

玉米须水提物对 2 型糖尿病大鼠胰高血糖素的影响

温宪春 周 丽 赵健飞 刘吉成

摘 要 **目的** 探讨玉米须水提物对 2 型糖尿病大鼠胰高血糖素的影响。**方法** 采用高脂高糖饲养加小剂量链脲佐菌素 (STZ) 诱导模拟 2 型糖尿病雄性 SD 大鼠模型, 给药干预 8 周后, 分别测定各组大鼠空腹血糖 (FBG) 和胰高血糖素 (glucagon) 的水平; 免疫组化法分析胰岛中胰高血糖素的表达水平。**结果** 与模型组比较, 中、高剂量的玉米须水提物可呈剂量依赖型显著降低糖尿病大鼠 FBG 和 glucagon 的水平 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 明显降低胰岛细胞中胰高血糖素的表达 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 对胰岛细胞具有一定的保护作用。**结论** 玉米须水提物可降低糖尿病大鼠空腹血糖和胰高血糖素, 抑制胰高血糖素大量分泌, 对 2 型糖尿病大鼠可产生一定的保护作用。

关键词 玉米须水提物 2 型糖尿病 胰高血糖素 链脲佐菌素

Effect of Stigma Maydis Aqueous Extract on Glucagon in Type 2 Diabetic Rats. Wen Xianchun, Zhou Li, Zhao Jianfei, Liu Jicheng. Institute of Medicine, Qiqihaer Medical College, Heilongjiang 161042, China

Abstract **Objective** To study the effect of stigma maydis aqueous extract (SMAE) on glucagon in type 2 diabetic rats. **Methods** Type 2 diabetic male Sprague - Dawley rat mode was induced by high - fat and high - sugar dietary feeds and low dose streptozotocin (STZ). After 8 weeks of treatment, levels of fasting blood glucose (FBG) and glucagon (Glu) in serum were respectively assayed. Immunohistochemical study was adopted to analyze the expression of glucagon in islet cells. **Results** Compared with model control group, SMAE of middle and high dose remarkably reduced the level of FBG and Glu ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and significantly reduced the expression of Glu in islet cells ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). It possessed certain function of protecting pancreatic cells. **Conclusion** SAME could dominantly decrease FBG and Glu inserum, inhibit excessive secretion of Glu. Thus, SMAE may protect against type 2 diabetic rats.

Key words Stigma maydis aqueous extract; Type 2 diabetes mellitus; Glucagon; Streptozotocin

胰高血糖素是胰岛 α 细胞分泌的由 29 个氨基酸组成的多肽激素, 其主要生物作用是促进肝糖原分解, 增强糖异生, 使血糖升高。研究表明, 胰高血糖素同 2 型糖尿病有一定的关系, 糖尿病病人胰高血糖素对葡萄糖、精氨酸等反应异常, 并参与了糖尿病的发病机制^[1]。本研究旨在观察玉米须水提物对 2 型糖尿病大鼠血糖、胰高血糖素的影响, 探讨胰高血糖素对 2 型糖尿病的影响。

材料与方法

1. 动物: 雄性清洁级 Sprague - Dawley 大鼠购于北京维通利华实验动物技术有限公司, 许可证编号: SCXK (京) 2007 - 0001。

2. 主要试剂和仪器: 链脲佐菌素 (STZ) 购于 Sigma 公司; 兔抗大鼠胰高血糖素单克隆抗体 (美国 CST 公司); 两步法即

用型试剂盒 (天津灏洋公司); 盐酸二甲双胍购于上海衡山药业有限公司; 血糖试纸购于北京厚美德生物技术有限公司; 测力得血糖仪为台湾厚美德公司产品, 全自动生化仪为日立公司产品, ECLIPSE Ti Nikon 倒置荧光显微镜 (日本尼康公司), Image - Pro Plus 图像分析软件 (Media Cybernetics 公司) 等。

3. 玉米须水提物提取方法: 干燥玉米须粉碎, 称取 200g 玉米须粉, 用 1.5L 蒸馏水, 于 50℃ 水浴振荡器中提取 2 遍, 共 3h, 尼龙布过滤收集滤液; 将滤液离心取其上清液, 于 80℃ 水浴锅中浓缩至小体积后, 然后将小体积溶液用真空干燥器继续干燥, 直至水分完全蒸发, 即得玉米须水提物。实验时, 蒸馏水溶解配制。

