

·方药研究·

本文引用:李 洵,王东生,姚 叶.葛根交泰丸对2型糖尿病大鼠血清炎症因子的影响[J].湖南中医药大学学报,2018,38(6):624-628.

葛根交泰丸对2型糖尿病大鼠血清炎症因子的影响

李 洵,王东生*,姚 叶

(中南大学湘雅医院中西医结合科,湖南 长沙 410008)

[摘要] **目的** 观察葛根交泰丸对2型糖尿病大鼠血清炎症因子的影响,探讨其治疗2型糖尿病的可能机制。**方法** 采用高脂高糖和小剂量链脲佐菌素(STZ)诱发2型糖尿病大鼠动物模型。将造模成功大鼠随机分为模型组,西药组,中药组,每组10只,另设健康大鼠10只为正常组。西药组予以罗格列酮4 mg/(kg·d)灌胃,中药组予以葛根交泰丸4.6 g/(kg·d)灌胃,正常组及模型组予以等容量生理盐水,每天1次。6周后,监测大鼠空腹血糖(FPG)、餐后2 h血糖(2 hPPG)、胰岛素敏感指数和血清炎症因子水平,并观察胰岛组织HE染色切片。**结果** 与正常组相比,模型组大鼠FBG、2 hPPG和血清炎症因子水平显著升高($P<0.01$, $P<0.05$),胰岛素敏感指数显著降低($P<0.01$, $P<0.05$),胰岛组织形态破坏严重。与模型组相比,葛根交泰丸组大鼠FPG、2 hPPG和血清炎症因子水平显著降低($P<0.01$, $P<0.05$),胰岛素敏感指数显著升高($P<0.01$, $P<0.05$),胰岛组织形态有明显改善。**结论** 葛根交泰丸的降糖作用机制可能与降低2型糖尿病大鼠血清炎症因子水平,进而改善胰岛素抵抗和修复受损胰岛组织细胞有关。

[关键词] 2型糖尿病;胰岛素抵抗;炎症因子;葛根交泰丸;血糖

[中图分类号] R285.5;R587.1

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2018.06.004

Effect of Gegen Jiaotai Pills on Inflammatory Factors of Type 2 Diabetes Rats

LI Xun, WANG Dongsheng*, YAO Ye

(Department of Integrated of Traditional Chinese and Western Medicine, Xiangya Hospital of Central South University, Changsha, Hunan 410008, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of Gegen Jiaotai pills on inflammatory factors of type 2 diabetes rats, and to explore possible action mechanism of Gegen Jiaotai pills in treating type 2 diabetes. **Methods** Type 2 diabetes mellitus rat model was established by high fat diet combined with intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ). The successful model rats were randomly divided into model group, Western medicine group and traditional Chinese medicine group, with 10 rats in each group. Another 10 healthy rats were set as normal group. Western medicine group was perfused with rosiglitazone 4 mg/(Kg·d), traditional chinese medicine group was perfused with Gegen Jiaotai pills 4.6 g/(Kg·d), normal and model groups were perfused with the same volume of saline as the criteria of body volume, once daily. After 6 weeks, the FBG, OGTT 2 h, insulin sensitivity index and inflammatory factors were measured in earch group, meanwhile the histopathological changes of pancreas was observed by HE staining. **Results** Compared with the normal group, the levels of FPG, OGTT 2 h and inflammatory factors in the model group increased obviously ($P<0.01$, $P<0.05$), while the insulin sensitivity index declined obviously ($P<0.01$, $P<0.05$), and the morphology of

[收稿日期] 2017-11-17

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81173198,81373554),国家科技部国际合作计划(2010DFA32370)。

[作者简介] 李 洵,男,在读硕士研究生,主要研究方向为糖尿病的中医药防治。

[通讯作者] *王东生,男,教授,博士研究生导师,E-mail:wdsh666@126.com。

pancreas was seriously damaged in model group. Compared with the model group, the levels of FPG, OGTT 2 h and inflammatory factors decreased obviously ($P<0.01$, $P<0.05$), the insulin sensitivity index elevated obviously ($P<0.01$, $P<0.05$), and the morphology of pancreas islet were significantly improved. **Conclusion** The hypoglycemic effect of Gegen Jiaotai pills may be related to reducing the level of inflammation factors of type 2 diabetes rats for improving insulin resistance and protecting the impaired pancreas.

