

文章编号:1001-6880(2016)12-1896-08

翻白草水提物对 2 型糖尿病大鼠胰岛形态及功能的保护机制研究

丁海波¹, 郑宇栋¹, 徐 杏¹, 陈 曦¹, 刘 莲¹, 陈 广², 黄江荣^{1*}¹长江大学医学院, 荆州 434023; ²华中科技大学同济医学院附属同济医院中西医结合科, 武汉 430030

摘要: 观察翻白草水提液对 2 型糖尿病大鼠胰岛形态及功能保护作用及机制。采用高脂乳剂灌胃加低剂量链脲佐菌素, 建立 2 型糖尿病模型。生化技术检测血糖和血脂, ELISA 检测血胰岛素含量, HE 染色观察动物胰腺形态, 免疫组化检测胰岛素、FoxO1 及其磷酸化的表达。结果翻白草水提物可降低 2 型糖尿病大鼠血糖和总 TC, 促进胰岛素释放。光镜下胰岛素表达增加, 胰岛 β 细胞核内 FoxO1 表达减少, 包浆中 p-FoxO1 表达增加。翻白草水提液通过降低 FoxO1, 增加 FoxO1 的磷酸化表达, 调控胰腺 β 细胞数量和功能, 对 2 型糖尿病大鼠胰腺细胞具有保护作用。

关键词: 胰腺; 翻白草水提液; 2 型糖尿病; 保护作用; FoxO1

中图分类号:R961.1

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.11.008

Protection Mechanism of *Potentilla discolor* Aqueous Extract on the Morphology and Function of Type 2 Diabetic Rats Islet

DING Hai-bo¹, ZHENG Yu-dong¹, XU Xing¹, CHEN Xi¹, LIU Lian¹, CHEN Guang², HUANG Jiang-rong^{1*}¹Medical School of Yangtze University, Jingzhou 434023, China; ²Department of Integrative Traditional & Western Medicine, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science & Technology, Wuhan 430030, China

Abstract: To observe the protective effect of *Potentilla discolor* aqueous extract for type 2 diabetic rats islet. Type 2 diabetes rat model was induced by fat emulsion formulation and small dose of streptozocin. Biochemical assay was applied to measure serum glucose, total cholesterol (TC), high density lipoprotein (HDL), low density lipoprotein (LDL) and triglycerides (TG). ELISA was applied to measure serum insulin levels. Pancreatic histology was examined by HE staining. Immunohistochemistry (IHC) was employed to examine Forkhead box O 1 (FoxO1), p-FoxO1 and insulin protein expression. *P. discolor* aqueous extract groups significantly decreased random blood glucose and TC levels, increased insulin expression, promoted the release of insulin, decreased the expression of FoxO1 protein in the nucleus, induced the phosphorylation of FoxO1 protein and its getting out of the nucleus. *P. discolor* aqueous extract played a protective role for type 2 diabetic rats islet cell. The mechanism may be related to decrease FoxO1 expression and increase p-FoxO1, which further increase the number and improve the function of β cells.

Key words: pancreas; *Potentilla discolor* aqueous extract; type 2 diabetic; protective effect; FoxO1

糖尿病是最常见的慢性病之一。2013 年调查结果显示^[1], 中国成年人糖尿病患病率已经上升至 11.6%, 患病人数估计达到 1.13 亿, 占全球患病人数的 1/3。2 型糖尿病 (Type 2 Diabetes Mellitus, T2DM) 患者占到糖尿病患病人数的 90% 以上。根据 WHO 公布的数据, 糖尿病已经成为继肿瘤

和心脑血管疾病后, 威胁人类健康和生命安全的第三位重大疾病。

T2DM 属于中医“消渴”范畴, 传统中医认为消渴病病机是“阴虚为本, 燥热为标”。翻白草 (*Potentilla discolor* Bunge, PDB) 是薔薇科植物, 功用为清热解毒, 止痢止血, 可清除消渴患者的燥热, 燥热既除, 则津液自生, 达到清热生津之目的, 故能有效缓解消渴的症状。民间有翻白草泡水治疗糖尿病的偏方。目前有关翻白草降糖的研究较多, 其降糖机制主要与其能改善胰岛素抵抗, 提高抗氧化应激功能,

收稿日期:2016-5-3 接受日期:2016-09-02

基金项目:湖北省自然科学基金(2015CFB320);长江大学 2014 年大学生创新创业训练计划(104892014037);荆州市医疗卫生科技计划(2014-17)