4. 分组和给药: 造模成功后将实验组大鼠随机分为 5 组, 每组 10 只。模型对照组给予 2ml/d 生理盐水灌胃; 二甲双胍组给予 200mg/(kg · d); 玉米须水提物低、中、高剂量组分别给予 150mg/(kg · d)、300mg/(kg · d)、600mg/(kg · d) 灌胃。同时正常对照组给予 2ml/d 生理盐水灌胃。实验期间, 模型对照组和玉米须水提物低剂量组大鼠分别死亡 2 只和 1 只。

5. 指标检测: ①空腹血糖和空腹测定: 全自动生化仪测定空腹血糖; 放射免疫法测定血清胰高血糖素; ②胰岛的免疫组化检测分析: 处死大鼠, 分离胰腺, 石蜡包埋, 乙醇脱水, 5 μ m 连续切片及胰高血糖素 (glucagon) 免疫组化染色后, 每组样本

基金项目: 齐齐哈尔市科技局指令性项目资助 (SFG06 - 01)

作者单位: 161042 黑龙江省齐齐哈尔医学院药物研究所 (温宪春); 150040 哈尔滨, 黑龙江中医药大学基础医学院 (周丽、赵健飞、刘吉成)

通讯作者: 刘吉成, 电子信箱: qyblu@126.com

随机抽取切边各 5 张,光镜下(×40)每张切边选取 10 个视野,采用 Nikon 倒置荧光显微镜进行拍照,应用 Image-Pro Plus 图像分析软件分析 Gln 表达的平均光密度、平均灰度及阳性细胞占总面积的百分比。

6. 统计学方法:实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS14.0 统计软件 One-Way ANOVA 进行处理分析,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 LSD-*t* 检验。

结 果

1. 玉米须水提物对糖尿病大鼠空腹血糖和胰高血糖素的影响(表 1)。与模型组相比,中、高剂量的玉米须水提物可显著降低糖尿病空腹血糖和胰高血糖素的作用($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),呈剂量依赖性降低。与二甲双胍组比较,玉米须水提物高剂量组与二甲双胍组降低空腹血糖、胰高血糖素作用相当。

2. 胰岛免疫组化学观察:见表 2 及第 128 页彩图 8。与模型组比较,玉米须水提物中、高剂量组和二甲双胍组大鼠胰岛细胞中胰高血糖素表达明显降

表 1 干预后各组大鼠空腹血糖和胰高血糖素的比较影响($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	FBG (mmol/L)	Gln (pg/L)
正常对照组	10	4.93 ± 1.38 **	239.03 ± 21.21 **
模型对照组	8	21.17 ± 3.20	401.74 ± 17.36
玉米须水提物低剂量组	9	19.21 ± 2.58 △△	385.90 ± 18.44 △△
玉米须水提物中剂量组	10	16.67 ± 2.11 ** △	376.20 ± 12.90 * △
玉米须水提物高剂量组	10	14.75 ± 3.27 **	359.44 ± 21.46 **
二甲双胍组	10	13.44 ± 2.29 **	357.24 ± 20.23 **

与模型对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与二甲双胍组比较,△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$

低,表现为平均光密度显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而平均灰度和阳性细胞占总面积百分比明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);玉米须水提物高剂量组较二甲双胍组有增加胰高血糖素表达的趋势,但无统计学意义。

表 2 干预后各组大鼠胰岛细胞中胰高血糖素表达情况的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	平均光密度(AOD)	平均灰度	阳性细胞表达面积(%)
正常对照组	10	0.36 ± 0.06 **	111.44 ± 16.32 **	8.02 ± 2.70 **
模型对照组	8	0.20 ± 0.04	153.98 ± 10.09	18.10 ± 4.29
玉米须水提物低剂量组	9	0.24 ± 0.04 △	142.76 ± 12.16 △	15.11 ± 3.80 △
玉米须水提物中剂量组	10	0.29 ± 0.05 *	132.23 ± 13.64 *	13.12 ± 3.11 *
玉米须水提物高剂量组	10	0.33 ± 0.04 **	117.83 ± 15.64 **	10.40 ± 1.95 **
二甲双胍组	10	0.29 ± 0.07 **	124.07 ± 10.52 **	12.93 ± 3.24 **

