

本文引用:勾阳阳, 杨娇娇, 向琴, 喻嵘, 陈聪. 左归降糖清脂方对2型糖尿病合并非酒精性脂肪性肝病MKR鼠Visfatin信号分子的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(4): 585-590.

左归降糖清脂方对2型糖尿病合并非酒精性脂肪性肝病MKR鼠Visfatin信号分子的影响

勾阳阳¹, 杨娇娇¹, 向琴², 喻嵘^{2*}, 陈聪^{1*}

1. 贵州中医药大学, 贵州 贵阳 550025; 2. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208

[摘要] **目的** 探讨左归降糖清脂方对2型糖尿病合并非酒精性脂肪性肝病MKR鼠内脂素(Visfatin)信号分子的影响。**方法** 8周龄MKR小鼠,按性别、空腹血糖、体质量随机分为空白组、模型组、中药组、阳性药物组;同龄C57/BL/6小鼠作为正常组;每组16只。除正常组、空白组外,其余小鼠高脂饲养8周。中药组予左归降糖清脂方溶液29.6 g/kg,阳性药物组(二甲双胍和辛伐他汀)组成,比例为50:1,给药67.6 mg/kg,其余组予等体积蒸馏水(体积同中药组),灌胃治疗8周。心脏采血处死各组小鼠,采用电化学法检测空腹血糖;常规生化法检测肝功能、血脂;电镜及HE染色观察肝组织形态结构及病理变化;实时荧光定量检测肝脏脂肪组织分泌激素类代谢调节因子Visfatin、视黄醇结合蛋白4(retinol binding protein4, RBP4)的mRNA表达水平;酶联免疫法检测血清炎症因子血清可溶性白细胞介素-2受体(soluble interleukin-2 receptor, SIL-2R)、成纤维细胞生长因子2(fibroblast growth factor2, FGF2)含量的变化。**结果** 与正常组比较,模型组肝细胞内出现明显损伤以及大量脂肪堆积;空腹血糖,谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、血脂含量,RBP4和Visfatin的mRNA表达水平,炎症因子SIL-2R、FGF-2含量均升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与模型组比较,中药组与阳性药物组细胞损伤明显改善,空腹血糖浓度降低($P<0.01$),ALT、AST、血脂含量明显下降($P<0.01$),RBP4和Visfatin的mRNA表达水平降低($P<0.01$),炎症因子SIL-2R、FGF-2含量明显下降($P<0.01$)。与中药组比较,阳性药物组空腹血糖浓度降低($P<0.05$),其余指标无差异。**结论** 左归降糖清脂方可能通过改善肝功能、降低血脂、降低肝组织Visfatin及RBP4的mRNA表达水平、降低血清炎症因子SIL-2R及FGF-2的含量,从而改善2型糖尿病合并非酒精性脂肪性肝病肝脏的病理损伤。

[关键词] 左归降糖清脂方;2型糖尿病合并非酒精性脂肪性肝病;内脂素/内脏脂肪素;视黄醇结合蛋白4

[中图分类号]R285.5 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2023.04.002

Effects of Zuogui Jiangtang Qingzhi Formula on the signaling molecules of visfatin of MKR mice with type 2 diabetes complicated with non-alcoholic fatty liver disease

GOU Yangyang¹, YANG Jiaojiao¹, XIANG Qin², YU Rong^{2*}, CHEN Cong^{1*}

1. Guizhou University of Chinese Medicine, Guiyang, Guizhou 550025, China; 2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of Zuogui Jiangtang Qingzhi Formula (ZGJTQZF) on the signaling molecules of Visfatin in MKR mice with type 2 diabetes complicated with non-alcoholic fatty liver disease. **Methods** Eight-week-old MKR mice were randomly divided into blank group, model group, Chinese medicine (ZGJTQZF) group and positive drug group according to gender, fasting blood glucose and body weight. C57/BL/6 mice of the same age were set as normal group. Sixteen rats were

[收稿日期]2022-08-28

[基金项目]国家自然科学基金项目(81860818, 82004185);贵州省科学技术厅科技基金(黔科合基础-ZK[2021]一般501);贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究专项课题(QZYY-2022-010);2021年贵州省卫生健康委科学技术基金;贵州中医药大学糖脂代谢病研究中心资助。