* 通讯作者 Tel:86-716-8061435; E-mail:hjiangrong@126.com

改善脂代谢紊乱,提高一氧化氮酶活性等^[2-5]有关。韩永明等^[6]研究了翻白草水煎液对糖尿病大鼠胰岛 β 细胞损伤的保护作用,然而机制尚不清楚。为深入了解翻白草降糖作用机制,本研究通过动物实验探讨翻白草水提物对2型糖尿病大鼠胰腺的保护作用及机制研究。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF级4周龄雄性SD大鼠,120~140 g,购于湖北省实验动物中心,许可证号:SCXK(鄂)2015-0018。

1.2 实验药物

翻白草经荆州市中医院药剂科王世华副主任药师鉴定为中药翻白草生药全草正品。药材提取方法均为水提取液,提取方法参照文献^[3]。盐酸二甲双胍(中美上海施贵宝制药有限公司,批号:20023370)。

1.3 试剂

链脲佐菌素(streptozocin, STZ)(美国Sigma公司,批号:S0130);胆固醇(上海国药集团,批号:20100624);胆酸钠(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号:B1227012);丙基硫氧嘧啶(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号:24898446);总胆固醇、高密度脂肪酸、低密度脂肪酸、甘油三酯和血糖试剂盒(上海名典生物工程有限公司,批号:011M15003, 02815014, 02915006, 010M15023, 016M15028);大鼠胰岛素ELISA试剂盒(瑞典Mercodia公司,24703);FoxO1单克隆抗体(abcam, ab52857);p-FoxO1多克隆抗体(abcam, ab131339);胰岛素多克隆抗体(Sigma-Aldrich, I2018)。

1.4 仪器

T6紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);酶标仪(Bio-Tek EXL-800);DXC800全自动生化分析仪(美国贝克曼公司);低温超速离心机(Thermo Fisher);倒置显微镜及DS-Ri1数码现为成像系统(Nikon);自动脱水机(Leica ASP300s);石蜡包埋机(EG1150)。

1.5 实验方法

1.5.1 高脂乳剂的配置

见参考文献^[7],猪油20 g,蛋黄粉5 g,胆固醇5 g,胆酸钠2 g,丙基硫氧嘧啶1 g,加热搅拌溶解后加吐温-80 20 mL搅匀,再缓慢加入丙二醇20 mL和沸

水30 mL的混合液,充分搅拌乳化,使其成为100 mL左右的乳化剂,制成功后放入冰箱冷藏保存,临用时加热乳化即可。

1.5.2 翻白草水煎液的制备

见参考文献^[3],取翻白草药材的干燥全草,粉碎,按照1:10的比例加入清水在煎煮前浸泡2 h,煎煮3次,加水量分别为生药体积的10倍量、10倍量以及8倍量,煎煮时间分别为2、2、1.5 h,滤过,合并3次煎煮所得滤液,浓缩至稠膏,70 °C真空干燥,粉碎,过80目筛,即1 g提取物相当于生药5.95 g。

1.5.3 模型制备、给药及分组

50只大鼠SD雄性大鼠,适应性喂养一周后,随机分为10只对照组和40只高脂乳剂组,对照组灌生理盐水,给药容积为10 mL/kg。饮食均为正常饮食。连续灌胃四周后,取大鼠眼底静脉血,测总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)和甘油三酯(TG)。当血脂显著高于对照组时,大鼠腹腔注射STZ(35 mg/kg,由pH 4.4的枸橼酸盐缓冲液配制)制糖尿病模型,对照组仅注射等容积的柠檬酸缓冲液。72 h后以随机血糖≥16.7 mmol/L作为初选动物,血糖稳定一周后分组,最终糖尿病模型动物共29只,成模率为72.5%。糖尿病动物随机分4组,每组7只,及模型组、阳性对照组(盐酸二甲双胍,0.2 g/kg)、翻白草水提物低剂量组和高剂量组(以生药计算1 g/kg和4 g/kg)。正常组和模型组予以等体积的生理盐水,灌胃给药,每天1次,4周后取眼底静脉血,测血糖和血脂。

1.5.4 血糖血脂检测

常规生化指标检测,见试剂盒说明书。

1.5.5 胰岛素浓度检测

按照Mercodia大鼠胰岛素ELISA试剂盒说明书进行操作(组间和组内变异系数分别为3.2%和2.8%)。

1.5.6 腹腔糖耐量实验(Intraperitoneal glucose tolerance test, IPGTT)

