

# 白虎汤调节 IRS-1/PI3K/Akt 信号通路对 2 型糖尿病大鼠 血糖、血脂代谢及血管重构的影响

郭杨志<sup>1</sup>, 杜娟<sup>2</sup>, 姜敏<sup>1\*</sup>

(1. 首都医科大学附属北京世纪坛医院, 北京 100038;

2. 北京市昌平区中西医结合医院, 北京 102208)

**[摘要]** 目的:研究白虎汤对 2 型糖尿病大鼠的血糖、血脂代谢,血管重构的影响及其对胰岛素受体底物-1(IRS-1)/胞内磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)信号通路的调节作用。方法:将 90 只大鼠随机分为正常组、模型组、白虎汤低、中、高剂量组及二甲双胍组,15 只/组,除正常组大鼠外,其余大鼠采用腹腔注射链脲佐菌素法建立 2 型糖尿病模型。白虎汤低、中、高剂量组大鼠根据体质量分别灌胃给予大鼠白虎汤溶液,剂量分别为 5,10,20 g·kg<sup>-1</sup>,二甲双胍组灌胃给予大鼠二甲双胍(100 mg·kg<sup>-1</sup>),正常组及模型组给予等体积生理盐水,所有大鼠每日给药 1 次,连续给药 12 周。给药结束后测定各组大鼠空腹血糖,糖化血红蛋白,血清肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ),白细胞介素-6(IL-6),白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ),总胆固醇(TC),甘油三酯(TG)及低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平,实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测大鼠肝脏固醇调节元件结合蛋白 1C(SREBP1C),乙酰 CoA 羧化酶(ACC),脂肪酸合成酶基因(FASN)等脂质合成基因及肉毒碱棕榈酰基转移酶 1A(CPT1A),酰基辅酶 A 氧化酶 1(ACOX1),重组人中链酰基辅酶 A 脱氢酶(ACADM)等脂肪酸氧化基因的 mRNA 水平,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠肝脏 IRS-1,PI3K,Akt 蛋白水平,苏木素-伊红(HE)染色观察大鼠胸主动脉血管组织病理学变化,划痕实验检测大鼠胸主动脉血管平滑肌细胞迁移能力。结果:与正常组比较,模型组大鼠空腹血糖、糖化血红蛋白、血清 TNF- $\alpha$ ,IL-6,IL-1 $\beta$ ,TC,TG 及 LDL-C 水平,肝脏脂质合成基因 mRNA 水平,大鼠胸主动脉血管平滑肌细胞迁移能力均明显升高( $P<0.05$ ),肝脏脂肪酸氧化基因 mRNA 水平及 IRS-1,PI3K,Akt 蛋白表达明显降低( $P<0.05$ ),大鼠胸主动脉血管壁厚度明显升高,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );与模型组比较,白虎汤各剂量组大鼠空腹血糖、糖化血红蛋白、血清 TNF- $\alpha$ ,IL-6,IL-1 $\beta$ ,TC,TG 及 LDL-C 水平,肝脏脂质合成基因 mRNA 水平,大鼠胸主动脉血管平滑肌细胞迁移能力均明显降低( $P<0.05$ ),肝脏脂肪酸氧化基因 mRNA 水平及 IRS-1,PI3K,Akt 蛋白水平均明显升高( $P<0.05$ ),大鼠胸主动脉组织病理学明显改善,且血管壁厚度明显降低,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。结论:白虎汤能够降低 2 型糖尿病大鼠血糖、血脂及血清炎症因子水平,调节肝脏脂质代谢相关基因的表达,改善胸主动脉血管组织病理学及血管重构,其机制可能与调节 IRS-1/PI3K/Akt 信号通路有关。

**[关键词]** 白虎汤; 2 型糖尿病; 胰岛素受体底物-1(IRS-1)/磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)信号通路; 血管重构

[中图分类号] R2-0;R289;R285.5;R587.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2021)01-0023-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20210137

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20201106.1420.001.html>

[网络出版日期] 2020-11-9 13:08

## Effect of Baihutang Regulating IRS-1/PI3K/Akt Signal Pathway on Blood Glucose, Blood Lipid Metabolism and Vascular Remodeling in Type 2 Diabetic Rats

GUO Yang-zhi<sup>1</sup>, DU Juan<sup>2</sup>, JIANG Min<sup>1\*</sup>

(1. Beijing Shijitan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100038, China;

2. Changping District Integrated Chinese and Western Medicine Hospital of Beijing, Beijing 102208, China)

[收稿日期] 20200804(005)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81503503)

