

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2019.22.014

实验研究

白虎加人参汤含药血浆对高糖环境下 SD 大鼠胰岛细胞增殖、凋亡及氧化应激水平的影响

杨金伟, 马志辉, 赵灿, 吴勇军, 喻嵘*

(湖南中医药大学, 湖南省长沙市岳麓区含浦科教园学士路 300 号, 410208)

摘要 目的 探讨白虎加人参汤治疗 2 型糖尿病的可能作用机制。方法 将 28 只 SD 大鼠随机分成空白组(无菌超纯水)、白虎加人参汤组(浓度为 2 g/ml)、二甲双胍组(浓度为 21.5 mg/ml)、金匱肾气丸组(浓度为 0.215 g/ml), 每组 7 只, 每日灌胃 1 次, 33.48 ml/kg, 连续 5 天, 于末次灌胃后麻醉腹主动脉取血制备含药血浆。将大鼠胰岛瘤 B 细胞株 INS-1 细胞分为正常组、模型组、白虎加人参汤含药血浆组、二甲双胍含药血浆组、金匱肾气丸含药血浆组, 每组 3 个复孔。除正常组外其余各组以高浓度葡萄糖(33.3 mmol/L)处理细胞构建细胞高糖损伤模型。正常组和模型组正常培养, 其余各组分别用 5% 相应含药血浆培养 24 h 后, 比较各组 INS-1 细胞增殖情况、细胞凋亡率, 检测细胞内活性氧簇(ROS)水平和总抗氧化能力(T-AOC)、超氧化物歧化酶(SOD)活性, 分别观察各组细胞在基础葡萄糖刺激下和高糖刺激下胰岛素释放水平。结果 与正常组比较, 模型组细胞增殖 OD 值降低, 细胞凋亡率和细胞内 ROS 水平升高, SOD 及 T-AOC 活性下降, 在基础葡萄糖刺激和高糖刺激后胰岛素分泌水平均明显下降($P < 0.01$)。与模型组比较, 各药物血浆组细胞增殖 OD 值升高, 细胞凋亡率和细胞内 ROS 水平降低, SOD 及 T-AOC 活性升高, 在基础葡萄糖刺激和高糖刺激后胰岛素分泌水平均升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 而二甲双胍含药血浆组和白虎加人参汤含药血浆组改善较金匱肾气丸含药血浆组明显($P < 0.01$), 白虎加人参汤含药血浆组与二甲双胍含药血浆组作用相当($P > 0.05$)。结论 白虎加人参汤可有效改善高糖诱导引起的 INS-1 细胞损伤和凋亡, 改善细胞胰岛素分泌功能, 其作用与其提高了 INS-1 细胞的抗氧化能力、降低细胞内 ROS 水平有关。

关键词 2 型糖尿病; 白虎加人参汤; 胰岛瘤 B 细胞株; 胰岛素; 氧化应激

糖尿病是由多种因素综合作用引起以慢性高血糖为特征的代谢性疾病^[1]。长期慢性高血糖造成胰岛 B 细胞凋亡, 引起胰岛素分泌紊乱及功能障碍, 即“葡萄糖毒性”^[2]。2 型糖尿病的自然进程中, 以胰岛 B 细胞的功能下降为主要病理特征, 而氧化应激在早期病变中起主导作用^[3]。在糖毒性刺激下, 胰岛 B 细胞活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)过度释放, 超出机体抗氧化清除能力, 过剩的 ROS 产生细胞脂质过氧化致使溶酶体、线粒体损伤, 诱导细胞凋亡^[4]。糖尿病可归属于中医学“消渴病”范畴。早期病机以阴津亏耗为本, 燥热偏盛为标。发病之初多见燥热之症, 久则可见燥热与阴虚兼杂, 表现为气阴两虚。我们临床

治疗采用清热泻火、益气滋阴为治则, 方用白虎加人参汤治疗, 可有效改善 2 型糖尿病患者氧化应激反应, 同时抑制胰岛素抵抗, 增强胰岛素敏感性, 提高疗效^[5]。本研究以大鼠胰岛瘤 B 细胞株为研究对象, 探讨白虎加人参汤治疗 2 型糖尿病的可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及细胞株