参考文献^[8],大鼠禁食不禁水12 h,腹腔注射葡萄糖溶液2 g/kg,并于给药后0、30、60、90和120 min经眼眶后静脉丛取血,离心取血清测血糖,计算血糖曲线下面积(area under the curve, AUC),并用ELISA法测定胰岛素,计算胰岛素释放AUC。

1.5.7 胰腺病理形态学

胰腺组织在中性甲醛室温固定48 h后,脱水浸蜡包埋,每个蜡块连续切片,并按顺序编号。分别做

HE 染色,胰岛素、叉头转录因子 1 (Forkhead box O 1, FoxO1) 和 p-FoxO1 免疫组化。

1.5.8 统计学分析

数据统计采用 SPSS 17.0 软件包进行分析。计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。同一性别的两组样本均数若符合正态分布,则采用独立样本 *t* 检验比较;若不符合正态分布,则采用非参数检验进行比较。以 $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 实验结果

2.1 翻白草水提物对 2 型糖尿病大鼠一般情况及体重的影响

造模前,动物精神状态良好,毛色光泽,体形健壮,大便颗粒成型。造模成功后,糖尿病模型大鼠毛

色晦暗,形体消瘦,饮水量及尿量明显增多,大便呈糊状。予以翻白草水提物治疗 4 周后,大鼠精神状态有所好转,尿量明显减少。

与正常对照组相比,高脂饮食 4 周时,模型组各组动物体重均有降低趋势,但未见统计学差异。翻白草水提物治疗 4 周,各组体重均明显降低 ($P < 0.05$);与模型组相比,各组体重未见改变。体重变化见表 1。

2.2 翻白草水提物对 2 型糖尿病大鼠随机血糖的影响

治疗前,与正常对照组相比,各组随机血糖均显著增加 ($P < 0.01$);治疗后,与模型组相比,翻白草水提物治疗组随机血糖显著降低 ($P < 0.01$),组间未见统计学改变。结果见表 2。

表 1 各组大鼠体重变化比较 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Table 1 The weight change in different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	体重 Weight (g)					
		第 0 周 0 week	第 1 周 1 week	第 2 周 2 week	第 4 周 4 week	第 6 周 6 week	第 8 周 8 week
正常对照组 Control		155.2 \pm 5.7	175.3 \pm 9.2	212.3 \pm 14.6	241.3 \pm 15.3	288.9 \pm 22.2 **	333.4 \pm 29.2 *
模型组 Model		151.5 \pm 4.1	167.2 \pm 5.3	197.9 \pm 17.3	226.5 \pm 17.9	236.4 \pm 7.5	278.7 \pm 30.1
二甲双胍组 Metformin	0.2	151.8 \pm 7.5	170.7 \pm 8.9	201.9 \pm 12.7	221.9 \pm 13.1	227.3 \pm 8.2	264.1 \pm 14.2
翻白草水提取物低剂量组 <i>P. discolor</i> -L	1	151.1 \pm 6.1	171.1 \pm 9.1	208.6 \pm 14.8	227.3 \pm 20.9	232.5 \pm 20.1	265.5 \pm 28.1
翻白草水提取物高剂量组 <i>P. discolor</i> -H	4	151.3 \pm 4.1	174.2 \pm 9.7	207.3 \pm 17.2	224.3 \pm 21.7	231.7 \pm 13.1	282.3 \pm 28.6

注:与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 2 各组大鼠随机血糖比较 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Table 2 The content of random blood glucose in different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	随机血糖 Random blood glucose (mmol/L)	
		治疗前 Before administration	治疗后 After administration
正常对照组 Control		6.01 \pm 0.61	6.58 \pm 0.21 **
模型组 Model		23.47 \pm 3.13 ▲▲	23.96 \pm 1.26
二甲双胍组 Metformin	0.2	23.86 \pm 4.63 ▲▲	9.29 \pm 2.82 **
翻白草水提取物低剂量组 <i>P. discolor</i> -L	1	23.76 \pm 1.58 ▲▲	8.16 \pm 1.67 **
翻白草水提取物高剂量组 <i>P. discolor</i> -H	4	24.63 \pm 2.21 ▲▲	8.58 \pm 2.37 **

注:与对照相比, ▲▲ $P < 0.01$;与模型组比较, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with control group, ▲▲ $P < 0.01$; Compared with model group, ** $P < 0.01$.