[第一作者] 郭杨志,博士,主治医师,从事中医药防治糖尿病、肿瘤及老年病研究,E-mail:p138990@163.com

[通信作者] \*姜敏,主任医师,硕士生导师,从事中医药防治糖尿病、肿瘤及体制学研究,E-mail:jiangm1965@sina.com

**[Abstract]** **Objective:** To study the effect of Baihutang on blood glucose, blood lipid metabolism and vascular remodeling in type 2 diabetic rats and its regulation on insulin receptor substrate-1 (IRS-1)/phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K)/ protein kinase B (Akt) signal pathway. **Method:** The 90 rats were randomly divided into normal group, model group, Baihutang low, middle and high dose groups and metformin group, with 15 rats in each group. Except for normal group, the other rats were injected intraperitoneally with streptozotocin to establish the model of type 2 diabetes. The rats in the low, middle and high dose groups were given Baihutang formula granules of 5, 10, 20 g·kg<sup>-1</sup> respectively according to their body weight. The positive control group was given metformin (100 mg·kg<sup>-1</sup>) by intragastric administration, while those in the control group and model group were given the same amount of normal saline once a day for 12 weeks. The levels of fasting blood glucose, glycosylated hemoglobin, serum tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ), interleukin-6(IL-6), interleukin-1  $\beta$ (IL-1 $\beta$ ), total cholesterol(TC), triglyceride(TG) and low-density lipoprotein cholesterol(LDL-C) were measured after administration. The levels of sterol regulatory element binding protein 1C (SREBP1C), acetyl CoA carboxylase (ACC), fatty acid synthase gene (FASN) and carnitine palmitoyl transferase 1A (CPT1A), acylcoa oxidase 1(ACOX1), recombinant human acylcoa dehydrogenase (ACADM) mRNA in liver of rats were detected by Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR), Western blot was used to detect the protein levels of IRS-1, PI3K and Akt in liver of rats. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used for histopathological examination of rat thoracic aortic vessels. The migration ability of vascular smooth muscle cells in rat thoracic aorta was detected by scratch test. **Result:** Compared with the normal group, the fasting blood glucose, glycosylated hemoglobin, serum TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , TC, TG and LDL-C levels, liver lipid synthesis gene mRNA level and vascular smooth muscle cell migration ability of thoracic aorta in model group were significantly higher than those in normal group ( $P<0.05$ ), while fatty acid oxidation gene mRNA level and IRS-1, PI3K, Akt protein level in liver were significantly decreased in model group ( $P<0.05$ ). The vascular wall thickness of thoracic aorta increased significantly in rats ( $P<0.05$ ). Compared with model group, the levels of fasting blood glucose, glycosylated hemoglobin, serum TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , TC, TG and LDL-C, the level of lipid synthesis gene mRNA in liver and the migration ability of vascular smooth muscle cells in thoracic aorta of rats in all Baihutang groups were significantly lower than those in model group ( $P<0.05$ ). The mRNA level of fatty acid oxidation gene and the protein levels of IRS-1, PI3K and Akt in liver were significantly increased( $P<0.05$ ), and the histopathology of thoracic aorta was significantly improved and the vascular wall thickness decreased significantly( $P<0.05$ ). **Conclusion:** Baihutang can reduce the levels of blood glucose, blood lipid and serum inflammatory factors in type 2 diabetic rats, regulate the expression of genes related to lipid metabolism in liver, and improve the histopathology and vascular remodeling of thoracic aorta. The mechanism may be related to the regulation of IRS-1/PI3K/Akt signal pathway.

**[Key words]** Baihutang; type 2 diabetes mellitus; insulin receptor substrate-1 (IRS-1)/phosphatidylinositol-3 kinase(PI3K)/protein kinase B(Akt) signaling pathway; vascular remodeling

2型糖尿病是由于患者体内胰岛素水平相对缺乏造成的糖代谢障碍疾病,其发病机制与遗传因素、年龄因素及生活方式等多种因素密切相关。随着人们生活水平的提高及饮食结构的改变,近年来2型糖尿病患者的数量不断上升。血糖长期处于异常水平是糖尿病疾病进展及一系列相关并发症出现的重要因素,同时,由糖尿病引发的血脂异常及血管重构,也是引发心脑血管疾病的重要因素<sup>[1-3]</sup>。临床中广泛使用双胍类、噻唑烷二酮类等多种降血

糖药物对糖尿病进行治疗,但低血糖、药物相关性肾损伤等多种不良反应的发生率较高,所以对于抗糖尿病药物的研发仍是目前的工作重点。胰岛素相关的信号转导通路是与机体维持葡萄糖吸收利用等正常生理功能相关的途径,在改善机体血糖、血脂代谢及机体对葡萄糖代谢转化等方面起关键作用,其中胰岛素受体底物-1(IRS-1)/磷脂酰肌醇-3激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)信号通路是胰岛素调节血糖平衡的关键途径,胰岛素受体活化后会与

IRS-1结合,激活下游糖代谢相关蛋白,PI3K/Akt通路异常表达则会引机体糖代谢障碍,所以IRS-1/PI3K/Akt通路与糖尿病及其并发症的发病机制存在紧密关系<sup>[4-6]</sup>。白虎汤出自《伤寒论》,是记载于多部中国传统医学著作中的重要成方制剂,中医理论认为其具有清热生津的作用,既往用于治疗壮热面赤,烦渴多饮等疾病。现代医学研究发现白虎汤具有抗感染、抗肿瘤及抗阿尔茨海默病等多种药理作用<sup>[7-8]</sup>,研究表明白虎汤对于糖尿病具有一定的药理活性,并能够调节血糖、血脂代谢,且在临床研究中已表现出显著疗效<sup>[9-10]</sup>,但其在IRS-1/PI3K/Akt信号通路及血管重构的药理作用未见明确报道。本文首次研究白虎汤对糖尿病大鼠血糖、血脂代谢,血管重构及其体内IRS-1/PI3K/Akt信号通路的影响,为白虎汤的药理作用研究提供参考。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF级雄性SD大鼠90只,8周龄,体重(200±20)g,购自首都医科大学实验动物中心,动物房温度(22±2)℃,湿度(50±10)%。动物实验设计严格经过首都医科大学伦理委员会审查,动物伦理审批号IACUC201806。

