

# 益气化浊胶囊对 KKAY 小鼠胰岛素、抵抗素、视黄醇结合蛋白 4 的影响

郭俊杰\*, 赵玉立, 王晓炯, 冯玛莉, 贾力莉  
(山西省中医药研究院, 太原 030012)

**[摘要]** 目的: 观察益气化浊胶囊对 KKAY 小鼠胰岛素抵抗及脂肪组织抵抗素(resistin)、视黄醇结合蛋白-4(RBP4)表达的影响。方法: 将 KKAY 小鼠随机分为模型对照组(20 mL·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)、益气化浊胶囊高、低剂量组(2, 1 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)、阳性对照(吡格列酮)组(2.5 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>), 另选 C57BL/6J 小鼠为空白对照组(20 mL·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)。连续灌胃给药 10 周, 每天 1 次, 其中空白对照组、模型对照组, 灌服无菌水。10 周后测空腹血糖(FBG)、空腹血清胰岛素(FINS)并计算胰岛素敏感指数(ISI)和胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)、脂肪组织抵抗素(resistin)、视黄醇结合蛋白(RBP)4 含量。结果: 模型对照组 FBG, FINS, HOMA-IR, ISI, resistin, RBP4 显著高于正常对照组( $P < 0.01$ ); 益气化浊高剂量组 FBG 低于模型对照组( $P < 0.05$ ); 益气化浊低、高剂量组 FINS, HOMA-IR, ISI 均低于模型组( $P < 0.01$ ); 益气化浊高剂量组 resistin, RBP4 低于模型组( $P < 0.05$ )。结论: 模型组 KKAY 小鼠产生明显的胰岛素抵抗, 表现为 FBG, FINS, HOMA-IR, resistin, RBP4 明显增高, ISI 降低; 益气化浊胶囊明显改善 KKAY 小鼠胰岛素抵抗状态, 其结果为 FBG, FINS, HOMA-IR, Resistin, RBP4 降低, ISI 升高, 总体趋势为高剂量组优于低剂量组。

**[关键词]** 糖尿病; 益气化浊胶囊; 抵抗素; RBP4

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0283-04

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20121012.0914.011.html>

**[网络出版时间]** 2012-10-12 9:14

胰岛素抵抗(IR)是 2 型糖尿病的主要病理生理基础, 可导致体内葡萄糖和脂质代谢的紊乱, 也是高血压, 冠心病等多种慢性并发症产生的重要因素。治疗 2 型糖尿病的关键是提高胰岛素敏感性, 临床常用的增敏剂是噻唑烷二酮类药物(TZD), 具有减轻胰岛素抵抗和保护胰岛  $\beta$  细胞功能的双重作用, 但其也有程度不等的不良反应, 如增加体重、水肿、水钠潴留, 低血糖<sup>[1]</sup>, 其作用机制和远期疗效有待进一步研究。我们的前期临床研究显示, 益气化浊胶囊(主要由黄芪, 女贞子, 苍术, 丹参, 鬼箭羽, 黄精, 蚕茧组成)能显著改善 2 型糖尿病患者的胰岛素抵抗, 对 2 型糖尿病的发生发展有确切的临床疗效, 为进一步揭示其对 2 型糖尿病胰岛素抵抗的作用机制。

## 1 材料

**1.1 动物** 8~10 周龄雌性 KKAY 小鼠 36 只; 8~10 周龄雌性 C57BL/10 J 小鼠 10 只, 均由中国

医学科学院实验动物研究所提供(SPF 级环境繁殖), 动物许可证编号为 SCXK(京)2009-0004, 两种小鼠为同一批次, 合格证号均为 0184762。

**1.2 动物饲养环境和饲料** 小鼠在山西省中医药研究院中心实验室动物室清洁级环境下单笼饲养实验动物使用许可证号 SYXK(晋)2010-0002。环境温度在 19~24℃, 湿度(40±10)%, 12/12 h 光照/黑暗循环。KKAY 小鼠喂养全价高脂饲料脂肪: 蛋白: 碳水化合物 35: 17: 48(热量比例%)。购自中国医学科学院实验动物研究所, 许可证号 SCXK(京)2009-0008, 京饲审(2009)06170, C57BL/6J 小鼠喂养全价普通饲料。除测空腹血糖和处死前 12 h 需禁食外, 小鼠均自由进食进水。