SPF 级 SD 雄性大鼠 28 只, 8 周龄, 体质量 230 ~ 250 g, 实验动物许可证号: SCXK 湘 2016-0002, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司。大鼠胰岛瘤 B 细胞株 INS-1 细胞, 购自上海富衡生物技术有限公司。

1.2 实验药物

白虎加人参汤配伍剂量参照《方剂学》^[6] 中标

基金项目: 国家自然科学基金(81573956)

* 通讯作者: yuron@21cn.com, (0731) 88458219

准: 生石膏 50 g, 知母 18 g, 炙甘草 6 g, 粳米 9 g, 人参 10 g, 药物均购于湖南中医药大学第一附属医院药房。药物煎煮 2 次后用恒温水浴锅将药液浓缩至浓度为 2 g/ml 药液, 灭菌后 4℃ 冰箱内保存。金匱肾气丸: 规格为 6 g × 10 丸, 北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂, 批号: 170816, 按照说明书规定用量以成人每日 10 g 用量为标准, 开水融化研磨, 浓缩至 0.215 g/ml 备用。二甲双胍片: 规格 0.5 g × 30 片, 山东司邦得制药有限公司, 批号: 153612K, 按照说明书规定用量以成人每日 1 g 用量为标准, 用灭菌超纯水配制成 21.5 mg/ml 备用。

1.3 主要实验试剂与仪器

胎牛血清 (批号: 16000044)、RPMI-1640 培养基 (批号: 8118195), Gibco 公司; 青霉素-链霉素双抗 (批号: 20170213)、胰蛋白酶消化液 (批号: 20170428)、丙酮酸钠 (批号: 314D033), 索莱宝生物科技有限公司; CCK-8 溶液 (南京诺维赞生物有限公司, 批号: A311-01); Hanks 液 (批号: 14025)、CM-H2 DCFDA 溶液 (批号: C6827)、ROS 细胞渗透性指示剂 (批号: 170801A), 美国 Life Technologies 公司; 超氧化物歧化酶 (SOD) 试剂盒 (批号: 20170309)、总抗氧化能力 (T-AOC) 检测试剂盒 (批号: 20170205), 南京建成生物科技有限公司; 大鼠胰岛素 ELISA 试剂盒 (上海晶天生物科技有限公司, 批号: 20170512); D-葡萄糖 (国药集团化学试剂有限公司, 批号: 20170129); Annexin V-FITC 试剂盒 (中杉金桥生物技术有限公司, 批号: ZF-0511)。

BD FACSCanto II 型流式细胞仪 (美国 BD 公司); Milli-Q 型超纯水制备仪 (美国 Millipore 公司); xS105 型电子分析天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司); TG16-WS 型高速台式离心机 (湖南赛特湘仪离心机仪器有限公司); ELx800 型酶标仪 (美国 BioTek 公司); JY922D 型超声细胞破碎仪 (宁波新芝生物科技股份有限公司); HWT-6B 型恒温水浴锅 (天津市恒奥科技发展有限公司)。

1.4 含药血浆的制备

将 28 只 SD 大鼠按照随机数字表分成 4 组, 每组 7 只, 按照临床 70 kg 成人剂量的 8 倍给药。空白组给予无菌超纯水 33.48 ml/kg 灌胃, 白虎加人参汤组给予浓度为 2 g/ml 白虎加人参汤 33.48 ml/kg 灌胃, 二甲双胍组给予浓度为 21.5 mg/ml 二甲双胍片 33.48 ml/kg 灌胃, 金匱肾气丸组给予药物

浓度为 0.215 g/ml 金匱肾气丸 33.48 ml/kg 灌胃, 每日 1 次, 连续 5 天。于末次灌胃后麻醉腹主动脉取血, 用含 EDTA 抗凝管收集血液取上层血浆, 0.22 μm 滤膜过滤, 56℃ 恒温水浴锅灭活 30 min, 将灭活的血浆分装至无菌 EP 管中, -80℃ 保存。

