorbent assay was employed to determine the levels of glycosylated hemoglobin, insulin, glucagon, GLP-1, and glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) in rat serum, and Western blot to determine the protein levels of GLP-1 and DPP-4 in the pancreas. **Result:** After 8 weeks of intervention, the model group showed higher body weight, FBG, TC, TG, LDL, glycosylated hemoglobin, glucagon, insulin, and insulin resistance index and lower HDL, GLP-1, and GIP than the blank group ($P<0.05$, $P<0.01$). The Cinnamomi Cortex groups showed lower body weight, FBG, TC, TG, LDL, glycosylated hemoglobin, glucagon, insulin, and insulin resistance index and higher HDL, GLP-1, and GIP than the model group ($P<0.05$, $P<0.01$). The Cinnamomi Cortex groups showed recovered morphology of islet cells and no nucleus aggregation. Compared with the model group, the Cinnamomi Cortex groups showed declined levels of glucagon in the center of islet cells. Compared with the blank group, the model group showed up-regulated protein level of DPP-4 and down-regulated protein level of GLP-1 ($P<0.01$). Compared with the model group, the high-dose Cinnamomi Cortex groups showed down-regulated protein level of DPP-4 and up-regulated protein level of GLP-1 ($P<0.05$). **Conclusion:** Cinnamomi Cortex may reduce blood glucose and improve incretin effect to lower the blood glucose level by regulating DPP-4 and GLP-1 in DM rats.

[Keywords] diabetes mellitus; Cinnamomi Cortex; incretin effect; dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4); glucagon-like peptide-1 (GLP-1); endocrine

糖尿病(DM)是一种以高血糖为典型特征,糖脂代谢紊乱为主要特点并严重影响人类健康的慢性疾病,其主要临床症状为多饮、多食、多尿、体重减轻、乏力。DM发病机制复杂,会引起眼部疾病,心血管疾病、肾病等严重并发症。随着社会的发展,生活水平的提高,DM发病率也逐年上升^[1]。据研究报告,在2021年,全球有5.37亿成年DM患者,受到影响的成年人约1/10,并约有670万人因DM或DM并发症而死亡,在全因死亡人数中占到12.2%。同时,在2011至2021年这10年间,我国的DM患者增幅达56%,由9 000万例增加至1.4亿例^[2]。

据研究报告,肠促胰素效应主要包括胰高血糖素样肽-1(GLP-1)和葡萄糖依赖性胰岛素释放肽(GIP)两种途径^[3],通过配体-受体结合形式发挥生物学效应。肠促胰素是调节 α 细胞功能的重要生理因子,通过干预肠促胰素途径改善异常的 α 细胞功能可有效改善DM的高血糖状态。GLP-1受体激动剂、二肽基肽酶-4(DPP-4)抑制剂等肠促胰素调节剂也是近年来治疗DM的一线药物^[4]。其中DPP-4抑制剂磷酸西格列汀应用较为广泛,DM患者口服西格列汀药物能够减少体内DPP-4表达,缩短DPP-4对GLP-1的分解,有利于控制血糖,缓解病情。

中医对DM很早就有明确的认识,认为其属于“消渴”范畴,《黄帝内经·素问·奇病论》中提出“此肥美之所发也,此人必数食甘美而多肥也。肥者令人内热,甘者令人中满,故其气上溢,转为消渴”^[5]。中药肉桂作为广西的道地药材,为著名的“桂十味”之一,最早记载于《神农本草经》并将其列为上品。《中药学》认为肉桂属温里药,性味为辛、甘、大热,可以入肾、脾、心、肝经,具有补火助阳、散寒止痛、温通经脉、引火归元之效^[6]。肉桂药性和缓浑厚、守而不走,不仅具有补下焦肾中真火不足,“救阳中之阳”,而且还能引火归元、息无根之火。在历代的方剂中都有记载肉桂在治疗DM方面的作用。如最早记载治疗下消的方剂:金匱肾气丸,其中就包含肉桂。陈士铎《辨证录》记载的引龙汤中,肉桂首次以组方的形式治疗下寒之极、逼火上浮导致的消渴病。施今墨先生创制温肾降糖方用于治疗DM虚寒证,认为DM的病机之一就是肾气虚惫、固摄无权、命门火衰、不能化精,所以治疗要从肾阳入手。肉桂各种使用论断非常符合《医贯》中消渴的病因病机,即命门火衰^[7]。