**1.3 药物与试剂** 益气化浊胶囊(0.5 g/粒, 山西省中医院制剂室, 批号 20100318), 盐酸吡格列酮片(北京太洋药业有限公司, 批号 100301), <sup>125</sup>I 胰岛素放射免疫分析药盒(北京普尔伟业生物科技有限公司, 批号 20100913), Mouse Resistin ELISA Kit(武汉博士德生物工程有限公司, 批号 20101108)。Mouse RBP4 ELISA Kit[武汉博士德生物工程有限公司(美国 RD 公司进口分装), 批号 20101104]。

**1.4 仪器设备** 赛多利斯 BP211D 电子天平(北京

**[收稿日期]** 20120426(009)

**[基金项目]** 山西省科技厅攻关项目(20090311055-4)

**[通讯作者]** \*郭俊杰, 主任医师, 硕士生导师, Tel: 0351-4668390, E-mail: sxguojj@163.com

赛多利斯天平有限公司), 稳豪® 倍优型微量血糖仪(美国强生公司), KDC-1044 低速离心机(科大创新股份有限公司中佳分公司), HH-60 电热恒温水槽(上海医用恒温设备厂), 自动酶标分析仪(AT-858, 上海安泰分析仪器有限公司), SN-695B 免疫计数器(上海核所日环光电仪器有限公司), 紫外-可见分光光度计(UV3000, 日本岛津株式会社)。

## 2 方法

**2.1 模型选择** 适应性喂养 1 周后, 将 36 只 KKAy 小鼠尾静脉采血 2 次测血糖, 随机血糖在  $11.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  以上, 纳入实验。

**2.2 分组** 将符合条件的 32 只 KKAy 小鼠按随机血糖值随机分为 4 组, 模型对照组、(吡格列酮)阳性对照组、益气化浊胶囊高、低剂量组, 8 只/组。另设 C57BL/6J 小鼠 8 只为正常对照组。

**2.3 给药** 正常对照组、模型组: 以  $20 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  灌服无菌水, 1 次/d, 连续 10 周。益气化浊胶囊高剂量组以  $2 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  临床用量的 20 倍, 低剂量组  $1 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ , 临床用量的 10 倍, 1 次/d, 盐酸吡格列酮组以  $2.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ , 临床 10 倍用量, 连续 10 周(给药量以  $60 \text{ kg}\cdot\text{d}^{-1}$  的人用量计算)。

**2.4 尾静脉采血测随机血糖** 各组小鼠给药 10 周, 禁食 12 h 后, 尾静脉采血测空腹血糖, 摘除眼球取血, 室温静置 2 h, 低速离心机分离血清( $2000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 20 min),  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  保存。动物取血死亡后即刻

解剖, 冰上迅速剥离腹部皮下脂肪称重取 200 mg, 取肝组织称重约 200 mg, 用手工匀浆器将标本充分匀浆, 低速离心机分离血清, 仔细收集上清, 分装后  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  冷冻保存待测。

**2.5 检测** 采用微量血糖仪尾静脉取血直接测定空腹血糖。放射免疫分析法测定 FINS, 腹部脂肪和肝脏的 resistin, RBP4 采用酶联免疫法。

**2.6 胰岛素敏感指数 (ISI)** 参照文献方法[2], ISI 为 FBG 与 FINS 乘积的倒数的自然对数值, 即  $\text{Ln}(\text{FINS} \times \text{FBG})$ 。应用稳态模型评估法<sup>[3]</sup>(HOMA) 计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)。

$$\text{HOMA-IR} = (\text{FBG} \times \text{FINS}) / 22.5$$

**2.7 统计学方法** 采用 SPSS 17.0 统计软件处理, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD-*t* 检验,  $P < 0.05$  为有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对 KKAy 小鼠空腹血糖、血清胰岛素水平、胰岛素抵抗指数、胰岛素敏感指数的影响** 与空白对照组比, 模型对照组 FBG, FINS, HOMA-IR 均显著升高, ISI 显著降低( $P < 0.01$ )。与模型对照组比, 吡格列酮组和益气化浊高剂量组均明显降低 FBG ( $P < 0.05$ ); 吡格列酮组、益气化浊低、高剂量组 FINS, HOMA-IR 均显著降低( $P < 0.01$ ), 显著升高 ISI 水平( $P < 0.01$ )。见表 1。