5% 含药及空白血浆的配置: 取 500 μl 含药/空白血浆至 9500 μl 无血清 RPMI-1640 培养液中, 混匀后 4℃ 保存。高糖培养液: 将 0.4 g 葡萄糖加入 100 ml RPMI-1640 完全培养液中, 摇匀过滤灭菌, 配制成含葡萄糖 33.3 mmol/L 的完全培养液, 4℃ 保存。

1.5 细胞分组及干预方法

选取生长状态好 70% ~ 80% 贴壁的 INS-1 细胞, 用 RPMI-1640 完全培养液调整细胞浓度后按 5×10^4 个/ml 接种于 96 孔板, 转入 37℃、5% CO₂ 细胞培养箱中培养 24 h 后按以下分组培养细胞: 正常组 (RPMI-1640 完全培养液培养)、模型组 (葡萄糖浓度为 33.3 mmol/L 的高糖培养液培养)、白虎加人参汤含药血浆组 (33.3 mmol/L 高糖培养液 + 5% 白虎加人参汤含药血浆培养)、二甲双胍含药血浆组 (33.3 mmol/L 高糖培养液 + 5% 二甲双胍含药血浆培养)、金匱肾气丸含药血浆组 (33.3 mmol/L 高糖培养液 + 5% 金匱肾气丸含药血浆培养)。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 CCK-8 法检测细胞增殖情况 分组及干预方法如上, 每组设 3 个复孔, 按照每孔 100 μl INS-1 细胞悬液依次植入 96 孔板中, 转入 37℃、5% CO₂ 细胞培养箱中培养 24 h; 弃旧液, PBS 洗 2 次, 加入含药血浆培养 24 h 后, 每孔加入 10 μl CCK-8 溶液, 1.5 h 后于酶标仪检测 450 nm 波长时各孔的吸光度 (OD 值)。

1.6.2 流式细胞术检测细胞凋亡率 按照 Annexin V-FITC 细胞凋亡试剂盒说明书进行操作, 分组同上, 每个组设 3 个复孔, 药物干预 24 h 后进行检测。具体干预方法如下: 1) 2×10^5 个/孔细胞接种于 6 孔板内, 移入培养箱培养 24 h。移除培养液, 加入含药血浆干预; 2) 干预 24 h 后用 PBS 冲洗 2 次, 0.25% 胰蛋白酶消化, 终止消化后收集细胞, 1000 r/min 离心 5 min, 离心半径 15 cm, 弃上清用 PBS 轻轻重悬细胞; 3) 取 1×10^5 个重悬的细胞, 1000 r/min 离心 5 min, 离心半径 15 cm, 弃上清, 加入 195 μl Annexin V-FITC 结合液重悬细胞; 4) 加入 5 μl Annexin V-FITC 混匀; 5) 加入 10 μl

碘化丙啶染色液于常温避光孵育 20 min, 随后置于冰浴中, 用锡箔纸进行; 6) 于流式细胞仪上进行分析, 其中 Annexin V-FITC 显示为绿色荧光, 碘化丙啶染色液显示为红色荧光。

1.6.3 ROS 检测 分组及干预方法同上, 将细胞悬液接种于 6 孔培养板内。移液枪吸出培养液, PBS 洗涤后胰蛋白酶消化收集细胞。调整细胞为 1×10^6 个/孔, 将细胞悬浮于 $10 \mu\text{mol/L}$ CM-H2DCFDA 溶液中, 37°C 孵育 20 min, PBS 洗涤细胞, 重悬后流式细胞仪检测荧光强度 (激发波长 488 nm, 发射波长 525 nm), 细胞 ROS 水平采用 FlowJo 10 软件进行分析。

1.6.4 细胞抗氧化能力检测 将 1×10^6 个/孔细胞悬液接种于 6 孔培养板内, 分组及干预方法同上, 用移液枪吸出培养液, PBS 洗涤后用胰蛋白酶消化细胞并收集, 使用超声细胞破碎仪裂解细胞, 12000 r/min 离心 10 min, 离心半径 15 cm, 收集上清液, 按试剂盒说明测定细胞 T-AOC 和 SOD 活性。