[第一作者]勾阳阳,女,硕士研究生,研究方向:内分泌疾病的中医辨证规律及其防治研究。

[通信作者]*陈聪,女,博士,副教授,硕士研究生导师,E-mail:781972863@qq.com;喻嵘,女,博士,教授,博士研究生导师,E-mail:yurong8072@qq.com。

included in each group. Except for normal group and blank group, the other mice were fed with high fat diets for 8 weeks. The Chinese medicine group was given ZGJTQZF (29.6 g/kg), the positive drug group was given metformin and simvastatin (50:1, 67.6 mg/kg), and the other groups were given equal volume of distilled water (the same volume of the Chinese medicine group) for 8 weeks. The mice in each group were sacrificed by cardiac blood collection, and fasting blood glucose was measured by electrochemical method. Liver function and blood lipid were determined by routine biochemical method. The morphological structure and pathological changes of liver tissue were observed by electron microscope and HE staining. The mRNA expression levels of Visfatin and retinol binding protein 4 (RBP4) in liver adipose tissue were examined by real-time fluorescence quantitative detection. The levels of serum soluble interleukin-2 receptor (SIL-2R) and fibroblast growth factor 2 (FGF2) were checked by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results** Compared with the normal group, the liver cells in model group showed obvious damage and a large amount of accumulated fat. Fasting blood glucose, alanine transaminase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), blood lipids, RBP4 and Visfatin mRNA expression levels, inflammatory factors SIL-2R, FGF-2 content all increased ($P<0.05$ or $P<0.01$); compared with model group, the cell damage in the positive drug group and Chinese medicine group was significantly improved, fasting blood glucose concentration decreased ($P<0.01$); ALT, AST and blood lipids decreased significantly ($P<0.01$), RBP4 and Visfatin mRNA expression levels decreased ($P<0.01$), and the content of inflammatory factors SIL-2R, FGF-2 decreased significantly ($P<0.01$). Compared with the Chinese medicine group, the fasting blood glucose concentration in the positive drug group decreased ($P<0.05$), and there was no statistical difference in other indicators. **Conclusion** ZGJTQZF may alleviate the pathological damage of liver in MKR mice with type 2 diabetes complicated with non-alcoholic fatty liver disease by improving liver function, reducing blood lipids, reducing the mRNA expression levels of visfatin and RBP4 in liver tissue, and down-regulating the content of serum inflammatory factors SIL-2R and FGF-2.

[**Keywords**] Zuogui Jiangtang Qingzhi Formula; type 2 diabetes complicated with non-alcoholic fatty liver disease; Visfatin; retinol binding protein 4

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)的一种较为常见的肝脏并发症,其发病率高达 70%或以上^[1-3]。高糖环境和胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)是糖尿病及其并发症的主因,而这两种因素引起的一系列改变也是导致肝细胞损伤的重要因素^[4-5]。血糖升高及 IR 可以激活多种机制,这些机制在肝细胞损伤、纤维化过程中发挥关键作用,其中以脂代谢障碍^[6]、炎症反应^[7]、氧化应激^[8]等为主。近年研究发现,在 NAFLD 肥胖患者中,脂肪组织分泌激素类代谢调节因子内脂素(Visfatin)、视黄醇结合蛋白 4(retinol binding protein4, RBP4),通过旁分泌作用参与胰岛素抵抗的形成^[9-10]。本课题组前期相关研究发现,滋阴益气、活血解毒的左归降糖清脂方能显著降低 MKR 鼠血糖、改善糖耐量、改善胰岛素抵抗,从而改善高脂 MKR 鼠肝功能损害,降低其血脂水平,调控胰岛外周组织(脂肪、骨骼肌、肝脏等)中核因子过氧化物酶体增殖物激活受体 α 等的表达^[11]。本文继续探讨左归降糖清脂方对高脂饮食 MKR 鼠肝脏 Visfatin、RBP4 的 mRNA 表达水平及血清可溶性白细胞介素-2 受体(soluble interleukin-2 receptor, SIL-2R)、成纤维细胞生长因子 2(fibroblast growth factor, FGF2)含量的影响,以期对中医药对 T2DM 合并 NAFLD 的治疗提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 骨骼肌特异性胰岛素样生长因子-1 受体功能缺失鼠(MKR 鼠),由美国国立卫生研究院糖尿病研究中心提供的纯合子 MKR 小鼠,由本课题组配种后繁殖的后代用于实验研究。同龄健康 SPF 级 C57/BL/6 小鼠,购自长沙市天勤生物技术有限公司,许可证号:SCXK(湘)2014-0011, MKR 鼠许可证号:SYXK(湘)2015-0003,饲养场地均为贵州中医药大学 SPF 级实验动物中心,饲养笼具、饲料、饮水均符合 SPF 级要求,伦理审核编号:20200003。

