

# 鱼腥草合剂对 db/db 糖尿病小鼠肾损伤的影响

鲍珺璐, 王海颖\*

(上海中医药大学中药学院, 上海 201203)

**[摘要]** **目的:**比较鱼腥草合剂醇提液和水提液对 db/db 小鼠肾脏损伤的作用,并探讨鱼腥草合剂防治 2 型糖尿病肾病的机制。**方法:**8 周龄的 db/m 和 db/db 小鼠分为 4 组:db/m 正常小鼠对照组;db/db 糖尿病小鼠对照组;db/db 糖尿病小鼠鱼腥草合剂醇提液 156 mg·kg<sup>-1</sup> 治疗组;db/db 糖尿病小鼠鱼腥草合剂水提液 156 mg·kg<sup>-1</sup> 治疗组。经鱼腥草合剂 ig 治疗 4,8 周后,观察小鼠体重、24 h 尿白蛋白(Alb),血清胰岛素(FINS)、空腹血糖(FPG)、胰岛素敏感指数(IAI)等生化指标的情况。**结果:**鱼腥草合剂在治疗 8 周后,血糖、胆固醇、24 h 尿白蛋白与对照组相比,均有下降,改善了高脂血症、高血糖症、高胰岛素血症。**结论:**鱼腥草合剂具有改善糖尿病肾病的作用,其作用机制可能与降低微量尿白蛋白及改善胰岛素抵抗相关。

**[关键词]** 鱼腥草合剂; db/db 小鼠; 胰岛素抵抗; 糖尿病肾病

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)19-0165-05

## Effect of Houttuynia Cordata Composition on Renal Lesion in db/db Mice with Diabetes

BAO Jun-lu, WANG Hai-ying\*

(Shanghai Traditional Chinese Medicine University, Shanghai 201203, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the effects of the ethanol and water extract from houttuynia cordata composition on renal lesion in diabetic db/db mice. And the mechanism of Houttuynia cordata composition on preventing the development of diabetic nephropathy (DN) was also investigated. **Method:** Twenty-four db/m and db/db mouse with 8 weeks of age were divided into four groups according to their treatment ways: group db/m was treated with distilled water, group db/db with distilled water; group db/db with ethanol extracted Houttuynia cordata

**[收稿日期]** 20110113(007)

**[基金项目]** 上海市科委自然科学基金项目(10ZR1428600)。

**[第一作者]** 鲍珺璐, 在读硕士研究生, E-mail: icemean\_8604@163.com

**[通讯作者]** \* 王海颖, 副教授, 从事糖尿病中医药治疗的相关研究, Tel: 021-51322208, E-mail: wanghaiying\_7@hotmail.com

- [10] 王欢, 唐于平, 郭建明, 等. 当归-川芎药对不同配比组方对家兔血小板聚集和凝血功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(2): 73.
- [11] Ronald J. Tallarida. The interaction index: a measure of drug synergism [J]. Pain, 2002, 98(1/2): 163.
- [12] Tallarida R J. Drug synergism: its detection and applications [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2001, 298(3): 865.
- [13] Gessner P K. Isobolographic analysis of interactions: an update on applications and utility [J]. Toxicology, 1995, 105(2/3): 161.
- [14] 刘瑾, 邱海霞, 梅兴国等. 高线图解分析法: 评价药物相互作用的方法[J]. 国外医学·药学分册, 2006, 33(6): 459.
- [15] Miranda H F, Puig M M, Prieto J C, et al. Synergism between paracetamol and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental acutepain [J]. Pain, 2006, 121(1/2): 22.
- [16] 段金殿, 范欣生, 宿树兰, 等. 中药及方剂量效关系的研究进展与思考[J]. 南京中医药大学学报, 2009, 25(4): 241.

[责任编辑] 聂淑琴

composition; group db/db with water extracted composition. The changes in body weight, 24 h urinary albumin excretion, serum insulin, fasting plasma glucose were measured after mouse were treated for 4 weeks and 8 weeks.

**Result:** After treatment with houttuynia cordata composition for 8 weeks, the plasma glucose, cholesterols and 24 h urinary albumin decreased. Compared with the untreated diabetic controls, both of ethanol and water extracted led to similar amelioration of hyperlipidemia and hyperglycemia, as well as reduction of serum insulin level.

**Conclusion:** The houttuynia cordata composition could improve diabetic nephropathy, and the mechanism might be linked to the reduction of the urinary albumin and improvement of insulin resistance.

