

文章编号:1001-6880(2017)7-1204-06

十子代平方对 T2DM 大鼠骨骼肌 PI3K、GLUT4 蛋白表达的影响

张碧溦,田春雨,喇孝瑾,徐雪梅,焦子珊,林 篓,王晨斌,李继安*

华北理工大学,唐山 063000

摘要:本实验主要探讨十子代平方对 SD 大鼠 2 型糖尿病模型胰岛素抵抗的改善作用及骨骼肌胰岛素信号转导蛋白 PI3K、P-PI3K、GLUT4 表达的影响,为该方的临床应用提供实验依据。采用链脲佐菌素(STZ)联合高脂高糖饲养诱导 SD 大鼠 2 型糖尿病胰岛素抵抗模型,应用十子代平方高、中、低剂量对模型大鼠进行灌胃干预,并设立正常对照组、模型组、二甲双胍对照组,给药 8 周,正常组和模型组给于生理盐水灌胃。给药前、给药 4 周、8 周后检测空腹血糖(FBG)、葡萄糖耐量试验,给药 8 周后检测糖化血红蛋白(GHB)、糖化血清蛋白(gsp)、C-肽(C-P),计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR),检测骨骼肌 PI3K、P-PI3K、GLUT4 蛋白的表达水平。数据采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析。结果显示各治疗组与同期模型组比较,给药八周 FBG、PG2h、AUC,有明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);治疗结束各给药组与模型组比较,GHB、GSP、C-肽、HOMA-IR,差异明显($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);骨骼肌 PI3K 各组间差异不明显($P > 0.05$),P-PI3K 及 GLUT4 蛋白表达明显高于模型组($P < 0.05$)。因此,十子代平方可降低 T2DM 模型大鼠的血糖水平、改善胰岛素抵抗(IR),其药理机制与上调骨骼肌 P-PI3K 和 GLUT4 的蛋白表达水平有关。

关键词:十子代平方;糖代谢;骨骼肌胰岛素抵抗;PI3K/GLUT4**中图分类号:**R2**文献标识码:**A**DOI:**10.16333/j.1001-6880.2017.7.022

Effects of Shizidaiping on PI3K, P-PI3K and GLUT4 Expression in Musculi Skeleti of Type 2 Diabetic Rats

ZHANG Bi-wei, TIAN Chun-yu, LA Xiao-jin, XU Xue-mei, JIAO Zi-shan, LIN Qian, WANG Chen-bin, LI Ji-an*

North China University of Science and Technology, Tangshan 063000, China

Abstract:The aim of this study was to explore the improvement function of Shizidaiping on insulin resistance of type 2 diabetic SD rats model and the influence on the expression of musculi skeleti insulin signal transduction proteins PI3K, P-PI3K and GLUT4 as well as to provide experimental basis for the clinical application of Shizidaiping. Breeding induced SD rats with type 2 diabetes insulin resistance model was developed using streptozotocin, high fat and sugar. Practice lavage intervention on model rats with high, medium and low doses of Shizidaiping and set up normal control group, model group and metformin group. Eight weeks later, practice normal saline lavage for normal group and model group. Fasting blood glucose and glucose tolerance test were carried out before using the medicine, after 4 and 8 weeks of using medicine. After 8 weeks of using the medicine, glycosylated hemoglobin (GHB), glycosylated serum protein (gsp) and c-peptide (c-p) were examined. Insulin resistance index and protein expression level of musculi skelet were calculated. Then statistical analysis was carried out using SPSS 20.0 software. Compared the treatment groups with the model groups after 8 weeks of using the medicine, it was found that FBG, PG2h and AUC decreased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). After the treatment finished, there was obvious difference between the treatment groups and the model groups on GHB, GSP, C-P and HOMA-IR ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). There was no obvious difference between different groups on musculi skelet PI3K ($P > 0.05$). The protein expression level of P-PI3K and GLUT4 of the treatment groups was significantly higher than these of model groups ($P < 0.05$). Therefore, Shizidaiping can reduce blood glucose of type 2 diabetic rats and improve insulin resistance (IR). Its pharmacological mechanism was possibly through improving of protein expression level of P-PI3K and GLUT4 of musculi skeleti.