现代医学相关研究也显示肉桂具有明显的降糖降脂作用,在治疗DM方面有很好的理论及实验基础^[8]。也有研究显示,肉桂相关药对可以影响小

鼠肠道屏障功能、肠道菌群的种类和分布及影响胃肠功能^[9],故本研究猜测肉桂与肠促胰素效应具有一定关系。因此本实验观察广西道地药材肉桂对DM大鼠的影响,探讨其治疗DM的疗效是否通过调节肠促胰素发挥治疗DM的作用,能够为临床应用提供一定参考,为中医药防治DM提供新的方向并为广西地区群众更好的利用本土资源提供理论参考和实验依据。

1 材料

1.1 动物及饲料 SPF级雄性SD大鼠40只,8周龄,体质量(180±20)g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,合格证号SCXK(湘)2019-0004,饲养于广西中医药大学SPF级动物实验室,许可证号SYXK(湘)2019-0001,环境温度(22±2)℃,相对湿度50%~70%,12 h明暗交替,自由进食饮水,常规适应性饲养1周后开始实验,本实验获广西中医药大学伦理委员会批准并备案(证书编号DW20220310-018)。高脂高糖饲料(北京科澳协力,批号20211015)。

1.2 药物 肉桂饮片购自久康药材有限公司,批号20210923,由广西中医药大学中药教研室覃骊兰教授进行鉴定为正品肉桂,为樟目樟科樟属植物肉桂 *Cinnamomum cassia* 的干燥树皮,符合2020年版《中华人民共和国药典》标准要求。将100 g肉桂浸泡1 h,第1遍加蒸馏水1 000 mL,武火煮沸,文火慢煎30 min,滤出药液。第2遍加蒸馏水600 mL,煎煮30 min,滤出药液。合并滤液,继续煮沸浓缩为含生药质量浓度0.25 g·mL⁻¹的药液,4℃保存,用时稀释^[10]。西格列汀,购自杭州默沙东制药有限公司,批号0006333,溶于双蒸水,质量浓度为1 g·L⁻¹。

1.3 试剂 链脲佐菌素(STZ,美国Sigma公司,批号WXBD4533V),柠檬酸、柠檬酸钠(美国阿拉丁公司,货号分别为C2125206、C2122029),大鼠糖化血红蛋白(Ghb)酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(江莱生物科技有限公司,货号JL21291),大鼠胰岛素(INS)、胰高血糖素(GC)、GLP-1、GIP、DPP-4 ELISA试剂盒(上海华美公司,货号分别为CSB-E05070r、CSB-E12800r、CSB-E08117r、CSB-E17969r、CSB-E08519r),GC抗体(三鹰公司,货号15954-1-AP),GLP-1抗体(中国Affinity公司,货号BF8043),DPP-4抗体(SAB公司,货号28617),甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(上海康成公司,货号KC-5G4),辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗小鼠免疫球蛋白免疫球蛋白(Ig)G(武汉博士德生物工

程有限公司,货号BA1054),空腹血糖(FBG)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)试剂盒(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司,批号分别为2022080504、2022080504、2022080504、2022080504),苏木素、伊红染液(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号分别为ZLI-9610、ZLI-9613)。**1.4 仪器** ACCU-CHEK Performa型罗氏血糖仪(德国罗氏诊断有限公司),FRESCO 21型高速冷冻离心机(美国Thermo公司),MT70-2型微孔板恒温孵育器(中国米欧仪器有限公司),DNM-9602型酶标仪(北京普朗新技术有限公司),JB-P5型组织包埋机(武汉俊杰电子有限公司),BX45型正置光学显微镜(日本奥林巴斯公司),MSX2成像系统(广州市明美光电技术有限公司),BS-200型迈瑞生化仪(迈瑞生物医疗电子股份有限公司),AX-II X射线摄影暗匣(广东粤华医疗机械厂有限公司)。

2 方法

2.1 造模及给药 40只SD大鼠适应性喂养1周后,随机选取8只设为正常组,予普通大鼠饲料。余32只给予高脂高糖饲料喂养4周后,禁食不禁水12 h以上,将STZ溶解于0.1 mol·L⁻¹柠檬酸缓冲液中(pH 4.4),配制成1%溶液,按40 mg·kg⁻¹剂量一次性腹腔注射,同时正常组以等体积柠檬酸缓冲液注射。72 h后尾静脉采血测定随机血糖,随机血糖≥16.7 mmol·L⁻¹或空腹血糖≥11.1 mmol·L⁻¹为DM造模成功^[11]。造模过程中大鼠死亡2只,将造模成功的30只大鼠随机分为模型组、西格列汀组、肉桂低、高剂量组。按体表面积折算系数进行人和大鼠等效剂量换算,即以70 kg成人剂量的6.3倍,计算可得西格列汀组每日10 mg·kg⁻¹灌胃,肉桂低剂量组0.45 g·kg⁻¹·d⁻¹灌胃,肉桂高剂量组0.9 g·kg⁻¹·d⁻¹灌胃,正常组和模型组予以等体积蒸馏水灌胃。每周称体质量1次,根据体质量变化调整剂量,连续给药8周,给药过程中无大鼠死亡。

