

芍药苷通过调控 Akt/FoxO1 信号通路对 2 型糖尿病大鼠的保护作用

何瑞娟¹, 白露¹, 谭攀攀¹, 吴素伟², 赵杰荣¹

(1. 濮阳医学高等专科学校药理学系, 河南濮阳 457000; 2. 濮阳市中医院中药房, 河南濮阳 457000)

摘要: **目的** 探讨芍药苷对 2 型糖尿病 (T2DM) 大鼠的作用。**方法** 高糖高脂饮食加注射链脲佐菌素 (STZ) 法建立 T2DM 大鼠模型, 并随机分为模型组、二甲双胍组 (100 mg/kg) 和芍药苷高、低剂量组 (200、100 mg/kg), 每组 10 只, 另选 10 只健康大鼠作为正常组, 各组灌胃给予相应剂量药物, 每天 1 次, 持续 8 周。给药第 7 周进行葡萄糖耐量实验, 给药结束后使用试剂盒检测空腹血糖 (FBG)、空腹胰岛素 (FINS)、胰岛素抵抗指数 (IRI) 及血清高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG) 水平, HE 染色观察肝组织病理形态, ELISA 法检测肝组织白细胞介素 1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 6 (IL-6)、丙二醛 (MDA) 水平和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、过氧化氢酶 (CAT) 活性, Western blot 法检测肝组织蛋白激酶 B (Akt)、叉头状转录因子 O1 (FoxO1) 蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 二甲双胍组和芍药苷各剂量组大鼠 FBG、FINS、IRI 均降低 ($P < 0.01$), 葡萄糖耐受能力得到改善; 血清 HDL-C 水平升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), LDL-C、TC 和 TG 水平降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 肝组织病理性损伤减轻; 肝组织 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 水平降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 肝组织 MDA 水平和 p-Akt 蛋白表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 肝组织 GSH-Px、CAT 活性和 p-FoxO1 蛋白表达升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** 芍药苷具有改善 2 型糖尿病大鼠糖脂代谢紊乱, 抑制炎症反应及氧化应激的作用。

关键词: 芍药苷; 2 型糖尿病; 糖脂代谢紊乱; 炎症反应; 氧化应激; Akt/FoxO1 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)08-2732-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.08.048

糖尿病是一类慢性代谢性疾病, 主要由胰岛细胞受损导致。目前全球糖尿病患者已超 5 亿, 患病人数及死亡人数均呈逐年递增趋势, 已成为重要的公共卫生问题^[1]。糖尿病患者中 90% 为 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM), 其人群中肥胖者占多数, 由于胰岛素抵抗引起的糖脂代谢紊乱是其主要特征^[2]。伴随着 T2DM 患者病情的加重, 会导致肾病、肝损伤、视网膜病变、足病、神经系统病变等多种并发症的发生。西医治疗 T2DM 虽然可以使患者的病情得到一定程度的控制, 但在长期预后以及并发症的防治上难以令人满意^[3]。T2DM 的发病机制复杂, 涉及糖脂代谢紊乱、炎症反应、氧化应激等多个分子机制^[4-5]。

芍药苷为单萜类糖苷化合物, 是中药牡丹和芍药的主要有效成分, 具有镇静催眠、调节免疫、抗抑郁、保护神经、抗肿瘤、抗炎、镇痛及保肝等多种功效^[6]。近年来, 芍药苷在防治糖尿病并发症如糖尿病神经系统病变^[7]、糖尿病眼病^[8]及糖尿病肾病^[9]等方面均有报道。研究也发现, 芍药苷可以延迟 1 型糖尿病 (type 1 diabetes mellitus, T1DM) 的发病时间^[10]。本研究通过建立 T2DM 大鼠模型, 探讨芍药苷对 T2DM 大鼠糖脂代谢紊乱、炎症反应及氧化应激作用的潜在影响, 以期为其应用于 T2DM 的临床治疗

提供参考。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 SD 大鼠, 雄性, 体质量 (200 \pm 20) g, 购于河南省实验动物中心 [实验动物生产许可证号 SCXK (豫) 2017-0001], 饲养于濮阳医学高等专科学校动物中心, 环境为 12 h 光照/12 h 黑暗, 温度 (24 \pm 1) $^{\circ}$ C, 自由饮水、饮食。本实验通过濮阳医学高等专科学校动物实验伦理委员会审查 (伦理号 PYYZKY202106)。