**1.2 药物** 白虎汤由石膏30g,知母9g,粳米9g,炙甘草3g组成,均为中药配方颗粒,购自江苏省江阴天江药业有限公司,批号分别为201806102,201808081,201806132,201807053,将所有配方颗粒混匀后加入蒸馏水分别配置成0.5,1,2g·mL<sup>-1</sup>的混悬液;二甲双胍(中美上海施贵宝制药有限公司,批号201802122);链脲佐菌素(STZ,美国Sigma公司,批号S0130);辣根过氧化物酶(HRP)标记山羊抗兔免疫球蛋白(Ig)G,IRS-1,PI3K,Akt及甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体,RIPA蛋白裂解液,超敏ECL化学发光试剂盒,大鼠肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ),白细胞介素(IL)-6,IL-1 $\beta$ 酶联免疫吸附测定(ELISA)检测试剂盒(上海碧云天生物科技有限公司,批号分别为A0208,AF2587,AF1549,AF1777,AF1186,P0013B,P0018FM,PT516,PI328,PI303);糖化血红蛋白ELISA检测试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号201811201);trizol试剂(爱必信生物科技有限公司,批号abs9331);实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)试剂盒(武汉纯度生物科技有限公司,批号CDLG-4289);苏木素-伊红(HE)染色液(金克隆生物技术有限公司,批号RS3390)。

**1.3 仪器** CMax Plus型酶标仪(上海美谷分子仪

器有限公司);DL600C型双垂直电泳仪(北京金时速仪器设备公司);DYCZ型转印电泳仪(济南欧莱博科学仪器有限公司);Gel Doc EZ型凝胶成像仪(上海伯乐生命医学产品有限公司);BK-400型全自动生化分析仪(山东博科科学仪器有限公司);S700A轮转式石蜡切片机(深圳市瑞沃德生命科技有限公司);Tarzan 96型梯度PCR仪(莫纳生物科技有限公司)。

## 2 方法

**2.1 造模、分组及给药** 大鼠按体质量随机分为正常组、模型组、白虎汤低、中、高剂量组及二甲双胍组,15只/组,除正常组外,其余大鼠建立糖尿病大鼠模型<sup>[11]</sup>。具体方法:给予大鼠高脂饲料喂养4周后,根据大鼠体质量,按照25mg·kg<sup>-1</sup>腹腔注射1%的STZ,1周后按照40mg·kg<sup>-1</sup>再次腹腔注射给予大鼠1%的STZ,常规喂养3d后自尾静脉采血,连续3d血糖浓度均>16.7mmol·L<sup>-1</sup>以及尿糖>300mg·dL<sup>-1</sup>视为造模成功。白虎汤低、中、高剂量组按照5,10,20g·kg<sup>-1</sup>的剂量灌胃白虎汤溶液<sup>[12]</sup>,二甲双胍组灌胃给予大鼠二甲双胍(100mg·kg<sup>-1</sup>)<sup>[13]</sup>,正常组及模型组给予等体积生理盐水,1次/d,连续灌胃12周<sup>[13]</sup>。最后1次给药24h后,各组大鼠禁食不禁水12h,利用血糖仪通过大鼠尾静脉取血检测各组大鼠空腹血糖水平(FBG)。

**2.2 ELISA检测糖化血红蛋白水平及血清TNF- $\alpha$ ,IL-6及IL-1 $\beta$ 含量** 大鼠眼眶后静脉丛取血至肝素润洗过的离心管中,按照糖化血红蛋白ELISA试剂盒说明书检测大鼠糖化血红蛋白水平。采用眼眶后静脉丛取血的方法取血清,按照试剂盒说明书采用ELISA检测TNF- $\alpha$ ,IL-6及IL-1 $\beta$ 水平。

**2.3 全自动生化分析仪检测血清TC,TG及LDL-C含量** 大鼠麻醉后腹主动脉取血,提取血清,用全自动生化分析仪测定血清TC,TG,LDL-C水平。

**2.4 Real-time PCR检测肝脏脂质代谢相关基因mRNA表达** 分离大鼠肝脏组织,取组织100mg,研磨后加入trizol 1mL进行匀浆,依次经过相分离,RNA沉淀,RNA洗涤,RNA再溶解后,测定浓度并进行RNA鉴定,将总RNA逆转录成cDNA,以GAPDH为内参,检测肝脏组织脂质合成基因固醇调节元件结合蛋白1C(SREBP1C),乙酰CoA羧化酶(ACC),脂肪酸合成酶基因(FASN),脂肪酸氧化基因肉毒碱棕榈酰基转移酶1A(CPT1A),酰基辅酶A氧化酶1(ACOX1),重组人中链酰基辅酶A脱氢酶(ACADM)mRNA水平。PCR反应体系20 $\mu$ L,

扩增条件为 95 °C 预变性 5 min, 95 °C 变性 10 s, 58 °C 退火 15 s, 72 °C 延伸 10 s, 重复 40 个循环, 9 °C 变性 10 s, 65 °C 延伸 60 s, 97 °C 灭活, 40 °C 冷却 40 s。结果采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法表示各 mRNA 相对表达量。PCR 引物由赛百慷生物技术股份有限公司设计及合成, 引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Sequence primers

引物	序列(5'-3')	长度/bp
SREBP1C	上游 TTAGAGCGAGCACTGAAC	126
	下游 TGGAAGTATGGAGAAGC	
ACC	上游 GCAAGCTGCTCAGGAATAAAG	79
	下游 GCTGGAGGGCTCAAAATGGT	
FASN	上游 TGGAAGTCACCTATGAAGCCA	173
	下游 ACGAGTGTCTCGGGGTCTC	
CPT1A	上游 AGACCCTCATAGCCGCCTAC	148
	下游 TTGGACCTATTGAGCCAGGTG	
ACOX1	上游 GGGACCCATAAGCCTTTGCC	205
	下游 CTTGTTACTACGCGTTTCACG	
ACADM	上游 GCGAGGATGGCAGTCAACA	189
	下游 AGGGGGTGGGCTTCCTTAGT	
GAPDH	上游 TGGACCTGACCTGCCGTCTAG	178
	下游 GTGGGTGTCGCTGTTGAAGTC	