1.6.5 胰岛素分泌量检测 选取生长近融合的 INS-1 细胞胰酶消化处理后, 细胞分组同上, 按 2×10^5 个/孔接种于 24 孔培养板, 对每组细胞进行相应的药物血浆干预 24 h。移液枪吸出各孔内培养液, PBS 洗涤后, 各组分别用基础葡萄糖刺激和高糖刺激各孔, 即分别加入含 5.6 mmol/L 葡萄糖的 Hanks 液, 之后移入培养箱孵育 30 min, 随后再分别更换为含 5.6 mmol/L 和 16.7 mmol/L 葡萄糖的 Hanks 液, 将培养板移入培养箱继续孵育 1 h, 最后收集细胞上清液, 按 ELISA 试剂盒使用说明测定胰岛素含量。

1.7 统计学处理

采用 SPSS 17.0 进行统计处理。计量资料满足正态性和方差齐性用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 用单因素方差分析进行处理, 组间比较用 LSD 检验; 不满足正态性和方差齐性的用非参数检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 INS-1 细胞增殖情况比较

表 1 示, 与正常组比较, 模型组 INS-1 细胞增殖 OD 值明显降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各药物血浆组 INS-1 细胞增殖 OD 值均升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与金匱肾气丸含药血浆组比较, 二甲双胍含药血浆组与白虎加入参汤含药血浆组 INS-1 细胞增殖 OD 值升高 ($P < 0.05$); 而白虎

加入参汤含药血浆组与二甲双胍含药血浆组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 各组 INS-1 细胞增殖情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	OD 值
正常组	3	1.09 ± 0.07
模型组	3	$0.67 \pm 0.06^*$
二甲双胍含药血浆组	3	$0.93 \pm 0.09^{\Delta\Delta\Delta}$
金匱肾气丸含药血浆组	3	$0.78 \pm 0.03^{\Delta}$
白虎加入参汤含药血浆组	3	$0.84 \pm 0.04^{\Delta\Delta\Delta}$

注: 与正常组比较, $* P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与金匱肾气丸含药血浆组比较, $\Delta\Delta\Delta P < 0.01$

2.2 各组 INS-1 细胞凋亡率比较

表 2 示, 与正常组比较, 模型组细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各药物血浆组 INS-1 细胞凋亡率均明显降低 ($P < 0.01$); 与金匱肾气丸含药血浆组比较, 二甲双胍含药血浆组和白虎加入参汤含药血浆组 INS-1 细胞凋亡率降低 ($P < 0.01$), 而白虎加入参汤含药血浆组与二甲双胍含药血浆组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2 各组 INS-1 细胞凋亡率比较 ($\%, \bar{x} \pm s$)

组别	样本数	凋亡率
正常组	3	5.89 ± 0.15
模型组	3	$23.66 \pm 1.00^*$
二甲双胍含药血浆组	3	$12.30 \pm 0.39^{\Delta\Delta}$
金匱肾气丸含药血浆组	3	$15.20 \pm 0.60^{\Delta}$
白虎加入参汤含药血浆组	3	$13.36 \pm 0.36^{\Delta\Delta}$

注: 与正常组比较, $* P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$; 与金匱肾气丸含药血浆组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$

2.3 各组 INS-1 细胞内 ROS 水平比较

表 3 示, 与正常组比较, 模型组细胞 ROS 平均荧光强度显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 白虎加入参汤含药血浆组、二甲双胍含药血浆组、金匱肾气丸含药血浆组细胞 ROS 平均荧光强度均明显降低 ($P < 0.01$); 与金匱肾气丸含药血浆组细胞比较, 白虎加入参汤含药血浆组与二甲双胍含药血浆组细胞 ROS 平均荧光强度降低 ($P < 0.01$)。白虎加入参汤含药血浆组与二甲双胍含药血浆组 ROS 平均荧光强度差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.4 各组 INS-1 细胞中 SOD 和 T-AOC 活性比较

