

DOI: 10.16305/j.1007-1334.2016.10.023

泽泻降低 2 型糖尿病小鼠血糖的有效部位筛选

张伟云¹, 陈全成², 王丽荣¹, 温忠秀¹

1. 厦门医学高等专科学校中心实验室、厦门市中药生物工程重点实验室、福建省中药精加工与健康产品开发重点研究室、福建省道地药材生物工程重点实验室, 厦门医学高等专科学校药学院 (福建 厦门 361008); 2. 厦门大学药学院 (福建 厦门 361102)

【摘要】 目的 初步探索泽泻 [*Alisma orientalis* (Samuel.) Juzep.] 降低 2 型糖尿病小鼠血糖的有效部位。方法 采用超声提取法获得泽泻乙醇提取物, 再分别用石油醚、乙酸乙酯、水饱和正丁醇和水相进行萃取分离, 得到的泽泻乙醇提取物及其各溶剂萃取物应用于腹腔注射烟碱、链脲霉素诱导的 2 型糖尿病小鼠模型。造模成功后, 将动物分组, 其中空白对照组 (未注射链脲霉素和烟碱的小鼠) 和 2 型糖尿病模型组小鼠连续灌胃 0.9% NaCl 溶液 21 d (灌胃剂量为 10 μl/g), 测试药物组分别连续灌胃泽泻乙醇提取物、泽泻石油醚萃取物、泽泻乙酸乙酯萃取物、泽泻正丁醇萃取物、泽泻水萃取物 21 d (各测试药物灌胃高、中、低剂量分别为 100 μg/g、50 μg/g、25 μg/g), 阳性对照组连续灌胃罗格列酮溶液 21 d (灌胃剂量为 10 μg/g), 每组 8 只小鼠, 筛选具有降低 2 型糖尿病小鼠血糖的泽泻有效部位。用具有降低 2 型糖尿病小鼠血糖的有效部位处理 3T3-L1 前脂肪细胞, 观察其对前脂肪细胞分化过程的影响。结果 与 2 型糖尿病模型组比较, 连续灌胃泽泻乙酸乙酯萃取物 21 d (剂量为 100 μg/g) 降低了 2 型糖尿病小鼠的血糖, 改善了口服葡萄糖耐受试验 (oral glucose tolerance test, OGTT) 过程中的糖耐量 ($P < 0.01$)。1 mg/L 和 10 mg/L 的泽泻乙酸乙酯萃取层均能促进前脂肪细胞的分化过程。结论 泽泻乙酸乙酯萃取物降低了 2 型糖尿病小鼠血糖, 促进了 3T3-L1 前脂肪细胞分化, 但其具体作用机制尚需深入研究。

【关键词】 泽泻; 2 型糖尿病小鼠; 血糖; 3T3-L1 前脂肪细胞分化

Screening research on effective parts of *Alisma orientalis* (Samuel.) Juzep. associated with blood glucose decrease in type 2 diabetic mice

ZHANG Wei-yun¹, CHEN Quan-cheng², WANG Li-rong¹, WEN Zhong-xiu¹

1. Central Laboratory of Xiamen Medical College; Xiamen Key Laboratory of Bio-engineering of Chinese Traditional Medicine; Fujian Provincial Key Laboratory of Chinese Traditional Medicine Finishing Processing and Health Product Development, Fujian Provincial Key Laboratory of Bio-engineering for Genuine Regional Drug Department of Pharmacy, Xiamen Medical College, Xiamen, 361008; 2. School of Pharmacy, Xiamen University, Xiamen, 361102

