

实验研究

补肾通脉方对 2 型糖尿病大鼠血清细胞因子及相关激素水平的影响

曾凡鹏* 陆付耳* 杨明炜* 王开富* 徐丽君*

摘要 目的:探讨补肾通脉方对 2 型糖尿病(DM)大鼠炎性细胞因子及相关激素水平的影响。方法:采用小剂量链脲佐菌素(STZ)加高热量饲养方法建立 Wistar 大鼠 2 型 DM 模型,并随机分为模型组、中药组及西药组,另设正常组;以葡萄糖氧化酶法检测空腹血糖(FBG),采用放射免疫测定法检测各组大鼠血清胰岛素(INS)、白介素 1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、胰高血糖素(Glu)和胰岛素样生长因子 1(IGF-1)水平。结果:与模型组比较,中药组大鼠 FBG、INS 均显著降低($P<0.05$, $P<0.01$),而胰岛素敏感指数(ISI)增加($P<0.05$);血清 IL-1 β 、TNF- α 显著降低(P 均 <0.05),Glu 也明显降低($P<0.05$),而 IGF-1 水平则显著提高($P<0.01$)。结论:补肾通脉方能降低 2 型糖尿病大鼠炎性细胞因子 TNF- α 和 IL-1 β 水平,调整糖代谢激素 Glu 和 IGF-1 的平衡,并可能是其降低空腹血糖和高胰岛素血症、改善胰岛素抵抗的部分作用机制。

主题词 糖尿病,非胰岛素依赖型/中医药疗法 激素类/代谢 @ 补肾通脉方

我们曾报道,用于临床治疗 2 型糖尿病(DM)的有效经验方即补肾通脉方能显著改善大鼠胰岛素抵抗(IR)^[1]。为进一步探讨补肾通脉方改善 IR 的作用机制,本实验以链脲佐菌素(STZ)加高热量饮食诱发 2 型糖尿病大鼠为模型^[2],观察补肾通脉方对模型大鼠血清炎性细胞因子肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和白细胞介素 1 β (IL-1 β)以及糖代谢相关激素胰高血糖素(Glu)和胰岛素样生长因子 1(IGF-1)的影响。

1 材料

1.1 实验动物:清洁级雄性 Wistar 大鼠 50 只,体重 160~180g,由同济医学院实验医学动物中心提供;基础饲料亦购自该中心,高脂高热量饲料由基础饲料加蔗糖、炼猪油等混合而成,使其总热量为 4.5 Cal/g(含蛋白质 13%,碳水化合物 50.64%,脂肪 17.63%)。

1.2 药物及试剂:补肾通脉方由何首乌 20g,肉苁蓉 15g,葛根 20g,生地黄 20g,黄芪 30g,丹参 20g,川芎

10g 组成等。按水煎醇沉的工艺路线提取浸膏,由同济医学院中西医结合研究所制备,浓度为 100%(1g 生药/ml);STZ 为 Sigma 公司产品,临用时以 0.1mmol/L pH 4.4 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液配成 2% STZ 溶液。

1.3 主要仪器:SN-682 型放射免疫 γ 计数仪,由上海核福光电仪器有限公司生产;ELX800 全自动酶标仪,由美国 Bio-Tek Instruments Inc 生产。

2 方法

2.1 动物造模及分组:除正常组大鼠不予处理外,其余大鼠尾静脉注射 STZ 30mg/kg,两周后选取非空腹血糖 >10.0 mmol/L 者 30 只作为研究对象,喂以高脂高热量饲料,并随机分为模型组、中药组(补肾通脉方)和西药组(二甲双胍),另设正常组喂以基础饲料。中药组和西药组每天分别灌服补肾通脉方浸膏(12.25g/kg 体重)和二甲双胍(4.17mg/kg 体重),模型组灌服等容量蒸馏水,连续治疗 8 周。末次给药后禁食 12h,并在苯巴比妥钠麻醉下经腹主动脉插管抽血 4~6ml,取 4ml 非抗凝血离心后吸取血清检测各项指标。

