

青钱柳叶对糖尿病大鼠的治疗作用

扶丽君¹, 胡明华², 尹西拳², 连大卫¹, 任文康¹, 许艺飞¹, 范平龙¹, 陈娅琦¹,
蔡泳锋¹, 操红缨^{1*}

(1. 广州中医药大学, 广东 广州 510006; 2. 无限极 [中国] 有限公司, 广东 广州 510665)

摘要: **目的** 通过研究青钱柳 (*Cyclocarya paliurus*) 叶水提物对肝脏胰岛素受体 (*InsR*)、胰岛素受体底物 2 (*IRS-2*) mRNA 的表达影响来了解治疗大鼠 2 型糖尿病的可能作用机制。**方法** 采用高脂饲料结合链脲佐菌素方法复制 2 型糖尿病大鼠模型, 成模 80 只 SD 大鼠均分成模型组和青钱柳叶水提物组, 灌胃给药 4 周后, 检测体质量、尿量、饮水量、空腹血糖值 (FBG)、血清中胰岛素和肝脏组织中 *InsR*、*IRS-2* mRNA 含有量变化。**结果** 与模型组相比, 青钱柳叶水提物给药组可明显减少动物的摄食量、饮水量和尿量, 增加体质量; 降低空腹血糖值和胰岛素水平, 改善胰岛素敏感指数 (ISI); 上调肝组织中 *InsR*、*IRS-2* 的 mRNA 表达。**结论** 青钱柳叶水提物具有改善 2 型糖尿病大鼠的症状, 降低空腹血糖和提升胰岛素敏感性, 可能与上调肝组织中 *InsR*、*IRS-2* 的 mRNA 表达有关。

关键词: 青钱柳 (*Cyclocarya paliurus*); 叶水提物; 2 型糖尿病; 胰岛素敏感性

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2017)06-1134-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.06.005

Therapeutic effects of leaf extract from *Cyclocarya paliurus* on rats with type 2 diabetes mellitus

FU Li-jun¹, HU Ming-hua², YIN Xi-quan², LIAN Da-wei¹, REN Wen-kang¹, XU Yi-fei¹,
FAN Ping-long¹, CHEN Ya-qi¹, CAI Yong-feng¹, CAO Hong-ying^{1*}

(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; 2. Infinitus [China] Company Ltd., Guangzhou 510665, China)

ABSTRACT: **AIM** To speculate the hypoglycemic mechanism for rats with type 2 diabetes by exploring the therapeutic effects of leaf aqueous extract from *Cyclocarya paliurus* on liver insulin receptor (*InsR*) and insulin receptor substrate 2 (*IRS-2*). **METHODS** The diabetic rat model was established through intraperitoneal injection of streptozotocin and fed with high-fat diet. The moleled rats were equally assigned into the control group and leaf aqueous extract from *Cyclocarya paliurus* group (extract group). After the test extract was orally administrated for four weeks, body weight, urine output, food intake, water intake and fasting blood-glucose (FBG) were measured, and the levels of serum insulin, *InsR* and *IRS-2* mRNA in liver tissue were investigated in rats. **RESULTS**

Compared with the control group, the extract group showed a reduction in urine output, food intake, water intake, FBG and insulin levels. Meanwhile, the rats' body weights in extract group were presented a trend to increase. The gene expressions of *InsR* and *IRS-2* in liver tissue were up-regulated. Moreover, the insulin sensitivity was improved. **CONCLUSION** The leaf aqueous extract from *Cyclocarya paliurus* can reduce FBS, improve insulin sensitivity, which may be associated with the increase of *InsR* and *IRS-2* gene expression in liver tissue.