2.3 翻白草水提物对 2 型糖尿病大鼠血脂的影响

治疗前,与正常对照组相比,各组大鼠血清中 TC、LDL 和 TG 显著增加,差异均具有统计学意义

($P < 0.05, P < 0.01$);治疗后,与正常对照组相比,各组大鼠 TG 含量依旧增加 ($P < 0.05, P < 0.01$)。与模型组相比,翻白草水提物治疗组大鼠血清 TC

显著降低($P < 0.05$)，差异均具有统计学意义。血

结果见表3。

表3 各组大鼠血脂比较($\bar{x} \pm s, n=7$)
Table 3 The content of blood lipid in different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n=7$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	TC (mmol/L)		HDL (mmol/L)		LDL (mmol/L)		TG (mmol/L)	
		治疗前 Before	治疗后 After	治疗前 Before	治疗后 After	治疗前 Before	治疗后 After	治疗前 Before	治疗后 After
正常对照组 Control		2.19 ± 0.15	2.11 ± 0.16	1.41 ± 0.16	1.27 ± 0.11	0.34 ± 0.05	0.32 ± 0.05	0.61 ± 0.09	0.59 ± 0.12
模型组 Model		3.69 ± 0.46▲▲	2.31 ± 0.22	1.51 ± 0.33	1.35 ± 0.16	0.46 ± 0.12▲	0.35 ± 0.04	0.82 ± 0.18▲	0.78 ± 0.15▲
二甲双胍组 Metformin	0.2	3.37 ± 0.49▲▲	1.96 ± 0.12**	1.42 ± 0.12	1.29 ± 0.03	0.48 ± 0.11▲	0.29 ± 0.07	0.74 ± 0.11▲	0.75 ± 0.09▲
翻白草水提取物低剂量组 <i>P. discolor</i> -L	1	3.83 ± 0.65▲▲	1.94 ± 0.14**	1.45 ± 0.44	1.33 ± 0.07	0.52 ± 0.07▲▲	0.31 ± 0.04	0.76 ± 0.12▲	0.69 ± 0.04▲
翻白草水提取物高剂量组 <i>P. discolor</i> -H	4	3.59 ± 0.63▲▲	1.99 ± 0.14*	1.47 ± 0.35	1.28 ± 0.11	0.52 ± 0.11▲▲	0.28 ± 0.04	0.78 ± 0.16▲	0.66 ± 0.15▲

注:与对照相比,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with control group, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$; Compared with model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

2.4 翻白草水提物对2型糖尿病大鼠葡萄糖耐量实验(IPGTT)的影响

与模型组相比,治疗组在30、60、90 min和120 min血糖及曲线下面积AUC均呈显著性降低($P < 0.05, P < 0.01$),组间未见统计学改变。结果见表

4. 与模型组相比,治疗组仅在30 min血胰岛素含量增加($P < 0.01$),胰岛素释放量曲线下面积AUC仅翻白草水提物高剂量组(4 g/kg)出现显著性增加($P < 0.05$),组间未见统计学改变。结果见表5。

表4 各组大鼠IPGTT 血糖及AUC比较($\bar{x} \pm s, n=7$)

Table 4 The content of blood glucose in intra-peritoneal glucose tolerance test and area under curve of rats

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	血糖 Blood glucose (mmol/L)					AUC (h · mmol/L)
		0 min	30 min	60 min	90 min	120 min	
正常对照组 Control		5.24 ± 0.68**	11.92 ± 1.64**	8.75 ± 0.94**	7.38 ± 0.74**	6.42 ± 0.71**	16.94 ± 1.99**
模型组 Model		20.12 ± 4.74	33.67 ± 6.89	35.74 ± 7.23	30.59 ± 6.35	28.32 ± 5.78	62.44 ± 12.87
二甲双胍组 Metformin	0.2	7.83 ± 0.84**	17.34 ± 3.27**	14.72 ± 2.49**	12.32 ± 2.15**	10.21 ± 2.23**	26.72 ± 4.72**
翻白草水提取物低剂量组 <i>P. discolor</i> -L	1	7.92 ± 0.91**	19.36 ± 4.12**	15.28 ± 3.47**	13.23 ± 2.83**	11.42 ± 1.85**	28.71 ± 5.91**
翻白草水提取物高剂量组 <i>P. discolor</i> -H	4	9.36 ± 1.37**	21.26 ± 4.62**	17.47 ± 3.52**	14.32 ± 3.02**	11.81 ± 2.09**	31.82 ± 6.45**

注:与模型组比较,** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with model group, ** $P < 0.01$.