2.2 检测指标及方法:空腹血糖(FBG)以葡萄糖氧化酶法测定;血清胰岛素(INS)、TNF- α 、IL-1 β 、Glu 和 IGF-1 水平,分别在同济医院核医学科按相关试剂盒操作说明书采用放射免疫分析技术进行检测(试剂盒购自北京北方生物技术研究所);胰岛素敏感指数(ISI)按李光伟等报道的方法计算^[3]。

2.3 统计学方法:数据均以均数 $\pm$ 标准差表示,组间比较用方差分析进行显著性检验。

3 结果

3.1 补肾通脉方对 2 型 DM 大鼠血糖、胰岛素及胰岛

表 1 各组大鼠血清 FBG、INS 及 ISI 的变化比较($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	FBG(mmol/L)	INS(mU/L)	ISI
正常组	10	4.95 $\pm$ 0.73	10.26 $\pm$ 2.99	-3.92 $\pm$ 0.34
模型组	10	8.28 $\pm$ 2.44**	34.38 $\pm$ 10.76**	-5.57 $\pm$ 0.48**
中药组	10	7.32 $\pm$ 1.57**	22.70 $\pm$ 8.18**	-5.02 $\pm$ 0.49**
西药组	10	6.38 $\pm$ 1.60**	27.31 $\pm$ 9.34**	-5.07 $\pm$ 0.44**

与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$ 。下表同

基金项目:教育部回国博士基金资助课题(教外司留 1998-679 号)

* 华中科技大学同济医学院附属同济医院中西医结合研究所,武汉市解放大道 1095 号(430030)

收稿日期:2002-08-19;修回日期:2002-10-08

表2 各组大鼠血清细胞因子和相关激素变化比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	TNF- α (ng/ml)	IL-1 β (ng/ml)	Glu(pg/ml)	IGF-1(pg/ml)
正常组	10	2.308 $\pm$ 0.101	0.198 $\pm$ 0.179	207.405 $\pm$ 6.690	11.394 $\pm$ 1.401
模型组	10	2.819 $\pm$ 0.091*	0.261 $\pm$ 0.025*	277.045 $\pm$ 11.414**	8.379 $\pm$ 0.315**
中药组	10	2.435 $\pm$ 0.115 Δ	0.193 $\pm$ 0.024 Δ	236.584 $\pm$ 11.974 Δ	9.417 $\pm$ 0.666 Δ Δ
西药组	10	2.430 $\pm$ 0.089 Δ	0.200 $\pm$ 0.018 Δ	209.227 $\pm$ 12.222 Δ Δ	10.610 $\pm$ 1.322 Δ Δ

素敏感性的影响:表1示,模型组FBG、INS均显著高于正常对照组($P < 0.01$),ISI显著下降($P < 0.01$);中药组及二甲双胍组FBG、INS尽管也不同程度地高于正常组($P < 0.05$, $P < 0.01$),但与模型组比均显著下降($P < 0.05$, $P < 0.01$),ISI显著升高($P < 0.05$)。

3.2 补肾通脉方对血清炎性细胞因子的影响:表2示,与正常组比较,模型组血清TNF- α 、IL-1明显升高($P < 0.05$);而中药组和西药组TNF- α 、IL-1 β 均显著低于模型组($P < 0.05$)。

3.3 补肾通脉方对血清糖代谢相关激素的影响:表2示,模型组大鼠血清Glu显著高于正常组($P < 0.01$);与模型组比较,中药组和西药组大鼠血清Glu显著下降($P < 0.05$, $P < 0.01$),后者接近正常水平。模型组IGF-1显著低于正常组($P < 0.01$),而在中药组和西药组血清IGF-1水平接近正常。