收稿日期:2017-02-13 接受日期:2017-04-01

基金项目:河北省国际科技合作计划(13392502D);河北省中医药管理局科研计划(2014189);河北省自然科学基金(H2015209025);河北省高等学校科学技术研究项目(QN2015119)

Key words:Shizidaiping; glycometabolism; musculi skeleti insulin resistance; PI3K/GLUT4

*通信作者 Tel:86-315-8805752; E-mail:lnyy@vip.sina.com

2 型糖尿病 (Type 2 diabetes mellitus, T2DM) 是

以中老年患病为主的一类慢性代谢性疾病,病因及发病机制复杂。通过临床及文献分析发现,饮食肥甘太过、增龄气化不足、痰浊内生、郁而化热致瘀是其患病基础^[1],为此我们以补肾、化痰、清热、活血为治疗原则,结合古方及现代药理研究拟定了十子代平方,前期实验研究发现该方可降低实验糖尿病大鼠血糖水平、改善脂肪细胞胰岛素抵抗^[2],而改善骨骼肌胰岛素抵抗机制的研究尚未开展。本实验通过建立 T2DM 动物模型,观察十子代平方对 T2DM 大鼠糖代谢及骨骼肌胰岛素信号 PI3K 转导通路关键蛋白表达的影响,以探讨该方改善骨骼肌胰岛素抵抗的作用机制。

1 材料与仪器

1.1 试剂、中药饮片

1.1.1 主要试剂

链脲佐菌素(美国 Sigma 公司, streptozotocin, STZ, 20151116-070);糖化血清蛋白(GSP)测试盒(南京建成生物技术有限公司,批号 20160125);糖化血红蛋白(GHb)测试盒(南京建成生物技术有限公司,批号 20160125);二甲双胍片(中美上海施贵宝制药有限公司,批号:1407117);安稳血糖试纸(长沙三诺生物传感股份有限公司,批号:2429EN);LIANFA 采血针(山东连发医用塑胶制品有限公司,批号:201504);PI3K[艾博抗(上海)贸易有限公司,批号:GR148856-7];Anti-PI3K[艾博抗(上海)贸易有限公司,批号:GR194710-23];GLUT4[艾博抗(上海)贸易有限公司,批号:GR-214525-1];GAPDH(巴傲得生物科技有限公司,批号:AA56133)。

1.1.2 中药饮片

购自于北京同仁堂唐山连锁药店有限公司,由田春雨副教授鉴定。

1.2 仪器

M200PRO 酶标仪(瑞士 TECAN 公司);TB-215D 型电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);安稳血糖仪及配套试纸(长沙三诺生物传感股份有限公司);ST 16R 高性能通用台式冷冻离心机(美国 Thermo Scientific Sorvall)多功能电泳仪(美国 BIO-RAD 伯乐);成像系统 ChemiDocTM CXRS + System(美国 BIO-RAD 伯乐)。

1.3 动物

SPF 健康雄性 SD 大鼠(180 ± 20)g,购自军事医学科学院动物实验中心,许可证号:SCXK-(军)

2014-0001。

2 实验方法

2.1 药物煎煮方法

将十子代平方按原方比例放入醇提容器内,加入 6 倍量的 80% 的乙醇加热回流,沸腾后继续加热回流 2 h,然后过滤药渣,同样方法煎煮第 2 次,然后混合两次药液;将药渣放入水煎药机内,加入 6 倍量水煎煮 2 h,取药渣,再次 6 倍量加水,煎煮 1 h。将醇提和水提药液混合,离心 1500 rpm 离心 10 min,取上清液,0.45 μm 滤膜过滤。