**2.5 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠肝脏组织中 IRS-1, PI3K, Akt 蛋白表达** 取各组大鼠肝组织匀浆液, 4 °C, 12 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 离心半径 15 cm。离心后 BCA 法测定蛋白浓度, 取蛋白 50 μg 进行电泳分离, 经转膜、封闭, IRS-1, PI3K, Akt 及 GAPDH 抗体(1:1 000)4 °C 孵育过夜。磷酸盐聚山梨酯缓冲液(PBST)洗膜后, 山羊抗兔 IgG 二抗(1:2 000)室温孵育 1 h, PBST 再次清洗 3 次, 凝胶成像仪成像后, 使用 Image J v1.8.0 软件定量分析, 计算各蛋白表达量。

**2.6 HE 染色观察大鼠胸主动脉组织病理学变化** 取大鼠胸主动脉血管组织, 石蜡包埋后依次进行脱水、浸蜡、包埋, 5 μm 切片, 然后进行 HE 染色, 显微镜下观察并采集图像。

**2.7 划痕实验检测胸主动脉血管平滑肌细胞迁移能力** 参照文献[14]方法进行大鼠胸主动脉血管平滑肌细胞原代培养, 取各组对数生长期的细胞, 将细胞密度调整为 1×10<sup>4</sup> 个/孔, 接种于 6 孔细胞培养板上, 在培养箱中培养 24 h 后弃去上清液, 加入新鲜培养基, 将各组细胞接种于 Matrigel 基质胶包

被的 96 孔板上, 常规培养至形成单层细胞, 用无菌 10 μL 移液枪枪头沿培养板底部在单层细胞上做划痕, 保证划痕笔直, 在显微镜下记录划痕相对距离, 继续培养 24 h, 记录 24 h 后划痕相对距离, 统计细胞迁移距离, 按公式计算细胞迁移率。细胞迁移率=(0 h 划痕相对距离-24 h 划痕相对距离)/0 h 划痕相对距离×100%。

**2.8 统计学分析** 应用 SPSS 20.0 统计学软件进行数据分析, 所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用最小显著性差异法(LSD)检验,  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对 2 型糖尿病大鼠血糖的影响** 与正常组比较, 模型组大鼠空腹血糖及糖化血红蛋白水平均明显升高( $P < 0.05$ ), 提示造模成功; 与模型组比较, 白虎汤低、中、高剂量组及二甲双胍组大鼠空腹血糖及糖化血红蛋白水平均明显降低( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 白虎汤对大鼠空腹血糖、糖化血红蛋白水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=15$ )

Table 2 Effect of Baihutang on fasting blood sugar and glycosylated hemoglobin levels in rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=15$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	空腹血糖 /mmol·L <sup>-1</sup>	糖化血红蛋白/%
正常		4.75±0.68	6.07±1.03
模型		17.28±1.41 <sup>1)</sup>	17.83±0.47 <sup>1)</sup>
白虎汤	5	9.94±1.35 <sup>1,2)</sup>	13.01±0.86 <sup>1,2)</sup>
	10	6.86±0.73 <sup>1,2)</sup>	10.73±1.04 <sup>1,2)</sup>
	20	5.18±0.91 <sup>2)</sup>	8.11±1.50 <sup>1,2)</sup>
二甲双胍	0.1	4.98±0.43 <sup>2)</sup>	6.79±0.55 <sup>2)</sup>

注: 与正常组比较 <sup>1)</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较 <sup>2)</sup> $P < 0.05$ (表 3~8 同)。

**3.2 对 2 型糖尿病大鼠血清 TC, TG 及 LDL-C 水平的影响** 与正常组比较, 模型组糖尿病大鼠血清 TC, TG 及 LDL-C 水平均明显升高( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 白虎汤低、中、高剂量组及二甲双胍组大鼠血清 TC, TG 及 LDL-C 水平均明显降低( $P < 0.05$ )。见表 3。

**3.3 对 2 型糖尿病大鼠血清炎症因子水平的影响** 与正常组比较, 模型组 2 型糖尿病大鼠血清 TNF- $\alpha$ , IL-6 及 IL-1 $\beta$  等炎症因子水平明显升高( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 白虎汤低、中、高剂量组大鼠及二甲双胍组大鼠血清 TNF- $\alpha$ , IL-6 及 IL-1 $\beta$  炎症因子水平明显降低( $P < 0.05$ )。见表 4。

表3 白虎汤对大鼠血清TC, TG及LDL-C水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=15$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	TC	TG	LDL-C
正常		8.22±1.34	5.43±0.38	1.57±0.61
模型		15.91±1.66 <sup>1)</sup>	9.42±0.46 <sup>1)</sup>	11.31±1.76 <sup>1)</sup>
白虎汤	5	11.49±1.33 <sup>1,2)</sup>	7.06±0.19 <sup>1,2)</sup>	8.04±1.08 <sup>1,2)</sup>
	10	9.61±1.27 <sup>1,2)</sup>	6.74±0.28 <sup>1,2)</sup>	4.76±1.66 <sup>1,2)</sup>
	20	8.57±1.76 <sup>2)</sup>	5.77±0.11 <sup>2)</sup>	1.87±1.13 <sup>2)</sup>
二甲双胍	0.1	10.19±1.84 <sup>2)</sup>	6.13±0.53 <sup>2)</sup>	2.43±0.96 <sup>2)</sup>