2.2 标本收集 每2周使用血糖仪测1次尾静脉随机血糖。给药干预8周后采用30 mg·kg⁻¹戊巴比妥麻醉后取材处死动物,腹主动脉取血,静置2 h,3 500 r·min⁻¹离心10 min(离心半径13 cm)后取血清放置于-80℃冰箱中,随后取部分胰腺4%多聚甲醛液中固定,剩余部分置于-80℃冰箱备用。

2.3 大鼠一般状态观察 实验期间,观察各组小鼠给药前后体质量、饮食量、饮水量、毛色及活动状态等变化。

2.4 FBG水平检测 实验期间,每2周尾静脉取血,使用血糖仪测FBG,计算给药后血糖降低值。最后一次使用全自动生化分析仪测定FBG。

2.5 大鼠血清指标检测 采用全自动生化检测仪检测大鼠血清TC、TG、HDL-C、LDL;严格按照ELISA试剂盒的说明书操作步骤使用酶标仪检测大鼠血清中Ghb、INS、GC、DPP-4、GLP-1、GIP,并计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR), $HOMA-IR=FBG \times INS/22.5$ 。

2.6 苏木素-伊红(HE)染色观察胰腺组织病理变化 经梯度乙醇脱水、石蜡包埋,制成3~5 μm 病理切片,HE染色后在光学显微镜下观察,分析评价各组胰腺标本组织形态学改变。

2.7 免疫组化(IHC)检测大鼠胰腺组织蛋白的表达 脱石蜡后,将切片置于盛满EDTA抗原修复缓冲液(pH 9.0)的修复盒中于微波炉内进行抗原修复,BSA封闭,将切片与GC一抗(1:100)4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,二抗孵育50 min,HRP标记链霉卵白素孵育30 min,DAB显色,苏木素复染、1%盐酸乙醇分化、自来水冲洗,氨水返蓝,流水冲洗和脱水后,将切片置于显微镜下观察,分析评价阳性产物的分布情况及表达量。

表1 肉桂对DM大鼠不同时间体质量水平的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 1 Effect of Cinnamomi Cortex on body weight of DM rats at different time ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	给药前	给药2周	给药4周	给药6周	给药8周
空白组		280.00 \pm 9.61	376.17 \pm 10.19	433.50 \pm 14.98	455.00 \pm 16.25	463.67 \pm 26.30
模型组		215.33 \pm 10.01 ²⁾	239.17 \pm 18.85 ²⁾	245.33 \pm 6.74 ²⁾	266.67 \pm 8.12 ²⁾	266.67 \pm 9.24 ²⁾
肉桂低剂量组	0.45	223.67 \pm 9.31	259.17 \pm 7.47	311.67 \pm 9.87 ⁴⁾	360.83 \pm 10.94 ⁴⁾	365.34 \pm 12.09 ⁴⁾
肉桂高剂量组	0.9	221.67 \pm 10.21	270.50 \pm 5.99 ⁴⁾	324.50 \pm 10.04 ⁴⁾	375.50 \pm 8.12 ⁴⁾	393.33 \pm 16.76 ⁴⁾
西格列汀组	0.01	222.50 \pm 9.31	273.17 \pm 19.07 ⁴⁾	356.33 \pm 15.40 ⁴⁾	397.00 \pm 10.55 ⁴⁾	417.33 \pm 12.96 ⁴⁾

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⁾ $P<0.01$ (表2-表7同)

3.2 对DM大鼠不同时间FBG水平的影响 与空白组比较,模型组大鼠FBG水平显著升高,差异具有显著统计学意义($P<0.01$);给药后,与模型组

2.8 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠胰腺组织相关信号通路蛋白的表达 使用RIPA裂解液提取大鼠胰腺组织总蛋白,Bradford法测定蛋白浓度。聚丙烯酰胺凝胶进行蛋白电泳,PVDF转膜,封闭,加入对应的一抗GAPDH、GLP-1、DPP-4(1:1 000),4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。TBST洗涤3次,加入二抗(1:10 000),室温孵育1.5 h,显色。通过SensiAnsys软件分析蛋白表达量。