表 4 示, 与正常组比较, 模型组细胞内 SOD 及 T-AOC 活性均明显下降 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各药物血浆组细胞内 SOD 及 T-AOC 活性均升高 ($P < 0.01$); 其中二甲双胍含药血浆组与白虎加入参汤含药血浆组细胞内 SOD 及 T-AOC 活性

明显高于金匱肾气丸含药血浆组 ($P < 0.01$); 而白虎加人参汤含药血浆组及金匱肾气丸含药血浆组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 3 各组 INS-1 细胞内活性氧簇水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	平均荧光强度
正常组	3	1180.67 ± 12.67
模型组	3	4151.67 ± 74.88*
二甲双胍含药血浆组	3	1864.00 ± 88.15 Δ^{Δ}
金匱肾气丸含药血浆组	3	2760.00 ± 115.22 Δ
白虎加人参汤含药血浆组	3	2287.65 ± 130.97 Δ^{Δ}

注: 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$; 与金匱肾气丸含药血浆组比较, $\Delta^{\Delta} P < 0.01$

表 4 各组 INS-1 细胞中 SOD 和 T-AOC 活性比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	SOD (U/mg)	T-AOC (mmol/mg)
正常组	3	4.10 ± 0.14	3.86 ± 0.10
模型组	3	0.98 ± 0.15*	0.68 ± 0.06*
二甲双胍含药血浆组	3	3.04 ± 0.07 Δ^{Δ}	2.78 ± 0.08 Δ^{Δ}
金匱肾气丸含药血浆组	3	2.38 ± 0.09 Δ	2.12 ± 0.04 Δ
白虎加人参汤含药血浆组	3	2.72 ± 0.11 Δ^{Δ}	2.53 ± 0.06 Δ^{Δ}

注: SOD, 超氧化物歧化酶; T-AOC, 总抗氧化能力; 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$; 与金匱肾气丸含药血浆组比较, $\Delta^{\Delta} P < 0.01$

2.5 各组 INS-1 细胞胰岛素分泌情况比较

表 5 示, 与正常组比较, 模型组细胞在基础葡萄糖和高糖刺激后胰岛素分泌水平均明显下降 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各药物血浆组细胞在基础葡萄糖和高糖刺激后胰岛素分泌水平均明显升高 ($P < 0.01$); 与金匱肾气丸含药血浆组相比, 白虎加人参汤含药血浆组和二甲双胍含药血浆组细胞在基础葡萄糖和高糖刺激后胰岛素分泌水平提升明显 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 而白虎加人参汤含药血浆组与二甲双胍含药血浆组细胞在基础葡萄糖和高糖刺激后胰岛素分泌水平相当 ($P > 0.05$)。

表 5 各组 INS-1 细胞分别在基础葡萄糖刺激和高糖刺激后胰岛素分泌情况比较 (mIU/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	基础葡萄糖刺激后胰岛素分泌	高糖刺激后胰岛素分泌
正常组	3	2.24 ± 0.12	5.13 ± 0.05
模型组	3	1.07 ± 0.09*	2.29 ± 0.15*
二甲双胍含药血浆组	3	1.94 ± 0.04 Δ^{Δ}	4.53 ± 0.18 Δ^{Δ}
金匱肾气丸含药血浆组	3	1.62 ± 0.04 Δ	3.68 ± 0.04 Δ
白虎加人参汤含药血浆组	3	1.88 ± 0.08 Δ^{Δ}	4.28 ± 0.11 Δ^{Δ}

注: 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$; 与金匱肾气丸含药血浆组比较, $\Delta^{\Delta} P < 0.05$, $\Delta^{\Delta\Delta} P < 0.01$

