

四叶参多糖对糖尿病大鼠血糖及免疫功能的影响

张峰*，高永峰，张继国
(泰山医学院药学院,山东 泰安 271016)

[摘要] 目的:研究四叶参多糖对糖尿病大鼠血糖及免疫功能的影响。方法:采用腹腔注射四氧嘧啶制备糖尿病大鼠模型。灌胃给予四叶参多糖(0.1,0.5 g·kg⁻¹),于治疗 0,7,14,21 d 取大鼠尾血,用酶化学方法检测空腹血糖;分离胸腺、脾脏,计算胸腺指数和脾指数;MTT 法检测淋巴细胞增殖能力,计算刺激指数(SI)。结果:与正常对照组大鼠比较,模型组大鼠空腹血糖显著升高,3 周后,胸腺极度萎缩($P<0.01$),脾淋巴细胞转化能力明显下降($P<0.01$)。四叶参多糖治疗 2 周后,与模型组比较,大鼠空腹血糖显著降低($P<0.05$),连续治疗 3 周,胸腺指数显著提高($P<0.05$, $P<0.01$);高剂量组大鼠脾淋巴细胞转化能力增强,刺激指数明显升高($P<0.05$)。结论:四叶参多糖可降低糖尿病大鼠空腹血糖,并能改善其细胞免疫功能。

[关键词] 四叶参多糖;糖尿病;脾脏和胸腺指数;淋巴细胞转化

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)02-0184-03

Effects of Polysaccharides Extracted from Radix Codonopsis Lanceolatae on Blood Glucose and Immune Function in Rats Diabetes with Mellitus

ZHANG Feng*, GAO Yong-feng, ZHANG Ji-guo
(Deptment of Pharmacology, Taishan Medical College, Taian 271016, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects of polysaccharides extracted from Radix Codonopsis Lanceolatae (PCL) on blood glucose and immune function in rats with diabetes mellitus (DM). **Method:** The rat DM model was established by alloxan injected intraperitoneally. The therapy group rats were administrated PCL at 0.1 or 0.5 g·kg⁻¹ dose. The level of fasting blood glucose was detected by enzyme-chemical method on the 0,7,14,21 day of PCL therapy; the body weight and weight of thymus and spleen were measured for spleen and thymus index; lymphocyte proliferation was observed by MTT method for stimulation index(SI). **Result:** Compared with normal control group, the level of fasting blood glucose of DM model group significantly increased($P<0.01$), 3 weeks later, the thymus extremely withered, spleen lymphocyte transformation ability obviously decreased($P<0.01$). Compared with DM model group, PCL could observably reduce blood glucose after 2 weeks treatment ($P<0.05$). 3 weeks later, thymus index of PCL therapy group enhanced significantly($P<0.05$, $P<0.01$), and SI increased obviously in the high dose PCL therapy group. **Conclusion:** PCL can decrease the level of fasting blood glucose in DM rats, meanwhile, cellular immune function can be improved significantly.

[Key words] polysaccharides extracted from Radix Codonopsis Lanceolatae; diabetes mellitus; spleen and thymus index; lymphocyte transformation

糖尿病(diabetes mellitus,DM)是一种以高血糖为主要特点的慢性常见病。糖尿病患者持续高血糖状态下,易发生心、脑、肾等器官损伤和各种感染,

诱发酮症酸中毒,增加糖尿病死亡率,这些与糖尿病患者免疫功能低下密切相关^[1]。大量研究证明,植物多糖具有调节血糖、改善免疫等作用^[2]。四叶参为桔梗科党参属植物,又名羊乳、羊奶参、轮叶党参等。四叶参中多糖含量高达 12.45%^[3]。前期研究发现,四叶参多糖具有良好的降血糖及抗氧化活性^[4],但其降血糖与机体免疫水平的相关性尚未揭示。本研究从免疫途径对四叶参多糖

[收稿日期] 20110711(002)
[基金项目] 山东省泰安市科技发展计划项目(20113021)
[通讯作者] *张峰,硕士,讲师,从事中药药理学研究,Tel: 13583845473,E-mail:zf_0538@163.com

的降血糖机制进行了探讨。

1 材料

1.1 动物 清洁级健康雄性 Wistar 大鼠 60 只,体重为 250 ~ 300 g,山东鲁抗医药公司实验动物中心提供,许可证号 SCXK(鲁)20050017。

