

## 黄连对2型糖尿病大鼠胰腺脂毒性及内质网应激相关蛋白表达的影响

詹玫琦<sup>1</sup>, 周珊珊<sup>2</sup>, 万晓刚<sup>3</sup>

(1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广东广州 510450; 2. 湖北中医药大学, 湖北武汉 430065;

3. 广州中医药大学第一附属医院, 广东广州 510405)

**摘要:**【目的】观察中药黄连对高糖高脂饮食诱导的2型糖尿病大鼠胰腺脂毒性的调控作用及探讨相关内质网应激的作用机制。【方法】从100只Wistar大鼠中随机选取20只作为正常组给予普通饲料喂养, 其余80只大鼠采用高脂高糖饲料喂养联合链脲佐菌素(STZ)注射方法建立2型糖尿病模型。将成模后的60只大鼠随机分为模型组、黄连组、二甲双胍组, 每组各20只。黄连组、二甲双胍组大鼠分别对应灌胃给药5周, 同期正常组和模型组给予相同体积的蒸馏水。5周后取血, 分别测定大鼠空腹血糖(FBG)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)及低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、游离脂肪酸(NEFA)水平, 采用免疫组织化学法检测胰腺组织中葡萄糖调节蛋白78(GRP78)、C/EBP同源蛋白(CHOP)、活化转录因子4(ATF4)的表达。【结果】与正常组比较, 模型组的FBG、TG、TC、LDL-C、NEFA水平明显升高( $P < 0.05$ ), HDL-C水平明显下降( $P < 0.05$ ), GRP78、CHOP、ATF4蛋白表达水平均明显升高; 与模型组比较, 黄连组和二甲双胍组FBG、TG、TC、LDL-C、NEFA水平明显下降( $P < 0.05$ ), HDL-C水平明显升高( $P < 0.05$ ), GRP78、CHOP、ATF4蛋白表达水平均显著降低。【结论】中药黄连能够降低2型糖尿病大鼠的血糖和血脂, 有效改善大鼠糖脂代谢紊乱, 减轻胰腺脂毒性程度, 降低内质网应激GRP78、CHOP、ATF4蛋白的表达。

**关键词:** 黄连; 2型糖尿病; 脂毒性; 内质网应激; 大鼠

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2021)01-0123-07

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2021.01.023

## Effects of Rhizoma Coptidis on Lipotoxicity and Expression of Endoplasmic Reticulum Stress-Related Proteins in Pancreas from Rats with Type 2 Diabetes Mellitus

ZHAN Mei-Qi<sup>1</sup>, ZHOU Shan-Shan<sup>2</sup>, WANG Xiao-Gang<sup>3</sup>

(1. The First Clinical Medical School, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510450 Guangdong, China;

2. Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065 Hubei, China; 3. The First Affiliated Hospital,

Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

**Abstract:** **Objective** To observe the effects of Chinese herbal medicine Rhizoma Coptidis on regulating and controlling pancreatic lipotoxicity in rats with type 2 diabetes mellitus induced by high-sugar and high-fat diet and to explore the endoplasmic reticulum stress-related mechanism. **Methods** Twenty rats were randomly selected from 100 Wistar rats as normal group, the other 80 rats were induced into type 2 diabetes mellitus model by feeding with high-fat, high-sugar diet and injection of streptozotocin (STZ). And then 60 successful modeling rats were randomly divided into model group, Rhizoma Coptidis group, Metformin group, 20 rats in each group. Rhizoma Coptidis group and Metformin group were given intragastric administration of corresponding medicine for 5 weeks, and the normal group and model group were given intragastric administration of the same volume of distilled water during the same period. After 5 weeks of treatment, the levels of fasting blood glucose (FBG), triglyceride (TG), total cholesterol (TC), high density lipoprotein-cholesterol (HDL-C), low density

收稿日期: 2020-04-12

作者简介: 詹玫琦(1992-), 女, 在读硕士研究生, 医师; E-mail: 2695202549@qq.com

通讯作者: 万晓刚, 博士, 教授, 主任医师; E-mail: 2345606@sina.com

基金项目: 广东省科技计划项目(编号: 2015A020210092)

lipoprotein-cholesterol (LDL-C), nonesterified fatty acid (NEFA) in serum were determined. The expression levels of glucose-regulated protein 78 (GRP78), C/EBP homologous protein (CHOP) and activating transcription factor 4 (ATF4) in the pancreas were determined by immunohistochemical method. **Results** Compared with the normal group, the levels of FBG, TG, TC, LDL-C and NEFA were increased in the model group, HDL-C level was decreased, expression levels of GRP78, CHOP and ATF4 were increased; Compared with the model group, the levels of FBG, TG, TC, LDL-C, NEFA were decreased in the Rhizoma Coptidis group and Metformin group, HDL-C level was increased, expression levels of GRP78, CHOP and ATF4 were decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Chinese herbal medicine Rhizoma Coptidis is effective for lowering blood glucose and lipids in type 2 diabetes mellitus rats, improving glucose and lipid metabolism disorder, reducing pancreatic lipotoxicity, and decreasing the expression of endoplasmic reticulum stress-related protein GRP78, CHOP and ATF4.