3 讨论

2 型糖尿病根据其临床症状可归属于中医学

“消渴病”范畴。《素问·阴阳别论篇》曰“二阳结谓之消”, 明确指出胃肠热结、津液亏虚是消渴病发病的重要机制; 金元时期《三消论》曰“三消者, 其燥热一也”, 突出“热”对消渴病的重要性。同时, 毒乃邪盛、郁结化热, “热毒”是 2 型糖尿病的基本致病因素和重要病理机制^[7]。依据以上理论, 我们以白虎加人参汤治疗 2 型糖尿病。方中生石膏辛甘大寒, 主入肺胃, 清热泻火, 除烦止渴; 知母苦寒质润, 清热与滋阴并行, 上助石膏清泻肺胃之热, 下润肾燥救已伤之阴; 粳米与甘草皆味甘性平, 有益胃生津的功效, 协同甘温之人参益气生津。本实验以温补法治疗肾虚下消之金匱肾气丸与治疗阴虚燥热引起上消的白虎加人参汤进行对比, 分析不同治法方药对由高糖诱导损伤的胰岛 B 细胞增殖、凋亡及分泌功能的影响。临床上西医对于糖尿病的治疗, 除了对患者进行糖尿病教育及饮食、运动调控外, 药物用二甲双胍通过抑制肝脏葡萄糖输出、延缓葡萄糖胃肠道摄取, 提高外周胰岛素的敏感性从而降低血糖水平, 单独使用二甲双胍不会出现低血糖现象, 现被广泛用于治疗糖尿病患者^[8], 故本实验作为对照药物。

2 型糖尿病病因复杂, 其发病机制尚未完全阐明, 有研究^[9]显示, 高血糖与氧化应激相互作用参与了糖尿病过程的始终。胰腺组织中胰岛 B 细胞因抗氧化酶的含量及活性相对较低, 对 ROS 介导的损伤更为明显^[10]。ROS 是生物在进行有氧代谢过程中产生的一系列活性氧簇, 包括超氧阴离子、羟自由基和过氧化氢等^[11]。ROS 可直接损伤胰岛 B 细胞生物膜结构引起过氧化物的积累, 代谢产生的细胞毒性作用影响细胞正常功能; 对蛋白质及酶系统的干扰, 导致蛋白质变性及酶失活的出现, 降低细胞生物学功能; 破坏核酸碱基、核酸骨架和细胞线粒体结构, 诱导基因突变, 蛋白异常表达, 促进 B 细胞凋亡^[12]。ROS 还可经由核转录因子 κB (NF- κB)、P38 丝裂原活化蛋白激酶、JNK 细胞信号通路激活间接抑制胰岛 B 细胞功能^[13]。SOD 属于金属酶类, 是机体重要的抗氧化剂, 其可有效地持续清除氧自由基, 对抗组织氧化, 保护细胞免受进一步的损伤, 同时促进炎症或损伤组织的修复^[14-15]。T-AOC 代表体内酶促和非酶促抗氧化物的总体水平, 抗氧化物之间相互联系发挥协同保护作用^[16]。T-AOC 可用于直接反映机体抗氧化酶的活力以及抗氧化物系统的功能状态, 间接地反映出脂质过氧化程度, 其含量与细胞抗氧化及清除

自由基的能力呈正相关^[7]。

本研究结果显示,模型组细胞增殖降低,凋亡率升高,且细胞内 ROS 水平明显上升,胰岛素分泌功能及细胞内 SOD、T-AOC 活性下降,提示高糖可诱导细胞抗氧化能力下降,细胞损伤。而各药物血浆组均可促进细胞增殖,降低凋亡率,升高胰岛素分泌功能及细胞内 SOD、T-AOC 活性,说明各药物均可改善细胞功能,并且白虎加人参汤和二甲双胍片效果相当,并优于金匮肾气丸。总之,白虎加人参汤可能通过提高细胞总抗氧化能力抑制氧化应激对胰岛细胞的损害,调节氧化应激状态,达到保护 INS-1 细胞的目的,有效干预 2 型糖尿病进程。