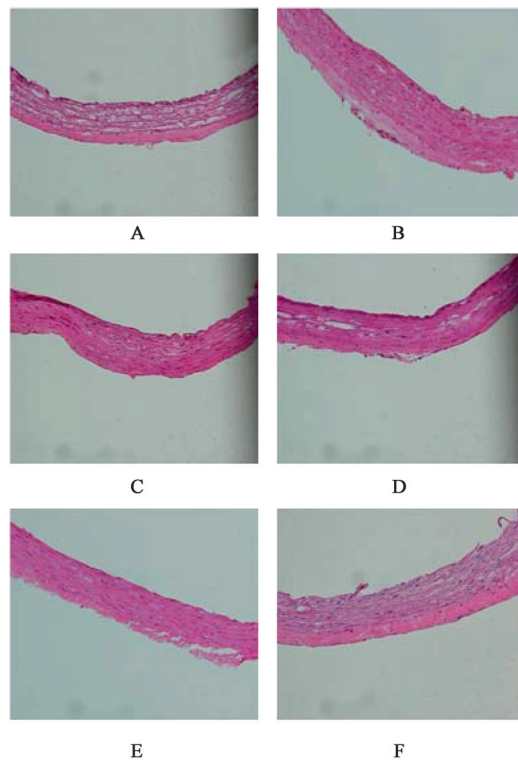
表4 白虎汤对大鼠血清TNF-α, IL-6及IL-1β等炎症因子水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=15$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	TNF-α	IL-6	IL-1β
正常		13.44±1.26	36.88±1.34	19.02±2.04
模型		37.19±1.64 <sup>1)</sup>	128.11±1.18 <sup>1)</sup>	58.07±1.74 <sup>1)</sup>
白虎汤	5	21.36±2.01 <sup>1,2)</sup>	76.22±1.06 <sup>1,2)</sup>	40.51±1.17 <sup>1,2)</sup>
	10	17.01±1.13 <sup>1,2)</sup>	57.41±1.16 <sup>1,2)</sup>	33.16±1.57 <sup>1,2)</sup>
	20	13.83±1.81 <sup>2)</sup>	38.56±2.11 <sup>2)</sup>	20.94±1.88 <sup>2)</sup>
二甲双胍	0.1	13.94±1.64 <sup>2)</sup>	40.18±1.81 <sup>2)</sup>	24.11±2.09 <sup>2)</sup>

3.4 对2型糖尿病大鼠胸主动脉组织病理学的影响 与正常组比较,模型组大鼠胸主动脉血管壁明显增厚( $P<0.05$ ),血管平滑肌细胞排列紊乱,可见内皮细胞脱落、泡沫细胞聚集及明显炎性浸润;与模型组比较,白虎汤低、中、高剂量组及二甲双胍组大鼠胸主动脉血管壁厚度明显降低( $P<0.05$ ),血管平滑肌细胞排列较整齐,少见血管平滑肌细胞脱落,平滑肌细胞炎性浸润及泡沫细胞聚集状态有所好转,白虎汤高剂量组大鼠血管平滑肌细胞排列整齐,偶见血管平滑肌细胞脱落及炎性浸润。见图1,表5。

3.5 对2型糖尿病大鼠血管平滑肌细胞迁移的影响 与正常组比较,模型组大鼠血管平滑肌细胞迁移率明显增加,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与模型组比较,白虎汤低、中、高剂量组及二甲双胍组大鼠血管平滑肌细胞迁移率明显降低( $P<0.05$ )。见表6,图2。

3.6 对2型糖尿病大鼠脂质代谢基因的影响 与正常组比较,模型组大鼠脂质合成基因(SREBP1C, ACC, FASN)mRNA水平明显升高( $P<0.05$ ),脂肪酸氧化基因(CPT1A, ACOX1, ACADM)mRNA水平明显降低( $P<0.05$ );与模型组比较,白虎汤低、中、高剂量组及二甲双胍组大鼠脂质合成基因(SREBP1C, ACC, FASN)mRNA水平明显降低( $P<0.05$ ),脂肪酸氧化基因(CPT1A, ACOX1,



A. 正常组; B. 模型组; C. 白虎汤低剂量组; D. 白虎汤中剂量组; E. 白虎汤高剂量组; F. 二甲双胍组(图2, 3同)

图1 白虎汤对大鼠胸主动脉组织病理学的影响 (HE, ×100)  
Fig. 1 Effect of Baihutang on histopathology of thoracic aorta in rats (HE, ×100)

ACADM) mRNA水平明显升高( $P<0.05$ )。见表7。

表5 白虎汤对大鼠胸主动脉血管壁厚度的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=15$ )

Table 5 Effect of Baihutang on vascular wall thickness of thoracic aorta in rats ( $\bar{x}\pm s, n=15$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	血管壁厚度/μm
正常		72.00±6.58
模型		126.33±11.50 <sup>1)</sup>
白虎汤	5	106.67±9.07 <sup>2)</sup>
	10	91.34±6.03 <sup>2)</sup>
	20	81.66±4.04 <sup>2)</sup>
二甲双胍	0.1	85.19±2.55 <sup>2)</sup>

表6 白虎汤对大鼠血管平滑肌细胞迁移率的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=15$ )