**Keywords:** Rhizoma Coptidis; type 2 diabetes mellitus; lipotoxicity; endoplasmic reticulum stress; rats

肥胖已成为2型糖尿病发病的危险因素之一。肥胖导致脂肪组织中脂肪含量增加、游离脂肪酸(NEFA)清除率降低,从而促使机体循环中的NEFA浓度升高<sup>[1]</sup>,长期高水平的NEFA在非脂肪组织(如胰腺、骨骼肌、肝脏)中对葡萄糖稳态的毒害作用被称为脂毒性<sup>[2]</sup>。已有越来越多的研究表明,脂毒性参与2型糖尿病的发病机制,并与大血管相关的糖尿病并发症(如冠心病、中风等)密切相关<sup>[3]</sup>。中药黄连运用于治疗糖尿病(消渴)已有1400多年历史<sup>[4]</sup>,既往临床研究亦证明了黄连具有改善糖脂代谢紊乱的作用<sup>[5-6]</sup>。现代药理研究报道,在中药黄连中已发现100多种有效成分<sup>[7]</sup>,其中,小檗碱<sup>[8-9]</sup>、黄连碱<sup>[10]</sup>、黄连多糖<sup>[11]</sup>等能通过多种信号通路改善2型糖尿病糖脂代谢紊乱,减轻糖毒性作用,但黄连对于脂毒性的作用机制尚不明确。为此,本研究通过建立高脂高糖饲料喂养联合腹腔注射链脲佐菌素(STZ)建立2型糖尿病大鼠模型,研究黄连对2型糖尿病大鼠胰腺脂毒性的调控作用,并探讨其相关内质网应激机制,现将研究结果报道如下。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** SPF级健康雄性Wistar大鼠100只,体质量( $140 \pm 20$ )g,购于湖北省实验动物研究中心,许可证号:SCXK(鄂)2015-0018。饲养在湖北中医药大学SPF级动物实验室内,室温为( $25 \pm 3$ )℃,相对湿度为( $55 \pm 5$ )%,12 h光照周期,自由进食饮水。本实验获得湖北中医药大学动物伦理委员会批准。

**1.2 药物** 取黄连药材2 kg(购于广州中医药大学第一附属医院药剂科,经万晓刚教授鉴定为正品,产地四川,批号:160201),加8倍蒸馏水浸泡时间达1 h,煎煮3次,混匀后用旋蒸仪将煎煮物浓缩成膏状,再将其冷冻为干燥粉末。1 g黄连可提取0.23 g黄连药粉,密封冷藏保存。盐酸二甲双胍片,购于中美上海施贵宝制药有限公司,批号:H20023370。

**1.3 试剂** STZ(美国Sigma公司);NEFA、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、总低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)等检测试剂盒(南京建成生物工程研究所);多聚甲醛、苏木素染色液(武汉阿斯本生物技术有限公司);活化转录因子4(ATF4)抗体、葡萄糖调节蛋白78(GRP78)抗体(上海艾博抗贸易有限公司);C/EBP同源蛋白(CHOP)抗体(美国CST公司)。

**1.4 仪器** JPS-5血糖仪和试纸(北京怡成生物电子股份有限公司);DR-200Bs酶标仪(无锡华卫德朗仪器有限公司);TGL16c台式离心机(上海安亭科学仪器厂);TGL-16冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器);计数仪(中国科技大学中佳科技实业有限公司);JT-12K脱水机、JB-P5包埋机、JB-L5冷冻台、JK-5摊片机(武汉俊杰电子有限公司);RM2016切片机(上海徕卡仪器有限公司);DHG-9123A烘干箱(上海一恒科学仪器有限公司);CX-21光学显微镜(深圳奥林巴斯工业有限公司)。