[**Key words**] houttuynia cordata composition; db/db mice; insulin resistance; diabetic nephropathy

鱼腥草合剂是由鱼腥草和牛蒡子两味中药组成的小复方,此前我们已研究了单味中药鱼腥草<sup>[1-3]</sup>和牛蒡子<sup>[4-6]</sup>对糖尿病肾病(DN)的影响。在既往的研究中证实,单味鱼腥草和单味牛蒡子均可减少糖尿病大鼠 24 h 尿白蛋白及尿蛋白,同时还发现鱼腥草有较好的改善血糖指数和血清甘油三酯的作用,明显改善糖尿病大鼠胰岛素抵抗。提示鱼腥草和牛蒡子在糖尿病及其血管并发症中有可能发挥着积极的作用。为了进一步阐明鱼腥草合剂改善糖尿病肾损害的物质基础,进行了鱼腥草合剂不同提取部位对 db/db 糖尿病小鼠尿白蛋白和胰岛素抵抗影响的研究。

db/db 小鼠的糖尿病及其 DN 进程与临床糖尿病肾病非常相似,是国际上广为采用的研究糖尿病肾病的动物模型<sup>[7]</sup>。故在本次实验研究中,我们采用以高血糖、高胰岛素、高脂血症为“三高”特点的自发性 2 型糖尿病 db/db 小鼠为模型,观察了鱼腥草合剂对 db/db 小鼠糖尿病肾损害的影响。望借此项研究筛选鱼腥草合剂不同提取部位,并为阐明其药理机制提供一定的依据。

## 1 材料

**1.1 药物和试剂** 鱼腥草(批号 091222)和牛蒡子(批号 100121),均购自上海养和堂中药饮片有限公司;鱼腥草合剂醇提液:由鱼腥草、牛蒡子饮片按 1:1 比例混合,加入 10 倍量 75% 乙醇回流提取 1 h、滤渣浓缩至所需浓度;鱼腥草合剂水提液:由鱼腥草、牛蒡子饮片按 1:1 比例混合,分别加入 10 倍量和 8 倍量水浸泡煎煮 2 次、滤渣后药液浓缩至所需浓度。小鼠尿白蛋白检测试剂盒(批号 100628)和血清胰岛素放射免疫分析盒(批号 100703)均购自北京普尔伟业生物技术有限公司;小鼠尿蛋白定量试剂盒(批号 20100712)购自南京建成生物工程研究所。

**1.2 仪器** 稳豪型血糖仪及其试纸,购于 Lifescan

公司;HITACH(日立)7170 型自动生化分析仪。

**1.3 动物** C57BL/Ksj db/db 小鼠,雌性,购于上海科学院动物实验中心,动物合格证号 SYXK(沪)2007-0005,饲养于上海中医药大学实验动物中心清洁级动物室。

## 2 方法

**2.1 动物分组** 4 周龄 db/db 及 db/m 小鼠适应性喂养 1 月后,开始给 db/db 小鼠给药治疗。小鼠随机分成 4 组,每组 6 只:① db/m 正常小鼠为正常对照组;② db/db 糖尿病小鼠为对照组;③ db/db 糖尿病小鼠鱼腥草合剂醇提液治疗组;④ db/db 糖尿病小鼠鱼腥草合剂水提液治疗组。③,④ 予合剂 0.2 mL/只(根据临床剂量换算为动物等效剂量,相当于生药 156 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>);①,② 组予等体积的饮水。实验期间,小鼠在层流柜中饲养,所有器具及食物均消毒,无菌操作。小鼠自由进食、饮水,保持垫料干燥,12 h 交替照明。分别于给药 4 周及 8 周称体重、收集血和尿的标本。采血方法为:小鼠眼眶后静脉丛取血,EDTA 抗凝,分离血浆、血清于 -80 °C 保存待测。

**2.2 尿标本检测** 尿标本采用小鼠代谢笼收集,记录 24 h 尿量,离心后,每个样本取 2 mL 冻存于 -20 °C 冰箱中待测。尿白蛋白测定采用放射免疫法,尿蛋白测定采用考马斯亮蓝法,具体操作均按试剂盒操作说明进行。

**2.3 生化分析** 空腹血糖(FPG)、胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)测定于日立 7170 型自动生化分析仪上进行。血清胰岛素测定采用放射免疫法,按试剂盒操作说明进行。根据血糖值和胰岛素值计算出胰岛素敏感性指数(ISI)。

**2.4 统计学分析** 计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 One Way ANOVA 方差分析,方差不齐时采用 Dunnett T3 法分析;组间两两比较采用 *t* 检验。