Table 6 Effect of Baihutang on migration of vascular smooth muscle cells in rats ( $\bar{x}\pm s, n=15$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	细胞迁移率/%
正常		42.33±8.08
模型		75.67±4.51 <sup>1)</sup>
白虎汤	5	66.33±3.03 <sup>2)</sup>
	10	53.48±2.52 <sup>2)</sup>
	20	44.37±2.71 <sup>2)</sup>
二甲双胍	0.1	52.76±4.32 <sup>2)</sup>

3.7 对2型糖尿病大鼠肝脏IRS-1, PI3K及Akt蛋白表达的影响 与正常组比较, 模型组大鼠肝脏IRS-1, PI3K, Akt蛋白水平明显降低( $P<0.05$ ); 与模型组比较, 白虎汤低、中、高剂量组及二甲双胍组大

鼠肝脏IRS-1, PI3K, Akt蛋白水平均明显升高( $P<0.05$ )。见表8, 图3。

#### 4 讨论

糖尿病是一种以高血糖为主要临床特征的代谢性疾病, 其发病机制可能与人口老龄化、肥胖、遗传因素、社会城市化进程等多种因素密切相关<sup>[15-16]</sup>。糖尿病患者长期血糖控制不佳时, 会出现眼、肾、心脏、血管、神经等多组织器官的功能损害, 进而发展为冠心病、糖尿病肾病、视网膜病变、糖尿病足等多种并发症。临床研究表明<sup>[17-18]</sup>, 糖尿病患者长期血糖紊乱会引发血脂代谢异常, 进而导致血管长期处于炎症状态, 并引起以血管壁增厚, 管腔狭窄等为主要表现的血管重构。

IRS-1/PI3K/Akt信号通路在胰岛素信号转导、激活及糖代谢过程中发挥着重要作用, 严重者引起大脑葡萄糖代谢异常, 诱发认知功能障碍及胰岛素抵抗等多种疾病。IRS-1在体内以磷酸化的形式被激活后与下游受体蛋白相互作用, 并能够使其下游的PI3K活化, PI3K被激活后进一步活化Akt, Akt活化后能够进一步激活下游蛋白, 促进细胞内能量代谢, 增加体内葡萄糖消耗, 促进脂肪酸氧化代谢, 抑制肝脏脂质的合成; IRS-1蛋白的激活也能够促进胰岛素的活化, 调节机体糖异生过程, 抑制体内非糖物质向葡萄糖的转化。近年来研究表明, 血糖、

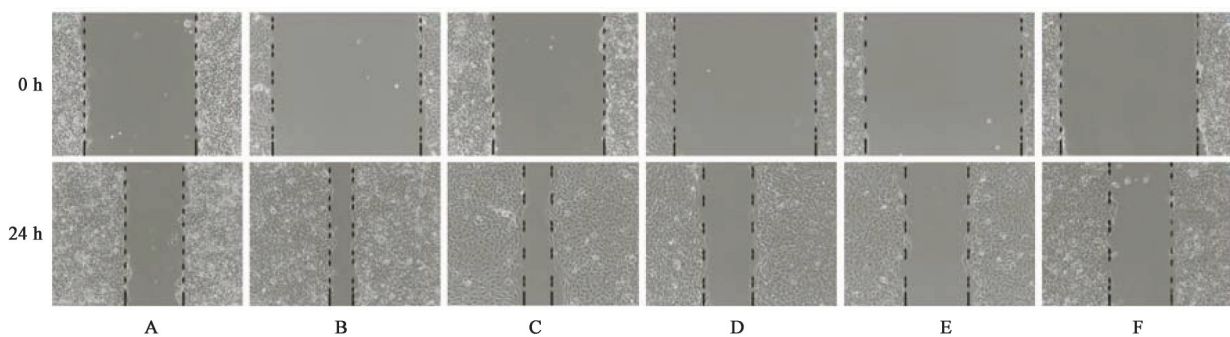


图2 白虎汤对大鼠血管平滑肌细胞迁移率的影响 (倒置显微镜, ×200)

Fig. 2 Effect of Baihutang on migration rate of rat vascular smooth muscle cells (inverted microscope, ×200)

表7 白虎汤大鼠脂质代谢相关基因mRNA水平的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=15$ )

Table 7 Effect of Baihutang on level of mRNA related to lipid metabolism in rats ( $\bar{x}\pm s, n=15$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	SREBP1C	ACC	FASN	CPT1A	ACOX1	ACADM
正常		0.45±0.07	0.54±0.06	0.42±0.06	4.40±0.52	3.39±0.21	2.45±0.50
模型		0.92±0.03 <sup>1)</sup>	1.13±0.09 <sup>1)</sup>	1.00±0.04 <sup>1)</sup>	0.47±0.08 <sup>1)</sup>	0.43±0.09 <sup>1)</sup>	0.41±0.03 <sup>1)</sup>
白虎汤	5	0.82±0.05 <sup>2)</sup>	0.86±0.04 <sup>2)</sup>	0.83±0.03 <sup>2)</sup>	0.77±0.09 <sup>2)</sup>	0.90±0.10 <sup>2)</sup>	0.78±0.02 <sup>2)</sup>
	10	0.71±0.03 <sup>2)</sup>	0.73±0.02 <sup>2)</sup>	0.73±0.05 <sup>2)</sup>	1.18±0.24 <sup>2)</sup>	1.77±0.12 <sup>2)</sup>	0.97±0.11 <sup>2)</sup>
	20	0.56±0.06 <sup>2)</sup>	0.65±0.04 <sup>2)</sup>	0.62±0.03 <sup>2)</sup>	2.82±0.28 <sup>2)</sup>	2.23±0.44 <sup>2)</sup>	1.56±0.22 <sup>2)</sup>
二甲双胍	0.1	0.75±0.04 <sup>2)</sup>	0.69±0.07 <sup>2)</sup>	0.65±0.07 <sup>2)</sup>	1.80±0.29 <sup>2)</sup>	1.95±0.06 <sup>2)</sup>	1.16±0.31 <sup>2)</sup>