**1.5 造模、分组及给药** 将100只Wistar大鼠随机抽取20只设为正常组,其余80只设为造模组。

正常组给予普通饲料喂养10周。造模组给予高脂高糖饲料(其成分按质量分数配比:10%猪油、20%蔗糖、2%胆固醇、1%胆酸盐、67%普通饲料)喂养10周后,禁食不禁水12 h,一次性给予大鼠腹腔注射STZ 30 mg/kg<sup>[12]</sup>。造模5 d后尾静脉采血检测空腹血糖(FBG),重复测定3次FBG  $\geq 11.1$  mmol/L的大鼠即判断为糖尿病大鼠。成功造模大鼠共60只。按血糖值随机分为3组,分别为模型组、黄连组和二甲双胍组。分组后次日起所有大鼠称质量后给药。黄连组:根据《中药药理研究方法学》<sup>[13]</sup>及相应临床研究用量总结<sup>[14]</sup>评估,60 kg成人的黄连给药用量为10 g/d,大鼠的用药剂量等于标准体质量与人使用剂量相乘,经过前期预实验研究探索,取预实验的中剂量,即成人与大鼠的折算系数为10,按60 kg成人的每日用药剂量计算得大鼠黄连粉灌胃剂量为0.4 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>;二甲双胍组:剂量参照具有较好的降糖降脂作用的相应研究<sup>[15]</sup>,给予盐酸二甲双胍0.2 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>灌胃给药;模型组和正常组:给予等体积蒸馏水灌胃。每日1次,灌胃5周。干预期间均采用普通饲料喂养,自由进食饮水。

**1.6 标本采集** 首次给药前空腹12 h,尾静脉采血测FBG。灌胃期间每周尾尖采血测一次FBG并称质量。5周后,空腹12 h,20 g/L戊巴比妥钠腹腔麻醉,腹主动脉采血制备血清标本,静置2 h,以3 000 r/min离心15 min,所得血清用于测定血脂,剩余血清-80 ℃冰箱冻存待测。将大鼠仰卧固定,沿腹中线剪开,取出各组大鼠胰腺。

**1.7 血清生化指标检测** 将离心所得血清采用全自动生化分析仪测定TC、TG、HDL-C、LDL-C、NEFA的浓度,操作方法同说明书。

**1.8 免疫组织化学法检测大鼠胰腺CHOP、ATF4、GRP78蛋白的表达** 将胰腺组织切片进行脱蜡,

置于四乙铵二乙酸钠(EDTA)缓冲液中修复,后在室温下放置于体积分数3%过氧化氢溶液避光孵育。用体积分数5%牛血清白蛋白(BSA)封闭20 min。用一抗(CHOP 1:50, ATF4 1:50, GRP78 1:300稀释)50  $\mu$ L覆盖组织4 ℃过夜。隔天给予相应的二抗50 ~ 100  $\mu$ L 37 ℃覆盖50 min。予50 ~ 100  $\mu$ L新鲜配制的3,3'-二氨基联苯胺(DAB)溶液显色,苏木素复染,体积分数1%盐酸酒精分化1 s,自来水冲洗,氨水返蓝,流水冲洗。乙醇脱水干燥,二甲苯透明,中性树胶封固,进行采图。使用软件Image-Pro Plus对光密度值进行分析。

**1.9 统计方法** 采用SPSS 20.0统计软件进行数据分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。先对计量资料进行正态分布检验,如符合正态分布,多样本组间差异的分析方法选用单因素方差分析,进一步两两比较,数据方差齐者使用LSD法,方差不齐者采用Dunnett's T3法;若不符合正态分布,则采用非参数秩和检验Kruskal-Wallis检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组大鼠灌胃前后体质量和FBG值的比较** 表1结果显示:治疗前,3组糖尿病大鼠体质量均低于正常组( $P < 0.05$ ),FBG值均高于正常组( $P < 0.05$ )。治疗后,3组糖尿病大鼠体质量仍有不同程度的下降。与正常组比较,模型组大鼠体质量明显下降,FBG值明显升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );与模型组比较,黄连组体质量上升,二甲双胍组体质量下降,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),黄连组、二甲双胍组FBG值均下降( $P < 0.05$ )。

**2.2 各组大鼠治疗后血清TG、TC、HDL-C、LDL-C、NEFA水平的比较** 表2结果显示,与正

表1 各组大鼠治疗前后体质量、空腹血糖(FBG)值比较

Table 1 Comparison of body mass and FBS value in various groups before and after treatment ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数(只)	体质量(g)		FBG(mmol·L <sup>-1</sup> )	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
正常组	20	541.42 $\pm$ 34.78	571.05 $\pm$ 40.75	6.49 $\pm$ 0.56	6.91 $\pm$ 0.29
模型组	20	357.19 $\pm$ 32.73 <sup>①</sup>	261.84 $\pm$ 42.09 <sup>①</sup>	19.04 $\pm$ 5.36 <sup>①</sup>	24.53 $\pm$ 3.80 <sup>①</sup>
黄连组	20	326.12 $\pm$ 40.64 <sup>①</sup>	282.20 $\pm$ 59.57 <sup>①②</sup>	16.84 $\pm$ 5.61 <sup>①</sup>	17.52 $\pm$ 6.47 <sup>①②</sup>
二甲双胍组	20	292.92 $\pm$ 25.92 <sup>①</sup>	243.87 $\pm$ 39.30 <sup>①②</sup>	23.52 $\pm$ 4.20 <sup>①</sup>	18.07 $\pm$ 4.10 <sup>①②</sup>