$P < 0.05$ 有统计学意义。数据统计学处理均在 SPSS 15.0 上完成。

### 3 结果

**3.1 小鼠的一般情况** 正常组 db/m 小鼠精神状况良好,动作自如,反应灵敏,皮毛光泽。db/db 糖尿病小鼠表现为多尿、肥胖、精神萎靡,反应明显迟钝,皮毛光泽度低。鱼腥草合剂治疗组小鼠的一般情况较模型组良好,反应灵敏度较正常组稍差。具体表现为鱼腥草合剂治疗组小鼠进食量、饮水量均较模型组低。

**3.2 治疗前后体重和血糖变化** 分别检测各组小鼠 4 周龄、8 周龄、12 周龄及 16 周龄的体重和空腹血糖,结果如表 1 和表 2 所示。

4 周龄 db/db 小鼠虽已明显表现为肥胖,但血糖未见明显升高,与 db/m 小鼠差别不明显,推测可能为 db/db 小鼠发生糖尿病前的状态。8 周龄 db/

db 小鼠,既表现为肥胖,又出现了高血糖。随着周龄增加,db/db 小鼠血糖和体重均呈升高趋势。但各实验组间无显著性差异。药物治疗 4 周后(12 周龄),治疗组小鼠的体重开始与模型组小鼠有差异,较低于模型组小鼠;治疗 8 周后(16 周龄),其体重值明显低于模型组( $P < 0.05$ )。

8 周龄 db/db 小鼠 FPG 明显升高,至实验结束其 FPG 明显高于 db/m 小鼠( $P < 0.01$ )。药物治疗 4 周后(12 周龄),治疗组小鼠 FPG 与对照组相比无明显差异;治疗 8 周后(16 周龄),其 FPG 低于对照组( $P < 0.05$ )。

**3.3 对 db/db 小鼠 FPG, FINS, ISI 的影响** 到第 8 周末,分别检测 db/db 小鼠 FPG, FINS。对照组和治疗组 FINS 均显著高于正常组,结合同时出现的高血糖,提示有胰岛素抵抗的存在。醇提组 FINS 明显低于模型组( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 1 各组小鼠治疗前后体重的比较( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	g			
		4 周龄	8 周龄	12 周龄	16 周龄
db/m 正常	-	19.1 ± 1.0	22.4 ± 2.1	25.7 ± 3.5	28.7 ± 2.8
db/db 对照	-	39.0 ± 2.7	51.5 ± 1.3	52.0 ± 4.0	54.6 ± 2.1
合剂醇提液	156	38.6 ± 2.6	48.3 ± 3.3	47.9 ± 4.1	42.5 ± 6.8 <sup>1)</sup>
合剂水提液	156	39.3 ± 3.0	48.2 ± 5.7	48.5 ± 7.0	42.3 ± 7.1 <sup>1)</sup>

注:与 db/db 对照组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ (表 2~5 同)。

表 2 各组小鼠治疗前后 FPG 的比较( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	FPG/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$			
		4 周龄	8 周龄	12 周龄	16 周龄
db/m 正常	-	6.32 ± 1.34	7.19 ± 0.75	6.22 ± 0.35	7.86 ± 0.53
db/db 对照	-	11.35 ± 2.71	25.53 ± 2.75	28.20 ± 4.59	37.15 ± 5.65 <sup>2)</sup>
合剂醇提液	156	10.18 ± 1.63	23.66 ± 4.39	28.36 ± 2.91	27.37 ± 4.62 <sup>1)</sup>
合剂水提液	156	12.34 ± 3.01	23.04 ± 6.08	27.33 ± 5.50	31.41 ± 5.04 <sup>1)</sup>

注:与正常 db/m 组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ 。

表 3 鱼腥草合剂第 8 周对 db/db 小鼠 FPG, FINS, ISI 的影响( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	FPG/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	FINS/ $\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$	ISI
db/m 正常	-	7.83 ± 0.53	49.74 ± 19.21	-5.96 ± 0.34
db/db 对照	-	37.20 ± 5.65	163.44 ± 84.22	-8.71 ± 0.61
合剂醇提液	156	27.81 ± 4.62 <sup>1)</sup>	116.63 ± 78.07 <sup>1)</sup>	-8.05 ± 0.47 <sup>1)</sup>
合剂水提液	156	31.15 ± 5.04 <sup>1)</sup>	151.00 ± 79.56	-8.45 ± 0.50

