

# 平糖方对糖尿病大鼠血清 SVCAM-1、CRP、TNF- $\alpha$ 及 PAF-1 水平的影响

杨叔禹<sup>1</sup>, 李学军<sup>1</sup>, 陈 福<sup>2</sup>

(1. 福建医科大学附属厦门市第一医院内分泌科, 福建 厦门 361003; 2. 厦门大学医学院, 福建 厦门 361001)

**摘要** 目的: 观察平糖方对糖尿病大鼠血清 SVCAM-1、CRP、TNF- $\alpha$  及 PAF-1 水平的影响。方法: 取 Wistar 大鼠喂高热量饲料, 2 m 后, 一次性腹腔注射链脲佐菌素 (STZ) 25 mg/kg, 造成类似人类 2 型糖尿病模型。将糖尿病大鼠随机分为模型组、氨基胍组及平糖方大、中、小治疗组, 连续干预 16 w。采用 ELISA 法检测大鼠血糖 (BG)、血脂、SVCAM-1、CRP、TNF- $\alpha$  及 PAF-1 水平。结果: 平糖方大、中剂量不仅可显著降低糖尿病大鼠 BG、TG 及 LDL-c 水平, 而且还可显著降低糖尿病大鼠血清 SVCAM-1、CRP、TNF- $\alpha$  及 PAF-1 水平; 平糖方大剂量还可升高 HDL-c 水平; 平糖方小剂量也可降低糖尿病鼠血清 PAF-1 水平。结论: 具有燥湿化痰、活血化瘀功效的平糖方能明显干预糖尿病大鼠的慢性炎症状态。

**关键词:** 平糖方/药效学 糖尿病/药物作用 炎症因子/药物作用 大鼠 疾病模型, 动物

中图分类号: R255.4 文献标志码: B

目前认为, 糖尿病患者发生大血管并发症的危险性较正常人增加 3~4 倍, 严重威胁着糖尿病患者的生活和生存质量。因此, 找寻糖尿病大血管病变进程的预防及治疗对策, 已成为近年来糖尿病研究的重要课题之一。现代医学认为, 糖尿病大血管并发症的发生与血管细胞粘附分子 (SVCAM-1)、纤溶酶原激活物抑制剂 1 (PAF-1)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 及 C 反应蛋白 (CRP) 等密切相关<sup>[1]</sup>。大量研究均证实中药在防治糖尿病慢性并发症等方面确有疗效。本研究以高热量饲料加小剂量链脲佐菌素 (STZ) 制备接近于人类 2 型糖尿病的糖尿病大鼠模型, 探讨了平糖方对糖尿病大鼠血糖、SVCAM-1、PAF-1、TNF- $\alpha$  及 CRP 水平的影响, 以期更好地认识中药防治糖尿病大血管并发症的作用机制, 并为中医药防治糖尿病提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 药物与试剂

平糖方由二陈汤方加减而成, 药物由陈皮、半夏、茯苓、僵蚕及地龙等组成。上述中药购自我院中药房, 由我院药剂科制备成浓缩液 (含生药 2 g/mL); 氨基胍 (AG)、链脲佐菌素 (STZ), 购自美国 Sigma 公司, 临用前以 0.1 mL/L, pH 4.5 柠檬酸缓冲液溶解,

配制成 1% STZ 溶液。血糖 (BG) 测定试剂盒、血甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-c)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-c) 测定试剂盒, 购自上海九强生物技术有限公司; 大鼠特异性可溶性血管细胞粘附分子 (SVCAM-1)、纤溶酶原激活物抑制剂 1 (PAF-1)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 及 C 反应蛋白 (CRP) 测定试剂盒, 均购自美国 DRG 公司。

### 1.2 主要仪器

全自动生化分析仪, 日本 Hitachi 公司产品; 721 型分光光度计, 上海精密科学仪器有限公司产品。

### 1.3 动物

健康 Wistar 大鼠, 雌雄各半, 体重 200~250 g, 清洁级, 由厦门大学实验动物中心提供。

### 1.4 糖尿病模型的制备

Wistar 大鼠, 饲养 1 w 以适应环境。12 只大鼠作为正常对照组, 喂以普通饲料, 其中碳水化合物 60%、蛋白质 22%、脂肪 (以豆油为主) 10%、其他 8%; 其余各组均喂养高热量饲料, 其中碳水化合物 40%、蛋白质 13%、脂肪 (以动物油脂为主) 40%、其他 7%。2 个月, 空白对照组的大鼠一次性腹腔注射等量 0.1 mol/L, pH 4.2 枸橼酸缓冲液, 其余各组则一次性腹腔注射 STZ 25 mg/kg (STZ 溶于 0.1 mol/L pH 4.2 枸橼酸缓冲液中)。3 d 后眼底静脉丛取血, 用葡萄糖氧化酶法测定空腹血糖值。若空腹血糖值  $\geq 16.7$  mmol/L, 确定为糖尿病大鼠。