Abstract: Objective To explore the effective parts of *Alisma orientalis* (Samuel.) Juzep. associated with blood glucose decrease in type 2 diabetic mice. **Methods** Ethanol extracts from *A. orientalis* were obtained by ultrasonic extraction. Then, the ethanol extract was extracted and separated with petroleum ether, ethyl acetate, water saturated n-butanol and water respectively. After decompressing concentration, these solvent extractions were applied to type 2 diabetic mice model induced by intraperitoneal injection of streptozotocin and nicotine. After successful modeling, the mice were divided into the blank control group (without injection of streptozotocin and nicotine), model group of type 2 diabetes mellitus, positive control group and test drug groups 8 in each group. The blank control group and model group were treated with 0.9% NaCl at the dose of 10 μl/g, the test drug groups were treated with corresponding extracts from different solvent extractions described above at the high-, mid-, low-dose of 100, 50, 25 μg/g respectively. The positive control group was treated with rosiglitazone at the dose of 10 μg/g. The treatment course was 21 days for intragastric administration. The effective parts of *Alisma orientalis* (Samuel.) Juzep. associated with blood glucose decrease in type 2 diabetic mice were screened and then the effect of the screened effective part on the differentiation of 3T3-L1 pre-adipocyte was observed. **Results** Compared with the model group, the blood glucose was decreased after the intragastric administration with ethyl acetate extract of *A. orientalis* at dose of 100 μg/g for 21 days and the glucose tolerance during the oral glucose tolerance test (OGTT) was improved ($P < 0.01$). The differentiation of pre-adipocyte was promoted when the ethyl acetate extract of *A. orientalis* at the concentration of 1 mg/L and 10 mg/L. **Conclusion** The ethyl acetate extract of *A. orientalis* reduced the blood glucose in type 2 diabetic mice and promoted the differentiation of 3T3-L1 pre-adipocytes, but the specific mechanism still need to be further studied.

Keywords: *Alisma orientalis* (Samuel.) Juzep.; type 2 diabetic mice; blood glucose; differentiation of 3T3-L1 pre-adipocytes

【基金项目】 福建省科技厅自然科学基金青年创新项目、厦门市卫计委资助项目 (2014D008); 福建省卫生系统中青年骨干人才培养项目基础项目、厦门市卫计委资助项目 (2015-ZQN-JC-45); 福建省科技厅自然科学基金 (2015J01065); 福建省教育厅中青年教育科研项目杰青项目 (JA14421); 福建省教育厅中青年教育科研项目 (JA13425); 厦门市科技局科技计划高校创新项目 (3502Z20143026); 厦门市科技局科技计划项目 (3502Z20144031); 厦门医学高等专科学校科研基金 (Z2013-12, Z2013-25)

【作者简介】 张伟云, 女, 博士, 副教授, 主要从事中药有效成分及其作用机制方面的研究工作

【通讯作者】 陈全成, 副教授, 硕士生导师。

E-mail: chenqc@xmu.edu.cn

中药泽泻是泽泻科泽泻属植物泽泻 *Alisma orientalis* (Samuel.) Juzep. 的干燥块茎, 主产于福建、四川、江西、云南、贵州等省份, 其中以福建、江西产者质量最佳。泽泻是中医处方用于治疗糖尿病的传统中药之一, 具有较好的降糖作用^[1-2], 目前已发现泽泻主要含有萜类化学物质, 还含黄酮、异黄酮、香豆素、木脂素类等活性成分。但泽泻药理活性相关研究较少, 其降糖药效物质基础、作用靶点和机制尚不明确。因此, 本研究以罗格列酮为阳性对照药, 采用 2 型糖尿病小鼠筛选泽泻降低血糖的有效部位并初步探索其作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物与细胞 110 只 SPF 级 C57BL/6J 雄性小鼠, 5~6 周龄, 体质量 21~23 g, 购自上海斯莱克实验有限责任公司, 动物合格证号 2015000501745。试验前, 小鼠适应动物实验室环境 2 周。实验期间除做血糖测定和 OGTT 前 16 h 须禁食外, 小鼠自由进食、饮水。所有动物实验操作步骤均在国家动物实验标准 (GB/T 27416-2014) 的指导下完成。

3T3-L1 前脂肪细胞, 由厦门市第一医院糖尿病研究所上官兆水研究员赠送。

1.1.2 药品与试剂 罗格列酮(批号: #074M4704V)、油红 O(批号: #SLBM4444V)、苏木素伊红溶液(批号: SLBK4345V)、胰岛素(批号: I0305000), 均购自美国 Sigma 公司; 胎牛血清、胰酶、Dulbecco Modified Eagle Medium (DMEM) 低糖培养基, 美国 Hyclone 公司; 其余所用试剂均为分析纯。