表5 各组大鼠IPGTT 胰岛素释放量及AUC比较($\bar{x} \pm s, n=7$)

Table 5 The content of blood insulin in intra-peritoneal glucose tolerance test and area under curve of rats

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	胰岛素 Blood insulin (ng/mL)					AUC (h · mmol/L)
		0 min	30 min	60 min	90 min	120 min	
正常对照组 Control		3.55 ± 0.38	12.62 ± 2.23**	7.23 ± 1.12**	8.02 ± 0.41*	7.65 ± 1.29	16.74 ± 2.28*

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	胰岛素 Blood insulin (ng/mL)					AUC (h · mmol/L)
		0 min	30 min	60 min	90 min	120 min	
模型组 Model		2.22 ± 0.04	4.41 ± 0.56	4.79 ± 0.88	5.23 ± 0.37	7.34 ± 0.84	9.61 ± 1.12
二甲双胍组 Metformin	0.2	2.43 ± 0.16	4.69 ± 0.87	5.32 ± 0.52	5.42 ± 0.41	6.27 ± 0.76	9.89 ± 1.13
翻白草水提取物低剂量组 <i>P. discolor</i> -L	1	2.59 ± 0.28	5.98 ± 0.32 **	5.15 ± 0.37	6.23 ± 0.32	5.42 ± 0.55	10.68 ± 0.71
翻白草水提取物高剂量组 <i>P. discolor</i> -H	4	3.11 ± 0.17	6.34 ± 0.41 **	5.57 ± 0.48	6.42 ± 0.12	5.34 ± 0.39	11.28 ± 0.65 *

注:与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

2.5 翻白草水提物对 2 型糖尿病大鼠胰腺病理学改变

正常对照组大鼠胰岛细胞成团状,分布规则,胞核呈圆形,细胞着染较浅,散在分布于胰腺外分泌腺中。模型组大鼠胰岛出现脂质堆积,细胞核不清晰,

包浆淡染,并未出现明细的病理损伤(如水肿、出血、坏死及炎症细胞浸润等)。与模型组相比,二甲双胍组和翻白草治疗组胰岛细胞形态有不同程度改善,未见脂质堆积,其中二甲双胍发现胰岛细胞代偿性增生。结果见图 1。

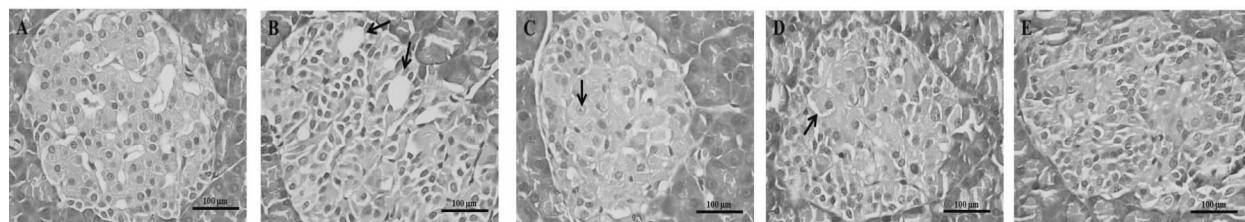


图 1 各组大鼠胰腺组织 HE 染色病理改变($\times 200$)

Fig. 1 Pathological changes of H&E staining in pancreatic tissue of rats ($\times 200$)

注:A、正常对照组;B、模型组;C、二甲双胍 0.2 g/kg 组;D、翻白草水提物 1 g/kg 组;E、翻白草水提物 4 g/kg 组

Note: A. Control group; B. Model group; C. positive control group (metformin 0.2 g/kg) ; D. *P. discolor* aqueous extract groups(1 g/kg) ; E. *P. discolor* aqueous extract groups(4 g/kg)

2.6 翻白草水提物对 2 型糖尿病大鼠胰腺功能基因的表达

正常对照组大鼠胰岛结构完整,胰岛素阳性颗粒染色呈棕黄色,位于包浆,边界清晰(见图 2A)。模型组大鼠胰岛素阳性颗粒减少,染色较浅,阳性染色所占胰岛面积比例亦有所减少,边界不清晰(见图 2B)。与模型组相比,翻白草水提物组胰岛内阳性颗粒明显增多,胰岛面积增大($P < 0.05$)(见图 2D、2E,表 6)。FoxO1 蛋白表达定位在胰腺 β 细胞核,与模型组相比(见图 2G),正常对照组和翻白草水提物大剂量组(见图 2F、2J)大鼠胰腺 FoxO1 阳性染色细胞核数目显著性减少且颜色变浅($P < 0.05$)(见表 6),二甲双胍组(见图 2H)和翻白草水提物组(见图 2I)大鼠胰腺 FoxO1 表达未见明显改变。FoxO1 受到磷酸化调节, p-FoxO1 可从细胞核内转位至胞浆。与模型组相比(见图 2L),正常对照组 p-