2.9 统计学分析 采用SPSS 22.0软件进行分析;重复观察指标比较采用重复测量资料方差分析;单次观察指标符合正态分布且方差齐的比较采用单因素方差分析,不符合则采用非参数秩和检验;进一步两两比较,若方差齐,则采用最小显著性差异法检验,若方差不齐,则采用Dunnett T3检验,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对DM大鼠症状及体征的影响 与空白组比较,模型组大鼠出现多饮、多尿、多食、皮毛无光泽、精神萎靡等现象,且模型组体质量显著降低($P<0.01$);与模型组比较,给药4周后,肉桂低、高剂量组、西格列汀组大鼠症状均明显改善,体质量均显著升高($P<0.01$)。见表1。

比较,肉桂低、高剂量组、西格列汀组FBG水平均显著降低,差异具有显著统计学意义($P<0.01$)。见表2。

表2 肉桂对DM大鼠不同时间FBG水平的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Effect of Cinnamomi Cortex on FBG levels in DM rats at different times ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	给药前	给药2周	给药4周	给药6周	给药8周
空白组		5.83 \pm 0.52	6.25 \pm 0.61	6.30 \pm 0.36	6.02 \pm 0.55	5.62 \pm 0.71
模型组		21.88 \pm 4.16 ²⁾	23.18 \pm 1.24 ²⁾	27.22 \pm 1.60 ²⁾	26.25 \pm 2.61 ²⁾	23.00 \pm 1.97 ²⁾
肉桂低剂量组	0.45	22.25 \pm 3.01	18.90 \pm 1.53 ⁴⁾	21.65 \pm 1.56 ⁴⁾	19.83 \pm 2.10 ⁴⁾	17.20 \pm 1.45 ⁴⁾
肉桂高剂量组	0.9	23.27 \pm 3.84	17.27 \pm 1.72 ⁴⁾	16.87 \pm 2.29 ⁴⁾	13.53 \pm 2.39 ⁴⁾	15.07 \pm 1.09 ⁴⁾
西格列汀组	0.01	23.78 \pm 4.18	11.57 \pm 1.51 ⁴⁾	10.80 \pm 1.87 ⁴⁾	8.45 \pm 0.64 ⁴⁾	12.15 \pm 2.05 ⁴⁾

3.3 对DM大鼠FBG、INS及HOMA-IR水平的影响 与正常组比较,模型组大鼠FBG、INS及HOMA-IR水平均显著升高($P<0.01$);与模型组比

较,肉桂低、高剂量组及西格列汀组大鼠FBG、INS及HOMA-IR水平均有不同程度降低($P<0.05$, $P<0.01$)。见表3。

表3 肉桂对DM大鼠FBG、INS及HOMA-IR水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 3 Effect of Cinnamomi Cortex on FBG, INS and HOMA-IR levels in DM rats ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	FBG/mmol·L ⁻¹	INS/mU·L ⁻¹	HOMA-IR
空白组		5.80±0.59	26.80±1.14	6.93±0.10
模型组		15.20±1.97 ²⁾	49.11±4.76 ²⁾	33.47±7.34 ²⁾
肉桂低剂量组	0.45	11.57±0.64 ³⁾	38.90±0.72 ³⁾	20.03±1.45 ³⁾
肉桂高剂量组	0.9	9.78±0.34 ⁴⁾	35.13±1.87 ⁴⁾	15.29±1.33 ⁴⁾
西格列汀组	0.01	8.28±0.43 ⁴⁾	31.40±0.89 ⁴⁾	11.57±0.91 ⁴⁾

3.4 对DM大鼠血清Ghb、GC水平的影响 与正常组比较,模型组大鼠血清Ghb、GC水平均明显升高($P<0.01$);与模型组比较,肉桂低、高剂量组及西格列汀组大鼠血清Ghb、GC水平均明显降低($P<0.05$, $P<0.01$)。见表4。

表4 肉桂对DM大鼠血清Ghb、GC水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 4 Effect of Cinnamomi Cortex on serum Ghb and GC levels in DM rats ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Ghb/mg·L ⁻¹	GC/μg·L ⁻¹
空白组		4.20±0.67	1.21±0.17
模型组		9.40±1.05 ²⁾	2.45±0.13 ²⁾
肉桂低剂量组	0.45	7.55±0.24 ³⁾	2.15±0.12 ⁴⁾
肉桂高剂量组	0.9	6.74±0.16 ⁴⁾	1.94±0.05 ⁴⁾
西格列汀组	0.01	5.80±0.22 ⁴⁾	1.68±0.11 ⁴⁾