1.2 药物与试剂 芍药苷 (批号 181109, 纯度 98%, 西安赛邦生物技术有限公司)。链脲佐菌素 (STZ, 批号 S8050-1, 北京索莱宝科技有限公司); 二甲双胍片 (批号 B14202003084, 中美上海施贵宝制药有限公司); 空腹胰岛素 (fasting insulin, FINS)、高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG) 检测试剂盒 (货号 ml302840、ml064274、ml037144、ml094937、ml092652, 上海酶联生物科技有限公司); 白细胞介素 1 β (interleukin 1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白细胞介素 6 (interleukin 6, IL-6) 酶联免疫吸附法 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)

收稿日期: 2021-12-19

基金项目: 河南省医学教育科研项目 (wjlx2017168)

作者简介: 何瑞娟 (1976—), 女, 副教授, 从事中药学研究。Tel: (0393) 6915776, E-mail: hrj1976@126.com

检测试剂盒 (货号 LE-B1145、LE-B0126、LE-B0128, 合肥莱尔生物科技有限公司); 丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、过氧化氢酶 (catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathion peroxidase, GSH-Px) ELISA 检测试剂盒 (批号 JLC11918、JLC2429、JLC2383, 上海晶抗生物工程公司); 蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)、磷酸化 Akt (phosphorylated Akt, p-Akt)、叉头状转录因子 O1 (phosphorylated forkhead transcription factor, FoxO1)、磷酸化 FoxO1 (phosphorylated FoxO1, p-FoxO1) 抗体 (批号 ab8805、ab38449、ab39670、ab131339, 英国 Abcam 公司); 二抗 (货号 sc-2025, 美国 Santa Cruz 公司)。

1.3 仪器 3K15 型低温高速离心机 (美国 Sigma 公司); AG-605 型血糖仪及血糖试纸 (天津九安医疗电子股份有限公司); UV759S 型紫外可见分光光度计 (上海仪电分析仪器有限公司); Synergy H1MFD 型多功能酶标仪 (美国 BioTek 公司); CX41-12C02 型光学显微镜 (日本 Olympus 公司); 165-8002 型蛋白电泳仪 (美国伯乐公司)。

2 方法

2.1 造模、分组及给药 大鼠随机分为正常组和造模组, 正常组给予标准饲料, 造模组给予高糖高脂饮食 (3% 蛋黄粉、6% 酪蛋白、10% 白糖、15% 猪油、66% 标准饲料), 饲养 4 周。造模组大鼠腹腔注射 30 mg/kg STZ 溶液, 72 h 后测定空腹血糖 (fasting blood glucose, FBG), FBG > 11.1 mmol/L 作为 T2DM 模型成功建立的标准^[11]。将造模成功的大鼠随机分为模型组、二甲双胍组 (100 mg/kg) 和芍药苷高、低剂量组 (200、100 mg/kg)^[10], 灌胃给予相应剂量药物, 每天 1 次, 持续 8 周; 正常组及模型组大鼠灌胃给予等体积蒸馏水。

2.2 葡萄糖耐量实验 (OGTT) OGTT 可以反映机体对血糖浓度的调节能力, 给药第 7 周后进行 OGTT 实验。各组大鼠禁食不禁水 12 h, 灌胃 40% 葡萄糖溶液 (2 g/kg), 在第 0、30、60、120 分钟时通过尾静脉取血, 测定血糖水平, 记录血糖水平随时间的变化情况。

2.3 生化指标检测 末次给药后 24 h, 大鼠腹腔注射 20% 乌拉坦进行麻醉, 腹主动脉取血, 离心后分离血清, 采用

相应试剂盒检测 FBG、FINS、胰岛素抵抗指数 (insulin resistance index, IRI) 及血清 HDL-C、LDL-C、TC、TG 水平。大鼠采血后, 颈椎脱位法处死, 并分离肝脏组织。

2.4 苏木精-伊红 (HE) 染色观察肝组织病理变化 大鼠采血后, 颈椎脱位法处死, 分离肝脏组织, 一部分于 4% 多聚甲醛溶液中固定, 另一部分冷冻保存。取固定的肝组织, 乙醇梯度脱水, 石蜡包埋, 切片, 经脱蜡、水洗后, 行常规 HE 染色, 于光学显微镜下观察肝组织病理变化。