KEY WORDS: *Cyclocarya Paliurus*; leaf aqueous extract; type 2 diabetes mellitus; insulin sensitivity

收稿日期: 2016-09-07

基金项目: 广州中医药大学中药学院高水平大学建设项目 (2013)

作者简介: 扶丽君 (1993—), 女, 硕士生, 从事中药新药与保健品的研发。Tel: 15112160481, E-mail: 2460988035@qq.com

* 通信作者: 操红缨 (1974—), 女, 博士, 教授, 从事中药新药与保健品开发。Tel: (020) 39358086, E-mail: hyciao@gzhtcm.edu.cn

2型糖尿病(diabetes mellitus, DM)是以胰岛素敏感性下降、胰岛 β 细胞分泌功能异常为主要特征的代谢紊乱性疾病^[1]。常伴随视网膜病变、脑梗塞、心肌梗塞、肾病等并发症,严重影响人生活质量。寻找治疗或减缓症状的药物及保健品具有重要的意义。青钱柳(*Cyclocarya paliurus*)为胡桃科青钱柳属植物,主产于江西修水。据《中国中药资源志要》^[2]记载:青钱柳叶具有清热解毒之效。其在江西省修水县民间采取嫩叶配以少量茶叶制作成保健强身饮料已有200余年的历史。青钱柳叶及其相关配方广泛用于治疗高血压、糖尿病,其中降血糖作用已有少数相关报道,但其降糖机制并不十分清楚,本实验组旨在观察青钱柳叶水提物对2型糖尿病模型大鼠的影响,为进一步研究开发提供依据。

1 实验材料与仪器

1.1 实验动物及饲料 SD大鼠,100~140 g,雌雄各半,共80只,动物购于广州中医药大学,许可证号:SCXK(粤)2013-0034。正常组予以普通饲料,其他动物予以高脂饲料。高脂饲料由猪油、蛋黄粉、蔗糖、基础维持饲料等组成,由北京科澳协力有限公司提供,许可证号为SCXK(京)2014-0010。

1.2 药物 青钱柳叶由作者于江西修水采集,经广州中药医药张丹雁教授鉴定为胡桃科植物青钱柳的叶子;其工艺流程为新鲜叶晾干,2 kg青钱柳叶,剪碎,加20倍水煎煮2 h,过滤,滤渣20倍水,煎煮1 h,合并2次滤液,浓缩,干燥,获得干膏,1 g干膏含有生药7.57 g。以生药量设置青钱柳叶高、中、低剂量组(1、0.5、0.25 g/kg)。盐酸二甲双胍片(深圳市中联制药有限公司,批号1501055),临用前配成2.5 mg/kg混悬液。

1.3 仪器 GC1492692型罗氏活力型血糖仪(ACCU-CHEK ACTIVE);EL204型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);ZX57486型移液枪(Thermo Fisher Scientific);Heraeus Fresco 17 Centrifuge(Thermo);NanoDroP2000微量紫外分光光度计(Thermo);CFX Connect TM Real-Time System(Bio-Rad);超低温冰箱(NEW Brunswick Scientific)。

1.4 试剂 链脲佐菌素(STZ)(TOKU-E,批号150101);葡萄糖(广州牌化学试剂,批号20121101);柠檬酸(天津市光复科技发展公司,批号20111024);柠檬酸钠(天津市光复精细化工

研究所,批号20110408);碘^[125I]胰岛素放射免疫分析药盒(北京北方生物技术研究所);Diethyl pyrocarbonate(DEPC)(Sigma,批号300321768);Trizol(ambion,批号28218);PrimeScript™ RT reagent Kit(TaKaRa,批号AK3601);SuPerReal PreMix Plus(SYBR Green)(TIANGEN,批号03504)。

2 实验方法

2.1 造模方法及给药 动物适应性饲养1周后,采用高脂饲料+STZ方法复制2型糖尿病大鼠模型。SD大鼠,给予高脂饲料喂养(正常组予普通饲料喂养)。第4周,1次性腹腔注射STZ溶液35 mg/kg;正常组腹腔注射同等剂量0.1 mol/L柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液。注射STZ后第7天,动物禁食测定空腹血糖(FBG),以 $FBG \geq 7.8$ mmol/L为2型糖尿病模型建立标准^[3]。将已经成模动物随机分为模型组,阳性组(二甲双胍),青钱柳叶高、中、低剂量,每组各10只,另取10只正常SD大鼠做正常组。灌胃给予青钱柳叶水提物各相应剂量,阳性组给予相应剂量二甲双胍混悬液,正常组与模型组给予相应体积蒸馏水。给药容积为10 mL/kg灌胃给药。