2.2 造模方法及动物分组与给药

选取 60 只 SPF 级健康,雄性 SD 大鼠,适应性喂养 1 周后从中随机抽取 10 只作为正常对照组,其余 50 只^[3]给予高脂(脂肪 41%,蛋白 17%,碳水化合物 42%) + 高糖(5% 浓度绵白糖)饲料喂养 4 周后,按照 15 mg/kg 的剂量链脲佐菌素(STZ, 15 mg/100 g)腹腔注射,建立 2 型糖尿病大鼠模型,腹腔注射 72 h 后,禁食不禁水 12 h 后,测定大鼠尾静脉空腹血糖及 IPGTT。以 FBC $\geq 7.0 \text{ mmol/L}$, OGTT(2 hPG) $\geq 11.1 \text{ mmol/L}$, 即为造模成功,50 只大鼠,造模成功 48 只。采用随机数字表法,将成模大鼠随机分为模型组 10 只、二甲双胍组(折合生药剂量 1240 mg/100 g)10 只,十子代平方高剂量组(折合生药剂量 1240 mg/100 g)10 只,十子代平方中剂量组(620 mg/100 g)10 只,十子代平方低剂量组(310 mg/100 g)9 只,给药组灌胃相应药物,空白组与模型组给予生理盐水(1 mL/100 g)。给药期间观察大鼠一般状态,给药前、给药 4 周、8 周大鼠尾静脉采血一滴(约 50 μL)测定 IPGTT。

2.3 标本收集

给药 8W 实验结束前禁食不禁水 12 h,10% 水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠,腹主动脉取血 8 mL,3000 rpm 离心 15 min,取上清,-20 °C 冻存待用。采血结束后取后肢骨骼肌,生理盐水清洗后液氮冻存待用。

2.4 血液生化指标检测

安稳血糖仪及配套试纸检测随机血糖,空腹血糖,IPGTT 试验,采用梯形面积公式葡萄糖耐量曲线下面积(AUC)。

ELISA 法检测 C-肽(C-P),通过空腹血糖和空腹 C 肽数据来计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)。

比色法检测糖化血红蛋白(HbA1c)、果糖胺法

检测糖化血清蛋白(gsp)。

2.5 Western-blot 法检测 PI3K、P-PI3K、GLUT4 蛋白的表达水平

组织块称重,放入离心管内剪碎组织块,加入 RIPA 裂解液(每克组织 3 mL LRIPA),PMSF(每克组织 30 μL,10 mg/mL PMSF),两者为 100:1 的比例,在冰上用匀浆器裂解组织(5 min),将组织放入离心机进行离心(12,000 rpm,离心 15 min),取上清液在-20 ℃保存,Western-blot 方法检测相关蛋白表达量。

2.6 数据分析

实验数据应用 SPSS 20.0 软件及 Excel 2007 进行分析,实验结果均以均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较方差齐采用 LSD 法,方差不齐采用 Dunnett's T3(3) 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 动物成模情况

STZ 诱导造模之后,检测结果显示 48 只大鼠空腹血糖(FBG) 均大于 7.0 mmol/L,餐后 2 h 血糖(PG2h) 均超过 11.1 mmol/L,符合 2 型糖尿病动物模型成模标准。

表 1 治疗前、治疗 4 周、8 周各组大鼠 FBG 的比较($n=8, \bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of FBG before and after treatment in each group($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	剂量 Dose (mL/100 g)	FBG-0W	FBG-4W	FBG-8W
正常组 Normal	1	5.28 ± 0.37	5.17 ± 0.29	4.52 ± 0.69
模型组 Model	1	16.58 ± 3.26 **	15.78 ± 3.37 **	17.25 ± 3.73 **
二甲双胍组 Melbine	10	15.35 ± 2.64 **	6.5 ± 0.95 ▲	5.05 ± 0.61 ▲▲
SZDPF-H 组	1240	16.7 ± 2.14 **	8.13 ± 1.43 *▲	5.95 ± 0.89 ▲▲
SZDPF-M 组	620	16.28 ± 1.56 **	6.52 ± 1.40 ▲	4.77 ± 0.92 ▲▲
SZDPF-L 组	310	16.63 ± 2.08 **	7.75 ± 1.63 ▲	6.40 ± 1.28 ▲▲

注:与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型组比较, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$ 。

Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with normal group; ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$, compared with model group.