[**Keywords**] type 2 diabetes; insulin resistance; inflammation factors; Gegen Jiaotai pills; blood glucose

糖尿病是一种因胰岛素分泌缺陷和/或胰岛素作用不足以致慢性高血糖为特征的代谢性疾病。糖尿病的患病率逐年上升,已成为全球非传染性疾病中最具流行性的疾病,而糖尿病中以2型为主,占比超过90%^[1]。2型糖尿病病因复杂,发病机制至今尚未完全阐明,近年来炎症学说备受关注,认为2型糖尿病是一种自然免疫和低度炎症性疾病^[2]。目前多种具有抗炎作用机制的活性小分子药物已经上市或进入临床研究阶段,这些药物单独治疗或与传统降糖药物联用治疗糖尿病均取得了令人满意的效果,显示了糖尿病抗炎治疗的前景^[3]。葛根交泰丸由葛根30 g,黄连10 g,肉桂5 g组成,是中南大学湘雅医院中西医结合科王东生教授自拟方,具有清火壮水、生津润燥和平衡阴阳的功效,临床运用该方治疗2型糖尿病具有良好的降糖效果,但其具体作用机制并不明确。本研究通过动物试验来观察葛根交泰丸对2型糖尿病大鼠血清炎症因子的影响,探讨其治疗2型糖尿病的可能机制,并为其临床应用提供试验依据。

1 材料

1.1 动物与饲料

SPF级雄性Sprague-Dawley(SD)大鼠40只,6周龄,体质量180~220 g,购于湖南斯莱克景达公司,饲养于中南大学湘雅医学院动物实验中心屏障环境内,动物许可证号:SYXK(湘)2015-0017。饲养条件:每笼2~3只,自由进水、进食,温度为(22±5)℃,湿度50%,光照时间12 h/d。SPF级普通饲料及高糖高脂饲料(58.75%普通饲料、20%猪油、10%蔗糖、10%蛋黄粉、1%胆固醇、0.25%胆酸钠),购于北京科澳协力饲料有限公司。所有动物实验均经过中南大学湘雅医学院实验动物福利伦理审查委员会批准。

1.2 药物与试剂

葛根交泰丸原方购自中南大学湘雅医院中药房,由葛根30 g,黄连10 g,肉桂5 g组成,水煎2次,混合滤过后浓缩为1 g/mL,灭菌后置于-4℃冰箱保存。链脲佐菌素(STZ),美国Sigma公司生产,批号415G034;马来酸罗格列酮,上海源叶有限公司,批号D13M6H1;水合氯醛,北京吉美生物技术有限公司,批号20160705;柠檬酸与柠檬酸三钠,上海沪宇生物科技有限公司,批号20160406;胰岛素、CRP、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、MCP-1、瘦素、PAI-1 Total抗体,美国EMD Millipore公司。

1.3 主要仪器

瑞特GM300型血糖仪,台湾华广生物技术有限公司;Buchi R3型旋转蒸发器,瑞士Buchi公司;pl303型电子天平,瑞士Buchi公司;YXQ-LS-50SII型立式压力蒸汽灭菌器,上海博讯实业有限公司设备厂;雷磁PHS-3C型PH计,上海仪电科学仪器股份有限公司;XW-80型涡旋混匀器,上海第一医科大学化器厂;TDL-46RC型普速低温离心机,上海中科生物医药公司;Lumine \times 200型液相芯片分析系统,美国Luminex公司。

2 方法

2.1 造模与分组

雄性SD大鼠40只,适应性喂养7 d后,随机选取10只为正常组,余大鼠采用高脂高糖和小剂量链脲佐菌(STZ)诱发2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus T2DM)大鼠动物模型^[4]。正常组予以普通饲料喂养,其他组以高脂饲料喂养,42 d后,T2DM造模大鼠按35 mg/kg腹腔注射1% STZ溶液(STZ溶解于pH4.4的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液中,避光冰浴,30 min内用完),正常组腹腔注射等体积的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液。3 d后禁食8 h尾静脉测空腹血糖,连续7 d