4 讨论

近年研究证实,2型DM病理过程中炎性细胞因子活性升高,并在多方面参与胰岛素抵抗的形成和胰岛 β 细胞的损伤。TNF- α 和IL-1 β 对胰岛 β 细胞的功能有直接的抑制作用甚至为细胞毒作用^[1],并可能通过一氧化氮而介导胰岛 β 细胞的损害^[2];此外,TNF- α 还可通过下述途径参与胰岛素抵抗:(1)抑制葡萄糖转运蛋白4(Glut4)的合成,直接影响靶组织对葡萄糖的利用;(2)刺激胰岛素受体底物-1(IRS-1)丝氨酸残基磷酸化,而抑制其酪氨酸残基磷酸化,从而减弱胰岛素信号的传导,降低靶组织对胰岛素的敏感性^[3]。本研究显示,2型DM大鼠血清TNF- α 和IL-1 β 水平均显著升高,而经补肾通脉方干预后可下降。提示补肾通脉方可能通过降低2型DM大鼠TNF- α 和IL-1 β 等炎性细胞因子水平,减轻炎性细胞因子对胰岛 β 细胞的损伤,改善炎性细胞因子引起的胰岛素受体后信号传导的障碍,从而增强2型DM大鼠对胰岛素的敏感性。

大量证据表明,DM是双激素病,即其发病不仅是胰岛素的相对或绝对不足,而且与胰岛素拮抗激素如胰高血糖素、生长激素等的过度分泌有密切关系。Glu水平的升高可提高细胞内cAMP的水平,激活蛋白激酶A(PKA),造成胰岛素受体 β 亚基丝氨酸和苏氨酸残基的磷酸化,降低受体酪氨酸激酶的活性,使胰岛素

受体信号传导效应下降,形成胰岛素抵抗^[6]。本研究表明,2型DM大鼠外周血具升高血糖效应的Glu显著升高,而能改善外周组织葡萄糖利用、降低血糖效应的IGF-1则明显降低,提示以小剂量STZ诱导加高脂肪高热量饮食喂养方法建立的2型DM大鼠存在明显的糖代谢相关激素的平衡紊乱;经补肾通脉方干预后,其Glu水平显著降低,IGF-1显著升高,使之恢复至接近正常的水平。有报道,以黄芪、生地黄等组成的中药复方可有效降低DM及正常大鼠空腹血糖水平,抑制胰腺及胰外组织分泌胰高血糖素^[7]。IGF-1具有类似胰岛素促进物质代谢的作用,能促进脂肪、蛋白质和糖原合成,促进外周组织摄取和利用葡萄糖。IGF-1的升高有利于降低血糖,解除高糖对 β 细胞的抑制。前已报道补肾通脉方能同时显著降低2型DM大鼠血糖和血清胰岛素水平,提高胰岛素敏感性^[3],提示其改善胰岛素抵抗的机理,不是通过增加胰岛素分泌,而是通过下调胰岛素拮抗激素Glu、通过增强IGF-1的表达而改善外周组织对胰岛素的抵抗而实现的。

总之,本研究提示,补肾通脉方对胰岛素抵抗的改善,可能主要在于通过降低对胰岛 β 细胞具毒性作用的炎性细胞因子如TNF- α 和IL-1 β 等,降低血清胰高血糖素,升高血清胰岛素样生长因子-1,从而实现其治疗2型DM的药理作用。

参考文献

- 1 陆付耳,杨明伟,邹欣,等. 补肾通脉方对2型糖尿病大鼠胰岛素抵抗的影响. 华中科技大学学报(医学版),2002,31(1):73-74.
- 2 刘永玉,毛良,莫启忠. 实验性NIDDM大鼠模型. 中华内分泌代谢杂志,1990,6(2):115-116.
- 3 李光伟,潘孝仁, Lillioja S, 等. 检测人群胰岛素敏感性的一项新指数. 中华内科杂志,1993,32(10):656-657.
- 4 Hube F, Hauner H. The role of TNF-alpha in human adipose tissue: prevention of weight gain at the expense of insulin resistance? Horm Metab Res,1999,31(12):626-631.
- 5 Corbett JA, Medaniel M. Does nitric oxide mediate autoimmune destruction of β -cell? Possible therapeutic interventions in IDDM. Diabetes,1992,41:897-903.
- 6 Chin JE, Dicken M, Tavaré JM, et al. Overexpression of protein kinase C isoenzymes α , β , γ and ϵ in cells overexpressing the insulin receptor. J Biol Chem,1993,268:6338-6347.
- 7 张国梁. 加味桃核承气汤降糖作用机制的初步探讨. 中国医药学报,1991,6(2):28-31.