泽泻药材购自福建建瓯, 经厦门大学药学院陈全成副教授鉴定为泽泻科植物泽泻 *Alisma orientalis* (Samuel.) Juzep. 的干燥块茎。采用传统的溶剂提取法和萃取法^[3] 制备泽泻乙醇提取物及其萃取物。具体如下: 称取泽泻生药 1 kg, 粉碎成 50 目粗粉, 经 3 L 75% 乙醇于 60 °C、40 KHz 超声提取 30 min, 再重复超声提取 2 次, 过滤并合并乙醇提取液, 减压回收乙醇, 得橙色稠状乙醇提取浓缩物 245 g, 提取得率为 24.5%。将乙醇提取浓缩物悬溶于 2 L 水, 依次用等体积的石油醚、乙酸乙酯、水饱和正丁醇和水连续萃取 3 次, 分别获得泽泻石油醚萃取物 12 g、乙酸乙酯萃取物 65 g、正丁醇萃取物 80 g、水萃取物 88 g。

称取泽泻乙醇提取物及各溶剂萃取物各 10 mg, 对照品罗格列酮 3.94 mg, 分别超声溶解于 1 ml 二甲基亚砜溶剂中, 于 4 °C 冰箱保存作为测试母液。

1.1.3 仪器 罗氏血糖仪 (ACCU-CHEK Active), 罗氏诊断产品(上海)有限公司; CO₂ 恒温培养箱 (IFS-110-8) 新加坡 ESCO 公司; 荧光显微镜 (XTZ-Y3), 上海天珠光学仪器厂; 旋转蒸发器 (N-1001V), 日本 EYELA 东京理化器械株式会社。

1.2 造模、分组及给药 通过 2 次腹腔注射链脲霉素 (剂量为 100 μg/g) 和烟碱 (剂量为 240 μg/g) 建立 2 型糖尿病小鼠模型^[4], 第 2 次腹腔注射距离第 1 次腹腔注射间隔 2 d。建模时间为 21 d, 期间每隔 1 d 称量并记录小鼠体质量变化。于第 0 d (第 1 次腹腔注射链脲霉素和烟碱之前)、第 7 d、第 14 d、第 21 d 尾静脉取血后, 用血糖仪测定空腹血糖值。第 23 d 进行口服葡萄糖耐受试验 (OGTT) 按照 2.0 g/kg 的剂量灌胃葡萄糖

后, 在 0 min (灌胃葡萄糖溶液之前)、30 min、60 min、120 min 测定血糖值。通过比较第 0、7、14、21 d 血糖值及 OGTT 的试验结果, 确定 2 型糖尿病小鼠模型是否成功建立^[4]。空腹血糖浓度 > 7 mmol/L 且 OGTT 的 30 min、60 min、120 min 血糖浓度明显高于空白组小鼠血糖浓度的小鼠即为 2 型糖尿病小鼠。

2 型糖尿病小鼠建模成功后, 为测定泽泻提取物降血糖活性, 将动物分组, 每组 8 只小鼠。空白对照组 (未注射链脲霉素和烟碱的小鼠) 和 2 型糖尿病模型组小鼠连续灌胃 0.9% NaCl 溶液 21 d (灌胃剂量为 10 μl/g) 测试药物组分别连续灌胃泽泻乙醇提取物、泽泻石油醚萃取物、泽泻乙酸乙酯萃取物、泽泻正丁醇萃取物、泽泻水萃取物 21 d (各测试药物灌胃高、中、低剂量分别为 100 μg/g、50 μg/g、25 μg/g), 阳性对照组连续灌胃罗格列酮溶液 21 d (灌胃剂量为 10 μg/g)。

1.3 指标检测及方法

1.3.1 小鼠体质量及灌胃给药后血糖值 每天测量并记录小鼠体质量变化, 分别在第 0 d (第 1 次灌胃给药前)、第 7 d、第 14 d、第 21 d 测定各组小鼠空腹血糖值。

1.3.2 口服葡萄糖耐受试验 (oral glucose tolerance test, OGTT) 初次灌胃给药后的第 23 d 进行 OGTT, 分别在 0 min (灌胃葡萄糖溶液前 5 min)、30 min、60 min、120 min 测定并记录各组小鼠空腹血糖值。

1.3.3 前脂肪细胞培养与分化 小鼠 3T3-L1 前脂肪细胞用 DMEM 添加 10% 热灭活胎牛血清 (FCS) 在 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。