监测空腹血糖,待血糖稳定且值大于 16.7 mmol/L 后提示造模成功。造模成功后随机分为 3 组:模型组、罗格列酮组、葛根交泰丸剂量组,每组 10 只。

2.2 干预与标本收集

给药量按陈奇所著《中药药理研究方法学》中大鼠与人体表面积系数折算,正常组及模型组均予以等容量生理盐水,罗格列酮组予以罗格列酮 4 mg/(kg·d)灌胃,葛根交泰丸剂量组予以 4.6 g/(kg·d)灌胃,各组每日灌胃 1 次,连续灌胃给药 42 d,给药容积为 10 mL/kg。给药 42 d 后,10%水合氯醛 3 mL/kg 腹腔麻醉,心脏采血,真空肝素管收集血样,室温下静置 1 h,3 000 r/min 离心 10 min,取上层血清-80 °C 保存备用。取大鼠胰腺,置于 10%的甲醛溶液固定,常温保存。

2.3 指标检测

血糖检测:第 42 天,禁食不禁水 8 h,尾静脉取空腹血测血糖(空腹血糖,fasting plasma glucose, FPG)后予以无水葡萄糖 2 g/kg 灌胃(口服糖耐量试验,oral glucose tolerance test,OGTT),2 h 后复测血糖(餐后 2 h 血糖,2 h-postprandial plasma glucose, 2 hPPG)。胰岛素敏感性指数利用定量胰岛素敏感性评价指标(quantitative insulin sensitivity check index,QUICKI)评定,根据公式 $QUICKI=1/[\log(I_0)+\log(G_0)]$ 计算, I_0 代表空腹胰岛素含量($\mu\text{U}/\text{mL}$), G_0 代表空腹血糖浓度(mg/dL)。采用 Milliplex 多功能液相芯片分析技术检测血清空腹胰岛素、C 反应蛋白(C-reactive protein,CRP)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α ,TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β ,IL-1 β)、白细胞介素-6(interleukin-6,IL-6)、单核细胞趋化因子 1(monocyte chemoattractant protein,MCP-1)、瘦素(Leptin)、纤溶酶原激活物抑制因子(plasminogen activator inhibitor-1,PAI-1)。胰腺组织 HE 染色:

10%的甲醛溶液固定后的胰腺组织,酒精脱水、二甲苯透明、石蜡包埋后常规切片,脱蜡、苏木素染色后伊红复染,重复脱水及透明步骤,树胶固定后,光学显微镜下观察胰腺组织的结构变化。

2.4 统计学分析

采用 SPSS 22.0 统计学软件,各组间比较采用单因素方差分析法(满足正态分布且方差齐性),或采用 *Kruskal-Wallis H* 检验法(未满足正态分布且方差齐性),检验所有计量资料均用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 葛根交泰丸对大鼠 FBG、2 hPPG 血糖和 QUICKI 的影响

见表 1,与正常组相比,模型组 FBG、2 hPPG 血糖显著升高,QUICKI 显著降低,差异有统计学意义($P<0.01$),提示 2 型糖尿病大鼠造模成功;与模型组相比,罗格列酮组和葛根交泰丸组 FBG、2 hPPG 血糖显著降低,QUICKI 显著升高,差异有统计学意义($P<0.01$, $P<0.05$),提示罗格列酮和葛根交泰丸可以明显降低 T2DM 大鼠血糖,提高 T2DM 大鼠胰岛素敏感性;与罗格列酮组相比,葛根交泰丸组 FBG 血糖显著降低,差异有统计学意义($P<0.01$),葛根交泰丸组 2 hPPG 血糖和 QUICKI 无统计学差异,提示葛根交泰丸对 T2DM 大鼠降糖和改善胰岛素抵抗作用与罗格列酮相当,甚至优于罗格列酮。

3.2 葛根交泰丸对大鼠胰腺病理结构的影响

见图 1,正常组大鼠胰岛为椭圆形细胞团,边界清楚,岛型丰满,胰岛细胞数较多,分布均匀且形态规则;模型组大鼠胰岛明显萎缩,形态不规则,胰岛细胞数目减少,部分细胞胞浆内有空泡变性,细胞核固缩;罗格列酮组大鼠胰岛边界较为清晰,胰岛细胞