① $P < 0.05$ ,与正常组比较;② $P < 0.05$ ,与模型组比较



表2 各组大鼠治疗后血清TG、TC、HDL-C、LDL-C、NEFA水平的比较

Table 2 Comparison of serum TG, TC, HDL-C, LDL-C and NEFA in various groups after treatment ( $\bar{x} \pm s$ , mmol·L<sup>-1</sup>)

组别	鼠数(只)	TG	TC	HDL-C	LDL-C	NEFA
正常组	20	0.65 ± 0.09	1.62 ± 0.19	1.27 ± 0.14	0.40 ± 0.07	0.54 ± 0.09
模型组	20	1.14 ± 0.10 <sup>①</sup>	2.23 ± 0.20 <sup>①</sup>	0.63 ± 0.10 <sup>①</sup>	1.40 ± 0.16 <sup>①</sup>	1.02 ± 0.09 <sup>①</sup>
黄连组	20	0.86 ± 0.10 <sup>①②</sup>	1.60 ± 0.21 <sup>②</sup>	0.91 ± 0.12 <sup>①②</sup>	1.00 ± 0.17 <sup>①②</sup>	0.74 ± 0.09 <sup>①②</sup>
二甲双胍组	20	0.66 ± 0.10 <sup>②</sup>	1.99 ± 0.25 <sup>①</sup>	1.03 ± 0.27 <sup>①②</sup>	0.66 ± 0.17 <sup>①②</sup>	0.66 ± 0.09 <sup>①②</sup>

① $P < 0.05$ , 与正常组比较; ② $P < 0.05$ , 与模型组比较

常组比较, 模型组大鼠血清TG、TC、LDL-C、NEFA水平明显上升( $P < 0.05$ ), HDL-C水平明显下降( $P < 0.05$ ), 表明模型组大鼠表现为高血脂; 与模型组比较, 黄连组血清TG、TC、LDL-C、NEFA水平下降( $P < 0.05$ ), HDL-C水平升高( $P < 0.05$ ), 二甲双胍组血清LDL-C、NEFA水平下降( $P < 0.05$ ), HDL-C水平升高( $P < 0.05$ ), 且2个治疗组之间比较, 差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。

2.3 各组大鼠胰腺组织中GRP78、CHOP、ATF4蛋白表达水平的比较 图1~4结果显示, 与正常组比较, 模型组大鼠胰腺组织中GRP78、CHOP、ATF4蛋白表达水平均显著升高( $P < 0.01$ ); 经黄连和二甲双胍干预后, 大鼠胰腺组织中的GRP78、CHOP、ATF4蛋白表达水平均明显下降( $P < 0.01$ ), 且2个治疗组之间比较, 差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。

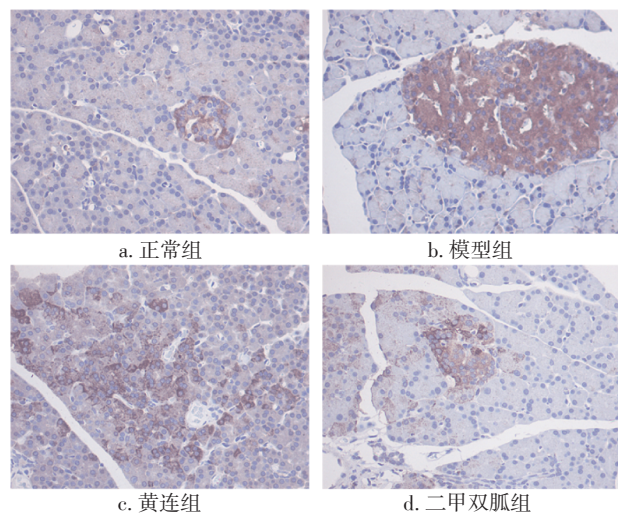


图1 各组大鼠胰腺GRP78的表达分布  
(免疫组织化学法, ×200)

Figure 1 Comparison of distribution of GRP78 expression in pancreas of rats from various groups (by immunohistochemical method, ×200)