表 1 益气化浊胶囊对 KKAy 小鼠 FBG、FINS、ISI、HOMA-IR 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	FBG/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	FINS/ $\text{mU}\cdot\text{L}^{-1}$	HOMA-IR	ISI
空白对照	-	$5.40 \pm 0.40^{1)}$	$39.77 \pm 8.30^{1)}$	$9.54 \pm 2.07^{1)}$	$-5.34 \pm 0.26^{1)}$
模型对照	-	$6.54 \pm 0.56$	$181.56 \pm 29.38$	$52.80 \pm 9.61$	$-7.19 \pm 0.30$
吡格列酮	$2.5 \times 10^{-3}$	$5.73 \pm 0.38^{2)}$	$101.85 \pm 13.25^{1)}$	$25.95 \pm 4.06^{1)}$	$-6.36 \pm 0.16^{1)}$
益气化浊	1.0	$6.40 \pm 0.94$	$136.96 \pm 21.79^{1)}$	$39.26 \pm 9.52^{1)}$	$-6.75 \pm 0.26^{1)}$
	2.0	$5.81 \pm 0.87^{2)}$	$118.81 \pm 16.02^{1)}$	$30.39 \pm 3.85^{1)}$	$-6.52 \pm 0.13^{1)}$

注: 与模型对照组相比<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.05$ 。

**3.2 各组小鼠 resistin 和 RBP4 含量比较** 模型对照组 resistin, RBP4 均显著高于空白对照组 ( $P < 0.01$ )。吡格列酮组、益气化浊高剂量组 resistin 低于模型对照组, 益气化浊高剂量组 RBP4 低于模型对照组 ( $P < 0.05$ )。吡格列酮组 RBP4 显著低于模型对照组 ( $P < 0.01$ )。见表 2。

## 4 讨论

胰岛素抵抗是 2 型糖尿病发病的主要机制之一, 发生胰岛素抵抗的主要部位是胰岛素的葡萄糖利用器官如骨骼肌、肝脏、脂肪组织。脂肪组织分泌多种细胞因子和生物活性物质, 包括肿瘤坏死因子-

表 2 益气化浊胶囊对 KKAy 小鼠脂肪组织

resistin 和 RBP4 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	resistin	脂肪 RBP4
空白对照	-	$22.43 \pm 3.02^{1)}$	$45.27 \pm 5.63^{1)}$
模型对照	-	$27.09 \pm 4.29$	$94.99 \pm 12.41$
吡格列酮	$2.5 \times 10^{-3}$	$23.50 \pm 2.69^{2)}$	$79.27 \pm 10.83^{1)}$
益气化浊	1.0	$26.47 \pm 2.89$	$89.53 \pm 12.96$
	2.0	$23.24 \pm 3.50^{2)}$	$83.11 \pm 13.39^{2)}$

注: 与模型对照组相比<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.05$ 。

$\alpha$ 、白介素-6、瘦素、抵抗素、脂联素、视黄醇结合蛋白 4 等, 这些细胞因子在肥胖, 胰岛素抵抗和 2 型糖尿

病中发挥了重要的作用,并且与胰岛素抵抗联系密切。正常情况下,血浆 RBP4 主要在肝细胞中合成,其次为脂肪组织,广泛分布于人体血清、脑脊液、尿液及其他体液中。据报道<sup>[4]</sup>:在肥胖、葡萄糖耐量降低或 2 型糖尿病患者、非肥胖非 2 型糖尿病但有糖尿病家族史者中,RBP4 水平与胰岛素抵抗正相关,并与代谢综合征的组分(包括体重指数 BMI、腰臀比值 WHR、甘油三酯 TG、收缩压 SBP)正相关,与高密度脂蛋白(HDL)负相关,有研究发现:与葡萄糖耐量正常者相比葡萄糖耐量降低者以及 2 型糖尿病患者体内 RBP4 的含量要明显高,但后两者之间没有差别,RBP4 水平与胰岛素抵抗相关<sup>[5]</sup>。Ost 等<sup>[6]</sup>在对原始脂肪细胞进行 RBP4 及其抗体干预时发现,RBP4 可阻止胰岛素刺激的胰岛素底物受体 1 (IRS1)的 307 位的丝氨酸磷酸化,相应地增加 IRS1 酪氨酸磷酸化的半数有效浓度,阻止胞外信号调节激酶 1/2 (ERK1/2)的磷酸化。可知 RBP4 可能通过干预胰岛素受体的 IRS1-Ras-MAPK 信号传导通路,从而参与 IR。此外,Yang 等<sup>[7]</sup>研究提示 RBP4 可能直接诱导磷酸化烯醇丙酮酸激酶基因表达,增加肝糖输出,限制肌肉的糖摄取,从而导致全身性的 IR。抵抗素作用是抵抗胰岛素,使血糖水平升高,脂肪细胞增生而致肥胖。Steppan 等<sup>[8]</sup>研究提示,在高脂饮食诱导的肥胖小鼠中,随体质量的增加和血糖升高,肥胖及胰岛素抵抗会相继出现,其血清抵抗素水平亦增高。在不同的肥胖动物模型中,肥胖动物血清抵抗素水平均明显高于对照组,并随着血糖、血清胰岛素、血脂的增高而增高。抵抗素可能介导饮食性肥胖相关的胰岛素抵抗,其糖耐量异常与胰岛素抵抗有关,而非胰岛素生成和分泌不足所致。Steppan 等<sup>[9]</sup>的研究发现,重组的抵抗素在体内可以引起正常小鼠的葡萄糖不耐受,体外可以阻碍胰岛素刺激的葡萄糖吸收;去除抵抗素可以使饮食诱导的肥胖小鼠体内的血糖下降 20%,胰岛素的敏感性增高;抗抵抗素的免疫球蛋白 G 也可以增加胰岛素刺激的葡萄糖的吸收。Haugen 等<sup>[10]</sup>发现在 3T3L1 前脂肪细胞诱导分化第 3 天,能检测到抵抗素 mRNA,第 4 天达高峰,生理浓度胰岛素能明显降低抵抗素 mRNA 表达,认为抵抗素可能是胰岛素分泌的一个主要抑制因子。因此,降低 RBP4 和 resistin 的表达可改善 ISI 和血糖稳定。RBP4 和 resistin 作为近年来新发现的脂肪细胞因子,在目前糖尿病和 IR 研究中始终是研究的热点。本实验中