2.2 一般状态观察及血糖和胰岛素检测 每周称量并记录动物体质量、摄食量、尿量、饮水量;动物禁食不禁水12 h,尾尖采血,血糖试纸检测FBG;末次给药后,用10%水合氯醛以0.05 mL/kg腹腔注射麻醉,腹主动脉取全血,离心取血清,碘^[125I]胰岛素放射免疫分析药盒测定胰岛素(FINS),并计算胰岛素敏感指数(ISI), $ISI = \ln[(FBG \times FINS)^{-1}]$ 。

2.3 RT-qPCR检测肝组织中 $InsR$ 、 $IRS-2$ mRNA表达水平 腹主动脉取血完成后,采用无菌无酶处理后的手术器械解剖动物,取肝组织,参照Trizol试剂盒说明书提取肝组织的总RNA,在NanoDroP2000微量紫外分光光度计上测 $D(\lambda)260$ nm/280 nm比值达到RNA纯度要求后保存于-20℃。按试剂盒说明书逆转录,得到cDNA(保存于-20℃备用)。

引物设计结果如下表1:参照参考文献中^[4,5]引物,由生工生物工程(上海)有限公司引物基因合成。

实时荧光定量RT-qPCR按SuPerReal PreMix Plus检测试剂盒进行操作,在Bio-rad荧光定量PCR仪上扩增。扩增条件:94℃预变性15 min,

94 ℃ 变性 30 s，退火 10 s，60 ℃ 延伸 34 s，40 个循环。分析结果，得出各组内参基因和目的基因 Ct 值，运用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式计算。

表 1 引物序列一览表

Tab. 1 List of primer sequences	
引物名称	引物序列
<i>β-actin</i>	正向引物 5'-GGAGATTACTGCCCTGGCTCCTA-3'
	反向引物 5'-GACTCATCGTACTCTGCTTGCTG-3'
<i>InsR</i>	正向引物 5'-TCATGGATGGAGGCTATCTGGA-3'
	反向引物 5'-TCCTTGAGCAGGTTGACGATTTC-3'
<i>IRS-2</i>	正向引物 5'-TATACCGAGATGGCCTTTGG-3'
	反向引物 5'-CCATGAGACTTAGCCGCTTC-3'

3 统计方法

采用 SPSS 20.0 统计软件，数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，

表 2 青钱柳叶水提物对糖尿病大鼠体质量的影响 (g, $\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab. 2 Effects of leaves aqueous extract form <i>Cyclocarya paliurus</i> on type 2 diabetes rats weight (g, $\bar{x} \pm s$, $n=8$)				
组别	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
正常组	327.1 ± 41.3	349.1 ± 46.8	339.5 ± 49.7	354.0 ± 68.5
模型组	269.8 ± 36.2 ^{ΔΔ}	282.0 ± 42.1 ^{ΔΔ}	276.4 ± 51.6 ^Δ	288.4 ± 57.1 ^{ΔΔ}
二甲双胍组	279.8 ± 30.2	274.4 ± 29.5	282.3 ± 39.4	297.4 ± 40.9
青钱柳高组	268.6 ± 21.3	257.1 ± 33.7	271.6 ± 34.8	295.0 ± 33.4
青钱柳中组	287.8 ± 38.1	296.0 ± 48.0	294.0 ± 58.4	303.4 ± 51.6
青钱柳低组	277.3 ± 45.6	287.7 ± 46.8	291.7 ± 52.6	328.0 ± 49.9

注：与正常组比较，^Δ $P < 0.05$ ，^{ΔΔ} $P < 0.01$

表 3 青钱柳叶水提物对糖尿病大鼠饮水量的影响 (mL, $\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab. 3 Effects of leaves aqueous extract from <i>Cyclocarya paliurus</i> on type 2 diabetes rats water intake (mL, $\bar{x} \pm s$, $n=8$)				
组别	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
正常组	32.4 ± 17.3	42.8 ± 15.2	41.4 ± 13.3	36.2 ± 12.3
模型组	91.7 ± 28.1 ^{ΔΔ}	94.3 ± 42.3	50.8 ± 18.8	95.6 ± 35.6 ^{ΔΔ}
二甲双胍组	64.5 ± 28.7	62.8 ± 39.3	61.3 ± 19.7	53.4 ± 47.5 ^{**}
青钱柳高组	55.5 ± 19.6 [*]	51.4 ± 33.3	42.7 ± 11.1	54.8 ± 21.3 [*]
青钱柳中组	49.3 ± 26.9 ^{**}	55.5 ± 25.9	70.3 ± 37.8	71.5 ± 49.6
青钱柳低组	50.5 ± 23.3 ^{**}	53.9 ± 32.9	55.3 ± 14.0	77.1 ± 22.1