1.1.2 高脂饲料 普通饲料加 15%猪油、1%胆固醇组成。

1.1.3 主要试剂 荧光定量 PCR 试剂盒(翌圣生物科技股份有限公司,批号:H1021780);小鼠 SIL-2R、IL-1 β 酶联免疫试剂盒(上海酶联生物科技有限公司,批号:12/2020、01/2020)。

1.1.4 主要仪器 PCR 仪、实时荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司,型号:T100 thermal cycler,TL988-1);石蜡切片机(金华惠友仪器有限公司,型号:HY1508);酶标仪(美国 Thermo Fisher 仪器有限公司,型号:1510-01061C)。

1.1.5 药物及制备 辛伐他汀片(山东鲁抗医药集

团赛特有限责任公司,批号:190202);盐酸二甲双胍缓释片(山东司邦德制药有限公司,批号:190705)。左归降糖清脂方由熟地黄 12 g、黄芪 18 g、山药 12 g、山茱萸 12 g、黄连 6 g、丹参 9 g、茵陈 15 g、虎杖 12 g、郁金 9 g、陈皮 9 g 组成。汤剂制备:经水煎煮 2 次,混合过滤后,浓缩制备成含生药浓度为 2.96 g/mL 的药液,经灭菌后置于 4 ℃ 冰箱中备用。中药均由湖南中医药大学第一附属医院提供,经王宇红主任药师鉴定均为正品。

1.2 方法

1.2.1 分组 选取 8 周龄的经遗传鉴定的 MKR 小鼠,雌雄各半,体质量(22±3) g,按性别、空腹血糖、体质量随机分为空白组、模型组、中药组、阳性药物组;同龄 C57/BL/6 小鼠为正常组,雌雄各半,体质量(22±3) g。每组 16 只。空白组和正常组喂养普通饲料,造模组喂养高脂饲料。

1.2.2 造模 T2DM 合并 NAFLD 模型用 8 周龄 MKR 鼠高脂喂养 8 周后可自发形成。本课题组采用 MKR 鼠高脂喂养形成 T2DM 合并 NAFLD 的模型,具有可行性和可重复性^[11]。造模成功的标准:MKR 鼠高脂饲养后,空腹血糖浓度升高、肝功能异常及血脂异常情况加剧;观察肝脏病理损伤结构, MKR 鼠肝组织炎症细胞增多,肝细胞结构紊乱,符合 T2DM 合并 NAFLD 的病变特点。

1.2.3 给药 用高脂饲料喂养达 8 周后,进行相应药物灌胃。中药组给药为 29.6 g/kg,浓度为 2.96 g/mL,灌胃体积为 0.1 mL/10 g。阳性药物组:药物由二甲双胍和辛伐他汀组成,比例为 50:1,给药 67.6 mg/kg,浓度为 6.76 mg/mL,灌胃体积为 0.1 mL/10 g。空白组、模型组及正常组采用等体积蒸馏水进行灌胃,每 24 h 给药 1 次,共给药 8 周。

1.2.4 观察项目与指标检测 对小鼠行心脏采血,然后处死。对空腹血糖浓度进行测定,取血清,用常规生化法对肝功能中谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)和谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)含量以及血脂中总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(lowdensity lipoprotein cholesterol, LDL-C)指标的含量进行检测。分别取 30~50 mg 的肝组织,采用实时荧光定量法检测 Visfatin、RBP4;