FoxO1 阳性染色细胞数量显著增多($P < 0.01$)(见图 2K,表 6),翻白草水提物组大鼠胰腺中 p-FoxO1 阳性染色细胞增多,以 4 g/kg 组最为明显($P < 0.05, P < 0.01$)(见图 2N、2O,表 6),二甲双胍组 p-FoxO1 阳性染色细胞数量未见明显改变(见图 2M)。

3 讨论

目前为模拟 T2DM 自然的发病过程,国内外多采用高脂饮食结合小剂量 STZ 的方法进行造模^[2-5]。然后使用高脂饮食引起的脂质紊乱需长时间诱导,为此本实验采用直接予以高脂乳剂灌胃,四周时大鼠血中总 TC、LDL 和 TG 显著增加,此研究与相关报道一致^[7,9]。再予以低剂量 STZ 腹腔注射,一周后 T2DM 的成功率达到 72.5%,显著缩短了 T2DM 造模时间,可操作性强,可作为一种较好的 T2DM 模型。但比较治疗前后血脂变化,各组血脂

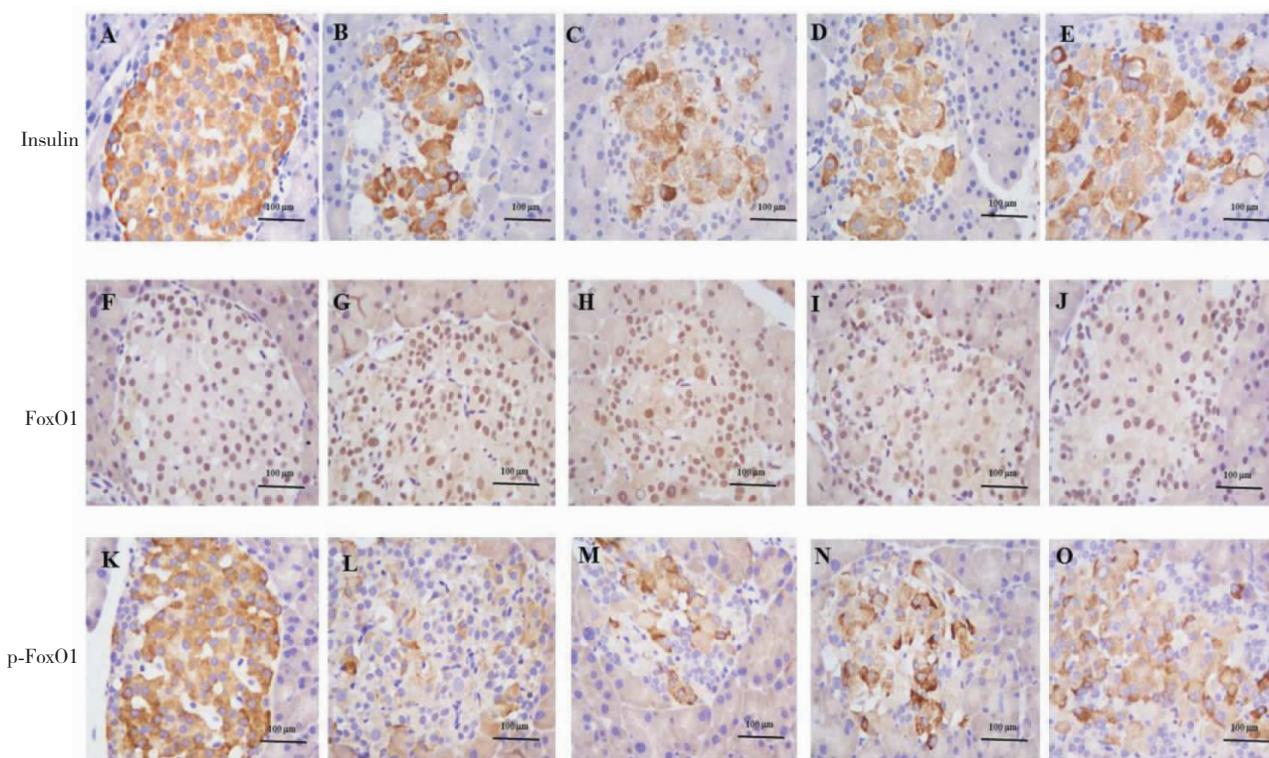


图2 各组大鼠胰腺组织 insulin、FoxO1 和 p-FoxO1 蛋白表达(免疫组化 $\times 200$)

