

糖平煎对 2 型糖尿病大鼠炎症细胞因子的干预作用

张永鹏¹, 刘静², 靳国印¹, 杨洁¹, 王莹¹, 程健君¹, 李刚¹, 李永民^{1*}

(1. 河北北方学院, 河北 张家口 075000; 2. 张家口市中心血站, 河北 张家口 075000)

[摘要] 目的: 观察糖平煎对 2 型糖尿病(T2DM)大鼠胰岛素抵抗(IR)和血清脂联素(Adip)、瘦素(leptin)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的影响。方法: 采用高糖高脂饲料喂养和小剂量链脲佐菌素(STZ 30 mg·kg⁻¹)腹腔注射相结合的方法复制 T2DM 大鼠模型, 将 T2DM 模型大鼠随机分为模型对照组、糖平煎大、小剂量组, 以及正常对照组, 每组 10 只。糖平煎大剂量组给糖平煎按生药 14.4 g·kg⁻¹·d⁻¹ig, 糖平煎小剂量组给糖平煎按生药 7.2 g·kg⁻¹·d⁻¹ig, 其他两组大鼠给等体积蒸馏水, 连续处理 4 周。观察空腹血糖(FBG)、空腹胰岛素(FINS)、TNF- α 、脂联素和 leptin 水平的变化, 计算胰岛素敏感性指数(IAI)。结果: 糖平煎大、小剂量组均能明显降低 T2DM 模型大鼠的 FBG、血清胰岛素、leptin 和 TNF- α 水平, 提高 Adip 活性和 IAI, 与模型对照组比较有显著差异($P < 0.01, P < 0.05$)。结论: 糖平煎可以改善 T2DM 大鼠的炎症反应, 减轻高胰岛素血症, 提高胰岛素敏感性, 改善胰岛素抵抗。

[关键词] 胰岛素抵抗; 脂联素; 瘦素; 肿瘤坏死因子- α ; 糖平煎

[中图分类号] R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)21-0235-03

Intervention Effects of Tangpingjian on Inflammatory Cytokines in Rats with Diabetes Mellitus Type 2

ZHANG Yong-peng¹, LIU Jing², JIN Guo-yin¹, YANG Jie¹, WANG Ying¹,
CHENG Jian-jun¹, LI Gang¹, LI Yong-min^{1*}

(1. Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China;

2. Zhangjiakou Blood Center, Zhangjiakou 075000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of Tangpingjian (TPJ) on insulin resistance (IR) and serum Adiponectin (Adip), leptin, tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in type 2 diabetic (T2DM) rats. **Method:** The type 2 diabetic rats model was established by the injection of small-dose streptozotocin (STZ 30 mg·kg⁻¹) combined with high-energy feeding. The rats were randomly assigned to the model group, TPJ high-dose, TPJ small dose group and normal control groups. Rats in TPJ high-dose group were performed intragastric administration of 14.4 g·kg⁻¹·d⁻¹ crude drug of Tangpingjian, and rats in TPJ small dose group were administrated with 7.2 g·kg⁻¹·d⁻¹ crude drug of Tangpingjian, the other two groups were administrated with distilled water by equal volume. All four groups had been treated for four weeks. Fasting blood-glucose (FBG), Fasting insulin (FINS), TNF- α , Adip and Leptin of rats were measured after four weeks. Calculation of insulin sensitivity index was carried out (IAI). **Result:** TPJ could decrease FBG, FINS, leptin and TNF- α remarkably, and improve insulin sensitivity index and Adip activity obviously in experimental rats. It has remarkable difference compared with model group ($P < 0.01, P < 0.05$). **Conclusion:** TPJ can improve T2DM rat inflammatory response, reduce hyperinsulinemia, increase the insulin

[收稿日期] 20110606(002)

[基金项目] 河北省科技厅指导项目(022761217); 张家口市科技局指令项目(1012011D-3)

[第一作者] 张永鹏, 医学硕士, 讲师, 从事糖尿病及其并发症的中医药研究, Tel: 0313-4029221, E-mail: zyp6081@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 李永民, 教授, 医学博士, 硕士生导师, 从事糖尿病及心血管病的中医药研究, Tel: 0313-4029228, E-mail: liyongmin2001@sina.com

sensitivity, and improve insulin resistance.