注：与正常组比较，^{ΔΔ} $P < 0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P < 0.05$ ，^{**} $P < 0.01$

表 4 青钱柳叶水提物对糖尿病大鼠摄食的影响 (g, $\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab. 4 Effects of leaves aqueous extract from <i>Cyclocarya paliurus</i> on type 2 diabetes rats food intake (g, $\bar{x} \pm s$, $n=8$)				
组别	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
正常组	26.8 ± 15.4	42.4 ± 6.6	36.8 ± 12.6	33.2 ± 10.7
模型组	41.1 ± 9.3 ^Δ	45.7 ± 8.9	46.3 ± 8.0	54.9 ± 4.7 ^{ΔΔ}
二甲双胍组	29.7 ± 16.7	32.7 ± 5.1	46.6 ± 8.2	36.8 ± 7.5 ^{**}
青钱柳高组	27.8 ± 6.0 [*]	33.1 ± 9.2	24.9 ± 20.2	34.1 ± 6.3 ^{**}
青钱柳中组	32.5 ± 14.0	30.8 ± 15.3	22.6 ± 10.2	36.0 ± 14.2 ^{**}
青钱柳低组	25.6 ± 7.5 [*]	32.4 ± 13.1	30.5 ± 18.9	37.6 ± 11.2 ^{**}

注：与正常组比较，^Δ $P < 0.05$ ，^{ΔΔ} $P < 0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P < 0.05$ ，^{**} $P < 0.01$

4.2 对糖尿病大鼠空腹血糖值的影响 由表 6 可见，与正常组相比，模型组血糖均显著高于正常组 ($P < 0.01$)；给予青钱柳叶水提物治疗后，与模型组比，青钱柳高、中、低剂量组大鼠空腹血糖值皆

组间比较采用单因素方差检验，方差齐性检验中，若方差齐，则用最小显著性差异法 (LSD)，若方差不齐，则用 Dunnett's 法； $P < 0.05$ 作为具有统计学差异的标准。

4 实验结果

4.1 对糖尿病大鼠体质量、24 h 尿量、24 h 饮水量及 24 h 进食量的影响 由表 2 ~ 5 可见，与正常组相比，模型组体质量明显下降，24 h 尿量、饮水量和摄食量均明显上升。给予青钱柳叶水提物治疗后，与模型组相比，青钱柳高、中、低剂量组大鼠体质量有上升趋势 ($P > 0.05$)，24 h 尿量、饮水量和摄食量有不同程度的下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表 2 青钱柳叶水提物对糖尿病大鼠体质量的影响 (g, $\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab. 2 Effects of leaves aqueous extract form <i>Cyclocarya paliurus</i> on type 2 diabetes rats weight (g, $\bar{x} \pm s$, $n=8$)				
组别	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
正常组	327.1 ± 41.3	349.1 ± 46.8	339.5 ± 49.7	354.0 ± 68.5
模型组	269.8 ± 36.2 ^{ΔΔ}	282.0 ± 42.1 ^{ΔΔ}	276.4 ± 51.6 ^Δ	288.4 ± 57.1 ^{ΔΔ}
二甲双胍组	279.8 ± 30.2	274.4 ± 29.5	282.3 ± 39.4	297.4 ± 40.9
青钱柳高组	268.6 ± 21.3	257.1 ± 33.7	271.6 ± 34.8	295.0 ± 33.4
青钱柳中组	287.8 ± 38.1	296.0 ± 48.0	294.0 ± 58.4	303.4 ± 51.6
青钱柳低组	277.3 ± 45.6	287.7 ± 46.8	291.7 ± 52.6	328.0 ± 49.9