2.5 ELISA 法检测炎症因子及氧化应激相关指标水平 取冷冻保存的大鼠肝组织, 在冰上进行研磨, 并用 RIPA 裂解液进行裂解, 4 °C 离心, 分离得到上清液, 分装后冻存备用。按照试剂盒说明书进行操作, 采用 ELISA 法分别检测肝组织炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 水平, 氧化应激指标 MDA 水平和 GSH-Px、CAT 活性。

2.6 Western blot 法检测肝组织 Akt、FoxO1 蛋白表达 取冷冻保存的大鼠肝组织, 在冰上进行研磨, 使用蛋白提取试剂盒提取肝组织总蛋白, 经十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白, 随后转至聚偏氟乙烯膜上, 再用 5% 脱脂奶粉溶液封闭 2 h, 分别加入 Akt、p-Akt、FoxO1、p-FoxO1 抗体, 4 °C 孵育过夜, 次日加入相应的二抗, 室温孵育 1 h, 显影后分析蛋白条带灰度。

2.7 统计学分析 通过 SPSS 20.0 软件进行处理, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 芍药苷对 T2DM 大鼠一般状态、FBG、FINS 水平及 IRI 的影响 正常组大鼠一般情况无明显变化, 精神、饮食状态均良好, 大小便正常, 皮毛有光泽; 模型组大鼠出现精神萎靡、多饮多食、多尿、皮毛蓬松无光泽等表现; 与模型组比较, 二甲双胍组及芍药苷各剂量组大鼠上述表现均有一定程度的改善。如表 1 所示, 与正常组比较, 模型组大鼠 FBG、FINS 水平及 IRI 均升高 (P < 0.01); 与模型组比较, 二甲双胍组及芍药苷各剂量组大鼠 FBG、FINS 水平及 IRI 均降低 (P < 0.01)。

3.2 芍药苷对 T2DM 大鼠 OGTT 的影响 如表 2 所示, 与

表 1 芍药苷对 T2DM 大鼠 FBG、FINS 水平及 IRI 的影响 ($\bar{x} \pm s$, n = 10)

组别	FBG/(mmol·L ⁻¹)	FINS/(mmol·L ⁻¹)	IRI
正常组	5.41±0.71	9.43±1.16	2.26±0.32
模型组	25.73±3.39**	23.10±3.28**	26.41±4.03**
二甲双胍组	9.38±1.17###	13.85±1.66###	5.77±0.68###
芍药苷高剂量组	12.81±1.48###	16.06±1.72###	9.14±1.27###
芍药苷低剂量组	15.56±2.04###	19.29±2.18###	13.34±1.74###

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

正常组比较, 模型组大鼠血糖水平在第 0、30、60、120 分钟时升高 (P < 0.01); 与模型组比较, 二甲双胍组及芍药苷各剂量组大鼠血糖水平在第 0、30、60、120 分钟时降低 (P < 0.01)。

3.3 芍药苷对 T2DM 大鼠血清 HDL-C、LDL-C、TC 及 TG 水平的影响 如表 3 所示, 与正常组比较, 模型组大鼠血

清 HDL-C 水平降低 (P < 0.01), LDL-C、TC 及 TG 水平升高 (P < 0.01); 与模型组比较, 二甲双胍组及芍药苷各剂量组大鼠血清 HDL-C 水平升高 (P < 0.05, P < 0.01), LDL-C、TC 及 TG 水平降低 (P < 0.05, P < 0.01)。

3.4 芍药苷对 T2DM 大鼠肝组织病理变化的影响 正常组大鼠肝索及肝窦结构明显, 肝脏组织结构清晰完整; 模型

表2 芍药苷对T2DM大鼠OGTT的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	FBG/(mmol·L ⁻¹)			
	0 min	30 min	60 min	120 min
正常组	5.45±0.68	14.45±1.56	9.04±1.30	8.69±1.20
模型组	23.71±3.49**	38.18±5.03**	32.86±4.21**	30.36±4.18**
二甲双胍组	10.03±1.24##	23.52±3.16##	18.74±2.18##	15.58±2.47##
芍药苷高剂量组	13.14±1.14##	26.38±2.71##	22.08±2.64##	19.13±2.15##
芍药苷低剂量组	15.59±2.05##	29.26±3.67##	25.30±3.13##	21.28±2.84##