酶联免疫法检测血清炎症因子(按照试剂盒说明书操作);HE 染色观察各组小鼠肝组织的病理改变;取 3 mm×3 mm×3 mm 肝组织放于电镜固定液中,电镜观察肝脏病理学改变。

1.2.5 实时荧光定量检测 mRNA 基因序列从 NCBI 网站搜索得到,由生工生物工程(上海)股份有限公司设计引物。详见表 1。采用 Trizol 法提取总 RNA,将 RNA 逆转录为 cDNA,将 cDNA 稀释成 3 倍以备用。实时荧光定量反应中,设置 4 个 T_m 值的退火温度梯度,分别为 60、62、64、66 ℃,对于退火温度先用梯度 PCR 反应测量,扩增用 Real-time PCR。20 μL 为反应体系,Real-time PCR 反应程序:95 ℃,2 min,1×。95 ℃,15 s;58~62 ℃,1 min;40×。熔解的曲线:95 ℃,15 s;60 ℃,15 s;温度上升(20 min),95 ℃,15 s。

表 1 各基因引物序列

引物名称	引物序列	扩增片段大小/bp
GAPDH	正向 GGTGTCTCTCGACTTCA	183
	反向 TGGTCCAGGTTTCTTACTCC	
Visfatin	正向 GTTCCAGCAGCAGACACTAC	108
	反向 GACCACAGACAGGCACTGATG	
RBP4	正向 GACTCAAGGAGAAGCTCGACAA	108
	反向 AAAACTCAGCGATGATGTTGTC	

1.2.6 统计学分析 数据采用 SPSS 26.0 统计软件处理,结果以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示。多个总体均值比较,数据满足正态性,采用单因素方差分析;多个样本均数的两两比较,满足方差齐性检验者采用 LSD 检验,若不满足则采用 *Dunnnett T3* 检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠肝组织病理结构变化

正常组肝细胞结构排列整齐,炎性细胞较少甚至没有;空白组肝细胞结构不整齐,存在变性;模型组肝细胞结构不整齐,变性增多,有坏死细胞,炎性细胞增多,细胞核减少,组织结构改变,肝组织纤维化;中药组及阳性药物组炎性细胞明显减少,肿胀及纤维化不同程度减轻。详见图 1。

2.2 各组小鼠肝组织超微结构的变化

电镜下观察,发现正常组肝细胞内少量的脂肪堆积,溶酶体周围少量或者无脂肪颗粒;空白组脂肪颗粒增加,溶酶体周围有少量脂肪颗粒;模型组内大量脂肪堆积,溶酶体周围大量脂肪颗粒;中药组和阳

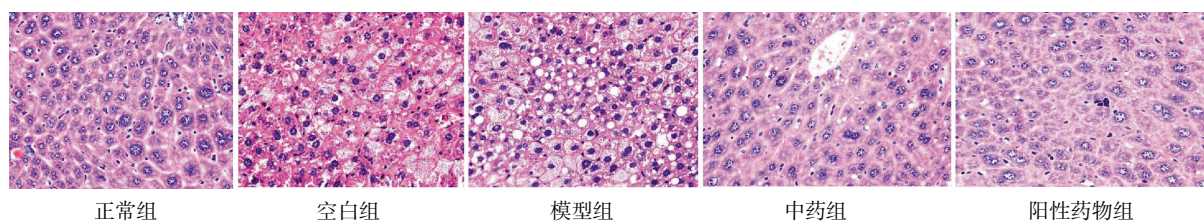


图1 各组小鼠肝组织病理形态的变化(HE, ×400)

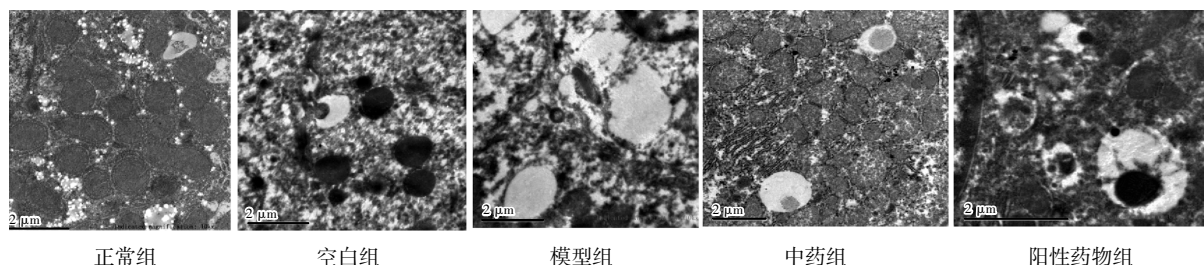


图2 各组小鼠肝组织超微结构的变化(电镜, ×5000)