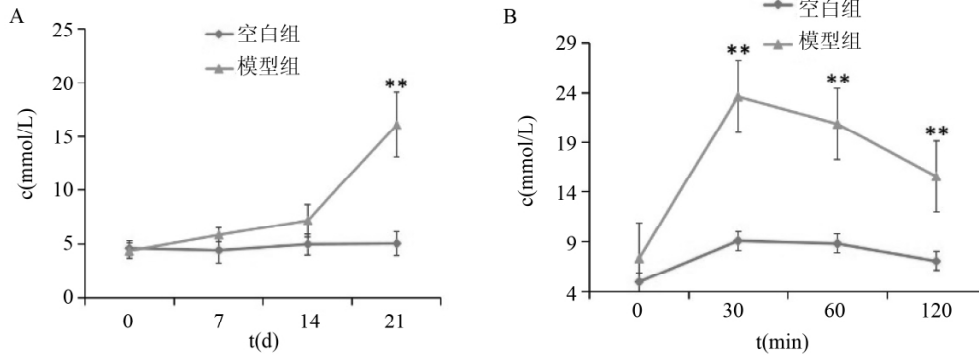
参照文献所述方法^[5-9], 采用油红 O 染色法, 检测泽泻乙醇提取物、泽泻石油醚萃取物、泽泻乙酸乙酯萃取物、泽泻正丁醇萃取物、泽泻水萃取物对 3T3-L1 前脂肪细胞分化的影响。首先, 将 3T3-L1 前脂肪细胞以每孔 4 × 10³ 个细胞的比例接种到 96 孔细胞板, 培养 24 h 后, 各组分别用药物处理 3 d, 每组 6 个孔。阳性对照组最终用药浓度为 1 μmol/L 的胰岛素和 1 μmol/L 或 2 μmol/L 的罗格列酮, 测试组最终用药浓度为 1 μmol/L 的胰岛素和 1 mg/L 或 10 mg/L 的泽泻乙醇提取物、泽泻石油醚萃取物、泽泻乙酸乙酯萃取物、泽泻正丁醇萃取物、泽泻水萃取物, 对照组仅用终浓度为 1 μmol/L 的胰岛素处理, 空白对照组不用任何药物处理, 各组合 DMSO 均为 0.1%。7 d 后对细胞进行油红 O/苏木素伊红染色, 先用 10% 福尔马林固定 1 h, 然后用油红 O 溶液 (油红 O 溶解于 60% 异丙醇) 室温染色 2 h, 再用苏木素伊红室温染色 15 min。最后, 用 60% 异丙醇清洗 3 次以除去未结合的染料, 弃去清洗液在显微镜下观察并拍摄染色图像。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 13.0 统计学软件分析实验数据。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。血糖值采用单因素方差分析,多组均数间的两两比较采用 LSD 法检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 型糖尿病模型的建立 通过测定小鼠第 0 d(未注射链脲霉素和烟碱前)和腹腔注射链脲霉素和烟碱后的第 7 d、第 14 d、第 21 d 小鼠空腹血糖值,并于第

23 d 进行 OGTT,判定 2 型糖尿病小鼠模型是否成功建立。与空白对照组小鼠比较,2 型糖尿病模型组小鼠在体质量方面差异无统计学意义($P > 0.05$),在第 21 d 空腹血糖值呈现明显升高(图 1-A,** $P < 0.01$),OGTT 的结果显示 2 型糖尿病模型组小鼠空腹血糖在 30、60、120 min 时均明显增高(图 1-B,** $P < 0.01$),说明 2 型糖尿病小鼠模型成功建立。



注:与空白组比较,** $P < 0.01$; $n = 8$

图 1 2 型糖尿病模型小鼠的血糖值(A)、OGTT(B)

2.2 对 2 型糖尿病小鼠血糖的影响 与 2 型糖尿病模型组小鼠比较,阳性对照组罗格列酮、泽泻乙醇提取物、泽泻正丁醇提取物、泽泻乙酸乙酯提取物均在高剂量灌胃,即 100 $\mu\text{g/g}$ 后的第 7 d、14 d、21 d 明显降低了 2 型糖尿病小鼠血糖值($P < 0.01$),体现了较好的降血糖活性。见表 1。