参考文献

- [1] CARNOVALI M, LUZI L, BANFI G, et al. Erratum to: Chronic hyperglycemia affects bone metabolism in adult zebrafish scale model [J]. Endocrine, 2016, 59(1): 234. doi: 10.1007/s12020-017-1284-7.
- [2] LV L, CHEN H, SUN J, et al. PRMT1 promotes glucose toxicity-induced β cell dysfunction by regulating the nucleocytoplasmic trafficking of PDX-1 in a FOXO1-dependent manner in INS-1 cells [J]. Endocrine, 2015, 49(3): 669-682.
- [3] PESTANA RM, DOMINGUETI CP, DUARTE RC, et al. Cytokines profile and its correlation with endothelial damage and oxidative stress in patients with type 1 diabetes mellitus and nephropathy [J]. Immunol Res, 2016, 64(4): 951-960.
- [4] LIEMBURG-APERS DC, WILLEMS PH, KOOPMAN WJ, et al. Interactions between mitochondrial reactive oxygen species and cellular glucose metabolism [J]. Arch Toxicol, 2015, 89(8): 1209-1226.
- [5] 侯亚莉, 张雨, 林梅. 白虎加人参汤对 2 型糖尿病患者氧化应激水平与胰岛素敏感性的影响 [J]. 中药药理与临床, 2017, 33(5): 192-194.
- [6] 邓中甲. 方剂学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2010.
- [7] 苏丽清, 喻嵘, 吴勇军, 等. 糖尿病心肌病从“久病入络”论治探讨 [J]. 湖南中医药大学学报, 2017, 37(8): 838-841.
- [8] HE L, CHANG E, PENG J, et al. Activation of the cAMP-PKA pathway antagonizes metformin suppression of

hepatic glucose production [J]. J Biol Chem, 2016, 291(20): 10562-10570.

- [9] NEWSHOLME P, CRUZAT VF, KEANE KN, et al. Molecular mechanisms of ROS production and oxidative stress in diabetes [J]. Biochem J, 2016, 473(24): 4527-4550.
- [10] LEE SH, PARK MH, PARK SJ, et al. Bioactive compounds extracted from ecklonia cavaby using enzymatic hydrolysis protects high glucose-induced damage in INS-1 pancreatic β -cells [J]. Appl Biochem Biotechnol, 2012, 167(7): 1973-1985.
- [11] AZARABADI S, ABDOLLAHI H, TORABI M, et al. ROS generation, oxidative burst and dynamic expression profiles of ROS-scavenging enzymes of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) in response to Erwinia amylovora in pear (Pyrus communis L) [J]. Eur J Plant Pathol, 2017, 147(2): 279-294.
- [12] 刘美之, 贾振华, 魏聪, 等. 通心络超微粉对兔动脉粥样硬化早期外膜微血管新生的影响 [J]. 中医杂志, 2015, 56(3): 240-245.
- [13] ZHANG L, PANG S, DENG B, et al. High glucose induces renal mesangial cell proliferation and fibronectin expression through JNK/NF- κ B/NADPH oxidase/ROS pathway, which is inhibited by resveratrol [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2012, 44(4): 629-638.
- [14] 成文堃, 祁轶斐, 陈萌, 等. 活血益气方及其拆方对缺氧人脐静脉内皮细胞增殖和凋亡的影响 [J]. 中医杂志, 2017, 58(9): 777-781.
- [15] MERDZO I, RUTKAI I, SURE VN, et al. Impaired mitochondrial respiration in large cerebral arteries of rats with type 2 diabetes [J]. J Vasc Res, 2017, 54(1): 1-12.
- [16] ZHU XY, MA PS, WU W, et al. Neuroprotective actions of taurine on hypoxic-ischemic brain damage in neonatal rats [J]. Brain Res Bull, 2016, 124: 295-305. doi: 10.1016/j.brainresbull.2016.06.010.
- [17] REN Z, LI J, XU N, et al. Anti-hyperlipidemic and antioxidant effects of alkali-extractable mycelia polysaccharides by Pleurotus eryngii var. tuolensis [J]. Carbohydr Polym, 2017, 175: 282-292. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.08.009.