表 1 各组 FBG、2 hPPG 和 QUICKI 的比较

组别	<i>n</i>	FBG/mm $\text{ol}\cdot\text{L}^{-1}$	2 hPPG/mm $\text{ol}\cdot\text{L}^{-1}$	QUICKI 指数
正常组	9	5.03 \pm 0.46	7.58 \pm 1.26	0.445 \pm 0.041
模型组	7	20.54 \pm 1.25**	24.56 \pm 2.93**	0.386 \pm 0.043**
罗格列酮组	8	17.48 \pm 1.30*** $\Delta\Delta$	21.31 \pm 2.11*** $\Delta\Delta$	0.443 \pm 0.040 $\Delta\Delta$
葛根交泰丸组	8	15.71 \pm 2.54*** $\Delta\Delta\blacktriangle$	19.18 \pm 2.51*** $\Delta\Delta$	0.441 \pm 0.031 Δ
<i>F</i>		156.8	92.04	3.859
<i>P</i>		<0.001	<0.001	0.020

注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较, Δ $P<0.05$, $\Delta\Delta$ $P<0.01$;与罗格列酮组比较, \blacktriangle $P<0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle$ $P<0.01$ 。

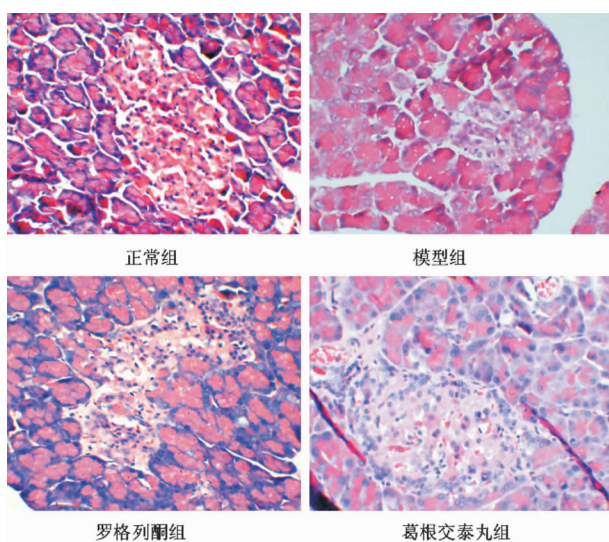


图 1 各组大鼠胰腺病理组织图 (HE,×400)

数量较多,少量细胞胞浆内有空泡变性;葛根交泰丸组大鼠胰岛边界相对清晰,岛组织较完整,形态较圆润,岛细胞数量较多,体积相对正常;提示罗格列酮和葛根交泰丸可以保护胰岛细胞,对胰岛组织形态有修复作用。

3.3 葛根交泰丸对大鼠血清炎症因子的影响

见表 2,与正常组比较,模型组 CRP、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、MCP-1、Leptin、PAI-1 水平显著升高,差异有统计学意义($P<0.01$);与模型组比较,罗格列酮组与葛根交泰丸组 CRP、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、MCP-1、Leptin、PAI-1 水平显著降低,差异有统计学意义($P<0.01$)。

表 2 各组大鼠血清炎症因子的比较

($\bar{x}\pm s$)

组别	nCRP/ng·mL ⁻¹	TNF- α /pg·mL ⁻¹	IL-6/pg·mL ⁻¹	IL-1 β /pg·mL ⁻¹	MCP-1/ng·mL ⁻¹	Leptin/pg·mL ⁻¹	PAI-1/pg·mL ⁻¹
正常组	9 158±35.6	0.45±0.70	3.74±0.44	53.20±2.84	139.7±12.03	2 266±325.6	54.54±3.02
模型组	7 385±20.0**	1.98±1.42**	8.54±0.26**	151.0±9.90**	180.9±32.30**	3 261±196**	125±4.22**
罗格列酮组	8 278±31.8** $\Delta\Delta$	0.14±0.10** $\Delta\Delta$	5.46±0.27** $\Delta\Delta$	87.38±4.07** $\Delta\Delta$	159.7±12.59** $\Delta\Delta$	2 218±265 $\Delta\Delta$	70.88±3.98 $\Delta\Delta$ **
葛根交泰丸组	8 251±33.1** $\Delta\Delta$	0.34±0.36** $\Delta\Delta\Delta\Delta$	5.51±0.40** $\Delta\Delta$	83.74±2.83** $\Delta\Delta$	143.4±1.97** $\Delta\Delta\Delta\Delta$	2 343±295.7 $\Delta\Delta$	72.34±18.29** $\Delta\Delta\Delta\Delta$
<i>F</i>	74.53	7.645	248.8	400.1	7.448	23.03	110.3
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较, Δ $P<0.05$, $\Delta\Delta$ $P<0.01$;与罗格列酮组比较, $\Delta\Delta$ $P<0.05$, $\Delta\Delta\Delta\Delta$ $P<0.01$ 。