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

表3 芍药苷对T2DM大鼠血清HDL-C、LDL-C、TC及TG水平的影响 (mmol/L, $\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	HDL-C	LDL-C	TC	TG
正常组	1.33±0.12	0.92±0.13	1.15±0.20	2.95±0.35
模型组	0.84±0.18**	1.68±0.22**	1.96±0.26**	6.82±0.83**
二甲双胍组	1.21±0.21##	1.19±0.15##	1.46±0.19##	4.09±0.58##
芍药苷高剂量组	1.10±0.19##	1.25±0.17##	1.52±0.21##	4.61±0.53##
芍药苷低剂量组	0.95±0.17#	1.43±0.24##	1.78±0.17#	5.27±0.66##

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

组大鼠肝窦出现异常，肝索界限不清晰，肝细胞质有一定程度的空泡结构，排列不规则，组织结构紊乱；二甲双胍组及

芍药苷各剂量组大鼠肝窦基本恢复正常，肝索排列规则，其他病理性改变均较模型组有一定程度的缓解，见图1。

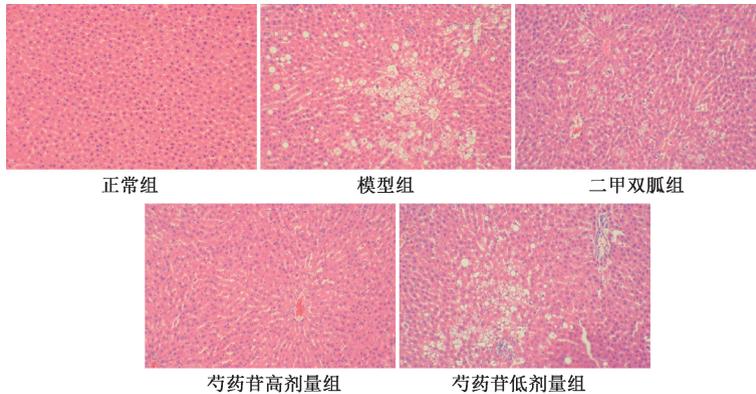


图1 芍药苷对T2DM大鼠肝组织病理变化的影响 (HE, ×200)

3.5 芍药苷对T2DM大鼠肝组织IL-1 β 、TNF- α 及IL-6水平的影响 如表4所示，与正常组比较，模型组大鼠肝组织IL-1 β 、TNF- α 及IL-6水平升高 ($P<0.01$)；与模型组比

较，二甲双胍组及芍药苷各剂量组大鼠肝组织IL-1 β 、TNF- α 及IL-6水平降低 ($P<0.05, P<0.01$)。

表4 芍药苷对T2DM大鼠肝组织IL-1 β 、TNF- α 及IL-6水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	IL-1 β /(pg·mL ⁻¹)	TNF- α /(ng·mL ⁻¹)	IL-6/(ng·mL ⁻¹)
正常组	13.41±1.51	0.43±0.06	0.27±0.03
模型组	326.34±40.57**	3.86±0.46**	1.75±0.23**
二甲双胍组	102.70±12.90##	0.94±0.15##	0.89±0.11##
芍药苷高剂量组	97.72±10.39##	1.17±0.13##	0.84±0.09##
芍药苷低剂量组	152.59±18.08##	2.05±0.28##	1.58±0.22#

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

3.6 芍药苷对T2DM大鼠肝组织MDA水平和GSH-Px、CAT活性的影响 与正常组比较，模型组大鼠肝组织MDA水平升高 ($P<0.01$)，GSH-Px、CAT活性降低 ($P<0.01$)；与模型组比较，二甲双胍组及芍药苷各剂量组大鼠肝组织MDA水平降低 ($P<0.01$)，GSH-Px、CAT活性升高 ($P<0.05, P<0.01$)，见表5。

鼠肝组织p-Akt/Akt蛋白表达升高 ($P<0.01$)，p-FoxO1/FoxO1蛋白表达降低 ($P<0.01$)；与模型组比较，二甲双胍组及芍药苷各剂量组大鼠肝组织p-Akt/Akt蛋白表达降低 ($P<0.05, P<0.01$)，p-FoxO1/FoxO1蛋白表达升高 ($P<0.01$)。