性药物组脂肪堆积明显减少,溶酶体周围少量或者无脂肪颗粒。详见图2。

2.3 各组小鼠空腹血糖浓度比较

与正常组比较,其余各组空腹血糖浓度升高($P<0.01$);与空白组比较,模型组空腹血糖浓度升高($P<0.01$),中药组、阳性药物组空腹血糖浓度均降低($P<0.01$);与模型组比较,中药组、阳性药物组空腹血糖浓度均降低($P<0.01$);与中药组比较,阳性药物组空腹血糖浓度降低($P<0.05$)。详见表2。

表2 各组小鼠血糖浓度变化($n=10, \bar{x} \pm s, \text{mmol/L}$)

组别	空腹血糖浓度
正常组	4.67±0.37
空白组	8.34±0.66**
模型组	10.03±0.84*** $\Delta\Delta$
中药组	7.48±0.67*** $\Delta\Delta$ **
阳性药物组	6.67±0.82*** $\Delta\Delta$ ** \square

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与空白组比较, $\Delta\Delta P<0.01$;与模型组比较,** $P<0.01$;与中药组比较, $\square P<0.05$ 。

2.4 各组小鼠血清 ALT、AST 含量比较

与正常组比较,其余各组 ALT、AST 含量均升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与空白组比较,模型组 ALT、AST 均升高($P<0.01$),中药组、阳性药物组 AST 均降

低($P<0.01$);与模型组比较,中药组、阳性药物组 ALT、AST 均降低($P<0.01$)。中药组与阳性药物组 ALT、AST 比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表3。

表3 各组小鼠血清 ALT、AST 含量比较($n=10, \bar{x} \pm s, \text{IU/L}$)

组别	ALT	AST
正常组	38.50±7.35	85.70±11.40
空白组	74.50±12.55**	153.30±23.93**
模型组	111.30±27.29*** $\Delta\Delta$	204.30±20.15*** $\Delta\Delta$
中药组	61.00±13.37*** $\Delta\Delta$ **	102.30±10.25*** $\Delta\Delta$ **
阳性药物组	61.80±7.27*** $\Delta\Delta$ **	104.20±15.48*** $\Delta\Delta$ **

注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与空白组比较, $\Delta\Delta P<0.01$;与模型组比较,** $P<0.01$ 。

2.5 各组小鼠血脂水平比较

与正常组比较,空白组和模型组 TG、TC、LDL-C、HDL-C 含量均升高($P<0.01$),中药组和阳性药物组 TC、LDL-C、HDL-C 含量均升高($P<0.01$);与空白组比较,模型组、中药组和阳性药物组 TG 降低,TC、LDL-C、HDL-C 含量均升高($P<0.01$);与模型组比较,中药组和阳性药物组 TG、TC、LDL-C 下降,HDL-C 升高($P<0.01$)。中药组与阳性药物组 TG、TC、LDL-C、HDL-C 比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表4。

表4 各组小鼠血清中 TG、TC、LDL-C、HDL-C 含量的变化($n=10, \bar{x} \pm s, \text{mmol/L}$)

组别	TG	TC	LDL-C	HDL-C
正常组	0.53±0.09	1.36±0.22	0.35±0.07	1.17±0.10
空白组	1.14±0.09**	2.34±0.17**	1.17±0.08**	1.65±0.34**
模型组	0.74±0.13*** $\Delta\Delta$	5.45±0.51*** $\Delta\Delta$	2.57±0.58*** $\Delta\Delta$	2.12±0.25*** $\Delta\Delta$
中药组	0.55±0.05 $\Delta\Delta$ **	3.02±0.39*** $\Delta\Delta$ **	1.55±0.17*** $\Delta\Delta$ **	2.86±0.45*** $\Delta\Delta$ **
阳性药物组	0.56±0.06 $\Delta\Delta$ **	3.22±0.39*** $\Delta\Delta$ **	1.65±0.31*** $\Delta\Delta$ **	2.79±0.60*** $\Delta\Delta$ **