按照胰岛素敏感性指数 (ISI) 公式:  $\text{ISI} = 1/\text{FINS} \times \text{FPG}$ 。因其为非正态分布,故分析时采用其自然对数来获得,即  $\text{ISI} = \text{Ln}1/\text{FINS} \times \text{FPG}$ 。醇提组和水提组的 ISI 均呈升高趋势,且醇提组 ISI 较对照组

高,有显著性差异( $P < 0.05$ );但水提组与对照组间无显著差异。

**3.4 对 db/db 小鼠 24 h 尿 Alb 排泄影响** 药物治疗 4 周(12 周龄),醇提组和水提组 24 h 尿白蛋白开

始下降,但与 db/db 对照组相比无显著差异;治疗 8 周(16 周龄),醇提液组和水煎液组较 db/db 对照组 24 h 尿蛋白排泄量均有显著下降( $P < 0.05$ )。其中鱼腥草合剂水煎液治疗组下降更为明显。见表 4。

表 4 鱼腥草合剂对 db/db 小鼠尿 Alb 排泄影响( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	Alb/ $\mu\text{g}\cdot 24\text{h}^{-1}$	
		12 周龄	16 周龄
db/m 正常	-	13.2 ± 2.3	16.2 ± 4.8
db/db 对照	-	187.8 ± 37.2	252.5 ± 44.1
合剂醇提液	156	179.6 ± 36.1	175.1 ± 36.3 <sup>1)</sup>
合剂水提液	156	168.9 ± 34.7	139.3 ± 30.7 <sup>1)</sup>

3.5 第 8 周末合剂对血脂的影响 醇提组和水提组 TC 均明显升高,但与对照组相比无显著差异,说明 db/db 糖尿病小鼠存在着血脂异常。药物治疗 8 周后,醇提组和水提组与对照组相比有显著差异( $P < 0.05$ ),但与正常组之间不存在差异。见表 5。

表 5 鱼腥草合剂第 8 周末对 TC, TG 的影响( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	mmol·L <sup>-1</sup>	
		TC	TG
db/m 正常	-	1.20 ± 0.26	0.75 ± 0.19
db/db 对照	-	3.62 ± 1.15	1.22 ± 0.46
合剂醇提液	156	3.01 ± 0.69	0.52 ± 0.14 <sup>1)</sup>
合剂水提液	156	3.17 ± 1.14	0.48 ± 0.17 <sup>1)</sup>

#### 4 讨论

鱼腥草合剂由鱼腥草和牛蒡子两味中药组成,三白草科的鱼腥草性寒,味苦辛,可清热解毒、利尿消肿;牛蒡子性寒味苦,可宣肺利咽、清热解毒,2 药合用,共奏清热解毒、利水之功。通过本项实验研究,发现鱼腥草合剂醇提组在改善 db/db 小鼠血糖水平、血清胰岛素水平、24 h 尿 Alb 方面均优于鱼腥草合剂水提组。

微量尿 Alb 是肾脏早期损伤的重要标志之一,对 DN 早期诊断具有重要意义<sup>[7]</sup>。临床上根据人 24 h 尿 Alb 的排泄量为 30 ~ 300 mg·(24 h)<sup>-1</sup>,作为出现早期 DN 的标准。在动物实验中,国内外对 db/db 小鼠进入早期 DN 阶段的判断采用与 db/m 小鼠相比较,微量尿 Alb 显著增高即可说明已进入了早期肾病阶段<sup>[8]</sup>。12 周龄 db/db 小鼠与 db/m 相比,尿 Alb 明显升高,说明已是 DN 阶段。

前期已研究证实,单味药鱼腥草<sup>[1-3]</sup>和牛蒡子<sup>[4-6]</sup>均可有效降低糖尿病大鼠 24 h 微量尿 Alb,牛蒡子还可有效降低大鼠肾重/体重比。而这 2 味中药组成的鱼腥草合剂同样能达到降低 db/db 小鼠尿 Alb 的疗效,其中醇提效果更明显。提示,鱼腥草合剂可能通过减轻 DN 小鼠肾脏的高滤过、高灌注,从而保护肾功能。

db/db 小鼠脂代谢紊乱主要是高胆固醇、高三酰甘油血症。从药物对脂质代谢结果可看出,对照组中血清的 TC, TG 明显升高,不论是鱼腥草合剂醇提液还是水提液,均能降低 TG 值。已有研究报出,鱼腥草挥发油可明显降低患者血脂浓度。对于肾脏微血管病变的作用,脂质紊乱不仅对 DN 早期病变有影响,且影响着 DN 的进展速度,可见调节血脂浓度在 DN 的发生机制中起着不可忽视的作用。本实验结果显示,鱼腥草合剂醇提液能较好的降低 TG,降低血脂浓度。