4 讨论

糖尿病是一种多病因的、以慢性高血糖为主要特征的代谢性疾病，其特点是胰岛素分泌下降或敏感性降低，血

表5 芍药苷对 T2DM 大鼠肝组织 MDA 水平和 GSH-Px、CAT 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	MDA/(nmol·mg ⁻¹)	GSH-Px/(U·mg ⁻¹)	CAT/(U·mg ⁻¹)
正常组	1.54±0.21	156.11±19.07	73.63±8.68
模型组	6.95±0.85**	76.44±9.16**	42.67±5.33**
二甲双胍组	2.26±0.36##	123.38±14.38##	68.59±7.21##
芍药苷高剂量组	2.61±0.32##	119.52±13.55##	54.13±6.45##
芍药苷低剂量组	3.43±0.46##	95.05±11.87##	48.86±6.34#

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

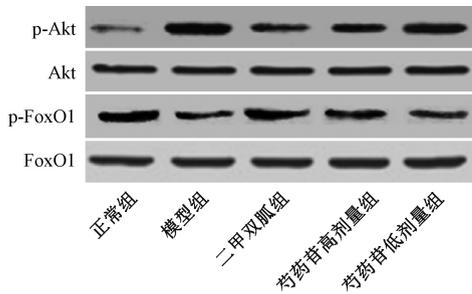


图2 各组大鼠肝组织 Akt/FoxO1 信号通路蛋白条带图

表6 芍药苷对 T2DM 大鼠肝组织 Akt/FoxO1 信号通路蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	p-Akt/Akt	p-FoxO1/FoxO1
正常组	0.23±0.03	1.35±0.14
模型组	1.46±0.17**	0.36±0.05**
二甲双胍组	0.62±0.08##	0.91±0.12##
芍药苷高剂量组	0.81±0.10##	0.73±0.09##
芍药苷低剂量组	1.27±0.15#	0.44±0.06##

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

糖持续升高，从而引起体内糖、脂等多种代谢紊乱^[12]。糖、脂代谢紊乱可损害β细胞功能，也可造成胰岛素抵抗^[13]。糖代谢和脂代谢之间联系紧密，持续高血糖往往伴随着脂代谢紊乱的发生。在糖尿病的治疗中，除对血糖进行严格控制以外，还应纠正脂质代谢紊乱，从而起到阻止或延缓糖尿病并发症发生的作用^[14]。

T2DM 的发生、发展过程与炎症反应关系密切。炎症因子的异常表达可抑制葡萄糖转运蛋白活性，引起高胰岛素血症，从而促使胰岛素抵抗的发生^[15]。因此，降低机体炎症反应是糖尿病治疗的有效手段。IL-1β 能够降低机体胰岛细胞对葡萄糖的敏感性，抑制胰岛素信号转导，参与胰岛素抵抗的发生；同时，IL-1β 也能影响胰岛细胞分泌胰岛素的功能^[16]。TNF-α 作为一种独立的细胞毒素，能直接造成胰岛β细胞损伤，降低胰岛素分泌；同时，TNF-α 也能通过激活β细胞内各种炎症因子如 IL-1β、IL-6 等的释放，进而影响β细胞分泌功能^[17]。

研究发现，氧化应激反应在糖尿病的进展中起着重要作用^[18]。MDA 具有细胞毒性，也是氧化应激反应的标志产物，常用作评价机体氧化应激水平的指标^[19]。GSH-Px 是机体内存在的过氧化物分解酶，广泛分布于各类组织中，可以与 CAT 产生协同作用，清除机体内的各种氧自由基，以阻断或减轻脂质过氧化反应^[20]。Akt 是 FoxO1 上游的直接调控蛋白，通过影响 FoxO1 的磷酸化水平调控其从细胞核到细胞

质的穿梭^[21]。高糖状态下，FoxO1 是调节细胞氧化应激的重要因子，在机体细胞抵抗氧化应激方面具有重要意义^[22]。在氧化应激状态下，活性氧的大量产生会使机体细胞发生氧化而受损，而 FoxO1 可以增加抗氧化酶的分泌，进而使机体抗氧化能力提高，减轻氧化应激引起的损伤^[23]。