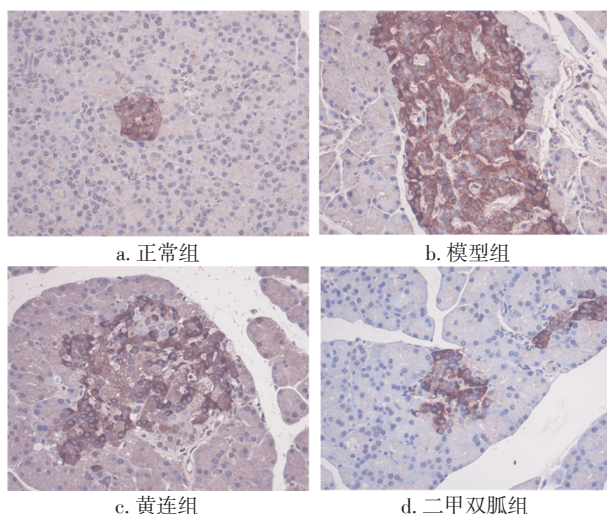


图2 各组大鼠胰腺CHOP的表达分布  
(免疫组织化学法, ×200)

Figure 2 Comparison of distribution of CHOP expression in pancreas of rats from various groups (by immunohistochemical method, ×200)

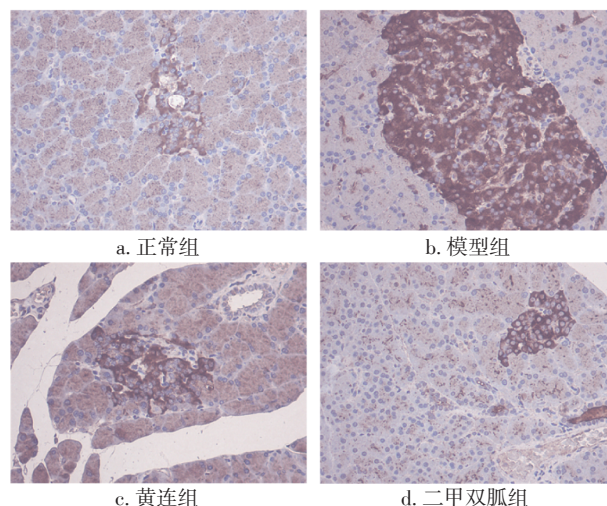
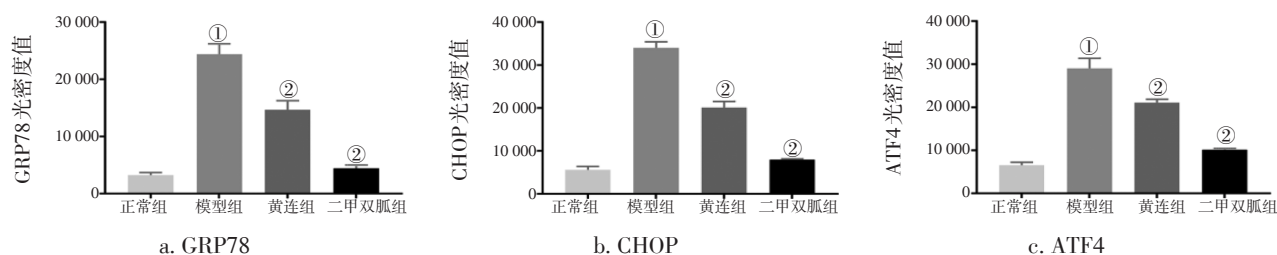


图3 各组大鼠胰腺ATF4的表达分布  
(免疫组织化学法, ×200)

Figure 3 Comparison of distribution of NEFA expression in pancreas of rats from various groups (by immunohistochemical method, ×200)





① $P < 0.01$ , 与正常组比较; ② $P < 0.01$ , 与模型组比较

图4 各组大鼠胰腺GRP78、CHOP、ATF4蛋白表达水平比较

Figure 4 Comparison of expression levels of GRP78, CHOP, ATF4 proteins in pancreas of rats from various groups

### 3 讨论

在现今许多2型糖尿病患者中,多数都处于超重或肥胖状态,经常可见高血脂与高血糖并存<sup>[16]</sup>。这些患者体内长期存在脂质稳态失衡(以TG、LDL-C升高和HDL-C降低为特征)<sup>[17]</sup>,会加快动脉粥样硬化的形成,显著增加糖尿病相关的心、脑血管风险。本研究采用的高糖高脂饮食合STZ注射诱导的2型糖尿病大鼠模型<sup>[18]</sup>,模拟了糖脂代谢紊乱的环境,能有效地构建与人发病时相同的模型,利于观察与干预。祖国医学将2型糖尿病纳入“消渴”范畴,中药黄连在消渴中的运用历史悠久,历代医家皆认为黄连是治疗消渴之良药,单用有效。《名医别录》记载黄连“止消渴”,《肘后备急方》用一味黄连蜜丸治消渴尿多,《千金要方》《普济方》《外台秘要》等均有关于黄连治疗消渴的记载。现代医家中,仝小林<sup>[19]</sup>、闫镛<sup>[20]</sup>等均有使用黄连治疗糖尿病的经验。根据最新药理研究,中药黄连能有效改善肝脏脂毒性<sup>[21]</sup>,但对胰腺脂毒性的研究尚未明确。因此,本研究使用中药黄连进行干预,探讨黄连对2型糖尿病大鼠胰腺脂毒性的作用。