### 1.5 分组、给药与指标检测

糖尿病大鼠按血糖值范围分为 5 组, 即模型组 (DM 组)、AG 治疗组 (0.1 g/kg), 平糖方 (PT) 大、中、小剂量 (8.0, 4.0, 2.0 g/kg) 治疗组, 每组动物 12 只。各组动物每日 ig 给药 2 次, 正常对照组和 DM 组 ig 自来水 8 mL/kg, 连续给药 16 w。实验期间, 大鼠自由饮水进食。大鼠禁食 15 h 后以 20% 乌拉坦 ip 麻醉, 心脏取血, 分离血清, 以葡萄糖氧化酶法测定空腹血糖, 采用 ELISA 法测定 SVCAM-1、PAF-1、TNF- $\alpha$  及 CRP。血清 TG、HDL-c、LDL-c 的测定均按照试剂

盒说明书进行,采用全自动生化分析仪测定其吸光度。

### 1.6 统计学方法

数据均用 SPSS 10.0 统计软件进行数据处理分析,所有指标均以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较采用方差分析(ONE-WAY ANOVA)中的最小显著差法(LSD)。

## 2 结果

### 2.1 平糖方对糖尿病大鼠的血糖及血脂的影响

造模 16 w 后,糖尿病大鼠空腹血糖值较正常对

表 1 平糖方对糖尿病大鼠的血糖及血脂的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量(g/kg)	BG(mmol/L)	TG(mmol/L)	LDL-c(mmol/L)	HDL-c(mmol/L)
正常对照组	—	5.66±0.50	5.66±0.50	0.72±0.24	1.64±0.16
DM 组	—	20.66±3.77*	20.66±3.77*	4.87±0.86**	1.01±0.15**
AG 治疗组	0.1	19.62±3.41	19.05±1.99	4.88±0.50	1.02±0.21
PT 大剂量组	8.0	13.87±3.59▲▲	11.43±1.17▲▲	2.28±0.30▲▲	1.36±0.17▲▲
PT 中剂量组	4.0	15.43±3.17▲▲	13.53±1.74▲▲	3.41±0.51▲▲	1.15±0.10▲
PT 小剂量组	2.0	18.05±2.99	15.87±1.59	4.79±0.56	1.05±0.18

注:与正常对照组比较,\*\*  $P < 0.01$ ;与 DM 组比较,▲  $P < 0.05$ ,▲▲  $P < 0.01$ 。

### 2.2 平糖方对糖尿病大鼠血清 SVCAM-1、CRP、TNF- $\alpha$ 及 PAF1 水平的影响

糖尿病大鼠血清 SVCAM-1、CRP、TNF- $\alpha$  及 PAF1 水平较正常对照组明显升高( $P < 0.01$ ),平糖方大、中剂量治疗后可显著降低糖尿病大鼠的血清

照组明显升高( $P < 0.01$ ),平糖方大、中剂量治疗后可显著降低糖尿病大鼠的空腹血糖值,与 DM 组比较差异显著( $P < 0.01$ );造模 16 w 后,DM 组大鼠血清 TG 及 LDL-c 均显著升高,HDL-c 则显著降低,与正常对照组比较差异显著( $P < 0.01$ );平糖方大、中剂量治疗后可显著降低糖尿病大鼠血清 TG 及 LDL-c 水平,与 DM 组比较差异显著( $P < 0.01$ ),平糖方大剂量组可升高 HDL-c 水平( $P < 0.01$ ),中剂量组也有较明显的作用( $P < 0.05$ )。结果见表 1。

SVCAM-1、CRP、TNF- $\alpha$  及 PAF1 水平,与 DM 组比较差异显著( $P < 0.01$ );平糖方小剂量组对糖尿病大鼠的血清 PAF1 水平也有较明显的作用( $P < 0.05$ )。结果见表 2。