表 2 治疗前、治疗 4 周、8 周各组大鼠 PG2h 的比较($n=8, \bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of PG2h before and after treatment in each group($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	剂量 Dose (mL/100 g)	PG2-h0W	PG2h-4W	PG2h-8W
正常组 Normal	1	6.22 ± 0.47	5.33 ± 0.70	4.70 ± 0.64
模型组 Model	1	22.97 ± 4.14 **	18.45 ± 2.72 **	17.50 ± 2.51 **
二甲双胍组 Melbine	10	19.77 ± 1.89 **	11.80 ± 0.87 *▲**	7.25 ± 0.73 *▲▲▲

3.2 大鼠的一般状态

正常组大鼠一般状态佳,毛色顺滑有光泽,行动敏捷,精神正常;模型组大鼠饮水量及尿量明显增加,毛色粗糙无光泽,懒惰萎靡;二甲双胍组大鼠状态对比模型组大鼠明显好转;十子代平方组与模型组对比,毛色明显更具光泽,行动较敏捷,精神状态较为良好。

3.3 治疗 4 周、8 周后对各组大鼠的 FBG 和 PG2h 水平的影响

实验结果显示,给药干预四周、八周后,模型组的 FBG 高于正常组,存在显著差异($P < 0.01$),给药四周、八周后,与模型组比较,双胍组、十子高、中、低剂量组的 FBG 降低,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)(表 1)。

治疗四周后的 PG2h 结果显示,模型组 PG2h 数值与正常组比较存在显著性差异($P < 0.01$),双胍组与模型组对比,明显降低了 PG2h 的数值,且差异有统计学意义($P < 0.05$);治疗八周后,模型组的数值显著高于正常组,且 $P < 0.01$,差异有统计学意义。双胍组和 SZDP-M 组 PG2h 显著低于模型组($P < 0.01$),SZDP-H 和 SZDP-L 组与模型组比较,数值也有了明显的降低,且差异有统计学意义($P < 0.05$)(表 2)。

组别 Group	剂量 Dose (mL/100 g)	PG2-h0W	PG2h-4W	PG2h-8W
SZDPF-H 组	1240	19.72 ± 1.89 **	18.83 ± 1.04 **	12.07 ± 1.54 ***▲
SZDPF-M 组	620	20.98 ± 4.84 **	15.60 ± 4.68 *	8.65 ± 0.92 ***▲▲
SZDPF-L 组	310	19.02 ± 2.11 **	16.50 ± 2.58 **	12.28 ± 2.27 ***▲

注:与正常组比较, *P < 0.05, **P < 0.01; 与模型组比较, ▲P < 0.05, ▲▲P < 0.01。

Note: *P < 0.05, **P < 0.01, compared with normal group; ▲P < 0.05, ▲▲P < 0.01, compared with model group.

3.4 治疗 4、8 周对各组大鼠 IPGTT 曲线下面积 (AUC) 的影响

分别计算大鼠 0 周、4 周、8 周 IPGTT 曲线下面积(AUC)结果显示,模型组大鼠较正常组 0 周、4

周、8 周 AUC 均显著增大(P < 0.01);4 周治疗后,各治疗组 AUC 较模型组有缩小的趋势;经过 8 周治疗,二甲双胍组及十子高、中、低各组 AUC 较模型组显著减小,且差异有统计学意义(P < 0.01)(表 3)。

表 3 各组大鼠 0 周、4 周、8 周腹腔注射葡萄糖耐量水平的比较(n = 8, x ± s)

Table 3 Comparison of AUC before and after treatment in each group (n = 8, x ± s)

组别 Group	剂量 Dose (mL/100 g)	AUC-0W	AUC-4W	AUC-8W
正常组 Normal	1	16.27 ± 2.13	12.53 ± 1.26	11.90 ± 2.41
模型组 Model	1	47.30 ± 3.84 **	41.20 ± 4.50 **	42.14 ± 6.49 **
二甲双胍组 Melbine	10	42.76 ± 3.84 **	30.18 ± 1.45 ***▲	18.06 ± 1.67 ▲▲
SZDPF-H 组	1240	42.46 ± 4.95 **	41.65 ± 4.81 **	23.68 ± 2.87 ***▲▲
SZDPF-M 组	620	42.70 ± 4.84 **	35.61 ± 8.81 *	21.16 ± 3.04 ***▲
SZDPF-L 组	310	43.35 ± 5.15 **	36.54 ± 6.79 **	29.00 ± 2.27 ***▲▲

注:与正常组比较, *P < 0.05, **P < 0.01; 与模型组比较, ▲P < 0.05, ▲▲P < 0.01。

Note: *P < 0.05, **P < 0.01, compared with normal group; ▲P < 0.05, ▲▲P < 0.01, compared with model group.