表 3 青钱柳叶水提物对糖尿病大鼠饮水量的影响 (mL, $\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab. 3 Effects of leaves aqueous extract from <i>Cyclocarya paliurus</i> on type 2 diabetes rats water intake (mL, $\bar{x} \pm s$, $n=8$)				
组别	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
正常组	32.4 ± 17.3	42.8 ± 15.2	41.4 ± 13.3	36.2 ± 12.3
模型组	91.7 ± 28.1 ^{ΔΔ}	94.3 ± 42.3	50.8 ± 18.8	95.6 ± 35.6 ^{ΔΔ}
二甲双胍组	64.5 ± 28.7	62.8 ± 39.3	61.3 ± 19.7	53.4 ± 47.5 ^{**}
青钱柳高组	55.5 ± 19.6 [*]	51.4 ± 33.3	42.7 ± 11.1	54.8 ± 21.3 [*]
青钱柳中组	49.3 ± 26.9 ^{**}	55.5 ± 25.9	70.3 ± 37.8	71.5 ± 49.6
青钱柳低组	50.5 ± 23.3 ^{**}	53.9 ± 32.9	55.3 ± 14.0	77.1 ± 22.1

表 4 青钱柳叶水提物对糖尿病大鼠摄食的影响 (g, $\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab. 4 Effects of leaves aqueous extract from <i>Cyclocarya paliurus</i> on type 2 diabetes rats food intake (g, $\bar{x} \pm s$, $n=8$)				
组别	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
正常组	26.8 ± 15.4	42.4 ± 6.6	36.8 ± 12.6	33.2 ± 10.7
模型组	41.1 ± 9.3 ^Δ	45.7 ± 8.9	46.3 ± 8.0	54.9 ± 4.7 ^{ΔΔ}
二甲双胍组	29.7 ± 16.7	32.7 ± 5.1	46.6 ± 8.2	36.8 ± 7.5 ^{**}
青钱柳高组	27.8 ± 6.0 [*]	33.1 ± 9.2	24.9 ± 20.2	34.1 ± 6.3 ^{**}
青钱柳中组	32.5 ± 14.0	30.8 ± 15.3	22.6 ± 10.2	36.0 ± 14.2 ^{**}
青钱柳低组	25.6 ± 7.5 [*]	32.4 ± 13.1	30.5 ± 18.9	37.6 ± 11.2 ^{**}

有下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)，以青钱柳高、低剂量组作用明显，给药后 1 周血糖即有显著下降，持续到 4 周给药结束；青钱柳中剂量组给药 3 周后血糖出现显著下降 ($P < 0.05$)。

表 5 青钱柳叶水提物对糖尿病大鼠尿量的影响 (mL, $\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab. 5 Effects of leaves aqueous extract from *Cyclocarya paliurus* on type 2 diabetes rats urine output (mL, $\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
正常组	10.9 ± 5.0	10.6 ± 4.4	9.9 ± 5.4	10.1 ± 4.4
模型组	91.8 ± 30.5 ^{ΔΔ}	97.7 ± 36.0 ^Δ	92.0 ± 37.0 ^{ΔΔ}	101.0 ± 38.9 ^{ΔΔ}
二甲双胍组	49.5 ± 22.5	44.3 ± 19.6	55.6 ± 16.4 *	62.8 ± 25.0 *
青钱柳高组	34.4 ± 5.7 *	29.0 ± 6.8 *	39.8 ± 37.7 **	39.4 ± 38.3 **
青钱柳中组	50.8 ± 15.7	35.9 ± 7.7	52.3 ± 28.7 *	61.1 ± 37.2 *
青钱柳低组	41.4 ± 13.5	39.0 ± 15.2	55.2 ± 29.2 *	64.8 ± 22.6 *

注:与正常组比较,^Δ $P < 0.05$,^{ΔΔ} $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