表 2 平糖方对糖尿病大鼠血清 SVCAM-1、CRP、TNF- $\alpha$  及 PAF1 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量(g/kg)	ISCAM	CRP(ng/mL)	TNF- $\alpha$ (pg/mL)	PAF1(ng/mL)
正常对照组	—	0.49±0.13	1.04±0.16	38.40±5.50	2.59±0.35
DM 组	—	0.83±0.06**	1.61±0.15**	56.94±6.69**	4.51±0.64**
AG 治疗组	0.1	0.46±0.08▲▲	1.32±0.21▲▲	45.04±3.02▲▲	3.51±0.42▲
PT 大剂量组	8.0	0.35±0.06▲▲	1.16±0.17▲▲	36.37±3.79▲▲	2.14±0.38▲▲
PT 中剂量组	4.0	0.46±0.06▲▲	1.25±0.10▲▲	43.31±5.51▲▲	2.45±0.45▲▲
PT 小剂量组	2.0	0.71±0.05	1.55±0.18	53.96±4.96	3.71±0.36▲

注:与正常对照组比较,\*\*  $P < 0.01$ ;与 DM 组比较,▲  $P < 0.05$ ,▲▲  $P < 0.01$ 。

## 3 讨论

2 型糖尿病的血脂异常的特点为:富含 TG 的脂蛋白中度或显著升高,LDL-c 轻度或中度升高,HDL-c 水平降低,同时还有炎症的特点。高 TG 血症与动脉粥样硬化密切相关,这是因为:①其可影响 LDL 亚组的分布和 HDL 的代谢;②影响餐后血脂;③影响凝血因子;④富含 TG 的脂蛋白(如 LDL)及残粒体积较小,容易进入动脉壁并被氧化,与巨噬细胞上的受体结合并被吞噬,从而引起动脉粥样硬化。糖尿病患者与非糖尿病人群相比,LDL-c 水平升高不显著,主要的改变是 LDL 粒子结构的异常,包括粒子体积变小、氧化修饰及非酶糖基化作用等。小而密的 LDL 更易导致动脉粥样硬化。HDL 的主要作用是在 APOAI 卵磷脂-胆固醇酰基转移酶(LCAT) 等的作用下,将胆固醇从肝外组织转运到肝进行代谢,即胆固醇的逆向转运。HDL 的量和结构的改

变,可使胆固醇的逆向转运能力下降,其是易发生动脉粥样硬化的主要原因之一。糖尿病时高浓度葡萄糖能促进细胞介导的低密度脂蛋白过氧化形成氧化低密度脂蛋白(ox-LDL),ox-LDL 可形成大量的泡沫细胞,并可诱导内皮细胞凋亡、黏附分子表达及单核细胞的化学趋化作用增强,进而促进动脉粥样硬化的形成<sup>[2]</sup>。大量研究表明,慢性高血糖和血脂紊乱是糖尿病血管并发症最为危险的因素之一,积极而有效地控制糖尿病患者的高血糖和调节糖尿病患者的血脂紊乱,对于预防糖尿病血管并发症的发生具有重要的意义。本实验结果表明,由陈皮、半夏、茯苓、僵蚕及地龙等组成的,具有燥湿化痰、活血化瘀功效的平糖方,可有效地降低糖尿病大鼠的血糖,降低糖尿病大鼠血清 TG 及 LDL-c 水平,并可升高 HDL-c 水平,这对缓解糖尿病及其并发症的发生发展十分有利。

目前认为动脉粥样硬化从发生发展到转归的全过程就是一个慢性炎症过程<sup>[3]</sup>。慢性炎症可能是胰岛素抵抗(IR)的关键始发因素,炎症反应导致代偿性高胰岛素血症和IR是由于细胞因子从脂肪细胞中释放。TNF- $\alpha$ 是一种主要由单核巨噬细胞产生的具有广泛生物活性因子,对糖代谢的影响十分广泛和复杂。TNF- $\alpha$ 的升高可增强IRS-1及IRS-2的丝氨酸磷酸化,从而使胰岛素受体酪氨酸激酶(IPK)的活性下降,胰岛素受体酪氨酸自身磷酸化减少,抑制了其后的IRS-1酪氨酸的磷酸化<sup>[4]</sup>;同时,TNF- $\alpha$ 能显著降低IRS-1蛋白与胰岛素受体及下游信号转导途径相互作用的活性。TNF- $\alpha$ 亦可作用于肝脏,使CRP产生增多,而代谢紊乱如高血糖、高血脂、高游离脂肪酸和内皮功能紊乱能诱导细胞产生炎症反应,继而发生IR。已有较多的研究发现,CRP与IR相关。有学者过去一直把CRP看作是急性炎症反应的一个指标,但因为其缺乏较好的特异性,没有引起医家足够的重视。随着对炎症过程及炎症介质认识的不断深入,CRP被发现可以作为预测心血管疾病的标志物,因为其在血管损伤时才产生的,其会直接损伤血管系统,激活血管平滑肌细胞,导致活化蛋白质1(AP-1)和核因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)活性升高;此外,CRP还与血管损伤有间接关系,可通过其他急性期蛋白如纤维连接蛋白等与血管损伤发生一定的关系。