众所周知, $\beta$ 细胞功能障碍是2型糖尿病发病机制之一,而糖脂毒性能加重 $\beta$ 细胞功能障碍。加拿大1项为期6年的随访研究中<sup>[22]</sup>显示,血清NEFA水平与胰岛 $\beta$ 细胞功能之间存在负相关性,且NEFA的血清浓度是预测 $\beta$ 细胞功能降低的有力指标。同时,许多体外研究也证明,高脂状态不仅减少机体循环中NEFA的清除率,同时还释放更多的NEFA进入循环中<sup>[23]</sup>,而高糖状态也会刺激 $\beta$ 细胞内脂解,促使NEFA直接在胰腺中生成并蓄积,对胰岛 $\beta$ 细胞产生脂毒性作用,加重胰岛 $\beta$ 细胞功能障碍<sup>[24]</sup>。本研究通过构建以高糖高脂饮食诱导的2型糖尿病大鼠模型,结果发现模型组的血清

FBG、TG、TC、LDL-C和NEFA水平显著高于正常组,HDL-C水平低于正常组,而二甲双胍组血清中FBG、TG、TC、LDL-C和NEFA水平较模型组明显下降,HDL-C水平较模型组升高,以上结果表明经高糖高脂饮食诱导的2型糖尿病大鼠存在血糖和血脂代谢紊乱,且模型组NEFA水平较正常组上升,也证实了NEFA引起的脂毒性对2型糖尿病发病机制的影响。而应用中药黄连灌胃后,糖尿病大鼠血清FBG、TG、TC、LDL-C和NEFA水平显著下降,HDL-C水平显著升高,这提示黄连能够有效地改善2型糖尿病大鼠血糖及血脂水平,并降低循环中NEFA水平,减轻脂毒性的作用。

目前,脂毒性作用影响2型糖尿病加剧发生发展的机制较为复杂,主要与炎症反应<sup>[25]</sup>、线粒体功能障碍<sup>[26]</sup>、内质网应激<sup>[25]</sup>和氧化应激<sup>[27]</sup>相关。越来越多的证据表明,内质网应激在2型糖尿病的发病机制中占据重要位置,并与糖脂毒性有关<sup>[28]</sup>。内质网在脂质生物合成以及分泌蛋白的合成和折叠中起着核心作用。正常生理状态下的胰岛 $\beta$ 细胞通过信号转导促使内质网折叠合成胰岛素原,但在糖脂毒性的激发下,内质网腔中容易积累未折叠或者错误折叠的蛋白质,这种未折叠的蛋白反应(UPR)即是内质网应激中的一种表现。UPR有3条经典信号转导通路,研究较多的是蛋白激酶RNA样内质网激酶(PERK)通路。GRP78是内质网中的分子伴侣,是内质网应激激活的标志物<sup>[29]</sup>。当内质网出现应激反应时,PERK蛋白磷酸化,介导转录因子ATF4翻译增加,当ATF4进入细胞核内,激活下游相关因子,促使CHOP蛋白的表达<sup>[30]</sup>,进而导致细胞走向凋亡进程。本研究结果显示,模型组大鼠胰腺中GRP78、CHOP、ATF4蛋白的表达水平较正常组显著上升,这提示2型糖尿病大鼠内质网应激状态已被激活;而经黄连灌胃后的大鼠

胰腺 GRP78、CHOP、ATF4 蛋白的表达水平较模型组均明显下降,表明黄连组可改善内质网应激状态。因此,推测中药黄连对胰腺脂毒性的调控作用可能通过改善内质网应激机制减少 NEFA 在胰腺细胞中的堆积来实现。

综上所述,应用中药黄连进行干预后可有效改善高糖高脂饮食诱导的 2 型糖尿病大鼠糖脂代谢紊乱,减轻胰腺脂毒性程度,且其作用机制可能与减轻内质网应激,进一步减少胰岛细胞走向凋亡有关。本研究的意义在于初步探讨了中药黄连对高糖高脂饮食诱导的 2 型糖尿病大鼠胰腺脂毒性的调控作用及内质网应激相关蛋白表达的影响,这为黄连的临床应用提供良好的实验证据。但本研究仍存在一定的不足,今后有待深入分析内质网应激凋亡途径中的 ASK1/JNK 及 Caspase-12 的激活途径、就中药黄连中具体哪一有效部分对血脂有切实改善作用进行有效验证、就中药黄连的有效成分如何进入细胞影响内质网应激通路进行研究,等等。