表 6 青钱柳叶水提物对糖尿病大鼠血糖的影响 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab. 6 Effects of leaves aqueous extract from *Cyclocarya paliurus* on type 2 diabetes rats blood glucose (mmol/L, $\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
正常组	5.46 ± 0.61	5.38 ± 0.71	5.99 ± 0.79	5.49 ± 0.62
模型组	14.29 ± 4.29 ^{ΔΔ}	16.47 ± 6.02 ^{ΔΔ}	22.63 ± 5.21 ^{ΔΔ}	19.59 ± 2.66 ^{ΔΔ}
二甲双胍组	7.73 ± 2.55 *	8.72 ± 1.15 *	7.60 ± 1.40 **	10.34 ± 5.31 **
青钱柳高组	8.96 ± 4.15 *	9.52 ± 3.27 *	9.75 ± 4.10 **	10.50 ± 5.17 *
青钱柳中组	11.81 ± 4.59	11.20 ± 5.38	11.93 ± 5.91 *	16.76 ± 7.64
青钱柳低组	8.98 ± 3.22 *	11.35 ± 4.70	12.12 ± 5.17 **	13.33 ± 5.71 *

注:与正常组比较,^{ΔΔ} $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

4.3 对糖尿病大鼠空腹胰岛素的影响 由表 7 可见,与正常组相比,模型组空腹血清胰岛素显著性升高,胰岛素敏感指数显著下降 ($P < 0.01$);给药 4 周后,与模型组相比,青钱柳中剂量组空腹血清胰岛明显下降 ($P < 0.05$),胰岛素敏感指数明显上升 ($P < 0.05$)。

表 7 青钱柳叶水提物对糖尿病大鼠胰岛素及其相关指标的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab. 7 Effects of leaves aqueous extract from *Cyclocarya paliurus* on type 2 diabetes rats insulin and its related indicators ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	胰岛素 ($\mu\text{IU} \cdot \text{mL}^{-1}$)	ISI
正常组	23.12 ± 2.87	-4.89 ± 0.17
模型组	40.33 ± 10.15 ^{ΔΔ}	-6.49 ± 0.14 ^{ΔΔ}
二甲双胍组	35.49 ± 11.76	-5.67 ± 0.73 *
青钱柳高组	36.04 ± 11.83	-5.92 ± 0.73
青钱柳中组	28.35 ± 10.58 *	-5.85 ± 0.65 *
青钱柳低组	31.22 ± 13.48	-5.87 ± 0.67

注:与正常组比较,^{ΔΔ} $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.05$

4.4 对糖尿病大鼠肝组织中 *InsR*、*IRS-2* mRNA 表达水平的影响 由表 8 可见,与正常组相比,模型组 *InsR*、*IRS-2* mRNA 表达水平均有显著性下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);给予青钱柳叶水提物治疗后,与模型组相比,青钱柳高、中、低剂量组大鼠 *InsR* 及 *IRS-2* 的 mRNA 表达水平均有不同程度的上升 ($P < 0.05$)。

5 讨论与结论

胰岛素抵抗 (IR) 是胰岛素敏感性降低而胰

表 8 青钱柳叶水提物对糖尿病大鼠肝组织中 *InsR*、*IRS-2* mRNA 表达水平的影响 ($\bar{x}$, $n=8$)

Tab. 8 Effects of leaves aqueous extract from *Cyclocarya paliurus* on the mRNA expression of type 2 diabetes rats liver *InsR* and *IRS-2* ($\bar{x}$, $n=8$)

组别	<i>InsR</i> mRNA	<i>IRS-2</i> mRNA
正常组	2.89 ± 0.619	1.47 ± 0.154
模型组	1.15 ± 0.473 ^Δ	0.60 ± 0.119 ^{ΔΔ}
二甲双胍组	2.29 ± 1.710	1.59 ± 0.536
青钱柳高组	3.01 ± 1.456 *	1.51 ± 0.462 *
青钱柳中组	3.19 ± 2.406 *	1.17 ± 0.267 *
青钱柳低组	3.00 ± 1.138 *	2.39 ± 1.009

注:与正常组比较,^Δ $P < 0.05$,^{ΔΔ} $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.05$