本研究结果发现，芍药苷能够降低 FBG、FINS、LDL-C、TC、TG 水平及 IRI 值，增加 HDL-C 水平，改善葡萄糖耐受能力及减轻肝组织病理性改变，具有改善 T2DM 大鼠糖脂代谢紊乱的作用。同时，研究还发现，芍药苷能降低 IL-1β、TNF-α、IL-6、MDA 水平及 p-Akt 蛋白表达，增加 GSH-Px、CAT 活性及 p-FoxO1 蛋白表达，具有抑制 T2DM 大鼠炎症反应及通过调控 Akt/FoxO1 信号通路减弱氧化应激的作用。

参考文献：

- [1] Campbell M D, Sathish T, Zimmet P Z, et al. Benefit of lifestyle-based T2DM prevention is influenced by prediabetes phenotype[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2020, 16(7): 395-400.
- [2] Bailey C J. Treating T2DM and obesity with bariatric surgery and GLP1 agents[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2019, 15(9): 504-506.
- [3] Shi M, Liu Z L, Zhu Y B, et al. Effect of health education based on integrative therapy of Chinese and Western medicine for adult patients with type 2 diabetes mellitus: A randomized controlled study [J]. *Chin J Integr Med*, 2018, 24(2): 94-102.
- [4] Mallard A R, Hollekim-Strand S M, Ingul C B, et al. High day-to-day and diurnal variability of oxidative stress and inflammation biomarkers in people with type 2 diabetes mellitus and healthy individuals[J]. *Redox Rep*, 2020, 25(1): 64-69.
- [5] 王之心, 陈清光, 陆 灏, 等. 糖尿病中医证候与中药复方的代谢组学研究进展[J]. *中医药学报*, 2020, 48(6): 73-77.
- [6] 张贵贵, 张淑娟, 边甜甜, 等. 芍药苷药理作用研究新进展[J]. *中草药*, 2019, 50(15): 3735-3740.
- [7] Wang D M, Liu L, Li S Q, et al. Effects of paeoniflorin on neurobehavior, oxidative stress, brain insulin signaling, and synaptic alterations in intracerebroventricular streptozotocin-induced cognitive impairment in mice[J]. *Physiol Behav*, 2018, 191: 12-20.
- [8] 张 博, 李凤君, 左中夫. 芍药苷对糖尿病大鼠视网膜 Müller 细胞的保护作用[J]. *中国中医眼科杂志*, 2019, 29(1): 5-9.
- [9] 段分分, 杨雯雯, 邵云侠, 等. 芍药苷对糖尿病小鼠肾脏