Fig. 2 Expression of insulin, forkhead box O1 (FoxO1) and p-FoxO1 protein in pancreatic tissue of rats (Immunohistochemistry $\times 200$)

注:A,F,K:正常对照组;B,G,L:模型组;C,H,M:二甲双胍0.2 g/kg组;D,I,N:翻白草水提物1 g/kg组;E,J,O:翻白草水提物4 g/kg组

Note: A, F, K: Control group; B, G, L: Model group; C, H, M: positive control group (metformin 0.2 g/kg); D, I, N: *P. discolor* aqueous extract groups (1 g/kg); E, J, O: *P. discolor* aqueous extract groups (4 g/kg)

表6 各组大鼠胰腺组织 insulin、FoxO1 和 p-FoxO1 蛋白表达的平均光密度比较($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 6 Average optical density of insulin, FoxO1 and p-FoxO1 in pancreatic tissue of rats ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	平均光密度值 Average optical density		
		insulin	FoxO1	p-FoxO1
正常对照组 Control		$0.39 \pm 0.05^*$	$0.141 \pm 0.029^*$	$0.393 \pm 0.022^{**}$
模型组 Model		0.19 ± 0.06	0.236 ± 0.027	0.142 ± 0.038
二甲双胍组 Metformin	0.2	0.22 ± 0.06	0.333 ± 0.017	0.193 ± 0.026
翻白草水提取物低剂量组 <i>P. discolor</i> -L	1	$0.29 \pm 0.03^*$	0.217 ± 0.051	$0.274 \pm 0.039^*$
翻白草水提取物高剂量组 <i>P. discolor</i> -H	4	$0.33 \pm 0.05^*$	$0.192 \pm 0.025^*$	$0.292 \pm 0.031^{**}$

注:与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

均降低,可能与T2DM模型成功后,撤除高脂乳液灌胃有关,为此该模型不适合作为观察降脂的有效模型^[7]。

根据老专家经验,翻白草治疗糖尿病剂量每天约15~30 g^[10],用人与大鼠之间的剂量转化,即(人:大鼠=1:6.17)^[11],本研究给予大鼠翻白草大剂量水提物,以生药计算大剂量为4 g/kg·d相当于一

个体重为60 kg的成人一天服用翻白草40 g(计算如下:4 g/kg·d ÷ 6.17 × 60 kg = 40 g/d)。

有研究发现^[12],10%~15%的T2DM患者并未出现肥胖,且部分T2DM患者减肥后,血糖并未有效控制,因此肥胖只是T2DM的诱因之一。本研究中,T2DM大鼠“三多一少”现象明显,翻白草水提物可有效改善大鼠多尿、多饮和多食,但体重并未受到影

响。进一步观察血脂改变,发现翻白草水提物仅能降低血 TC 水平,对 LDL、HDL 和 TG 影响不大。此结果与严哲琳等^[3]研究不一致,分析可能与模型及药物给予剂量不同有关。

糖尿病最显著的病理表现是血糖增加。胰岛 β 细胞作为胰岛素分泌的唯一细胞,其正常数量的维持和功能的发挥是机体分泌足量胰岛素维持机体血糖平衡的必要条件。报道指出^[13,14],T2DM 确诊时,胰岛 β 功能仅存 50%,此后 β 细胞的功能还会持续下降。在胰岛 β 细胞功能已下降 90% 时,而 β 细胞数量仅减少 50%。因此,维持 β 细胞数量及保护 β 细胞功能是阻止 T2DM 发生与恶化的关键。本研究中,镜下观察翻白草水提物对 T2DM 大鼠胰岛 β 细胞具有修复功能。降低大鼠随机血糖浓度,IPGTT 实验中,血糖 AUC 显著降低,同时胰岛素 AUC 显著增加,提示翻白草水提物可改善胰岛 β 细胞分泌功能。

