

醒胰降糖灵对实验性糖尿病大鼠血糖及免疫功能的影响

丁文君^{1,2*}, 靳锋², 沈明霞³, 骆文郁⁴

(1. 甘肃省中医药研究院, 兰州 730050; 2. 甘肃省中医院, 兰州 730050;
3. 甘肃临夏市人民医院, 甘肃 临夏 731100; 4. 甘肃中医学院, 兰州 730000)

[摘要] 目的: 探讨醒胰降糖灵对实验性糖尿病大鼠血糖及免疫功能的影响。方法: 采用高热量饲料加小剂量 ip 链脲佐菌素 (STZ), 并连续 sc 甲状腺素诱发实验性糖尿病大鼠模型, 分别予二甲双胍及醒胰降糖灵进行干预, 观测用药后大鼠体重及胸腺和脾脏指数、血糖、胰岛素、胰岛素敏感指数及血清肿瘤坏死因子 (TNF- α)、白介素-4 (IL-4) 的含量。结果: 与正常组比较, 模型组大鼠血清 TNF- α 的含量显著升高 ($P < 0.01$), IL-4 的含量显著下降 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 醒胰降糖灵治疗组可显著降低血清 TNF- α 水平 ($P < 0.01$), 提高 IL-4 水平 ($P < 0.01$)。结论: 醒胰降糖灵可通过下调 Th1 型细胞因子 (TNF- α) 并上调 Th2 型细胞因子 (IL-4) 的含量平衡机体的免疫功能。

[关键词] 醒胰降糖灵; 糖尿病; 血糖; 白介素-4; 肿瘤坏死因子

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)13-0180-03

Effects of Xingyi Jiangtang Ling on Level of Blood Glucose and Immunologic Function in Diabetic Rats

DING Wen-jun^{1,2*}, JIN Feng², SHEN Ming-xia³, LUO Wen-yu⁴

(1. Gansu Province Academy of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China;
2. Gansu Province Hospital of Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China;
3. Linxia Municipal People's Hospital, Linxia 731100, China;
4. Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] Objective: To explore the effects of Xingyi Jiangtang Ling on blood glucose and immunologic function in diabetic rats. **Method:** The model of diabetic rat was established by subabdominal injection with streptozotocin 65 mg·kg⁻¹ and then concomitant hypodermic injection with thyroxine, once a day, from 1th to 7th day. After treated with Xingyi Jiangtang ling for 60 days, the content of TNF- α , IL-4 in the serum of all experimental rats was detected. **Result:** Compared to normal group, the content of TNF- α in serum of diabetic rats was significantly increased ($P < 0.01$). that of IL-4 was significantly declined. However, the content of TNF- α of treated group was significantly declined, compared with model group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Xingyi Jiangtang Ling can protect immunologic function to β cell in the pancreas by declining TNF- α and increasing of IL-4. It may be one of the mechanisms for antagonizing diabetes.

[Key words] Xingyi Jiangtang Ling; diabetes; blood glucose; IL-4; TNF- α

[收稿日期] 2010-01-21

[基金项目] 甘肃省教育厅资助项目 (0505-07)

[通讯作者] * 丁文君, 硕士, 主要从事肾内分泌疾病的临床和基础研究, Tel: 13669360756, E-mail: dwj0821@163.com

胰岛素抵抗与胰岛 β 细胞功能缺陷一直被认为是 2 型糖尿病 (T₂DM) 根本的发病机制, 进一步的研究表明免疫调节异常可能在 T₂DM 及相关代谢紊乱及并发症的发生、发展中起核心作用^[1]。而传统医学则将糖尿病归属于“消渴病”的范畴, 强调“三消皆本于肾”(明·张介宾《类经》)、“治肾为急”(明·

赵献可《医贯》), 本试验用中医证与西医“病”相结合的动物模型, 采用具有滋阴补肾、益气活血等功效且临床疗效较佳的醒胰降糖灵干预治疗, 通过检测 Th1、Th2 型细胞分泌的细胞因子来观察该方对 T₂DM 模型大鼠 Th1/Th2 细胞平衡的影响。

1 材料与方

1.1 动物 SPF 级 2 月龄 Wistar 大鼠, 雌雄各半, 体重(200 ±20) g, 由甘肃中医学院 SPF 实验中心提供, 动物合格证号 0001558。