- 织中 TLR2 信号通路的调节作用[J]. 安徽医科大学学报, 2018, 53(8): 1252-1259.
- [10] 杨育辉, 刘华桢, 邓晓冬, 等. 芍药苷对 1 型糖尿病小鼠的治疗作用及机制研究[J]. 中药材, 2020, 43(8): 2007-2011.
- [11] 许冬明, 李显国. 高脂饮食及运动对 2 型糖尿病大鼠脂联素、瘦素及血糖水平的影响[J]. 中国应用生理学杂志, 2016, 32(4): 298-300.
- [12] Yin Y, Li R, Li X L, *et al.* Association between homocysteine level and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in type 2 diabetes accompanied by dyslipidemia [J]. *Chin Med Sci J*, 2020, 35(1): 85-91.
- [13] Zhang Y J, Sun H L, Wang T, *et al.* Pterostilbene ameliorates glycemic control, dyslipidemia and liver injury in type 2 diabetes rats[J]. *Biomed Environ Sci*, 2020, 33(5): 365-368.
- [14] 吴学敏, 王 涵, 顾成娟. 健脾利湿活血方治疗 2 型糖尿病合并脂代谢紊乱临床研究[J]. 天津中医药大学学报, 2019, 38(6): 558-561.
- [15] Adeshara K A, Bangar N S, Doshi P R, *et al.* Action of metformin therapy against advanced glycation, oxidative stress and inflammation in type 2 diabetes patients; 3 months follow-up study[J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2020, 14(5): 1449-1458.
- [16] 贾新菊, 康 岩, 杨爱格, 等. 黄芪甲苷抑制 NLRP3/IL-1 β 轴改善糖尿病小鼠血管炎性病变[J]. 上海中医药大学学报, 2020, 34(2): 66-70.
- [17] 左丽娟, 李明霞, 邓文娟, 等. 甘精胰岛素联合诺和龙对 2 型糖尿病患者胰岛功能及 TNF- α , IL-6 的影响[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2019, 20(4): 498-501.
- [18] Wang K, Liang Y, Su Y, *et al.* DhHP-6 ameliorates hepatic oxidative stress and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus through the PI3K/AKT and AMPK pathway [J]. *Biochem J*, 2020, 477(12): 2363-2381.
- [19] 孙 权, 刘士臣, 徐伟明, 等. 褪黑素对糖尿病大鼠心肌 MDA、CAT 及 GSH-Px 含量和 AGE、RAGE 表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(16): 3503-3508.
- [20] 宋 娜, 苏东峰, 刘晓燕, 等. 麦冬多糖对糖尿病围绝经期大鼠血清 SOD、GSH-Px、CAT、MDA 水平的影响[J]. 东南大学学报(医学版), 2019, 38(6): 979-984.
- [21] Kim D H, Park C H, Park D, *et al.* Ginsenoside Rc modulates Akt/FoxO1 pathways and suppresses oxidative stress [J]. *Arch Pharm Res*, 2014, 37(6): 813-820.
- [22] 刘 青, 汪佳佳, 胡亚琴, 等. 小檗碱调节 PI3K/AKT/FOXO1/Bim 信号通路改善高糖诱导的足细胞损伤[J]. 中国药理学通报, 2020, 36(3): 329-334.
- [23] Chen L L, Liu C Y, Gao J F, *et al.* Inhibition of Miro1 disturbs mitophagy and pancreatic β -cell function interfering insulin release via IRS-Akt-Foxo1 in diabetes[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(53): 90693-90705.

柚皮素对 LPS 诱导人脐静脉内皮细胞损伤的保护作用

高金利¹, 张翠颖²

(1. 青海卫生职业技术学院护理系, 青海 西宁 810000; 2. 青海大学医学院附属医院检验科, 青海 西宁 810000)

摘要: 目的 探讨柚皮素对 LPS 诱导人脐静脉内皮细胞损伤的保护作用及其机制。方法 MTT 法检测 5、20、80、160 $\mu\text{mol/L}$ 柚皮素对人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 活力的影响, 以筛选适宜实验剂量。细胞分为对照组、LPS 组和 5、20 $\mu\text{mol/L}$ 柚皮素组, MTT 法检测细胞活力, ELISA 法检测细胞上清液中炎症因子 IL-6、TNF- α 水平, DCFH-DA 染色观察细胞内活性氧 (ROS) 水平, 免疫荧光法观察细胞骨架蛋白及细胞连接蛋白形态变化, Western blot、RT-qPCR 法检测细胞 ICAM1、VCAM1、p-NF- κB p65 蛋白和 mRNA 表达。结果 0~20 $\mu\text{mol/L}$ 柚皮素对 HUVEC 细胞无明显的毒副作用。与对照组比较, LPS 组细胞活力降低 ($P<0.01$), 细胞凋亡率、ROS 荧光强度、IL-6 和 TNF- α 水平、ICAM1、VCAM1、p-NF- κB p65 蛋白表达升高 ($P<0.01$), 细胞骨架蛋白出现聚集, 细胞萎缩; 与 LPS 组比较, 柚皮素组细胞活力增加 ($P<0.05$), 细胞凋亡率、ROS 荧光强度、IL-6 和 TNF- α 水平、ICAM1、VCAM1、p-NF- κB p65 蛋白表达降低 ($P<0.01$), 细胞骨架和连接蛋白破坏得到保护。结论 柚皮素对人脐静脉内皮细胞具有保护作用, 可减少炎症及氧化应激反应, 其作用与调控 NF- κB 通路有关。

关键词: 柚皮素; 脂多糖; 血管内皮细胞损伤; 炎症反应; 氧化应激

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)08-2736-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.08.049

收稿日期: 2021-04-12

基金项目: 青海省科技支撑计划项目 (090NKCA142)

作者简介: 高金利 (1972—), 女, 副教授, 从事助产专业教学研究。Tel: 17725275024