4 讨论

胰岛素抵抗和 β 细胞功能缺陷导致不同程度的胰岛素缺乏是 2 型糖尿病发病的两个主要环节,炎症反应不单可导致胰岛素抵抗,亦能引起 β 细胞功能和结构障碍,致使胰岛素的合成减少和分泌障碍,甚至导致 β 细胞凋亡。2 型糖尿病发病机制牵涉众多的炎症通路,仅靠观察一种炎症因子并不足以反映整体的炎症程度^[2]。大量文献表明 CRP、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、MCP-1、leptin、PAI-1 这些炎症因子均能直接或通过相互作用导致胰岛素抵抗和胰岛细胞凋亡^[25-11],因此降低上述炎症因子水平能起到提高胰岛素敏感性和保护胰岛细胞存活的作用。

糖尿病属于中医学“消渴病”范畴,其发病机制以“热”为关键。《黄帝内经》和《诸病源候论》分别指出热消水谷则多食、热消津液则多饮,都说明了热气煎灼是导致消渴的主要病机。《金匱要略》谈到“消渴”因肾阳衰微,既不能蒸腾津液以上润,又不能化

气以摄水,所以饮一斗,小便亦一斗,是为肾寒,火虚不能化水。因而消渴病病机为热火内盛,耗伤阴津,致津液亏损,脏腑失养,病久阴损及阳,阴阳两虚。故治疗消渴须从阴阳立论,调整水火之平衡^[12]。交泰丸首见于明代韩懋所著的《韩氏医通》,其记载有“黄连生用为君,佐官桂少许,煎百沸,入蜜,空心服,能使心肾交于顷刻”,指出该方具有清火壮水、交通心肾的作用。清代王世雄在其《四科简效方》中始为其命名为交泰丸,并给出了药物配伍剂量及具体主治。其书云“生川连五钱,肉桂心五分,研细,白蜜丸,空心淡盐汤下,治心肾不交,怔忡不寐,名交泰丸。”交泰丸上清心火,下壮肾水,善治水火未济,正好与消渴病热盛阴虚、水火不济病机相吻合,基于异病同治理论,交泰丸具有治疗消渴病的理论基础。葛根是治疗消渴的常用药,《神农本草经》《本草纲目》均谓其“主治消渴”,许多古方中都用葛根来治疗消渴。后世医家对葛根生津止渴、主治消渴作用做了大量论述,有的认为葛根可直接生津液,填充胃阴或者以其升散

之性,鼓舞胃气,通过气化以生胃津;还有的认为葛根通过与芩连配伍达到撤热保津的作用^[13]。葛根交泰丸是中南大学湘雅医院中西医结合科王东生教授治疗糖尿病经验方,方中君药黄连味苦性寒,善泻心肝胃之火,为治心火亢盛之要药;臣药葛根善除阳明内热,可生津润燥,亦能制约黄连苦寒伤津的燥性;肉桂具有补火助阳、温经散寒和引火归源的功效,少量佐使之,既可温肾阳补肾水,又可制黄连之苦寒,使泄火而无凉遏之弊;针对糖尿病水火未济、阴阳失衡病机,整方共奏清热养阴、互济水火和平衡阴阳之功。交泰丸、葛根、黄连、肉桂及其有效成分分别在现代试验研究中均表现出良好的降糖效果,其可能机制与改善胰岛素抵抗和保护胰岛细胞存活相关^[14-16],但葛根交泰丸复方治疗糖尿病的相关试验研究较少。