①模型对照组 FBG、FINS、HOMA-IR 均明显高于空

白对照组,ISI 低于空白对照组,说明模型对照组有明显的胰岛素抵抗。益气化浊高剂量组能降低 FBG,益气化浊低剂量组 FBG 也有降低趋势。益气化浊低、高剂量组 FINS,HOMA-IR 均低于模型组。益气化浊低、高剂量组 ISI 均高于模型组。说明益气化浊胶囊可降低 FBG,FINS,HOMA-IR,增加 ISI,这与前期动物实验和临床研究相一致。②实验中益气化浊高剂量组 RBP4, resistin 低于模型对照组。说明益气化浊胶囊可以降低脂肪组织 resistin 和 RBP4 的表达,从而增加胰岛素敏感性,降低 IR,使血糖下降,对 IR 的防治颇有意义。

中药复方益气化浊胶囊由中药蚕茧,苍术,丹参,鬼箭羽,黄精,黄芪,女贞子组成,具有益气养阴,活血化浊之效是课题组据多年临床经验总结出的治疗 2 型糖尿病的良好方。方中黄芪甘、微温,归脾肺经,善补肺、脾之气。肺主调节,使津液四布,脾主运化,将水谷精微输送全身,使生痰无源;女贞子,味甘苦,性平,有滋补肝肾、强腰膝、聪耳目的功能,二者共为君药,以益气健脾,补肾养阴。苍术辛、苦、温,归脾、胃经,苦温可燥湿化痰、辛香可健脾化浊;丹参苦、微寒,活血祛瘀;鬼箭羽味苦,性寒,有活血化瘀之效,三者共为臣,以活血化浊。黄精味甘、性平,具有润肺补脾,滋肾养阴的功能;蚕茧性味甘、辛、咸、温,具有生津止渴、理气滋阴之功效,二者为佐使,助君臣健脾补肾、益气滋阴。诸药合用标本同治,虚实兼顾,补泻兼施,共奏益气养阴,活血化浊之效。

胰岛素抵抗发生时,血清胰岛素水平可以正常或升高,但是与胰岛素受体的结合能力以及受体后的效应均减弱,胰岛素介导下肌肉和脂肪组织摄取葡萄糖的能力下降,同时肝脏、肌肉组织中糖原分解葡萄糖生成增加。本实验中,益气化浊胶囊对于以高脂高热量饲料喂养的自发性胰岛素抵抗 KKAY 小鼠模型,显著降低空腹血糖和胰岛素水平,降低脂肪组织 resistin 和 RBP4 的表达,增加胰岛素敏感指数,降低胰岛素抵抗指数,其对 KKAY 小鼠显著的增敏作用可能通过增加脂肪组织中胰岛素受体含量,增加脂肪组织胰岛素的敏感性,促进脂肪组织对葡萄糖的利用而实现的。推测其作用机制可能为:增加外周组织对胰岛素的敏感性,促进胰岛素与其受体结合,并与细胞内靶蛋白结合,激活糖原合成酶,磷酸化酶激酶等与糖脂蛋白有关的酶系,从而调节脂肪细胞因子 resistin 和 RBP4 的表达,减轻胰岛素抵抗。益气化浊胶囊具有噻唑烷二酮类药物的药理作用,其药理机制有待深入多方面研究。