## 参考文献:

- [1] PALOMER X, PIZARRO-DELGADO J, BARROSO E, et al. Palmitic and oleic acid: the yin and yang of fatty acids in type 2 diabetes mellitus [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2018, 29(3): 178-190.
- [2] YE R, ONODERA T, SCHERER PE. Lipotoxicity and  $\beta$  Cell maintenance in obesity and type 2 diabetes [J]. *J Endocr Soc*, 2019, 3(3): 617-631.
- [3] DINESH SHAH A, LANGENBERG C, RAPSOMANIKI E, et al. Type 2 diabetes and incidence of a wide range of cardiovascular diseases: a cohort study in 1.9 million people [J]. *Lancet*, 2015, 385: S86-S86.
- [4] WANG H, MU W, SHANG H, et al. The antihyperglycemic effects of Rhizoma Coptidis and mechanism of actions: a review of systematic reviews and pharmacological research [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 798093.
- [5] 马永会. 中药黄连治疗 2 型糖尿病临床研究 [J]. *光明中医*, 2019, 34(6): 827-830.
- [6] 张红. 中药黄连在糖尿病治疗中的应用 [J]. *中国医药指南*, 2019, 17(26): 207-208.
- [7] WANG J, WANG L, LOU G H, et al. Coptidis Rhizoma: a comprehensive review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology [J]. *Pharm Biol*, 2019, 57(1): 193-225.
- [8] ZHONG Y, JIN J, LIU P, et al. Berberine attenuates hyperglycemia by inhibiting the hepatic glucagon pathway in diabetic mice [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 6210526.
- [9] 赵颖, 杨园园, 杜雅薇, 等. 黄连素治疗血脂异常有效性和安全性随机对照临床试验的系统评价与 Meta 分析 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(3): 664-673.
- [10] CHOI JS, KIM JH, ALIM Y, et al. Coptis chinensis alkaloids exert anti-adipogenic activity on 3T3-L1 adipocytes by downregulating C/EBP- $\alpha$  and PPAR- $\gamma$  [J]. *Fitoterapia*, 2014, 98: 199-208.
- [11] CUI L, LIU M, CHANG X, et al. The inhibiting effect of the Coptis chinensis polysaccharide on the type II diabetic mice [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 81: 111-119.
- [12] 候丹, 许光远, 张苗, 等. 红景天苷改善糖尿病大鼠肝脏糖脂水平的作用机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(1): 130-134.
- [13] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社 2006: 445.
- [14] 王海霞, 王青, 朱向东. 黄连临床应用及其用量 [J]. *吉林中医药*, 2019, 39(9): 1150-1153.
- [15] 王丽敏, 于静, 赵夜雨, 等. 小柴胡汤对 CFA 大鼠滑膜组织 NF- $\kappa$ B 信号通路作用的探讨 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(15): 44-50.
- [16] PRENTKI M, PEYOT M L, MASIELLO P, et al. Nutrient-induced metabolic stress, adaptation, detoxification, and toxicity in the pancreatic  $\beta$ -Cell [J]. *Diabetes*, 2020, 69(3): 279-290.
- [17] HERMANS M P, VALENSI P. Elevated triglycerides and low high-density lipoprotein cholesterol level as marker of very high risk in type 2 diabetes [J]. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2018, 25(2): 118-129.
- [18] GHEIBI S, KASHFI K, GHASEMI A. A practical guide for induction of type-2 diabetes in rat: incorporating a high-fat diet and streptozotocin [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 95: 605-613.
- [19] 王涵, 顾成娟, 吴学敏, 等. 葛根、黄连、黄芩治疗 2 型糖尿病胃肠湿热证——全小林三味小方撷萃 [J]. *吉林中医药*, 2019, 39(12): 1569-1572.
- [20] 闫爱华, 徐伶俐, 张瑞帅, 等. 闫镛教授应用黄连治疗糖尿病经验 [J]. *中国民族民间医药*, 2018, 27(13): 43-45.
- [21] 金军, 刘吉祥, 易鸣. 黄连素对高脂饮食诱导非酒精性脂肪性肝病小鼠肝脂毒性的保护作用及相关机制研究 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2019, 18(11): 2.
- [22] JOHNSTON L W, HARRIS S B, RETNAKARAN R, et al. Association of NEFA composition with insulin sensitivity and beta cell function in the Prospective Metabolism and Islet Cell Evaluation (PROMISE) cohort [J]. *Diabetologia*, 2018, 61(4): 821-830.
- [23] MASAYA O, SÉVERINE P, LARA B, et al. Stearoyl CoA desaturase is a gatekeeper that protects human beta cells against lipotoxicity and maintains their identity [J]. *Diabetologia*, 2020, 63(10): 395-409.
- [24] RORSMAN P, ASHCROFT F M. Pancreatic  $\beta$ -Cell electrical