针对2型糖尿病两大主要发病机制,本研究选取与胰岛素抵抗和 β 细胞存活关系最为密切的炎症因子作为观察对象。试验结果表明,和正常组相比,模型组FBG和2 hPPG血糖显著升高,胰岛素敏感指数显著降低($P<0.01$),血清炎症因子水平显著升高($P<0.01$),胰岛组织形态破坏严重;和模型组相比,葛根交泰丸组FBG和2 hPPG血糖显著降低,胰岛素敏感指数显著上升($P<0.01, P<0.05$),血清炎症因子水平显著降低($P<0.01$),胰岛细胞数目较多,胰岛组织形态较完整。因此猜测2型糖尿病大鼠血清炎症因子水平升高导致胰岛素抵抗和胰岛组织细胞损伤,进而升高大鼠血糖;葛根交泰丸通过降低2型糖尿病大鼠血清炎症因子水平,发挥改善胰岛素抵抗和修复受损胰岛组织细胞的作用,进而降低大鼠血糖。综上所述,葛根交泰丸的降糖作用机制可能与降低血清炎症因子水平,从而增强胰岛素敏感性和保护胰岛组织细胞有关。

参考文献:

- [1] ASSOCIATION A D. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus[J]. *Diabetes Care*, 2013, 36(Supplement1):S67-S74.
- [2] AKASH M, REHMAN K, CHEN S. Role of inflammatory mechanisms in pathogenesis of type 2 diabetes mellitus[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2013, 114(3):525-531.
- [3] 王颖,王兴亚.抗炎药物用于2型糖尿病预防与治疗的研究进展[J]. *药学进展*, 2016, 40(3):178-188.
- [4] 邵俊伟,蔡逸,马丹丹,等.SD大鼠2型糖尿病模型的建立与评价[J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2014, 21(10):1212-1215.
- [5] XI L, XIAO C, BANDSMA R. C-reactive protein impairs hepatic insulin sensitivity and insulin signaling in rats: Role of mitogen-activated protein kinases[J]. *Hepatology*, 2011, 53(1):127-135.
- [6] FASSHAUER M, BLÜHER M. Adipokines in health and disease [J]. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2015, 36(7):461-470.
- [7] RABE K, LEHRKE M, PARHOFER K G, et al. Adipokines and insulin resistance[J]. *Molecular Medicine*, 2008, 14(11/12):741-751.
- [8] KANDA H. MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2006, 116(6):1494-1505.
- [9] LONTCHI-YIMAGOU E, SOBNGWI E, MATSHA T E, et al. Diabetes Mellitus and Inflammation[J]. *Current Diabetes Reports*, 2013, 13(3):435-444.
- [10] LI-JUN M A, MAO S, KEVIN L. TAYLOR, et al. Prevention of Obesity and Insulin Resistance in Mice Lacking Plasminogen Activator Inhibitor 1[J]. *DIABETES*, 2004, 53(2):336-346.
- [11] 伟胡,蝶喻,成细华,等.左归复方对MKR小鼠血糖血脂及炎症因子CRP、IL-6、TNF- α 的影响[J]. *湖南中医药大学学报*, 2009, 29(2):14-16.
- [12] 钟伟才,朱国福,李文龙,等.消渴病病因病机探讨[J]. *时珍国医国药*, 2012, 23(7):1770-1772.
- [13] 张胜,秦竹,熊洪艳,等.葛根在治消渴方中的配伍应用浅析[J]. *吉林中医药*, 2009, 29(2):164-165.
- [14] 张建永,张滨,段灿灿.交泰丸治疗糖尿病的理论基础及应用[J]. *世界中医药*, 2016, 11(3):554-557.
- [15] 刘思洋,赵兴冉,顾健,等.葛根黄连有效组分配伍抗2型糖尿病机制初步研究[J]. *中药材*, 2016, 39(3):641-644.
- [16] 汪健红,陆付耳,董慧.肉桂治疗糖尿病的研究进展[J]. *中西医结合研究*, 2011, 3(1):25-27, 41.

(本文编辑 杨 瑛)