3.5 对DM大鼠血脂含量的影响 与正常组比较,模型组大鼠血清TG、TC、LDL均显著升高($P<0.01$),HDL明显降低($P<0.05$);与模型组比较,肉桂高剂量组及西格列汀组大鼠血清TG、TC、LDL水平明显降低($P<0.05$, $P<0.01$),肉桂低剂量组血清TC、LDL水平明显降低($P<0.05$),肉桂低、高剂量组、西

格列汀组血清HDL水平均明显升高($P<0.05$, $P<0.01$)。见表5。

表5 肉桂对DM大鼠血脂水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 5 Effect of Cinnamomi Cortex on lipid levels in DM rats ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TG	TC	LDL	HDL
空白组		0.30±10.02	1.31±0.10	0.28±0.04	0.95±0.20
模型组		0.74±0.15 ²⁾	2.20±0.19 ²⁾	0.58±0.06 ²⁾	0.50±0.05 ¹⁾
肉桂低剂量组	0.45	0.51±0.05	1.81±0.07 ³⁾	0.47±0.02 ³⁾	0.60±0.02 ³⁾
肉桂高剂量组	0.9	0.41±0.01 ³⁾	1.63±0.03 ⁴⁾	0.41±0.03 ⁴⁾	0.66±0.02 ⁴⁾
西格列汀组	0.01	0.36±0.02 ³⁾	1.51±0.04 ⁴⁾	0.35±0.01 ⁴⁾	0.73±0.04 ⁴⁾

3.6 对DM大鼠血清GLP-1、GIP水平的影响 与正常组比较,模型组大鼠血清GLP-1、GIP水平均显著降低($P<0.01$);与模型组比较,肉桂低、高剂量组及西格列汀组大鼠血清GLP-1、GIP水平均显著升高($P<0.01$)。见表6。

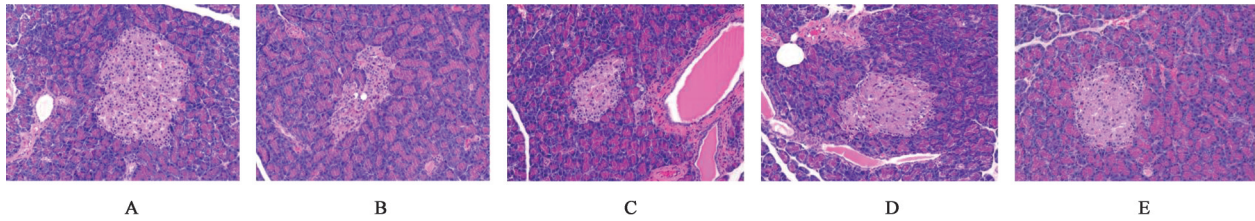
表6 肉桂对DM大鼠血清GLP-1、GIP水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 6 Effect of Cinnamomi Cortex on serum GLP-1 and GIP levels in DM rats ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	GLP-1/μg·L ⁻¹	GIP/ng·L ⁻¹
空白组		2.00±0.09	59.41±4.08
模型组		0.45±0.16 ²⁾	23.81±2.14 ²⁾
肉桂低剂量组	0.45	1.04±0.10 ⁴⁾	35.86±1.42 ⁴⁾
肉桂高剂量组	0.9	1.38±0.06 ⁴⁾	42.83±1.50 ⁴⁾
西格列汀组	0.01	1.61±0.06 ⁴⁾	47.09±0.60 ⁴⁾

3.7 对DM大鼠胰腺病理学改变的影响 正常组胰岛细胞外观呈饱满球形,细胞排列匀齐,胰岛细胞占胰岛大部分范围;胰岛数量较多,面积较大,均衡分布并和腺泡分界清晰,胰岛细胞间含丰富的毛细血管及神经。与正常组比较,模型组胰岛细胞形态萎缩,排列混乱,与腺泡分界模糊;胰岛数量较少,面积较小,不均匀分布。与模型组比较,肉桂

低、高剂量组及西格列汀组胰岛结构较规整,与腺泡分界较模型组清晰;胰岛面积较大,胰岛细胞萎缩程度有所改善。见图1。



注:A.空白组;B.模型组;C.肉桂低剂量组;D.肉桂高剂量组;E.西格列汀组(图2同)

图1 肉桂对DM大鼠胰腺组织病理形态改变的影响(HE,×400)