DN 是 DM 并发症中最常见的一种疾病,其发病机制复杂,但已证实与 IR 密切相关。正常人体产生的胰岛素刚好能使多余的血糖进入人体细胞内,被细胞充分利用。而 DM 患者在胰岛素受体的缺陷下,肌肉和脂肪组织对葡萄糖的利用出现障碍,使得这些组织对胰岛素的敏感性和反应性下降,导致血糖不能正常地进入身体细胞内,引起了高血糖。现公认 IR 与  $\beta$  细胞分泌胰岛素的缺失相关。而  $\beta$  细胞分泌胰岛素与胰岛素受体密切相关,若  $\beta$  细胞数目减少,或因体内通信转录受阻,使得靶细胞对胰岛素敏感性降低,则导致对葡萄糖利用率不高,出现 FPG 异常升高;若病情加重,则进入糖耐量异常期。

ISI 可良好反映胰岛素介导的葡萄糖是否有异常。这种简便经济的指标,能够在很大程度上反映出靶细胞对胰岛素的敏感性。本实验选用的 db/db 小鼠,同时存在着高血清胰岛素和高血糖,提示有胰岛素抵抗的存在。鱼腥草合剂醇提组显示出可改善 IR。

综上所述,鱼腥草合剂醇提组可较好的改善 db/db 小鼠的 IR 和脂代谢紊乱,同时具有减少微量尿 Alb,改善肾小球高滤过作用,与水提组相比,有着一定的优势,也为研究其防治 DM 相关的微血管并发症提供的一定参考。鱼腥草合剂能否作为一种新的防治 DN 药物而广泛应用于 2 型 DM 患者还有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 王海颖,修彦凤,孙康德. 鱼腥草改善糖尿病大鼠血脂代谢和胰岛素抵抗的实验研究[J]. 中国中医基础医学杂志,2009,15(1):72.
- [2] 王海颖,修彦凤. 鱼腥草改善糖尿病模型大鼠尿蛋白与胰岛素抵抗的实验研究[J]. 中药新药与临床药理,2008,19(1):12.
- [3] 王海颖,陆敏,修彦凤. 鱼腥草对糖尿病大鼠脂连素与结缔组织生长因子的改善作用[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2009,10(10):902.
- [4] 王海颖,陈以平. 牛蒡子及其提取物对大鼠肾皮质糖基化终产物的影响[J]. 上海中医药大学学报,2004,18(3):48.
- [5] 王海颖,陈以平. 牛蒡子提取物对糖尿病大鼠肾脏病变作用机制的实验研究[J]. 中成药,2004,26(9):745.
- [6] 王海颖,陈以平. 牛蒡子提取物对糖尿病大鼠作用机制的实验研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2004,5(7):379.
- [7] 程苏琴,朱美财. 尿微量蛋白在糖尿病肾损伤早期诊断中的价值[J]. 中华检验医学杂志,2005,28:740.
- [8] Makino H, Miyamoto Y, Sawai K, et al. Altered gene expression related to glomerulogenesis and podocyte structure in early diabetic nephropathy of db/db Mice and its restoration by pioslitazone[J]. Diabetes, 2006, 55:2747.

[责任编辑 聂淑琴]

---

## 欢迎订阅 2012 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物,已成为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)、“中国中文核心期刊”;“中国学术期刊综合评价数据库来源”期刊、“中国期刊网、中国学术期刊光盘版”全文收录期刊;并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊优秀期刊”。本刊创刊于 1995 年 10 月,本着提高为主,提高与普及相结合的办刊方针,主要设置:工艺与制剂、化学与分析、资源与鉴定、药物代谢、药理、毒理、临床、综述、学术交流、消息等栏目,交流方剂的药效学、毒理学、药物动力学、药物化学、制剂学、质量标准、配伍研究、临床研究、学术专论以及方剂主要组成药物的研究结果与最新进展。本刊的读者对象是从事中西医药,尤其是方剂教学、科研、医疗、生产的高、中级工作者,以及中医药院校的高年级学生等。

本刊为半月刊,16 开本,304 页,标准刊号:ISSN1005-9903;CN11-3495/R。2012 年每期定价 25 元,全年 24 期定价为 600 元。国内外公开发行人,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号:2-417;国外由中国国际图书贸易总公司办理发行,代号:BM4655。欢迎订阅。本编辑部也办理邮购。地址:北京市东直门内南小街 16 号,《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编:100700,联系电话:(010)84076882,电子邮件:czd@vip.sina.com,网址:www.syfjzz.com。