- activity and insulin secretion: of mice and men[J]. *Physiol Rev*, 2018, 98(1): 117-214.
- [25] CNOP M, ABDULKARIM B, BOTTU G, et al. RNA sequencing identifies dysregulation of the human pancreatic islet transcriptome by the saturated fatty acid palmitate[J]. *Diabetes*, 2014, 63(6): 1978-1993.
- [26] MONTGOMERY M K, TURNER N. Mitochondrial dysfunction and insulin resistance: an update[J]. *Endocr Connect*, 2015, 4(1): R1-R15.
- [27] SCHIEBER M, CHANDEL N S. ROS function in redox signaling and oxidative stress[J]. *Curr Biol*, 2014, 24(10): R453-462.
- [28] CNOP M, TOIVONEN S, IGOILLO-ESTEVE M, et al. Endoplasmic reticulum stress and eIF2 $\alpha$  phosphorylation: The Achilles heel of pancreatic  $\beta$  cells[J]. *Mol Metab*, 2017, 6(9): 1024-1039.
- [29] ZHOU X, HAN D, YANG X, et al. Glucose regulated protein 78 is potentially an important player in the development of nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Gene*, 2017, 637: 138-144.
- [30] FERNÁNDEZ A, ORDÓÑEZ R, REITER R J, et al. Melatonin and endoplasmic reticulum stress: relation to autophagy and apoptosis[J]. *J Pineal Res*, 2015, 59(3): 292-307.
- 【责任编辑：侯丽颖】

## 肾气丸对膝骨性关节炎模型大鼠炎症因子和软骨基质的影响

李梓灏<sup>1</sup>, 黄刚<sup>2</sup>, 严伟健<sup>1</sup>, 胡赢<sup>1</sup>, 谢家豪<sup>1</sup>

(1. 广州中医药大学第二临床医学院, 广东广州 510006; 2. 南方医科大学中西医结合医院, 广东广州 510000)

**摘要:**【目的】探讨肾气丸对膝骨性关节炎的治疗作用和机制。【方法】采用膝关节腔内注射木瓜蛋白酶方法建立膝骨性关节炎大鼠模型, 将造模成功的27只大鼠随机分为模型组、中药组和西药组, 每组各9只, 另取正常大鼠10只为正常组。中药组给予肾气丸水煎剂11.55 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>灌胃, 西药组给予氨基葡萄糖生理盐水溶液157.5 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>灌胃, 正常组和模型组给予等体积的生理盐水灌胃, 灌胃8周。8周后测量大鼠的膝关节宽度、膝关节被动活动度、滑膜厚度、压痛阈值、热痛阈值, 酶联免疫吸附分析(ELISA)检测关节液中的肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、白细胞介素9(IL-9)、基质金属蛋白酶3(MMP-3)、基质金属蛋白酶9(MMP-9)、II型胶原、雌二醇(E2)含量。【结果】与正常组比较, 模型组大鼠的膝关节宽度和滑膜厚度增加, 膝关节被动活动度、压痛阈值、热痛阈值减小, 关节液中的TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-9、MMP-3、MMP-9含量升高, II型胶原、E2含量降低(均 $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 中药组、西药组大鼠的膝关节宽度和滑膜厚度减小( $P < 0.05$ ), 膝关节被动活动度、压痛阈值、热痛阈值增加, 关节液中的TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-9、MMP-3、MMP-9含量降低, II型胶原、E2含量升高(均 $P < 0.05$ ), 且2个治疗组比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。【结论】肾气丸可以抑制膝骨性关节炎大鼠关节内炎症反应, 抑制关节软骨降解, 修复软骨损伤, 改善膝关节功能。

**关键词:** 肾气丸; 膝骨性关节炎; 炎症因子; 软骨降解; 大鼠

**中图分类号:** R285.5

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1007-3213(2021)01-0129-06

**DOI:** 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2021.01.024

**收稿日期:** 2020-03-20

**作者简介:** 李梓灏(1992-), 男, 硕士; E-mail: 3099936331@qq.com

**通讯作者:** 黄刚, 男, 博士, 主任医师; E-mail: 1413371231@qq.com