1.2 仪器及试剂 GT-1640 型,京都血糖仪(测试范围 1.1 ~ 33.3 mmol·L⁻¹)及检测试剂条,日本爱科来公司;美国 Bio-Rad 550 型酶标仪。四氧嘧啶(Alloxan, ALX,美国 Sigma 公司),用前用冰生理盐水配制成 4% 溶液,现配现用。MTT(AMRESCO 分装);DMSO(北京益利精细化学品有限公司);Con A (Sigma 公司)。

1.3 四叶参多糖制备 四叶参 Radix Codonopsis Lanceolatae 购于泰安市场,经我校中药学教研室鉴定。四叶参经粉碎、石油醚脱脂后,采用传统水提醇沉法制备粗多糖,Sevage 法反复脱蛋白,提取物再经无水乙醇、丙酮各洗涤 2 次。苯酚-硫酸法测定多糖含量为 67.08%。

2 方法

2.1 模型复制、分组及给药 将雄性 Wistar 大鼠 60 只随机分为 2 组,即正常对照组 10 只,模型制备组 50 只。采用 2 次给药法复制糖尿病大鼠模型,即第 1 天 ip ALX 120 mg·kg⁻¹,次日再次 ip ALX 100 mg·kg⁻¹。为避免大鼠因低血糖死亡,于每次注射 ALX 后 4 h 按 0.2 mL·kg⁻¹体重 ig 给予 25% 葡萄糖溶液。给药前禁食不禁水 12 h。造模后各组大鼠常规饲养,于造模后第 5 天取尾血检测大鼠空腹血糖,血糖值 ≥ 11.1 mmol·L⁻¹,并出现典型“三多一少”症状的大鼠为造模成功者。将糖尿病大鼠随机分为模型组及四叶参多糖(低、高剂量)治疗组。治疗组大鼠 ig 给予四叶参多糖(0.1,0.5 g·kg⁻¹),模型组及正常对照组大鼠 ig 给予等体积生理盐水。

每天 1 次,连续 3 周,每周称体重并相应调整给药量。给药期间常规饲养。

2.2 血糖及胸腺指数、脾指数检测 分别于给药第 0,7,14,21 d 取大鼠尾血检测空腹血糖(FPG)。末次测血糖后,处死大鼠,分离脾脏、胸腺,冰盐水洗净,称质量并计算脏器指数(脏器湿质量与大鼠体重比值,mg·g⁻¹)。

2.3 淋巴细胞转化试验 无菌取大鼠脾脏,Hank's 液洗 2 次,将脾脏放置不锈钢网(200 目)上,置于盛有适量 Hank's 液的小平皿中,用镊子轻轻将脾撕碎,用注射器针芯轻轻研压脾脏,制成单细胞悬液。经 200 目筛网过滤,用 Hank's 液洗 3 次,每次离心 1 000 r·min⁻¹,10 min。倒去 Hank's 液,试管底部沉淀细胞即为效应细胞,加入完全 DMEM 培养液,计数细胞,用完全 DMEM 培养液调整细胞密度为 1 × 10⁶/mL 备用。在培养板孔中加入脾脏细胞液 100 μL,每个样加 6 孔,3 孔加入的 Con A(5 g·L⁻¹) 100 μL,另 3 孔加不含 Con A 的培养液 100 μL 作为对照。37 ℃,5% CO₂ 培养箱孵育 44 h,加 5 mg·L⁻¹ 的 MTT 10 μL,继续孵育 4 h,离心弃上清,每孔加入 100 μL DMSO,振荡 15 min 后,用酶标仪以 570 nm 波长测定吸光度(A),并计算刺激指数(SI)。

$$SI = A_{\text{试验孔}} / A_{\text{对照孔}}$$

2.4 统计学方法 用 SPSS 13.0 统计软件进行分析。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间比较采用单因素方差分析及 LSD 检验。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对糖尿病大鼠血糖的影响 四叶参多糖治疗 2 周后,大鼠空腹血糖开始降低,至 3 周末,四叶参多糖低、高剂量组大鼠空腹血糖均显著低于模型组大鼠($P < 0.05$)。见表 1。