而泽泻石油醚萃取物和水萃取物的高剂量、中剂量、低剂量灌胃均未体现出降血糖的作用。泽泻乙醇提取物、泽泻正丁醇提取物、泽泻乙酸乙酯萃取物的中剂量、低剂量灌胃也未体现出降血糖的活性。

表 1 各组小鼠血糖比较($\bar{x} \pm s$, $n = 8$, $\mu\text{mol/L}$)

组别	剂量($\mu\text{g/g}$)	第 0 天	第 7 天	第 14 天	第 21 天
空白组	-	4.83 ± 0.60	4.94 ± 0.30	4.93 ± 0.30	4.33 ± 0.55
2 型糖尿病模型组	-	16.10 ± 3.01	16.41 ± 0.59	15.19 ± 0.54	16.49 ± 1.95
阳性对照组	10	16.46 ± 2.66	5.55 ± 0.56**	5.22 ± 0.83**	4.81 ± 0.32**
泽泻乙醇提取物	100	16.38 ± 1.96	7.60 ± 1.88**	5.83 ± 0.48**	5.25 ± 0.85**
泽泻正丁醇提取物	100	16.28 ± 2.60	6.30 ± 1.01**	5.30 ± 0.59**	5.19 ± 0.43**
泽泻乙酸乙酯提取物	100	16.05 ± 1.94	6.38 ± 0.86**	5.95 ± 0.46**	5.16 ± 0.40**

注:与 2 型糖尿病模型组比较,** $P < 0.01$

2.3 对 2 型糖尿病小鼠 OGTT 的影响 与 2 型糖尿病模型组小鼠比较,泽泻乙酸乙酯提取物高剂量(100 $\mu\text{g/g}$)组在 30 min 显著降低了小鼠空腹血糖值($P < 0.05$),提示泽泻乙酸乙酯提取物高剂量组有效改善糖耐量,且具有较好的降血糖活性。见表 2。

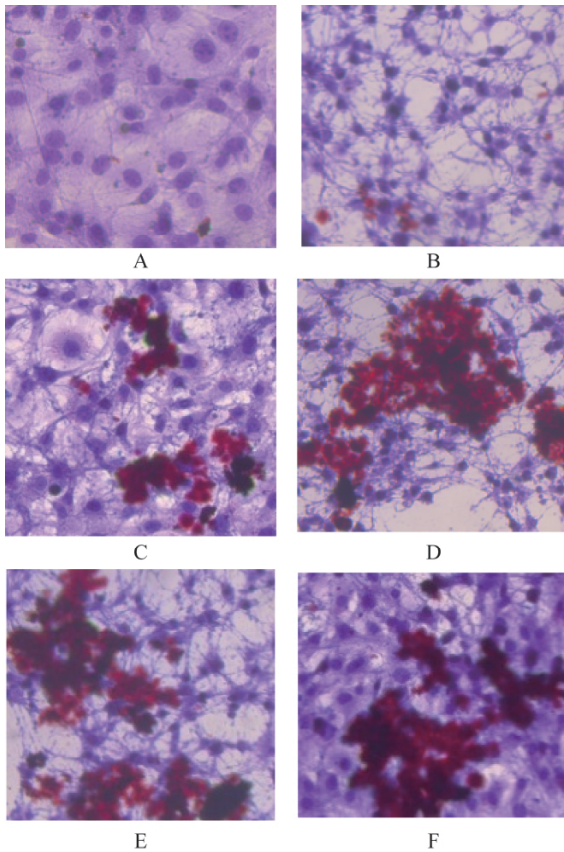
而泽泻乙醇提取物与其他各溶剂萃取物高、中、低剂量灌胃给药后改善糖耐量的作用不明显。泽泻乙酸乙酯提取物中、低剂量组也未体现出改善糖耐量的活性。

表 2 各组小鼠 OGTT 比较($\bar{x} \pm s$, $n = 8$, $\mu\text{mol/L}$)