Fig. 1 Effect of Cinnamomi Cortex on histopathologic changes of pancreas in DM rats (HE, ×400)

3.8 对DM大鼠胰腺组织中胰高血糖素蛋白分布及表达水平的影响 与正常组比较,模型组大鼠腹GC蛋白的表达向胰岛细胞中央分布,且GC蛋白相

对表达水平明显增加;与模型组比较,肉桂低、高剂量组、西格列汀组GC蛋白的表达在胰岛细胞中央明显减少,GC蛋白相对表达明显降低。见图2。

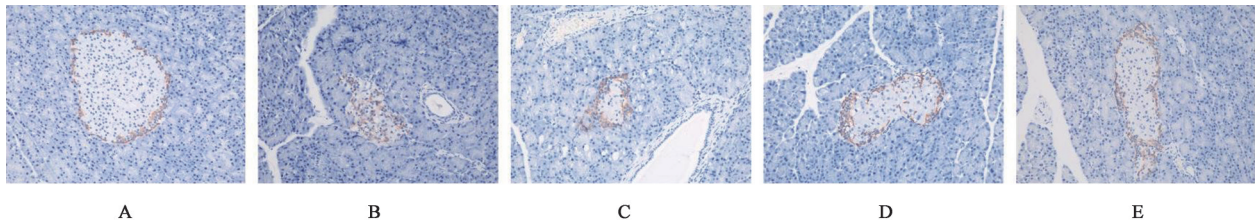


图2 肉桂对大鼠胰腺组织中胰高血糖素蛋白分布及含量的影响(免疫组化,×400)

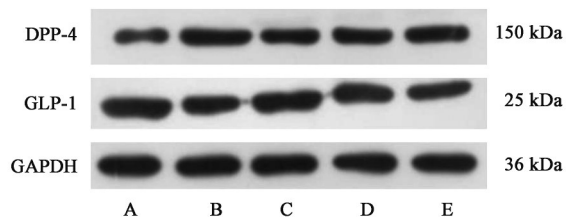
Fig. 2 Effect of Cinnamomi Cortex on distribution and content of glucagon protein in rat pancreas (IHC, ×400)

3.9 对DM大鼠胰腺组织中GLP-1、DPP-4蛋白表达水平的影响 与正常组比较,模型组大鼠胰腺组织中GLP-1水平均明显下调($P<0.01$),DPP-4水平明显上调($P<0.05$);与模型组比较,肉桂高剂量组及西格列汀组大鼠血清GLP-1水平均显著上调($P<0.01$),DPP-4水平均明显下调($P<0.05$)。见图3、表7。

表7 肉桂对DM大鼠胰腺组织中GLP-1、DPP-4蛋白表达水平的影响($\bar{x}\pm s, n=4$)

Table 7 Effect of Cinnamomi Cortex on GLP-1, DPP-4 protein expression levels in pancreatic tissue of DM rats ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	DPP-4/GAPDH	GLP-1/GAPDH
空白组		0.37±0.05	0.96±0.12
模型组		1.09±0.21 ²⁾	0.49±0.16 ²⁾
肉桂低剂量组	0.45	0.70±0.19	0.85±0.18
肉桂高剂量组	0.9	0.92±0.11 ³⁾	0.63±0.20 ³⁾
西格列汀组	0.01	0.86±0.12 ³⁾	0.74±0.16 ³⁾



注:A.空白组;B.模型组;C.西格列汀组;D.肉桂低剂量组;E.肉桂高剂量组

图3 各组大鼠胰腺组织中DPP-4、GLP-1蛋白表达电泳

Fig. 3 Electrophoresis of DPP-4, GLP-1 protein expression level in pancreatic tissue of rats in each group

4 讨论

DM是一种以高血糖为特征的代谢性疾病,极易引发多种并发症,严重影响生活质量,甚至导致死亡。DM患者代谢平衡失常,包括持续高血糖及血脂代谢紊乱,其中包含FPG、INS及Hb A1c水平升高,以及TG、TC、LDL-C水和HDL-C水平的异常;DM患者长期高血糖所带来的糖脂异常等可带来对

胰岛细胞的损伤,因此胰岛细胞的数量减少、形态改变对DM的发生、发展起到重要作用。DM在中医属于消渴的范畴。从汉代张仲景以金匱肾气丸开创温阳法治消渴后,在清热润燥、养阴生津的基础上重视扶阳,一直是中医之劳消渴的重要原则^[12]。肉桂属温里药,其补火助阳、散寒止痛、温通经脉、引火归元之效可以有效应用于消渴伴随的瘀血、痰湿,脉络瘀阻,阴虚燥热,血液凝滞,血行受阻^[13-14]。现代研究显示,肉桂能用于治疗DM,其提取物能够降低空腹血糖、血脂及胰岛素抵抗,对DM并发症也有一定治疗及预防作用^[15-16]。