# 柴胡-白芍药对抗抑郁作用的实验研究

于春泉, 李苒, 张敏, 高杉, 王怡\*  
(天津中医药大学, 天津 300193)

**[摘要]** 目的:研究不同剂量柴胡-白芍药对及单用柴胡、白芍的抗抑郁作用。方法:雄性 ICR 小鼠按体重随机分为空白对照组、阳性药对照组(盐酸氟西汀  $0.015 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )及柴胡-白芍(1:1)药对高、中、低剂量组( $32, 16, 8 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), 柴胡高、中、低剂量组( $32, 16, 8 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), 白芍高、中、低剂量组( $32, 16, 8 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )共计 11 组。各组小鼠灌胃给药 7 d 后采用小鼠开场实验(OFT)排除假阳性结果,并通过小鼠悬尾实验(TST)、小鼠强迫游泳实验(FST)研究各药的抗抑郁作用。结果:在 OFT 中,各组小鼠实验结果无显著差异。在 TST 和 FST 中,各给药组小鼠的不动时间均显著减少,其中以柴胡-白芍药对高剂量组对小鼠不动时间的影响较为明显,在 TST 中不动时间为( $51.3 \pm 31.7$ ) s,在 FST 中不动时间为( $86.3 \pm 25.9$ ) s,分别与空白组比较均有显著性差异( $P < 0.01$ ),并且 TST 和 FST 的结果具有一致性。结论:不同剂量的柴胡-白芍药对及单用柴胡、白芍均具有明显的抗抑郁作用,但它们抗抑郁作用强度存在差异。

**[关键词]** 柴胡; 白芍; 抗抑郁; 小鼠悬尾实验; 小鼠强迫游泳实验

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0286-04

## Study on the Antidepressant-like Effect of Bupleuri Radix and Paeoniae Radix Alba in Different Doses

YU Chun-quan, LI Ran, ZHANG Min, GAO Shan, WANG Yi\*  
(Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

**[收稿日期]** 20120928(007)

**[第一作者]** 于春泉,博士,副研究员,从事中医药治疗心脑血管病及中医证候学研究,Tel:022-59596309,E-mail:ycq-4@163.com

**[通讯作者]** \*王怡,博士,研究员,从事中药药理学研究,Tel:022-59596572,E-mail:13212268020@126.com

### [参考文献]

- [1] 吴久健,邓凯文,唐旭东. 噻唑烷二酮类药物作用机理及应用研究进展[J]. 西部医学,2010,33(4):756.
- [2] 李光伟,潘孝仁,Lillovias,等. 检测人群胰岛素敏感性的一项新指数[J]. 中华内科杂志,1993,32(10):656.
- [3] Haffoer S M, Kennedy E, Gonzalez C, et al. A prospective analysis of the HOMA modle [J]. Diabetes Care,1996,19:1138.
- [4] Graham T E, Yang Q, Blüher M, et al. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects [J]. N Engl J Med, 2006, 354(24):2552.
- [5] Cho Y M, Youn B S, Lee H, et al. Plasma retinol-binding protein-4 concentrations are elevated in human subjects with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes[J]. Diabetes Care,2006,29(11):2457.

- [6] Ost A, Danielsson A, Liden M, et al. Retinol-binding protein-4 attenuates insulin induced phosphorylation of IRS1 and ERK1/2 in primary human adipocytes [J]. FASEB J,2007,21(13):3696.
- [7] Yang Qin, Graham T E, Mody N, et al. Serum retinol binding protein-4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes [J]. Nature, 2005, 436(7049):356.
- [8] Stepan C M, Bailey S T, Bhat S T, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes [J]. Nature, 2001,409(3):307.
- [9] Stepan C M, Brown E J, Wright C M, et al. A family of tissue-specific resistin-like molecules [J]. Proc Natl Acad Sci USA,2001,98(2):502.
- [10] Haugen F, Jorgensen A, Drevon C A, et al. Inhibition by insulin of resistin gene expression in 3T3-L1 adipocytes [J]. FEBS Lett,2001,507(1):105.

[责任编辑 聂淑琴]