Effects of *Baihu Jia Renshen Decoction* (白虎加人参汤) Containing Plasma on Islet Cell Proliferation, Apoptosis and Oxidative Stress Under High Concentration D-glucose in SD Rats

YANG Jinwei, MA Zhihui, ZHAO Can, WU Yongjun, Yu Rong

(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

ABSTRACT Objective To study the possible mechanism of *Baihu Jia Renshen Decoction* (白虎加人参汤) treating

type 2 diabets. **Method** Totally 28 SD rats were divided into four groups, blank group (treated with aseptic ultra-pure water), *Baihu Jia Renshen Decoction* group (concentration 2 g/ml), metformin group (concentration 21.5 mg/ml), and *Jingui Shenqi Pills* group (concentration 0.215 g/ml), 7 rats in each group. All rats were treated with gastric perfusion 33.48 ml/kg for continuous five days. Drug-containing plasma was prepared by taking blood sample under abdominal aorta anaesthesia after the last perfusion. Isletoman B cell strain INS-1 were divided into five groups, normal group, model group, *Baihu Jia Renshen Decoction* containing plasma group, metformin containing plasma group, *Jingui Shenqi Pill* and containing plasma group, 3 wells for each group. All groups but normal group were treated with high-concentration glucose (33.3 mmol/L) to process cells and build high-glucose injury model. The normal group and model group were cultured normally, and other groups were cultured with 5% corresponding drug containing plasma for 24 h. INS-1 cell proliferation, apoptosis rate, intracellular active oxygen species (ROS) level and total antioxidant capacity (T-AOC), super-oxide dismutase (SOD) level were compared. Insulin release level of all groups under basic and high glucose stimulation was observed. **Result** Compared with the normal group, the proliferation activity of the model group was significantly inhibited, the apoptotic rate and ROS increased significantly, the content of SOD and T-AOC were decreased, insulin secretion under basic or high glucose stimulation decreased significantly compared with the model group, all drug-containing plasma treated group showed cell proliferation OD increase, appotosis rate decrease, ROS level decrease, SOD and T-AOC activity increase and insulin secretion level increase under basic or high glucose stimulation ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The improvement of melformin containing group and *Baihu Jia Renshen Decoction* containing group was better than that of the *Jingui Shenqi Pill* containing group, while the improvement of *Baihu Jia Renshen Decoction* containing group and melformin containing group was quite ($P > 0.05$). **Conclusion** *Baihu and Renshen Decoction* markedly improve high-glucose induced INS-1 cell injury and apoptosis, improving insulin secretion, and the action might be related to increasing INS-1 cell antioxide capacity and reducing intracellular ROS level.

Keywords *Baihu and Renshen Decoction*; Drug-containing plasma; islet B cell; Diabetes mellitus; Oxidative stress

(收稿日期: 2018 - 12 - 29; 修回日期: 2019 - 04 - 24)

编辑: 邓 媛

欢迎订阅 2020 年 《中医杂志》

《中医杂志》(ISSN 1001 - 1668, CN 11 - 2166/R) 是由中华中医药学会和中国中医科学院主办的全国性中医药综合性学术期刊。1955 年创刊以来始终坚持“以提高为主, 兼顾普及”的办刊方针, 是我国中医药界创刊早、发行量大、具有较高权威性和学术影响力的国家级中医药期刊之一, 是中文核心期刊和科技核心期刊、中国精品科技期刊、首届国家期刊奖获得者和中国期刊方阵双奖期刊、新中国 60 年有影响力的期刊、中国百强科技期刊、中国百种杰出学术期刊, 荣获第二届、第三届、第四届新闻出版政府奖期刊奖提名奖。

《中医杂志》主要栏目中当代名医和临证心得分别介绍名老中医和临床医生辨证用药治疗疑难病的经验; 临床研究介绍中医药治疗的新方法、新成果; 学术探讨、思路与方法、专家论坛、病例讨论、综述、百家园等栏目, 提供最新学术观点、研究成果与治疗方法, 成为学习中医药、研究中医药, 不断提高临床及研究水平的良师益友。

《中医杂志》为半月刊, 每月 2 日和 17 日出版, 每期定价 20.00 元, 全年 480 元。读者可以到全国各地邮局办理订阅手续 (邮发代号: 2 - 698), 也可以与本刊读者服务部联系邮购, 邮购免邮费。电话: 010 - 64035632, 010 - 64089195。国外发行: 中国国际图书贸易总公司 (北京 399 信箱, 邮编: 100044, 代号: M140)。本社地址: 北京市东城区东直门内南小街 16 号, 邮政编码: 100700。网址: <http://www.jtcm.net.cn>。

扫一扫 关注