PAF-1与糖尿病和心血管疾病有关,是反映IR中的促血栓形成和促炎症过程替代指标。在血管

内,纤溶酶原在纤溶酶原激活物的作用下,活化为纤溶酶,分解血管内的纤维蛋白-血小板凝块,而PAF-1是体内组织型纤溶酶原激活剂(tPA)和尿激酶型血浆素原激活剂(uPA)的主要生理性抑制剂。如PAF-1水平升高则发生血栓的可能性大大增加,则发生动脉粥样硬化疾病的危险性也就大大地升高。

本研究结果显示,平糖方可显著降低糖尿病模型大鼠血清的SVCAM-1、CRP、TNF- $\alpha$ 及PAF-1水平,其机制可能与平糖方在降低血糖、调节血脂的同时抑制了蛋白质的非酶糖化反应的发生有关,其确切机制有待进一步的研究。

参考文献:

[1] Zhou H, Dong X L, Nan G Z ICAM-1 and diabetic chronic complications [J]. Foreign Med Sci—Pathophysiol Clin Med(国外医学·生理病理科学与临床分册), 2002, 26(7): 294-296  
 [2] Erl W, Weber P C, Weber C. Monocytic cell adhesion to endothelial cells stimulated by oxidized low density lipoprotein is mediated by distinct endothelial ligands [J]. Atherosclerosis, 1998, 136(2): 297-303.  
 [3] Libby p. Inflammation in atherosclerosis [J]. Nature, 2002, 420: 868-874.  
 [4] Miura A, Ishizuka T, Kanoh Y, et al. Effect of tumor necrosis factor alpha on insulin signal transduction in rat adipocytes: relation to PKC beta zeta translocation [J]. Biochim Biophys Acta, 1999, 449: 227-238.

收稿日期: 2005-11-23  
(编辑 陶珠)

文章编号: 1001-6910(2006)04-0026-03

• 实验研究 •

## 甘草甜素对小鼠NK细胞杀伤活性的作用

王毅

(郑州大学第一附属医院干部病房, 河南 郑州450052)

**摘要** 目的: 探讨甘草甜素(GL)对小鼠NK细胞杀伤活性的影响。方法: 使用LDH(乳酸脱氢酶)释放法, 测定甘草煎剂、甘草甜素注射液对小鼠NK细胞杀伤活性的影响, 进而探讨甘草甜素抗肿瘤活性及其机制。结果: 甘草煎剂(4.5 g/kg), GL注射液(6 mg/kg)能明显提高小鼠NK细胞的杀伤活性( $P < 0.05$ ), 且具有剂量差异性。结论: 提示甘草甜素具有体内抗肿瘤活性, 其机制与促进小鼠NK细胞杀伤活性有关。

**关键词:** 甘草甜素/药效学 NK细胞活性/药物作用

中图分类号: R285.6 文献标志码: B

有免疫抑制、抗炎、抗病毒作用。在临床上对恶性滋养叶肿瘤、肺癌、肝癌等均具有不同程度的抑制作用<sup>[1]</sup>。有实验证实, 甘草甜素不具有体外直接抑制绒毛癌细胞增殖的功能<sup>[2]</sup>, 我们通过动物实验进一步探讨了甘草甜素是否具有体内抗肿瘤的功能及其抗肿瘤的机制, 观察了甘草甜素对小鼠NK细胞杀伤活性的影响。

### 1 材料与方法

#### 1.1 主要试剂与仪器

甘草甜素(GL)为中药甘草的主要有效成分, 具

GL, 江苏天晴制药总厂产品; LDH 基质液、RPMI-