1.2 试剂及仪器 醒胰降糖灵由生地黄、山药、山茱萸、泽泻、丹皮、茯苓、黄芪、五味子、水蛭等组成, 上述药材均购自兰州黄河药材市场, 由甘肃中医学院药学系中药炮制教研室常规水煎制, 生药含量为 2.79 g·mL⁻¹; 盐酸二甲双胍片购自天津市力生制药股份有限公司; 链脲佐菌素注射液(美国 Sigma 公司提供, 南京建成生物公司分装); 甲状腺素购自上海长城生物技术有限公司; 葡萄糖(Glu)试剂盒(上海荣盛生物技术有限公司, 批号 061025); 碘 [¹²⁵I]-胰岛素(INS)放射免疫分析药盒以及 TNF- α , IL-4 放射免疫分析试剂盒(北京科美东雅生物技术有限公司, 批号 061021)。7230G 型可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司); BIO-TEK Elx-800 型酶联免疫检测仪(美国 Beckman Coulter 公司生产)。

1.3 动物的饲养和造模 所有动物在统一条件下(室温 19 ~24 ℃, 相对湿度 40% 左右) 饲养 1 周后, 抽取 8 只为正常对照组, 其余 52 只均喂以高热量饲料(含 10.0% 猪油、20.0% 蔗糖、2.5% 胆固醇、1.0% 胆酸盐), 至第 9 周, STZ 30 mg·kg⁻¹ 给造模大鼠一次性 ip^[2], 并连续 sc 甲状腺素 0.2 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 共 7 d^[3]。每隔 3 ~4 d 尾静脉取血测空腹 8 h 血糖值。至 14 d, 选取血糖值 11.0 ~16.7 mmol·L⁻¹、伴有消瘦、生长发育迟缓, 体温升高, 毛无光泽, 活动频度增加、反应迟钝、多饮、多食、多尿, 大便干结等肾阴虚证表现者为造模成功。

1.4 分组给药 选取造模成功的 24 只大鼠称重, 随机分为 3 组。正常对照组、模型对照组 ig 等体积(10 mL·kg⁻¹) 生理盐水; 二甲双胍组 ig 盐酸二甲双胍片的水溶液 0.27 g·kg⁻¹; 醒胰降糖灵组 ig 醒胰降糖灵 25.11 g·kg⁻¹ (3 倍等效剂量), 1 次/d, 均连续 60 d。

1.5 标本采集及处理 治疗 60 d 后, 禁食 10 h, ip 2% 戊巴比妥钠 40 mg·kg⁻¹ 麻醉, 股静脉取血 6

mL, 静置, 分离血清, -20 ℃ 冻存待检。后立即取出胸腺、脾脏称重, 计算器官指数。Glu 取大鼠静脉血清测定。TNF- α , IL-2 含量按放射免疫分析试剂盒说明书测定。Ins 按放射免疫分析药盒操作步骤进行。计算胰岛素敏感指数(ISI)。

$$ISI = Ln 1 / (空腹血糖 \times 空腹胰岛素)。$$

1.6 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 醒胰降糖灵对大鼠血清 Glu, Ins, ISI 的影响

表 1 醒胰降糖灵对大鼠血清 Glu, Ins 及 ISI 的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	Glu /mmol·L ⁻¹	Ins /mU·L ⁻¹	ISI
正常对照	-	5.81 ±1.31 ²⁾	24.97 ± 5.61 ²⁾	- 5.11 ±0.21 ¹⁾
模型对照	-	11.23 ±1.57	45.68 ± 9.21	- 5.87 ±0.14
二甲双胍	0.27	6.67 ±1.95 ¹⁾	28.10 ± 7.65 ¹⁾	- 5.19 ±0.26 ¹⁾
醒胰降糖灵	25.11	6.91 ±1.52 ¹⁾	25.79 ±12.13 ¹⁾	- 5.23 ±0.19 ¹⁾

注: 与模型对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~3 同)。

由表 1 看出, 与模型组比较, 治疗组 Glu 和 Ins 明显下降($P < 0.05$), ISI 明显升高($P < 0.05$)。

2.2 醒胰降糖灵对大鼠体重及胸腺、脾脏器官指数的影响 由表 2 可见模型组大鼠体重、胸腺及脾脏指数明显下降($P < 0.01$)。醒胰降糖灵可提高模型大鼠的胸腺及脾脏指数($P < 0.01$), 其升高脾脏指数作用强于二甲双胍。