组别	剂量($\mu\text{g/g}$)	第 0 min	第 30 min	第 60 min	第 120 min
空白组	-	6.27 ± 0.52	11.46 ± 1.46	8.21 ± 1.95	6.06 ± 0.54
2 型糖尿病模型组	-	6.40 ± 0.93	22.10 ± 2.18	15.70 ± 2.70	9.80 ± 0.99
阳性对照组	10	5.80 ± 0.75	19.30 ± 2.54	12.50 ± 2.69	8.70 ± 0.57
泽泻乙醇提取物	100	5.54 ± 0.85	17.13 ± 3.58	12.21 ± 2.38	9.80 ± 1.49
泽泻正丁醇提取物	100	6.70 ± 1.20	20.40 ± 4.80	15.70 ± 3.30	11.00 ± 2.10
泽泻乙酸乙酯提取物	100	5.60 ± 0.71	16.20 ± 3.57*	13.30 ± 3.82	9.10 ± 1.83

注:与 2 型糖尿病模型组比较,* $P < 0.05$

2.4 泽泻乙酸乙酯萃取物对 3T3-L1 前脂肪细胞分化的影响 与对照组(图 2-B)比较,阳性对照药罗格列酮在 1 μmol/L 和 2 μmol/L 的浓度下均生成了脂肪细胞并被油红 O 染色为红色(图 2-C 和图 2-D),表明 3T3-L1 前脂肪细胞被罗格列酮成功诱导为脂肪细胞。在泽泻乙醇提取物及其各溶剂萃取物中筛选出的具有较好降糖活性的泽泻乙酸乙酯萃取物在 1 mg/L 和 10 mg/L 浓度下也体现出促进 3T3-L1 前脂肪细胞分化为脂肪细胞的活性(图 2-E 和图 2-F)。



注: A. 3T3-L1 前脂肪细胞; B. 对照组(只加胰岛素处理); C. 1 μmol/L 罗格列酮; D. 2 μmol/L 罗格列酮; E. 1 mg/L 泽泻乙酸乙酯萃取物; F. 10 mg/L 泽泻乙酸乙酯萃取物
图 2 3T3-L1 前脂肪细胞分化油红 O 染色图像(×400)

3 讨论

过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator activated receptor, PPARs)是与糖脂代谢、胰岛素敏感性有关的核转录因子,被激活后可治疗 2 型糖尿病。PPARs 人工合成配体包括噻唑烷二酮类降糖药物等,中药活性成分也可作为 PPARs 配体^[10-11]。PPARs 包括 PPARα、PPARβ、PPARγ 3 种亚型^[12],其中 PPARγ 主要表达于脂肪组织中,对调节糖脂代谢^[13-14]和胰岛素信号转导^[15]均有重要作用。3T3-L1 前脂肪细胞具有分化潜能,PPARγ 对其分化具有重要意义^[16]。3T3-L1 前脂肪细胞分化为成熟脂肪细胞后,加入细胞培养液中的胰岛素与细胞中不同酶和受体作

用,从而激活信号通路,进而促进脂肪细胞对周围葡萄糖的吸收。因此 3T3-L1 前脂肪细胞分化模型已被广泛应用于降血糖药物的筛选^[17-19]。

虽然噻唑烷二酮类降糖药物罗格列酮靶向 PPARγ 干预治疗 2 型糖尿病^[20],但有体质量增加等副作用^[21]。因此,从中药中寻找并开发新型的 PPARs 天然激活剂为更加安全有效地治疗 2 型糖尿病提供新的思路。

由于泽泻具有降血糖作用,因而被用于治疗糖尿病,但其药效物质基础和作用机制的研究几近空白。本研究选用泽泻乙醇提取物及其各溶剂萃取物应用于 2 型糖尿病小鼠模型,以罗格列酮为阳性对照药,检测其降血糖活性。试验结果表明,泽泻乙酸乙酯萃取层高剂量降低 2 型糖尿病小鼠血糖,并且改善 OGTT 过程中糖耐量,在 1 mg/L 和 10 mg/L 浓度下促进 3T3-L1 前脂肪细胞分化过程,所得数据为进一步探讨泽泻降血糖的药效物质基础和作用机制提供了实验依据,同时也为泽泻的开发及其在降糖保健品中的利用奠定了基础。但泽泻乙酸乙酯萃取物降低血糖的具体作用机制尚需深入研究。

参考文献:

- [1] Li Q, Qu HB. Study on the hypoglycemic activities and metabolism of alcohol extract of *Alismatis Rhizoma* [J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(6): 1046-1053.
- [2] 杨新波,黄正明,曹文斌,等. 泽泻提取物对正常及四氧嘧啶小鼠糖尿病模型的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志* 2002, 8(3): 24-26.
- [3] Chen QC, Zhang WY, Jin W *et al.* Flavonoids and isoflavonoids from *Sophorae Flos* improve glucose uptake in vitro [J]. *Planta Med*, 2010, 76(1): 79-81.
- [4] Choi WS, Lee JJ, Kim Y *et al.* Synergistic improvement in insulin resistance with a combination of fenofibrate and rosiglitazone in obese type 2 diabetic mice [J]. *Arch Pharm Res*, 2011, 34(4): 615-624.
- [5] Xu ME, Xiao SZ, Sun YH *et al.* A preadipocyte differentiation assay as a method for screening potential anti-type II diabetes drugs from herbal extracts [J]. *Planta Med*, 2006, 72(1): 14-19.
- [6] Zhang WY, Lee JJ, Kim Y *et al.* Effect of eriodictyol on glucose uptake and insulin resistance in vitro [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(31): 7652-7658.
- [7] Zhang WY, Lee JJ, Kim IS *et al.* Stimulation of glucose uptake and improvement of insulin resistance by aromadendrin [J]. *Pharmacology*, 2011, 88(5-6): 266-274.
- [8] Zhang WY, Lee JJ, Kim Y *et al.* Amelioration of Insulin Resistance by Scopoletin in High-Glucose-Induced, Insulin-Resistant HepG2 Cells [J]. *Horm Metab Res*, 2010, 42(13): 930-935.
- [9] Zhang WY, Lee JJ, Kim IS *et al.* 7-O-Methylaromadendrin Stimulates Glucose Uptake and Improves Insulin Resistance in Vitro [J]. *Biol Pharm Bull*, 2010, 33(9): 1494-1499.
- [10] Gervois P, Fruchart JC, Staels B. Drug insight: mechanisms of action and therapeutic applications for agonists of peroxisome proliferator-

activated receptors [J]. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* ,2007 , 3 (2) : 145-156.

[11] 张秀红 ,宣皎 ,亓志刚. PPAR α 、 γ 和 δ : 胰岛素抵抗治疗的靶点 [J]. *中国生物化学与分子生物学报* 2014 ,30(6) : 543-548.

[12] Shearer BG ,Billin AN. The next generation of PPAR drugs: do we have the tools to find them [J]. *Biochim Biophys Acta* ,2007 , 1771 (8) : 1082-1093.

[13] Aoyama T ,Peters JM ,Iritani N ,*et al.* Altered constitutive expression of fatty acid-metabolizing enzymes in mice lacking the peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR α) [J]. *J Biol Chem* , 1998 ,273(10) : 5678-5684.

[14] Wagner KD ,Wagner N. Peroxisome proliferator-activated receptor β/δ (PPAR β/δ) acts as regulator of metabolism linked to multiple cellular functions [J]. *Pharmacol Ther* ,2010 ,125(3) : 423-435.

[15] Olefsky JM ,Saltiel AR. PPAR gamma and the treatment of insulin resistance [J]. *Trends Endocrinol Metab* ,2000 ,11(9) : 362-368.

[16] Ren D ,Collingwood TN ,Rebar EJ ,*et al.* PPAR gamma knockdown by engineered transcription factors: exogenous PPAR gamma2 but not PPAR gamma1 reactivates adipogenesis [J]. *Genes Dev* ,2002 ,16 (1) : 27-32.

[17] Kamei R ,Kadokura M ,Kitagawa Y ,*et al.* 2'-benzyloxycalcone derivatives stimulate glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes [J]. *Life Sci* ,2003 ,73(16) : 2091-2099.

[18] Moini H ,Tirosh O ,Park YC ,*et al.* R-alpha-lipoic acid action on cell redox status , the insulin receptor , and glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes [J]. *Arch Biochem Biophys* ,2002 ,397(2) : 384-391.

[19] Kamon J ,Naitoh T ,Kitahara M ,*et al.* Prostaglandin F (2) alpha enhances glucose consumption through neither adipocyte differentiation nor GLUT1 expression in 3T3-L1 cells [J]. *Cell Signal* ,2001 ,13 (2) : 105-109.