3.2 对糖尿病大鼠脾脏、胸腺指数的影响 实验 3

表 1 四叶参多糖对糖尿病大鼠空腹血糖的影响($\bar{x} \pm s$)						mmol·L ⁻¹
分组	剂量/g·kg ⁻¹	n	0 d	7 d	14 d	21 d
正常对照	—	10	5.79 ± 0.92	6.14 ± 0.98	5.93 ± 0.61	6.04 ± 0.51
模型	—	8	24.51 ± 4.79 ¹⁾	27.84 ± 3.36 ¹⁾	23.90 ± 6.68 ¹⁾	23.11 ± 5.44 ¹⁾
四叶参多糖	0.1	8	22.33 ± 6.12	21.08 ± 5.77	19.19 ± 3.72	17.24 ± 4.43 ²⁾
	0.5	9	23.42 ± 7.08	23.55 ± 4.67	16.74 ± 7.18 ²⁾	12.65 ± 4.07 ²⁾

注:与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 3 同)。

周后,模型组大鼠胸腺极度萎缩,四叶参多糖低、高剂量组大鼠胸腺指数显著高于模型组

($P < 0.05$, $P < 0.01$)。模型组、正常对照组及四叶参多糖低、高剂量组脾脏指数无显著性差异。见表 2。

表 2 四叶参多糖对大鼠脾脏、胸腺指数的影响($\bar{x} \pm s$)

mg·g⁻¹

分组	剂量 /g·kg ⁻¹	n	脾脏指数	胸腺指数
正常对照	-	10	0.486 ± 0.057	1.543 ± 0.077
模型	-	8	0.449 ± 0.063	0.487 ± 0.069 ¹⁾
四叶参多糖	0.1	8	0.402 ± 0.038	0.967 ± 0.236 ²⁾
	0.5	9	0.467 ± 0.052	1.273 ± 0.466 ³⁾

3.3 对糖尿病大鼠淋巴细胞转化的影响 模型组大鼠淋巴细胞转化指数明显低于正常对照组($P < 0.05$),四叶参多糖治疗 3 周后,淋巴细胞转化指数有不同程度提高,高剂量组与模型组比较有显著差异($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 四叶参多糖对糖尿病大鼠淋巴细胞转化指数的影响($\bar{x} \pm s$)

分组	剂量/g·kg ⁻¹	n	SI
正常对照	-	10	1.32 ± 0.47
模型	-	8	0.82 ± 0.29 ¹⁾
四叶参多糖	0.1	8	0.87 ± 0.24
	0.5	9	1.19 ± 0.26 ²⁾

4 讨论

免疫调节是中药多糖主要的生物活性。胸腺为机体重要的中枢免疫器官,是 T 细胞分化、发育的场所。脾脏属于外周免疫器官,具有造血、贮血和过滤作用,也是 T,B 细胞移居和接受抗原刺激产生免疫应答的重要场所。因此,胸腺、脾脏指数能在一定

程度上反映免疫调节作用。淋巴细胞转化率的高低可以反映机体细胞免疫水平,通常被作为测定机体免疫功能的指标之一。本研究结果表明,四叶参多糖可显著提高糖尿病大鼠的胸腺指数,促进脾淋巴细胞转化,改善其细胞免疫功能。

免疫力下降是糖尿病的显著特征。然而,导致机体免疫功能改变的机制尚不清楚,有学者认为是由于高血糖所致^[5]。高血糖可导致红细胞膜代谢改变,影响红细胞的免疫功能。体内蛋白质的糖基化可导致免疫球蛋白功能低下。高血糖还可延缓淋巴细胞分裂。本实验证实,四叶参多糖能在一定程度上降低血糖,这可能是其改善机体免疫功能的重要机制之一。

[参考文献]

[1] 叶山东.临床糖尿病学[M].合肥:安徽科学技术出版社,2009.

[2] 杨会军,陈涛,付亚玲,等.植物多糖治疗糖尿病的药理研究进展[J].中药新药与临床药理,2009,20(3):294.

[3] 孙紫阳.泰山四叶参多糖的提取和含量测定[J].河北医学,2007,13(11):1293.

[4] 张峰,张继国,高永峰,等.四叶参多糖对糖尿病小鼠血糖及抗脂质过氧化作用的影响[J].泰山医学院学报,2010,3(12):911.

[5] 张宏,于德民,陈樱,等.2 型糖尿病患者免疫功能变化与血糖和胰岛素水平相关性的研究[J].免疫检验和临床医学杂志,2002,9(2):90.

[责任编辑 聂淑琴]