[Key words] insulin resistance; adiponectin; leptin; tumor necrosis factor- α ; tangpingjian

2 型糖尿病 (T2DM) 是一种具有明显异质性的多基因遗传病,其病因及发病机制目前尚未十分清楚,其中胰岛素抵抗 (IR) 被认为是引发 T2DM 的始发因素。近年来糖尿病炎症发病学说逐渐形成,该学说认为炎症因子是 IR 的一个重要致病因素。课题组以前的动物实验证明了糖平煎可以有效改善糖尿病大鼠血糖、血脂、血流变及微循环等作用^[1]。本实验进一步观察糖平煎对 T2DM 大鼠 IR 和血清脂联素 (Adip)、瘦素 (leptin)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 等炎症细胞因子的影响,以进一步阐述糖平煎的作用机制。

1 材料

健康清洁级雄性 Wistar 大鼠 50 只,鼠龄 3 个月,体重 180 ~ 220 g,购自河北省实验动物中心,合格证号 SCXK (冀)20061003。糖平煎由黄芪 14 g,黄连 6 g,荔枝核 6 g,牡丹皮 6 g,桑叶 8 g,僵蚕 10 g,山药 10 g,玄参 10 g,苍术 10 g 组成(购自北京同仁堂),水煎浓缩煎液,每毫升含生药 2 g。链脲佐菌素 (STZ,批号 070103,美国 Sigma 产品)。胰岛素放射免疫分析药盒 (中国原子能科学研究院,批号 050908),leptin,Adip 试剂盒 (武汉博士德生物工程有限公司,批号 20070104,20070139),TNF- α 放免分析药盒 (北京北方生物研究所,批号 20070201)。

2 方法

2.1 分组及给药 随机取 10 只大鼠为正常对照组,喂基础饲料 (总热量 $6.94 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1}$)。其他大鼠喂高热量饲料 (基础饲料加蔗糖、炼猪油和鸡蛋,总热量 $21.33 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1}$) 4 周,再 ip STZ $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,2 周后检测 FBG, FINS, 血脂,取 $\text{FBG} > 7.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,具有超重、高血脂、高胰岛素血症、胰岛素敏感性指数降低的大鼠,确定为 T2DM 大鼠模型^[2]。选择模型大鼠 30 只,随机分为模型对照组、及糖平煎 (TPJ) 高、低剂量组,每组 10 只。按人与大鼠体表面积折算的等效剂量比给药,TPJ 给生药 $14.4, 7.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,模型组和正常组每天给等体积蒸馏水,ig,1 次/d,连续 4 周。

2.2 指标检测 实验结束颈总动脉插管取血,取静脉血,注入试管中待凝固后,分离血清, $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存。测定前置室温或冷水中复融,混匀后, $4 \text{ }^\circ\text{C}$

$3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,取上清测定。采用酶法测定 FBG;采用放免法测定 FINS, TNF- α ;采用 ELISA 法测定血清 Adip, leptin。操作严格按试剂盒说明书进行。采用李光伟法^[3] 计算胰岛素敏感性指数 $\text{IAI} = \ln [1 / \text{FBG} \times \text{FINS}]$ (ln: 自然对数)。

2.3 统计分析 组间数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 12.0 统计分析软件以方差分析进行统计处理。

3 结果

3.1 糖平煎对大鼠 IR 的影响 见表 1。与正常组相比,模型组 FBG, FINS 明显增加, IAI 明显降低。TPJ 高、低剂量治疗 4 周后,可明显降低 FBG, FINS, 显著提高 IAI, 与模型组相比,差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。表明糖平煎能有效降低 T2DM 大鼠 FBG, FINS, 提高 IAI, 对 IR 有明显改善作用。

表 1 糖平煎对 T2DM 大鼠 FBG, FINS, IAI 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分组	剂量 /g·kg ⁻¹	FBG /mmol·L ⁻¹	FINS /mU·L ⁻¹	IAI
正常	-	6.27 ± 0.49	15.78 ± 2.50	-1.99 ± 0.2
模型	-	14.02 ± 3.51 ²⁾	25.72 ± 2.63 ²⁾	-2.57 ± 0.15 ²⁾
TPJ	7.2	11.17 ± 3.26 ^{2,3)}	23.14 ± 2.14 ^{2,3)}	-2.41 ± 0.16 ^{2,3)}
	14.4	9.62 ± 3.60 ^{1,4)}	21.53 ± 2.71 ^{2,4)}	-2.31 ± 0.16 ^{2,4)}

注:与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型对照组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

3.2 糖平煎对各组大鼠血清 Adip, leptin, TNF- α 的影响 见表 2。与正常组相比,模型组 Adip 明显降低, leptin, TNF- α 明显增加, TPJ 高、低剂量治疗 4 周后,可明显改善血清 Adip, 降低 leptin 和 TNF- α , 与模型相比,差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。表明糖平煎可有效升高 T2DM 大鼠血清 Adip, 降低 leptin 和 TNF- α 。

表 2 糖平煎对各组大鼠 Adip, Leptin, TNF- α 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分组	剂量 /g·kg ⁻¹	Adip /mg·L ⁻¹	Leptin /μg·L ⁻¹	TNF- α /μg·L ⁻¹
正常	-	6.94 ± 1.64	2.58 ± 0.69	0.42 ± 0.18
模型	-	3.38 ± 1.07 ²⁾	4.07 ± 1.08 ²⁾	1.69 ± 0.38 ²⁾
TPJ	7.2	5.21 ± 1.31 ^{2,3)}	3.25 ± 0.63 ^{2,3)}	1.36 ± 0.33 ^{2,3)}
	14.4	5.87 ± 1.37 ^{1,4)}	2.98 ± 0.86 ¹⁾	0.99 ± 0.44 ^{2,4)}