3.5 治疗 8 周后对各组大鼠糖化血红蛋白(GHB)、糖化血清蛋白(GSP)、C-肽(C-P)、胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)水平的影响

给药八周模型组的 GHB 显著高于正常组,且差异有统计学意义(P < 0.01),双胍组、十子各组与模型组比较 GHB 数据有显著差异(P < 0.01)。治疗八周后,双胍组与模型组比较 GSP 明显降低(P < 0.01),十子高剂量组与模型组比较 GSP 明显降低,差异有统计学意义(P < 0.05),十子中剂量组与模型组比较,数值有显著差异(P < 0.01),十子低剂量

组与模型组比较 GSP 同样也有了明显降低(P < 0.05)(表 4)。

模型组和正常组比较,C-肽数值明显降低,且 P < 0.01,差异有统计学意义。给药八周,双胍组、十子高、中、低剂量组,与模型组比较,C-肽数值与模型组比较有明显升高趋势。模型组的胰岛素抵抗指数显著高于正常组(P < 0.01),双胍组、SZDP-H 组、SZDP-M 组、SZDP-L 组的胰岛素抵抗指数与模型组比较有明显降低(P < 0.05),差异有统计学意义(表 4)。

表 4 治疗 8 周后各组大鼠 GHB、GSP、C-肽、HOMA-IR 的比较(n = 8, x ± s)

Table 4 Comparison of GHB, GSP, C-peptide, HOMA-IR in 8 weeks after treatment in each group (n = 8, x ± s)

组别 Group	剂量 Dose (mL/100 g)	糖化血红蛋白 GHB (mmol/L)	糖化血清蛋白 GSP (mmol/L)	C-肽 C-Peptide	胰岛素抵抗指数 HOMA-IR
正常组 Normal	1	18.98 ± 4.01	1.20 ± 0.12	248.22 ± 20.75	0.40 ± 0.09
模型组 Model	1	43.92 ± 7.61 **	1.74 ± 0.22 **	218.14 ± 13.14 **	1.35 ± 0.31 **
二甲双胍组 Melbine	10	26.89 ± 12.11 ▲▲	1.41 ± 0.23 ▲▲	227.31 ± 10.82 *	0.41 ± 0.06 ▲
SZDPF-H 组	1240	29.62 ± 5.67 ***▲	1.47 ± 0.16 ▲	223.21 ± 6.27 **	0.48 ± 0.08 ▲
SZDPF-M 组	620	22.48 ± 3.79 ▲▲	1.36 ± 0.23 ▲▲	231.97 ± 8.25 ▲	0.40 ± 0.09 ▲
SZDPF-L 组	310	25.85 ± 7.52 ▲▲	1.45 ± 0.15 ▲	210.22 ± 19.34 **	0.48 ± 0.10 ▲

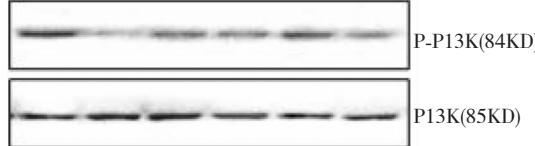
注:与正常组比较, *P < 0.05, **P < 0.01; 与模型组比较, ▲P < 0.05, ▲▲P < 0.01。

Note: *P < 0.05, **P < 0.01, compared with normal group; ▲P < 0.05, ▲▲P < 0.01, compared with model group.

3.6 对 T2DM 模型大鼠胰岛素信号转导通路

PI3K、P-PI3K 蛋白和 GLUT4 蛋白表达的影响

如图 1 所示,PI3K 蛋白含量在各组间无明显差异($P > 0.05$)。P-PI3K 蛋白含量模型组明显降低为



正常组的 36.60%, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

双胍组、SZDP-H 组、SZDP-M 组、SZDP-L 组与模型组比较,P-PI3K 蛋白含量分别增加了 1.94 倍、1.64 倍、2.26 倍、1.34 倍($P < 0.05$)。