表8 白虎汤对大鼠肝脏 IRS-1, PI3K, Akt 蛋白表达水平的影响  
( $\bar{x} \pm s, n=15$ )

Table 8 Effect of Baihutang on protein expression of IRS-1, PI3K and Akt in rat liver ( $\bar{x} \pm s, n=15$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	IRS-1 /GAPDH	PI3K /GAPDH	Akt /GAPDH
正常		1.10±0.17	0.93±0.07	1.09±0.12
模型		0.41±0.04 <sup>1)</sup>	0.42±0.03 <sup>1)</sup>	0.27±0.05 <sup>1)</sup>
白虎汤	5	0.54±0.12 <sup>2)</sup>	0.49±0.02 <sup>2)</sup>	0.52±0.06 <sup>2)</sup>
	10	0.66±0.07 <sup>2)</sup>	0.64±0.06 <sup>2)</sup>	0.67±0.08 <sup>2)</sup>
	20	0.84±0.06 <sup>2)</sup>	0.81±0.05 <sup>2)</sup>	0.87±0.03 <sup>2)</sup>
二甲双胍	0.1	0.80±0.04 <sup>2)</sup>	0.78±0.05 <sup>2)</sup>	0.83±0.09 <sup>2)</sup>

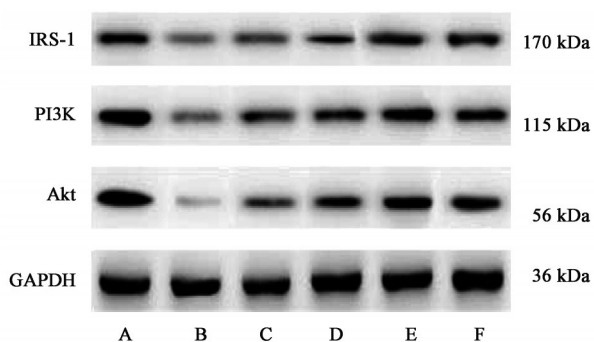


图3 大鼠肝脏 IRS-1, PI3K, Akt 蛋白表达电泳

Fig. 3 Electrophoresis of IRS-1, PI3K and Akt protein expression in liver of rats

血脂水平异常能够加速糖尿病的进展,并诱发血管重构及炎症损伤等病理性变化,因此通过调节 IRS-1/PI3K/Akt 信号通路能够间接改善血管炎症损伤,抑制血管重构<sup>[4-6]</sup>。

白虎汤是由中国传统药材组成的成方制剂,最早记载于中国经典医学著作《伤寒论》,具有清热生津的功效。方中知母性苦寒,有清热泻火,滋阴润燥之功效,为君药;石膏味甘,性大寒,归肺、胃经,有清热止渴之功效,为臣药;炙甘草味甘性平,起清热解毒、补脾益肾之功效,粳米味甘平,补中益气,除烦渴,炙甘草与粳米调和诸药,为使药,诸药合用,起清热消渴,补脾益中之功效。现代研究表明,白虎汤具有解热镇痛、抗炎、免疫抑制、调节血糖等多种药理作用<sup>[9-10]</sup>。李培<sup>[9]</sup>通过临床研究表明,白虎汤联合胰岛素对2型糖尿病患者血糖表现出良好的血糖控制作用,赵保胜等<sup>[10]</sup>研究表明,在白虎汤中加入人参,对2型糖尿病大鼠血糖、血脂及其胰岛素耐量具有很好的改善作用,邹燕等<sup>[19]</sup>研究表明白虎汤能够降低临床2型糖尿病患者的体内炎症因子水平,改善患者炎症状态,游莉等<sup>[20]</sup>研究表明白虎汤能够降低2型糖尿病急性高血糖患者的血糖及细胞

因子水平,改善患者临床症状。

IRS-1/PI3K/Akt 影响着糖尿病大鼠体内血糖、血脂代谢异常,进而会引发血管长期处于炎症状态,血管内皮细胞破裂,血糖血脂随着血流沉积在破损的血管内皮,同时由于 PI3K/Akt 通路异常,则促进受损血管内皮细胞异常增殖,长此以往则导致受损血管发生血管壁增厚等病理性重构。血管病理性重构则又影响着全身血流动力学的改变及炎症因子的聚集,并继续影响机体血糖、血脂代谢,形成恶性循环。本文通过采用腹腔注射 STZ 法建立 2 型糖尿病大鼠模型,研究白虎汤对 2 型糖尿病大鼠血管重构的作用及其对 IRS-1/PI3K/Akt 信号通路的影响。结果表明,与模型组 2 型糖尿病大鼠比较,白虎汤各剂量组大鼠空腹血糖、糖化血红蛋白、血清 TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , TC, TG 及 LDL-C 水平、肝脏脂质合成基因 mRNA 水平均明显降低,肝脏脂肪酸氧化基因 mRNA 水平升高,提示白虎汤能够降低大鼠血糖水平,改善大鼠脂质代谢,降低糖尿病体内炎症因子水平,并促进大鼠体内 IRS-1/PI3K/Akt 信号通路的激活,调节糖代谢,改善糖尿病大鼠体内血糖血脂紊乱;大鼠胸主动脉血管平滑肌细胞迁移能力均明显降低,组织病理学明显改善,且血管壁厚度明显降低,提示白虎汤能够改善 2 型糖尿病大鼠血管重构,抑制糖尿病大鼠血管细胞迁移导致的血管壁增厚及血管重构,改善糖尿病大鼠血管的病理性变化及疾病进展。