表 2 醒胰降糖灵对大鼠体重及胸腺、脾脏免疫器官指数的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	体重 /g	胸腺指数 /mg·g ⁻¹	脾脏指数 /mg·g ⁻¹
正常对照	-	228.87 ±10.99 ²⁾	1.35 ±0.09 ²⁾	2.08 ±0.06 ²⁾
模型对照	-	187.12 ±17.35	0.73 ±0.05	1.26 ±0.17
二甲双胍	0.27	207.75 ± 9.76	1.06 ±0.16 ²⁾	1.33 ±0.08 ¹⁾
醒胰降糖灵	25.11	218.25 ±12.72	1.22 ±0.21 ²⁾	1.75 ±0.06 ^{2,3)}

注: 醒胰降糖灵与二甲双胍比较³⁾ $P < 0.01$ (表 3 同)。

2.3 醒胰降糖灵大鼠血清 TNF- α , IL-4 含量的比较

由表 3 看出, 与正常组比较, 模型组大鼠血清 TNF- α 的含量显著升高($P < 0.01$)、IL-4 的含量显著下降($P < 0.01$); 与模型组比较, 醒胰降糖灵组可显著降低血清 TNF- α 水平($P < 0.01$), 提高 IL-4 水平($P < 0.01$), 其升高 IL-4 作用强于二甲双胍。

表 3 醒胰降糖灵对大鼠血清 TNF- α , IL-4 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	TNF- α /pg·mL ⁻¹	IL-4 /pg·mL ⁻¹
正常对照	-	12.69 \pm 1.14 ²⁾	4.42 \pm 0.22 ²⁾
模型对照	-	17.91 \pm 2.76	1.36 \pm 0.11
二甲双胍	0.27	11.84 \pm 1.07 ¹⁾	2.43 \pm 0.71
醒胰降糖灵	25.11	13.89 \pm 2.81 ²⁾	3.67 \pm 0.65 ^{2,3)}

3 讨论

糖尿病为现代病名, 中医归于“消渴病”的范畴, 古今医家均认为肾阴不足、兼肝脾失调、痰瘀阻滞是肾阴虚型糖尿病的基本病机。醒胰降糖灵主要由六味地黄丸加黄芪、水蛭、五味子等组成。全方合用, 共达滋阴补肾、调肝益脾、除痰活血之功, 较单纯的六味地黄丸治疗肾阴虚型糖尿病更切合实际。

Th 细胞具有两种功能截然不同的亚群, 即 Th1 和 Th2 细胞亚群。Th1 细胞以分泌 TNF- α 和 IL-2 为主, 与细胞免疫有关; Th2 细胞以分泌 IL-4, IL-6 为主, 与体液免疫有关^[4]。正常情况下, Th1 和 Th2 细胞既互相拮抗又互相调节, 处于动态平衡。一旦 Th1 和 Th2 细胞平衡被破坏, 则会产生以 Th1 或 Th2 反应占优势的免疫紊乱。而中医理论认为“阴平阳秘, 精神乃治”(《素问·生气通天论》), 故本试验通

过检测 Th1, Th2 型细胞分泌细胞因子的变化来观察醒胰降糖灵对 T₂DM 模型大鼠 Th1/Th2 细胞平衡的影响。研究表明, 模型组大鼠胸腺及脾脏免疫器官指数明显下降 ($P < 0.01$), 血清 TNF- α 的含量显著升高 ($P < 0.01$), IL-4 的含量显著下降 ($P < 0.01$); 经醒胰降糖灵治疗后, 大鼠胸腺及脾脏免疫器官指数明显提高 ($P < 0.01$), 血清 TNF- α 水平显著降低 ($P < 0.01$), IL-4 水平升高 ($P < 0.01$), 提示醒胰降糖灵可能通过下调 Th1 型细胞因子 (TNF- α)、上调 Th2 型细胞因子 (IL-4) 的含量, 从而平衡机体的免疫功能。

[参考文献]

- [1] 翁建平. 糖尿病与免疫激活 [C]. 第十一次全军内分泌代谢病学术大会, 2008, 7: 1.
- [2] 潘琳. 实验性糖尿病病理图谱 [M]. 北京: 科学出版社, 2007, 9(1): 15.
- [3] 吴文莉, 马威, 薛莎, 等. 肾阴虚型糖尿病动物模型的研制 [J]. 湖北中医学院学报, 1999, 1(3): 117.
- [4] 吴晓燕, 汤旭磊, 高林, 等. 外周血 Th1/Th2 淋巴细胞失衡与 2 型糖尿病肾病的关系 [J]. 兰州大学学报: 医学版, 2007, 33(1): 30.

[责任编辑 何伟]