[20] Willson TM ,Lambert MH ,Kliwer SA. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma and metabolic disease [J]. *Annu Rev Biochem* ,2001(70) : 341-367.

[21] Ferre P. The biology of peroxisome proliferator-activated receptors: relationship with lipid metabolism and insulin sensitivity [J]. *Diabetes* ,2004 ,53(Suppl 1) : S43-S50.

编辑: 季春来
 收稿日期: 2016-06-11



(上接第 67 页)

[4] 许扬 赵英凯 程建斌. 颈肩综合征的临床辨证思路与治疗方法探讨 [J]. *中国针灸* 2007 27(5) : 379-382.

[5] 方玉婷. 全科医生处方集“非甾体类抗炎药” [J]. *中国全科医学* , 2012 ,15(7) : 2252-2254.

[6] 王六群. 葛根汤合黄芪桂枝五物汤加减治疗颈椎病疗效观察 [J]. *河北医科大学学报* 2013 34(1) : 101-103.

[7] 丁永利. 物理治疗颈椎病的疗效观察 [J]. *安徽医学* 2009 30(4) : 10-12.

[8] 何颖 高建成. 物理疗法结合推拿治疗颈肩综合征 30 例临床观察 [J]. *现代临床医学* 2011 37(1) : 47-49.

[9] 王灵俐 高玉玲 王玉伏. 中频电疗联合刮痧治疗颈肩综合征疗效观察 [J]. *临床医药文献电子杂志* 2014 ,15(10) : 1734-1738.

[10] 张汉卿. 平衡针与四维牵引调曲并用治疗颈肩综合征临床研究 [J]. *针灸临床杂志* 2013 29(3) : 22-24.

[11] 耿惠萍. 针灸治疗颈肩综合征临床心得 [J]. *中国中医急症* ,2010 , 19(5) : 796-798.

[12] 许丽萍 朱宏. 拍打法结合针灸、美式正脊治疗颈肩综合征的疗效观察 [J]. *武警医学院学报* 2008 ,17(11) : 988-991.

[13] 余翔. 单针单穴治疗落枕案 [J]. *中国中医急症* ,2013 ,22(5) : 724-728.

[14] 陈日兰 乐小燕. 腰痛穴的定位及取穴时机探讨 [J]. *辽宁中医杂志* 2004 31(19) : 777-779.

[15] Kumazawa T ,Mizumura K ,Koda H. Involvement of EP3 subtype of prostaglandin E receptors in PGE₂-induced enhancement of the bradykinin response of nociceptors [J]. *Brain Research* ,1993 ,632(1-

2) : 321-324.

[16] 郁晓燕 倪衡建 高永静. 外周炎症性疼痛刺激诱导大鼠中脑导水管周围灰质胶质细胞激活及细胞因子的表达 [J]. *解剖学报* 2008 , 39(4) : 460-465.

[17] 李征宇 严隽陶. 推拿镇痛机制的研究进展及展望 [J]. *按摩与导引* 2004 20(2) : 1-4.

[18] 王勇 郑岚. 推拿镇痛机制的探讨 [J]. *山东中医杂志* ,2001 ,20 (11) : 678-680.

[19] Wood TG ,Colloca CJ ,Mathews R. A pilot randomized clinical trial on the relative effect of instrumental (MFMA) versus manual (HVLA) manipulation in the treatment of cervical spine dysfunction [J]. *J Manipulative Physiol Ther* 2001 24(4) : 260-271.

[20] Hou CR ,Tsai LC ,Cheng KF *et al.* Immediate effects of various physical therapeutic modalities on cervical myofascial pain and trigger-point sensitivity [J]. *Arch Phys Med Rehabil* 2002 83(10) : 1406-1414.

[21] 表明泉 伍少玲. 单次手法和物理治疗颈型颈椎病: 疼痛和关节活动的即刻及短期效果比较 [J]. *中国组织工程研究与临床康复* , 2010 ,14(46) : 8691-8693.

[22] Vernon H ,Humphreys BK. Chronic mechanical neck pain in adults treated by manual therapy: a systematic review of change scores in randomized controlled trials of a single session [J]. *J Man Manip Ther* , 2008 ,16(2) : E42-E52.

编辑: 黄博韬
 收稿日期: 2016-06-28