岛素抵抗性增加、临床表现为分泌较多胰岛素起到低于其生理作用的现象。胰岛素敏感性的改变是胰岛素抵抗的显著特征和发病机制的基本环节之一,贯穿于疾病发生发展的整个过程,胰岛素信号传导缺陷与胰岛素敏感性有着很密切的关系^[6-7]。在生理条件下,胰岛 β 细胞分泌胰岛素,进入血液与肝脏细胞膜上胰岛素受体 (*InsR*) 结合并使其自身磷酸化,从而激活胰岛素受体底物 2 (*IRS-2*) 中的酪氨酸激酶,继而激活磷脂酰肌醇 3-激酶 (*PI3K*),随后 *Akt* 激活及其下游中介 *AS160*,刺激胰岛素引起的葡萄糖转运,促进新陈代谢与促生长作用,从而发挥生物学效应^[8-9]。*InsR* 和 *IRS-2* 的缺乏或磷酸化异常会阻断 *PI3K/Akt* 通路,继而抑制糖原合成和促进葡萄糖生成^[10],因此 *InsR* 和

IRS-2 的数目与功能异常均可影响胰岛素的信号转导通路,引发胰岛素敏感性的下降,最终引起血糖的异常^[1,10-13]。

本研究采用高脂饲料 + STZ 方法复制 2 型糖尿病大鼠模型。结果表明:与正常组相比,模型组动物体重明显减轻,摄食量、饮水量和尿量均明显增加;血糖明显升高;胰岛素含有量明显升高,胰岛素敏感指数明显降低,说明模型复制成功。青钱柳叶水提物灌胃给予 4 周后,可明显减少动物的摄食量、饮水量和尿量,降低 FBG,降低胰岛素含有量,改善胰岛素敏感指数,同时对肝脏组织中 *InsR* 和 *IRS-2* 的 mRNA 表达水平均有不同程度的提升,表明青钱柳叶水提物能改善胰岛素受体及受体底物的表达,增加 2 型糖尿病的胰岛素敏感性的作用。说明青钱柳叶对于大鼠胰岛素抵抗具有改善作用,有待更进一步的研究与开发。

参考文献:

[1] Okamoto H, Obici S, Accili D, *et al.* Restoration of liver insulin signaling in *Insr* knockout mice fails to normalize hepatic insulin action[J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(5): 1314-1322

[2] 中国药材公司. 中国中药资源志要[M]. 北京: 科学出版社, 1994.

[3] 朱宏伟, 施晓会, 刘 红, 等. 糖尿病动物模型研究概述[J]. 川北医学院学报, 2014, 29(5): 438-441.

[4] Roncero I, Alvarez E, Acosta C, *et al.* Insulin-receptor substrate-2 (*irs-2*) is required for maintaining glucokinase and glucokinase regulatory protein expression in mouse liver[J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e58797.

[5] Lin W, Wang W, Liao D, *et al.* Polysaccharides from *enteromorpha prolifera* improve glucose metabolism in diabetic rats [J]. *J Diabetes Res*, 2015, 2015: 675201.

[6] Jornayvaz F R, Samuel V T, Shulman G I. The role of muscle insulin resistance in the pathogenesis of atherogenic dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease associated with the metabolic syndrome[J]. *Annu Rev Nutr*, 2010, 30: 273-290.

[7] Satin L S, Butler P C, Ha J, *et al.* Pulsatile insulin secretion, impaired glucose tolerance and type 2 diabetes[J]. *Mol Aspects Med*, 2015, 42: 61-77.

[8] Choi K, Kim Y B. Molecular mechanism of insulin resistance in obesity and type 2 diabetes[J]. *Korean J Intern Med*, 2010, 25(2): 119-129.

[9] Taniguchi C M , Emanuelli B , Kahn C R. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 7(2) 85-96.

[10] Rother K I, Imai Y, Caruso M, *et al.* Evidence that *IRS-2* phosphorylation is required for insulin action in hepatocytes[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(28): 17491-17497.

[11] Hirashima Y, Tsuruzoe K, Kodama S, *et al.* Insulin down-regulates insulin receptor substrate-2 expression through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway[J]. *J Endocrinol*, 2003, 179(2): 253-266.

[12] Dominici F P, Hauck S, Argentino D P, *et al.* Increased insulin sensitivity and up regulation of insulin receptor, insulin receptor substrate (*IRS*)-1 and *IRS-2* in liver of Ames dwarf mice [J]. *J Endocrinol*, 2002, 173(1): 81-94.

[13] Michael M D, Kulkarni R N, Postic C , *et al.* Loss of insulin signaling in hepatocytes leads to severe insulin resistance and progressive hepatic dysfunction[J] *Mol cell*, 2000, 6(1): 87-97.