FoxO1 调控 β 细胞的数量和功能,对糖尿病的发展起重要作用^[15,16]。众多研究证实 PI3K/AKT 信号通路的激活参与了 β 细胞数量和功能的调节^[17,18],当 PI3K/AKT 激活后,促进 FoxO1 磷酸化修饰,使细胞核中 FoxO1 磷酸化而发生核输出,由核内转移至胞浆中,失去转录活性,抑制 β 细胞凋亡^[19]。本研究中发现,糖尿病大鼠中,FoxO1 多呈去磷酸化状态,核输出减少,定位于细胞核内。而正常对照组及翻白草水提液组 β 细胞核内 FoxO1 表达减少,而 p-FoxO1 表达增加,同时 β 细胞胰岛素表达增加。说明翻白草水提物可能通过影响 FoxO1 及其磷酸化表达,增加胰岛 β 细胞数量,促进胰岛素释放,起到保护胰岛细胞的作用。然而本研究并未排除翻白草水提物通过其他途径对胰岛 β 细胞的影响,由于翻白草水提物成分复杂,其具体成分以及改善糖尿病的其他机制还有待我们进一步深入研究。

参考文献

- Xu Y, Wang L, He J, et al. Prevalence and control of diabetes in Chinese adults. *JAMA*, 2013, 310:948-959.
- Cheng H(程昊), Li J(李俊). Flavonoids from *Potentilla discolor* Bunge playing a protective role for the type 2 diabetic insulin resistance rats. *China Prac Med* (中国实用医药), 2011, 35:248-250.
- Yan ZL(严哲琳), Dong ZP(董正平), Sun W(孙文), et al. Anti-diabetic effect of aqueous extract from *Potentilla discolor* in type 2 diabetic rats. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2012, 18:216-219.
- Su SZ(宿世震), Xiang DY(项东宇), Meng FW(孟繁伟), et al. Flavonoids from *Potentilla discolor* Bunge playing a protective and mechanical role for the type 2 diabetic rats islet cell. *Global Tradit Chin Med* (环球中医药), 2016, 9:145-148.
- Zhang L, Yang J, Chen XQ, et al. Antidiabetic and antioxidant effects of extracts from *Potentilla discolor* Bunge on diabetic rats induced by high fat diet and streptozotocin. *J Ethnopharmacol*, 2010, 132:518-524.
- Han YM(韩永明), Duan YJ(段妍君), Yuan F(袁芳), et al. The function of *Potentilla discolor* Bunge (PDB) on the pancreatic islet B cells of DM rat. *J Hubei Coll TCM* (湖北中医学院学报), 2005, 7(3):28-29.
- Zhao JM(赵金明), Zhu JH(朱竞赫), Chen H(陈贺), et al. Study of hyperlipidemia model in rats on different fat emulsion. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*, 2012, 28(1):177-180.
- Ju L, Tong W, Qiu M, et al. Endurance exercise ameliorates low birthweight developed catch-up growth related metabolic dysfunctions in a mouse model. *Endocr J*, 2016, 63:275-285.
- Liang XC(梁秀慈), Meng W(孟文), Zhong YL(钟英丽), et al. Effects of chlorogenic acid on mouse insulin resistance development induced by high fat emulsion. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2013, 29:654-658.
- Huang JR(黄江荣), Huang W(黄蔚). The treatment experience of the type 2 diabetes using detoxification and reinforcing Yang drug of Huang Xiang WU. *Hubei J Tradit Chin Med* (湖北中医杂志), 2013, 35(2):38-39.
- Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N. Dose translation from animal to human studies revisited. *FASEB J*, 2008, 22:6595-6561.
- Sun W, Shi L, Ye Z, et al. Association between the change in body mass index from early adulthood to midlife and subsequent type 2 diabetes mellitus. *Obesity*, 2016, 24:7035-7039.
- Rhodes CJ. Type 2 diabetes-a matter of beta-cell life and death? *Science*, 2005, 307:380-384.
- DeFronzo RA. Banting Lecture. From the triumvirate to the ominous octet:a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes*, 2009, 58:7735-7795.
- Kikuchi O, Kobayashi M, Amano K, et al. FoxO1 gain of function in the pancreas causes glucose intolerance, polycystic pancreas, and islet hypervascularization. *PLoS One*, 2012, 7(2):e32249.
- Kobayashi M, Kikuchi O, Sasaki T, et al. FoxO1 as a double-edged sword in the pancreas;analysis of pancreas-and β -cell-specific FoxO1 knockout mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2012, 302:603-613.

(下转第 1982 页)