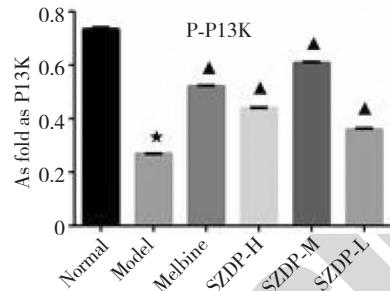


图 1 治疗 8 周对各组大鼠 PI3K 及 P-PI3K 蛋白表达的影响

Fig. 1 The effect of 8 weeks treatment on protein expression of PI3K and P-PI3K

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

Note: $*P < 0.05$, $**P < 0.01$, compared with normal group; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$, compared with model group

如图 2 所示,模型组 GLUT4 蛋白含量降低至正常组的 28% ($P < 0.05$)。双胍组、SZDP-H 组、SZDP-M 组、SZDP-L 组与模型组比较,GLUT4 蛋白

含量分别增加了 2.68 倍、2.87 倍、3.09 倍、2.20 倍($P < 0.05$)。

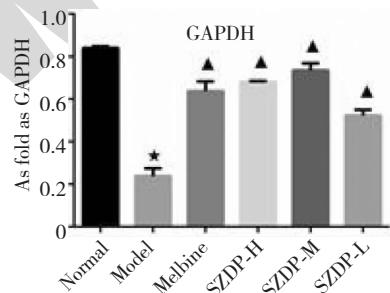
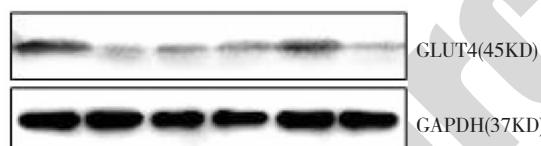


图 2 治疗 8 周对各组大鼠 GLUT4 蛋白表达的影响

Fig. 2 The effect of 8 weeks treatment on protein expression of GLUT4

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

Note: $*P < 0.05$, $**P < 0.01$, compared with normal group; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$, compared with model group

4 讨论与结论

2 型糖尿病严重威胁着人类的生命健康。胰岛素抵抗是目前公认的 T2DM 的核心病理特征,骨骼肌胰岛素抵抗作为其重要组成部分是中医药研究的热点问题。磷酯酰肌醇 3-激酶(PI3K)是由 Sugimoto 和 Macara 等发现的一种在胞内可以将肌醇环上的第三位羟基磷酸化的激酶。PI3K 是转导通路中的信号分子之一,它产生肌醇脂物质的激酶来发挥第二信使的作用,是调节葡萄糖转运信号转导的关键蛋白。当胰岛素与胰岛素受体结合后,激活胰岛

素受体底物,从而将信号传导至 PI3K,使 PI3K 发生磷酸化,才可以激活其下游的 AKT,然后传递到 GLUT4,加速 GLUT4 向膜的转运,使胰岛素的生物活性得到激活,从而调节各靶器官对葡萄糖的摄取^[4],所以 P-PI3K 蛋白表达的改变直接影响 GLUT4 的膜转位,导致血糖的异常。葡萄糖转运蛋白一共有 4 种,其中 GLUT1-3 对葡萄糖的转运能力较低,而全身约 50%~80% 的葡萄糖由葡萄糖转运蛋白 4(GLUT4)承担转运^[5]。GLUT4 在骨骼肌中分布广泛,对骨骼肌葡萄糖的吸收与利用起着关键的限速作用^[6]。是骨骼肌摄取葡萄糖的关键分子。故本实验通过检测 T2DM 模型大鼠骨骼肌 PI3K、P-

PI3K 及 GLUT4 蛋白的表达,探讨十子代平方改善骨骼肌胰岛素抵抗具体机制。

选用菟丝子、女贞子、枸杞子、五味子补肾敛肺滋肝,莱菔子、紫苏子、车前子理气化痰,梔子、决明子清肝泻火,佐以茺蔚子活血化瘀组成十子代平方,现代实验研究表明,十子代平方组方中多味中药有降血糖的作用^[7-11],如菟丝子、五味子可通过抑制 α -淀粉的活性发挥其降糖作用。女贞子水煎剂、车前子胶、决明子和莱菔子能通过改善糖尿病大鼠的氧化应激降低血糖。枸杞多糖和梔子苷能显著降低糖尿病大鼠的血糖、胰岛素水平。紫苏子富含丰富的 α -亚麻酸,其可以通过上调 GLUT4 的蛋白表达来改善胰岛素抵抗。由此推测该方调节糖代谢作用具有多向性,其中改善胰岛素抵抗是其发挥降糖作用的主要机制之一。为此我们开展了该方对 T2DM 动物模型骨骼肌胰岛素抵抗的研究。