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与空白组比较, $\Delta\Delta P<0.01$;与模型组比较,** $P<0.01$ 。

2.6 各组小鼠肝组织 RBP4、Visfatin 的 mRNA 表达水平比较

与正常组比较,其余各组 RBP4、Visfatin 的 mRNA 表达水平均升高 ($P<0.01$);与空白组比较,模型组 RBP4、Visfatin 的 mRNA 表达水平均升高 ($P<0.01$);与模型组比较,中药组、阳性药物组 RBP4、Visfatin 的 mRNA 表达水平均降低 ($P<0.01$)。中药组与阳性药物组 RBP4、Visfatin 的 mRNA 比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。详见表 5。

表 5 各组小鼠 RBP4、Visfatin 的 mRNA 表达水平比较 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	RBP4	Visfatin
正常组	1.03±0.08	0.99±0.10
空白组	1.96±0.23**	2.19±0.16**
模型组	2.93±0.16*** $\Delta\Delta$	3.32±0.19*** $\Delta\Delta$
中药组	1.89±0.17*** \blacklozenge	2.26±0.12*** \blacklozenge
阳性药物组	1.93±0.20*** \blacklozenge	2.24±0.18*** \blacklozenge

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与空白组比较, $\Delta\Delta P<0.01$;与模型组比较, $\blacklozenge P<0.01$ 。

2.7 各组小鼠血清 SIL-2R、FGF-2 含量比较

与正常组比较,其余各组 SIL-2R、FGF-2 的含量均升高 ($P<0.01$);与空白组比较,模型组 SIL-2R、FGF-2 的含量均升高 ($P<0.01$);与模型组比较,中药组、阳性药物组 SIL-2R、FGF-2 的含量均降低 ($P<0.01$)。中药组与阳性药物组 SIL-2R、FGF-2 含量比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。详见表 6。

表 6 各组小鼠血清 SIL-2R 和 FGF-2 含量比较 ($n=10, \bar{x} \pm s, \text{pg/mL}$)

组别	SIL-2R	FGF-2
正常组	818.60±61.82	66.80±3.42
空白组	1063.80±45.33**	95.40±6.95**
模型组	1274.60±25.746*** $\Delta\Delta$	126.40±2.30*** $\Delta\Delta$
中药组	1055.60±24.39*** \blacklozenge	96.60±5.94*** \blacklozenge
阳性药物组	1093.80±49.27*** \blacklozenge	97.20±12.52*** \blacklozenge

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与空白组比较, $\Delta\Delta P<0.01$;与模型组比较, $\blacklozenge P<0.01$ 。

3 讨论

Visfatin 作用广泛,与肥胖、糖脂代谢紊乱、肝脏疾病的发展相关^[12-13]。RBP4 已被证实在 T2DM 中诱导胰岛素抵抗^[14]。Visfatin、RBP4 含量升高与胰岛素抵抗及脂代谢紊乱等情况关联密切,研究发现,血清中 Visfatin、RBP4 与 TG、LDL-C 均呈正相关^[15]。脂肪

细胞释放的脂肪因子,不仅参与细胞胰岛素信号的传导,也促进炎症因子的合成与分泌,研究发现,Visfatin 与 RBP4 呈正相关^[16]。Visfatin 可促进成纤维细胞生长因子 FGF2 的基因表达,Visfatin 的升高与几种促炎介质的上调有关,如白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)等^[17]。研究发现,T2DM 合并骨关节炎患者血清 FGF2 高表达,参与糖尿病骨关节炎的发生、发展,有望通过阻断或抑制 FGF2 的生成,预防或治疗糖尿病骨关节炎^[18]。在糖尿病视网膜病变患者血清中,SIL-2R、IL-6、IL-8 等炎症因子升高^[19]。SIL-2R 在重型肝炎合并肝肾综合征患者血清中明显升高^[20]。本研究发现,MKR 小鼠肝组织中 Visfatin、RBP4 的 mRNA 表达升高,伴随炎症因子(FGF2、SIL-2R)含量的增高,从而诱发慢性炎症,造成严重的肝损伤,左归降糖清脂方干预后,细胞损伤明显改善,空腹血糖浓度,血清中 AST、ALT 含量和血脂含量,RBP4 和 Visfatin 的 mRNA 表达水平,炎症因子 SIL-2R、FGF-2 含量均下降,故左归降糖清脂方能改善 T2DM 合并 NAFLD 的肝损伤,缓解肝脏脂肪性病变。