4 讨论

IR 是 T2DM 的主要病理机制,也是发生糖尿病各种并发症的病理基础,而炎症学说在 IR 发病机制的研究中备受关注。认为 T2DM 可能是细胞因子介导的炎症反应,是一种慢性低度炎症性、免疫性疾病。炎症在 T2DM 的发病机制中起媒介作用,是 IR 起源的触发因素^[4]。大量临床和实验研究证明炎症细胞因子对 IR 有很多影响,一些可阻止 IR 的发生,如 Adip;而另一些却促进 IR 的形成,如 leptin, TNF- α 等。抗炎治疗已经成为 T2DM 治疗的一个新的方法。

Adip 是近年来发现的一种脂肪细胞特异分泌的细胞因子,被认为是胰岛素敏感性的调节因子。Adip 具有改善 IR 及糖脂代谢的生理功能,能增加胰岛素敏感性^[5]。同时,Adip 还可以抑制白介素 12、干扰素 γ 和棕榈酸导致的 β 细胞凋亡。研究表明,Adip 水平的下降与 IR、高胰岛素血症以及 T2DM 有密切联系,机体 Adip 浓度与 IR 程度成反比^[6]。

Leptin 是肥胖基因(OB 基因)的编码产物,可以作用于下丘脑的体重调节中枢,降低食欲,增加能量消耗,减轻体重。也可作为脂肪——胰岛内分泌轴的一部分,参与胰岛素内分泌的调节,胰岛素能刺激 leptin 分泌,增加 leptin mRNA 表达,同时 leptin 又能直接抑制胰岛素分泌。Leptin 在脂肪细胞中可抑制胰岛素对葡萄糖的转运、糖原合成和脂肪合成;在肝脏中可降低胰岛素对肝糖原异生的抑制作用;在胰腺中通过胰岛 β 细胞上的受体直接抑制胰岛素释放;Leptin 还可对胰岛素受体后的信号传递途径产生影响。TNF- α 被称为“前炎症细胞因子”,在介导 T2DM 患者的 IR 中可能起到中心介质的作用。TNF- α 可通过多种途径参与其中:如干扰胰岛素受体的信号传导,影响组织细胞对葡萄糖的利用,抑制胰岛素刺激的葡萄糖转运^[7];促进脂肪细胞的分解,通过游离脂肪酸发挥作用,引起胰岛 β 细胞内诱导型一氧化氮合酶表达增加,抑制胰岛素的作用,并加速 β 细胞的衰竭^[8]。因此,leptin, TNF- α 与 IR 密切相关。

从结果中可知,模型组大鼠 FBG, FINS 显著升

高,IAI 明显降低,血清 Adip 水平降低,血清 leptin, TNF- α 水平升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。大、小剂量糖平煎组大鼠 FBG, FINS 显著降低,IAI 明显升高,血清 Adip 水平显著升高,血清 leptin, TNF- α 水平明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。综上所述,本研究表明炎症参与了 T2DM 的发生和发展,中药复方糖平煎可以改善 T2DM 大鼠的炎症反应,提高机体对胰岛素的敏感性,有效改善 IR。

[参考文献]

- [1] 李永民,李建东,张永鹏,等. 中药糖平煎对 2 型糖尿病大鼠血糖血脂、血流变及球结膜微循环的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2006, 12(1): 39.
- [2] 郭啸华,刘志红,李恒,等. 实验性 2 型糖尿病大鼠模型的建立[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2000, 9(4):351.
- [3] 李光伟. 胰岛素抵抗评估及其临床应用[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2004, 3(1):11.
- [4] Pickup J C, Mattock M B. Activation of the innate immune system as a predictor of cardiovascular mortality in Type 2 diabetes mellitus[J]. Diabet Med, 2003, 20(9):723.
- [5] Lu J Y, Huang K C, Chang L C, et al. Adiponectin: a biomarker of obesity-induced insulin resistance in adipose tissue and beyond[J]. J Biomed Sci, 2008, 15(5):565.
- [6] Rakatzil, Mueller H, Ritzeler O, et al. Adiponectin counteracts cytokine and fatty acid-induced apoptosis in the pancreatic beta-cell line INS-1 [J]. Diabetologia, 2004, 47:249.
- [7] Mingrone G, Rosa G, di Rocco P, et al. Skeletal muscle triglycerides lowering is associated with net improvement of insulin sensitivity, TNF-alpha reduction and GLUT4 expression enhancement [J]. Int J Obes Relat Metab Disord, 2002, 26(9):1165.
- [8] Bloomgarden Z T. American diabetes association annual meeting 1999: insulin action and the development of type 2 diabetes[J]. Diabetes Care, 2000, 23(2):248.

[责任编辑 邹晓翠]