本实验采用高脂高糖饮食联合腹腔注射STZ的方法诱导制备T2DM大鼠模型,结果发现模型组大鼠的血糖显著升高,体质量明显减轻,并表现出

多饮、多食、多尿等典型的DM临床症状,胰腺组织也具有相应病理改变,说明模型复制成功。实验结果显示,经过8周治疗,肉桂各剂量组与模型组相比,体质量明显升高,血糖明显降低,血清胰岛素明显升高,血清胰高血糖素明显下降。血清中TG、TC、LDL-C水平升高和HDL-C水平降低,胰腺组织形态得到改善,GC蛋白的表达在胰岛细胞中央明显减少,相对表达水平明显下调提示肉桂能够降低大鼠血糖水平,改善大鼠脂质代谢,改善DM大鼠胰腺的病理性变化及DM病程进展,具有良好的治疗DM的作用。

在口服葡萄糖刺激下,肠促胰素分泌增加,继而刺激胰岛 β 细胞的分化和增殖并抑制胰岛 α 细胞分泌胰高血糖素,从而实现降糖作用,这种生理现象称为“肠促胰素效应”^[17]。近年来研究表明,肠促胰素效应受损甚至缺陷,是DM发生、发展的重要原因^[18]。在人体内,肠促胰素效应主要包括GLP-1和葡GIP两种途径。GLP-1能作用于胰岛 β 细胞,促进 β 细胞合成,刺激 β 细胞的分化和增殖,抑制 β 细胞的凋亡,增加 β 细胞数量;GLP-1也作用于胰岛 α 细胞,能高效地抑制胰高血糖素的释放,还能抑制胃肠蠕动,延缓胃排空,抑制摄食中枢,降低食欲,减少摄食^[19]。GIP又称肠抑胃肽,与GLP-1具有相似的生理作用,可防止由高糖高脂饮食导致的胰岛素抵抗^[20]。DPP-4,即CD26,是肠促胰素的代谢酶,可以切掉GLP-1和GIP端头的二肽,使二者失去生物活性。现有研究表明^[21],DM患者的血清GLP-1水平显著降低,同时发现^[22],在DM患者中,无论空腹还是餐后血清DPP-4活性水平均高于正常人群。此外,有实验观察到^[23],DM大鼠GLP-1受体表达较正常大鼠明显减少。同时,肠促胰素调节剂的应用,例如磷酸西格列汀等DPP-4抑制剂的应用表明,通过抑制DPP-4的活性,可明显减少肠促胰素的降解,提高肠促胰素的血清及组织浓度,发挥相应效应而实现降糖作用,为DM提供了新的治疗手段^[24-25]。

本实验结果表明,经过8周的治疗,肉桂各剂量组与模型组大鼠相比,显著促进胰高血糖原在胰岛细胞内的分泌,显著促进了GLP-1、GIP在血清中的含量;同时,肉桂各剂量组与模型组大鼠相比,胰腺组织DPP-4蛋白水平明显降低,GLP-1蛋白水平明显上升;说明肉桂具有类似DPP-4抑制剂的作用,可以减少机体内DDP-4表达,缩短DDP-4对GLP-1及GIP的分解,GLP-1及GIP高表达反向调节生长因子