本实验给 T2DM 动物药物治疗 8 周,检测 FBG、PG2h、AUC、GHB 及 GSP 的水平,各给药组较模型组均有明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),提示该方具有改善糖代谢作用。检测 C-肽,计算 HOMA-IR 结果显示给药组明显低于模型组($P < 0.05$),提示该方具有改善胰岛素抵抗作用。Western Blot 检测各组间骨骼肌 PI3K 蛋白表达水平无明显差异;而 P-PI3K、GLUT4 蛋白的含量模型组较正常组明显降低,双胍组和十子代平方各组较模型组明显升高($P < 0.05$),由此表明十子代平方能改善 T2DM 模型大鼠葡萄糖代谢与胰岛素抵抗的作用机制与上调骨骼肌 PI3K 的磷酸化水平和增加 GLUT4 的蛋白表达有关。为十子代平方治疗 T2DM 提供了新的实验数据。

参考文献

- 1 Tang XY(唐咸玉), Fan GJ(范冠杰), Zhao XH(赵晓华). Analysis of TCM syndromes of obese type 2 diabetes frequency. *Clin J Chin Med*(中医临床研究), 2013, 5:115-116.
- 2 Fu QR(付茜茹), Li JA(李继安), Qiu CL(邱昌龙), et al. The effect of Shizidaiping formula aqueous extract on cells proliferation and insulin resistance. *World Latest Med Infor*(世界最新医学信息文摘), 2016, 16:134-135.
- 3 Wang CY(王春艳). Establishment of models of type2 diabetes induced by streptozotocin in rats. *J Jilin Med Coll*(吉林医药学院学报), 2010, 31(1):22-23.
- 4 Kampmann U, Christensen B, Nielsen T S, et al. GLUT4 and UBC9 protein expression is reduced in muscle from type 2 diabetic patients with severe insulin resistance. *PLoS One*, 2011, 6(11):e27854.
- 5 Zhang Y, Guan L, Wang X, et al. Protection of chlorophyllin against oxidative damage by inducing HO-1 and NQO1 expression mediated by PI3K/Akt and Nrf2. *Free Radic Res*, 2008, 42:362-371.
- 6 Al-Kateb H, Boright A P, Mirea L, et al. Multiple superoxide dismutase 1/splicing factor serine alanine 15 variants are associated with the development and progression of diabetic nephropathy: the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications genetics study. *Diabetes*, 2008, 57:218-228.
- 7 Wang Y(王亚), Dong YS(董玉山), La XJ(喇孝瑾), et al. Effects of Wuzi Jiangtang Fang on the GLUT4 expression in skeleton muscle of type 2 diabetic rats. *Chin J Exp Tradit Med Formul*(中国实验方剂学杂志), 2013, 19:193-196.
- 8 Li DZ(李道中), Peng DY(彭代银), Xu XX(徐先祥), et al. Research on mechanism of *Cuscuta chinensis* polysaccharide effects on diabetes mellitus. *Chin Arch Tradit Chin Med*(中华中医药学刊), 2008, 26:2717-2718.
- 9 Zhao Y(赵岩), Xu Y(徐莹), Cha L(查琳), et al. Hypoglycemic and anti-oxidant activity of extracts from *Ligustrum lucidum*. *Drug Eval Res*(药物评价研究), 2016, 39: 282-287.
- 10 Zheng RB(郑荣波), Huang XD(黄晓丹), He RR(何蓉蓉), et al. Effects of *Cassia obtusifolia* extract on oxidative stress status in STZ-induced diabetic mice. *Chin J Exp Tradit Med Formul*(中国实验方剂学), 2012, 18:233-237.
- 11 Yao DD(姚冬冬), Shu L(舒奕), Yang L(杨蕾), et al. Advance in studies on anti-diabetic mechanism of *Gardeniae Fructus* and its active ingredient geniposide. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2014, 39:1368-1373.