T2DM 合并 NAFLD 属中医学“消渴”“肝癖”“胁痛”“积聚”“痞满”等范畴。相关学者研究认为痰、湿、浊、瘀、热等内生之毒,涵盖脂毒、糖毒等物质基础,胶结壅滞,阻于肝络,最终“因毒致损”“毒损肝络”^[11,21-23]。本课题组前期文献、临床、实验等研究认为,T2DM 合并 NAFLD 的主要中医病机为肝肾阴虚、脾气亏虚(虚),湿热内蕴、痰瘀互结(毒、瘀),与“因毒致损”“毒损肝络”的病机认识具有一致性^[11,22-23]。课题组以扶正祛邪为治则,以滋阴益气、活血解毒立法,选用左归降糖清脂方治疗。滋阴益气、活血解毒的左归降糖清脂方化裁于明代医家张景岳的左归丸,方含熟地黄、黄芪、山药、山茱萸、黄连、丹参、茵陈、虎杖、郁金、陈皮。重用黄芪为君药,益气健脾、利水去浊;陈皮理气健脾、燥湿化痰;熟地黄补血滋阴、补精益髓以填肾之真阴;山药和山茱萸能补肝肾;黄连清热燥湿、泻火解毒;丹参活血化瘀;茵陈清湿热;虎杖清热解毒、祛风利湿、散瘀定痛;郁金行气活血。诸药合用,共奏滋阴益气、清热利湿、化痰消瘀之功效。现代药理研究发现,黄芪与山药配伍^[24]、黄芪单味^[25]、黄芪有效成分黄芪甲苷^[26]等均有改善糖尿病及其并发症病理损害的作用。左归降糖清脂方具有滋阴益气、

活血解毒之效,从根本上降低炎症反应及肝组织炎症因子 Visfatin、RBP4 的 mRNA 表达水平及血清 FGF2 和 SIL-2R 含量,从而改善肝损伤,缓解肝脏脂肪性病变。但 T2DM 合并 NAFLD 的分子机制复杂,目前未完全阐明。左归降糖清脂方对其他分子机制的影响,可在今后的研究中进一步探讨。