综上所述,白虎汤能够降低 2 型糖尿病大鼠血糖、血脂及血清炎症因子水平,调节肝脏脂质代谢相关基因的表达,改善胸主动脉血管组织病理学及血管重构,其机制可能与调节 IRS-1/PI3K/Akt 信号通路有关。

#### [参考文献]

- [1] 刘桢,张翕宇,晁俊,等. 参芪复方对 2 型糖尿病 GK 大鼠胰岛  $\beta$  细胞功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(22): 34-39.
- [2] ZAHARIA O P, STRASSBURGER K, STROM A, et al. Risk of diabetes-associated diseases in subgroups of patients with recent-onset diabetes: a 5-year follow-up study[J]. Lancet Diabetes Endo, 2019, 7(9): 684-694.
- [3] PALLOTTA M T, TASCINI G, CRISPOLDI R, et al. Wolfram syndrome, a rare neurodegenerative disease: from pathogenesis to future treatment perspectives[J]. J Transl Med, 2019, 17(1): 238.

- [ 4 ] FAN Y, HE Z, WANG W, et al. Tangganjian decoction ameliorates type 2 diabetes mellitus and nonalcoholic fatty liver disease in rats by activating the IRS/PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106(4): 733-737.
- [ 5 ] ZHANG Y, XU W, HUANG X, et al. Fucoxanthin ameliorates hyperglycemia, hyperlipidemia and insulin resistance in diabetic mice partially through IRS-1/PI3K/Akt and AMPK pathways [J]. *J Funct Foods*, 2018, 48(2): 515-524.
- [ 6 ] BABU S, KRISHNAN M, RAJAGOPAL P, et al. Beta-sitosterol attenuates insulin resistance in adipose tissue via IRS-1/Akt mediated insulin signaling in high fat diet and sucrose induced type-2 diabetic rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 873(1): 173004.
- [ 7 ] 吕邵娃, 苏红, 郭玉岩, 等. 白虎汤的临床应用及药理作用研究进展 [J]. *河北中医药学报*, 2017, 32(1): 55-59.
- [ 8 ] 吴佳霖, 吕邵娃, 孙亚丽, 等. 白虎汤对不同大鼠发热模型解热机制的研究 [J]. *中南药学*, 2018, 16(4): 492-495.
- [ 9 ] 李培. 白虎汤联合胰岛素治疗 2 型糖尿病急性高血糖 26 例 [J]. *河南中医*, 2014, 34(2): 206-208.
- [ 10 ] 赵保胜, 高晓燕, 刘洋, 等. 人参白虎汤对 2 型糖尿病大鼠血糖、血脂及其胰岛素耐量的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(12): 251-254.
- [ 11 ] 王瑛, 但齐琴, 王庆萍, 等. 人脐带间充质干细胞治疗大鼠糖尿病神经性足溃疡的疗效及 VEGF 表达变化 [J]. *四川大学学报: 医学版*, 2014, 45(1): 29-33.
- [ 12 ] 郑兴珍, 于强, 郑国祥. 白虎汤对全身炎症反应综合征大鼠肺组织损伤的影响及机制探讨 [J]. *山东医药*, 2015, 55(42): 20-22.
- [ 13 ] 黄琦, 廖鑫, 高琳, 等. 二甲双胍对糖尿病大鼠血糖、血脂水平及骨骼肌 GLUT4 表达的影响 [J]. *实用糖尿病杂志*, 2019, 15(5): 33-35.
- [ 14 ] 周玥华, 刘星, 张艳军, 等. 改良的两步复合酶消化法制备大鼠胸主动脉血管平滑肌细胞 [J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27(7): 17-23.
- [ 15 ] URANO F. Wolfram syndrome: diagnosis, management, and treatment [J]. *Curr Diab Rep*, 2016, 16(1): 6.
- [ 16 ] PALUMBO C, NICOLACI N, LA M, et al. Association between central diabetes insipidus and type 2 diabetes mellitus [J]. *Medicina*, 2018, 78(2): 127-130.
- [ 17 ] PUGLIESE G, PENNO G, NATALI A, et al. Diabetic kidney disease: new clinical and therapeutic issues. Joint position statement of the Italian diabetes society and the Italian society of nephrology on "The natural history of diabetic kidney disease and treatment of hyperglycemia in patients with type 2 diabetes and impaired renal function" [J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2019, 29(11): 1127-1150.
- [ 18 ] PARK W G, LI L, APPANA S, et al. Unique circulating immune signatures for recurrent acute pancreatitis, chronic pancreatitis and pancreatic cancer: a pilot study of these conditions with and without diabetes [J]. *Pancreatology*, 2020, 20(1): 51-59.
- [ 19 ] 邹燕, 李莉芳. 白虎汤对 2 型糖尿病患者体内炎症因子的影响 [J]. *山西医药杂志*, 2017, 46(1): 48-50.
- [ 20 ] 游莉, 彭莉, 胡晓琳, 等. 白虎汤联合胰岛素对 2 型糖尿病急性高血糖患者的临床疗效及相关指标的影响 [J]. *中国生化药物杂志*, 2016, 36(6): 118-120.

[责任编辑 孙丛丛]