加快受体活性作用,加快胰腺分泌细胞的生长因子,增加胰岛细胞的数目,改善胰腺功能,有利于控制血糖,缓解病情,从而达到对DM大鼠的治疗作用。

综上,肉桂具有明显的改善DM大鼠糖脂代谢、胰腺病理形态的作用,其治疗DM的机制可能与调控DPP-4、GLP-1、GIP的表达,从而改善大鼠体内肠促胰素效应有关。但肉桂防治DM的机制十分复杂,是否有其他通路及靶点调节胰岛素、影响胰高血糖素分泌需进一步研究。另外,肉桂属于温里药,中医需要辨证论治治疗疾病,本研究尚未涉及DM大鼠的中医的证型。因此,在今后对肉桂降糖的研究中,还需要进一步探讨肉桂是否更适合用于里寒证的DM大鼠模型,以期为临床研究提供确切的实验依据。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] HU C, JIA W. Diabetes in China: Epidemiology and genetic risk factors and their clinical utility in personalized medication [J]. *Diabetes*, 2018, 67 (1): 3-11.
- [2] 郭立新. 2021年糖尿病领域年度重大进展回顾[J]. *中华糖尿病杂志*, 2022, 14(1):1-8.
- [3] MAYENDRARAJ A, ROSENKILDE M M, GASBJERG L S. GLP-1 and GIP receptor signaling in beta cells-a review of receptor interactions and co-stimulation[J]. *Peptides*, 2022, 151:170749.
- [4] MEGA C, TEIXEIRA-DE-LEMOS E, FERNANDES R, et al. Renoprotective effects of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin: A review in type 2 diabetes[J]. *J Diabetes Res*, 2017, 2017:5164292.
- [5] 汪健红,陆付耳,董慧. 肉桂治疗糖尿病的研究进展[J]. *中西医结合研究*, 2011, 3(1):25-27, 41.
- [6] 任艳玲,姜开运. *中药学*[M]. 北京:中国中医药出版社, 2018.
- [7] 马如风,王丽丽,郭鱼波,等. 肉桂治疗2型糖尿病的理论基础及临床研究[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2016, 22(3):409-411.
- [8] 穆国华. 黄连-肉桂治疗T2DM的临床应用及对基于肠道菌群的BA/TGR5/GLP-1通路影响[D]. 北京:北京中医药大学, 2021.
- [9] 王佰涛,杨文玲,陈国参,等. 肉桂提取物及其活性成分对2型糖尿病改善作用的研究进展[J]. *中国现代应用药学*, 2021, 38(10):1269-1274.
- [10] 卫克昭. 肉桂及其主要药效成分对糖尿病性心脏病的保护作用 and 机制研究[D]. 上海:上海中医药大学,

- 2019.
- [11] 黄湘宁,姚心怡,谭艳,等. 基于数据挖掘的2型糖尿病动物模型应用分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023,29(2):159-165.
- [12] 杨玥,吴晓康. 中医药干预肠道菌群防治糖尿病的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(7): 219-227.
- [13] 冯晓桃,程永芳. 扶阳药肉桂防治糖尿病的科学内涵研究进展[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2020, 22(5):1472-1477.
- [14] 潘华信. 附桂抗瘀血论[J]. 上海中医药大学学报, 2006,20(4):34-37.
- [15] SHANG C, LIN H, FANG X, et al. Beneficial effects of cinnamon and its extracts in the management of cardiovascular diseases and diabetes [J]. *Food Funct*, 2021, 12(24): 12194-12220.
- [16] 赵丹,王明慧,张程斐,等. 肉桂酸对db/db小鼠肝脏PI3K/Akt/FoxO1信号通路的影响[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2021, 23(10):3613-3620.
- [17] FROST F, JONES G H, DYCE P, et al. Loss of incretin effect contributes to postprandial hyperglycaemia in cystic fibrosis-related diabetes [J]. *Diabet Med*, 2019, 36(11): 1367-1374.
- [18] 杨叶萍,张朝云. 肠促胰岛素对糖尿病肾病的保护作用及机制[J]. 中华糖尿病杂志, 2015, 7(5):331-333.
- [19] 陈俊,钱紫星,朱梦杨,等. 基于GPR119/cAMP/GLP-1通路探讨葛根芩连汤的降糖机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(3):25-30.
- [20] TAN Q, AKINDEHIN S E, ORSSO C E, et al. Recent advances in incretin-based pharmacotherapies for the treatment of obesity and diabetes [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13:838410.
- [21] 梁引红,师静梅. 2型糖尿病患者心血管风险和血清胰高血糖素样肽-1水平关系研究[J]. 中国药物与临床, 2021, 21(16):2779-2781.
- [22] 龙江川. 利拉鲁肽在超重2型糖尿病患者中的临床治疗结局及其与GLP-1R、DPP-4基因多态性的相关性研究[D]. 重庆:重庆医科大学, 2020.
- [23] 许趁意,岳仁宋,吕雪莲,等. 基于胆汁酸代谢轮廓研究半夏泻心汤通过FXR/GLP-1途径调控2型糖尿病血糖稳态的机制[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(8): 4394-4399.
- [24] 高芸艺,李兰,冉兴无. 二肽基肽酶IV抑制剂在2型糖尿病治疗中的地位[J]. 中华糖尿病杂志, 2016, 8(11):653-657.
- [25] SUN Z G, LI Z N, ZHU H L. The research progress of DPP-4 inhibitors [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2020, 20(17):1709-1718.

[责任编辑 孙丛丛]