参考文献

- [1] NANDITHA A, MA R C, RAMACHANDRAN A, et al. Diabetes in Asia and the Pacific: Implications for the global epidemic[J]. *Diabetes Care*, 2016, 39(3): 472-485.
- [2] DU H Z, ZHAO Y R, YIN Z W, et al. The role of miR-320 in glucose and lipid metabolism disorder-associated diseases[J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2021, 17(2): 402-416.
- [3] 廖 涌.中国糖尿病的流行病学现状及展望[J].*重庆医科大学学报*,2015,40(7):1042-1045.
- [4] 杨依靠.Mt 功能变化和焦亡相关蛋白表达在 HEV 致肝脏损伤中的作用[D].北京:中国农业大学,2015.
- [5] MIKOLASEVIC I, MILIC S, TURK WENSVEEN T, et al. Non-alcoholic fatty liver disease: A multisystem disease[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2016, 22(43): 9488-9505.
- [6] 余红军,张福生.龙胆泻肝汤联合水飞蓟宾胶囊治疗非酒精性脂肪肝疗效观察[J].*新中医*,2017,49(2):45-47.
- [7] CHRISTENSEN C U, GLAVIND E, THOMSEN K L, et al. Niemann-Pick type C2 protein supplementation in experimental non-alcoholic fatty liver disease[J]. *PLoS One*, 2018, 13(3): e0192728.
- [8] DALLIO M, SANGINETO M, ROMEO M, et al. Immunity as cornerstone of non-alcoholic fatty liver disease: The contribution of oxidative stress in the disease progression[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(1): 436.
- [9] 潘 烜,穆 标.中药治疗非酒精性脂肪性肝病研究进展[J].*中国处方药*,2020,18(12):18-20.
- [10] 骆秀婷,林克宣.2 型糖尿病合并非酒精性脂肪性肝病患者的代谢情况分析[J].*中国冶金工业医学杂志*,2020,37(6):621-622.
- [11] 魏冠德.左归降糖清脂方调控 PPAR- α 、CYP2E1 表达改善 MKR 转基因鼠 2 型糖尿病合并脂肪肝的作用研究[D].长沙:湖南中医药大学,2012.
- [12] 栾青春,杨玉侠,邢运贞,等.妊娠期高血压疾病糖脂代谢及其与血清 Visfatin、RBP4 浓度的相关性分析[J].*中国妇幼健康研究*, 2021,32(7):991-994.
- [13] LIN T C. The role of visfatin in cancer proliferation, angiogenesis, metastasis, drug resistance and clinical prognosis [J]. *Cancer Management and Research*, 2019, 11: 3481-3491.
- [14] LIU C, ZHOU X R, YE M Y, et al. RBP4 is associated with insulin resistance in hyperuricemia-induced rats and patients with hyperuricemia[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2021, 12: 653819.
- [15] 黄 蓉.血清中胰岛素抵抗、脂代谢紊乱、Visfatin、RBP4 含量与妊娠期高血压疾病的相关性研究[D].昆明:昆明医科大学,2019.
- [16] MIHAI G, GASPARIK A I, PASCANU I M, et al. The influence of Visfatin, RBP-4 and insulin resistance on bone mineral density in women with treated primary osteoporosis[J]. *Aging Clinical and Experimental Research*, 2019, 31(6): 889-895.
- [17] DAKROUB A, NASSER S A, KOBEISSY F, et al. Visfatin: An emerging adipocytokine bridging the gap in the evolution of cardiovascular diseases[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2021, 236(9): 6282-6296.
- [18] 施伟丽.2 型糖尿病伴骨关节炎患者血清 VEGF、FGF2、CTGF、TGF- β 水平变化意义及临床实用价值[D].昆明:昆明医科大学, 2017:1-70.
- [19] DOGANAY S, EVEREKLIOGLU C, ER H, et al. Comparison of serum NO, TNF- α , IL-1 β , sIL-2R, IL-6 and IL-8 levels with grades of retinopathy in patients with diabetes mellitus[J]. *Eye*, 2002, 16(2): 163-170.
- [20] 陈晓春,李 宁,朱坚胜.前列地尔注射液辅助治疗对重型肝炎合并肝肾综合征患者血清 TNF- α 、 β 2-MG 及 sIL-2R 的影响[J].*中国生化药物杂志*,2016,36(6):73-75.
- [21] 于 森,朴春丽,南 征,等.2 型糖尿病胰岛素抵抗的肝内炎症发病机制与毒损肝络病机理论的相关性探讨[J].*中国中西医结合杂志*,2006,26(11):1032-1034.
- [22] 陈 聪,陈家旭,喻 嵘,等.左归降糖清脂方对 2 型糖尿病合并非酒精性脂肪性肝病 MKR 鼠肝组织 PI3K 信号通路的影响[J].*中华中医药杂志*,2021,36(1):106-111.
- [23] 程莉娟,成细华,喻 嵘,等.滋阴益气活血解毒法治疗 32 例 2 型糖尿病合并非酒精性脂肪肝的临床观察[J].*中华中医药杂志*, 2013,28(9):2807-2810.
- [24] 李 辉.黄芪、山药联合应用的中医饮食疗法对 2 型糖尿病患者治疗作用观察[D].济南:山东中医药大学,2019.
- [25] 马艳春,段 莹,胡建辉,等.黄芪治疗糖尿病及其并发症研究进展[J].*中医药学报*,2022,50(6):103-107.
- [26] 李 杨,王 凡,贾 宁.黄芪甲苷治疗糖尿病及其并发症药理作用研究[J].*黑龙江医学*,2019,43(1):96-97.

(本文编辑 周 旦)