与模型对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与二甲双胍组比较,△ $P < 0.05$

讨 论

糖尿病是常见病、多发病,其发病机制较为复杂。目前普遍认为糖尿病发病机制是胰岛β细胞分泌相对不足或绝对不足和胰岛素作用低下(胰岛素抵抗)。胰高血糖素是胰岛α细胞分泌的一种多肽激素,其主要生物作用是促进肝糖原分解,增强糖异生,使血糖升高。Unger 提出“双激素”学说,2 型糖尿病的发生有胰岛素和胰高血糖素作用紊乱的参与,认为胰高血糖素绝对或相对过多,是造成糖尿病高糖血症的重要因素之一,但确切的原因不明^[2]。玉米须为禾本科玉蜀黍属植物的干燥花丝和柱头。近年来研究发现玉米须具有降糖降压、清热利尿、滋肾养阴、益气生津等药理作用,用于多饮,多尿,多食,消瘦,尿糖及血糖升高之气阴两虚型消渴症^[3,4]。2 型糖尿病属于中医“消渴”的范畴。现代中医临床研究已表明,气阴两虚兼燥热血瘀是 2 型糖尿病的基本病机。因此,我们应用玉米须水提物对实验性 2 型糖尿病大鼠进行

干预,以期明确其抗 2 型糖尿病的作用及其机制。研究结果表明,中、高剂量的玉米须水提取物可显著降低空腹血糖和胰高血糖素,效果与二甲双胍作用相当($P > 0.05$)。胰高血糖素的免疫组织化学分析结果显示,中、高剂量的玉米须水提物能显著降低胰岛细胞中胰高血糖素的表达,同时也改善了胰岛内分泌细胞结构和形态。Catala J 在对胰管结扎大鼠的研究中发现,晚期大鼠血糖升高,可见胰岛α细胞呈 3 倍增长,胰高血糖素显著升高^[5]。也有研究表明 2 型糖尿病大鼠存在胰岛α细胞功能异常,胰高血糖素分泌异常增多,引起血糖升高,进一步导致胰腺细胞功能障碍。本实验结果表明玉米须水提物具有降低血糖、血清胰高血糖素的作用,对 2 型糖尿病胰岛细胞具有一定的保护作用,进一步研究可能为糖尿病的治疗提供新的途径。

参考文献

1 王东伟,于志文,毛淑漪,等. 糖尿病病人胰高血糖素水平变化及其

- 临床意义[J]. 北京医科大学学报, 1993, 25(6): 40
- 2 Unger RH. Glucagon physiology and pathophysiology in the light of new advances[J]. Diabetologia, 1985, 28(8): 574-578
- 3 丁长江, 王宝珍. 玉米须中氨基酸的含量测定[J]. 人参研究, 2000, 12(3): 35-36
- 4 张育光. 玉米须化学成分、药理作用及其应用研究进展[J]. 中国中医药现代远程教育, 2007, 5(2): 34-35

- 5 Catala J, Daumas M, Chanh AP, et al. Insulin and glucagons impairments in relation with islet cells morpho-logical modifications following long term pancreatic duct ligation in the rabbit - a model of non-insulin-dependent diabetes[J]. Int J Exp Diabetes Res, 2001, 2(2): 101-112

(收稿: 2009-11-19)

(修回: 2009-12-18)

一种 Alzheimer 痴呆小鼠模型的建立

王清华 徐如祥

摘要 **目的** 建立 Alzheimer 痴呆 (Alzheimer dementia, AD) 小鼠模型。**方法** C57BL/6 小鼠基底巨细胞核 (NBM) 注射 Ibotenic 酸制成 AD 模型。8 周后应用 8 方向迷宫评价小鼠痴呆程度, 应用免疫组织化学染色观察 NBM 和脑皮质胆碱能系统和 β -淀粉样蛋白表达改变。**结果** NBM 内胆碱能神经元明显减少, 5-羟色胺 (5-HT) 神经元和 GABA 神经元轻度减少。同侧额、顶叶皮质内胆碱能神经纤维显著减少, 5-HT 神经轴突轻度减少, 伴大量 β -淀粉样蛋白表达, GABA 神经元则无明显变化。NBM 毁损小鼠的工作记忆错误显著升高, 小鼠的近事记忆明显损害。**结论** NBM 注射 Ibotenic 酸能建立一种可靠的 AD 小鼠模型。

关键词 基底巨细胞核 胆碱能神经元 Alzheimer 痴呆模型 小鼠

Establishment of a Mouse Model of Alzheimer Dementia. Wang Qinghua, Xu Ruxiang. Department of Neurosurgery, Zhujiang Hospital, Nanfang Medical University, Guangdong 510282, China

Abstract **Objective** To establish a Alzheimer dementia (AD) model in mice. **Methods** The C57BL/6 mice were lesioned with ibotenic acid in Nucleus basalis of Meynert (NBM). Behavioral tests by eight-arm radial maze were conducted 8 weeks, and immunohistochemical staining of choline acetyltransferase (ChAT), serotonin (5-HT), GAD (GABA), amyloid- β protein (AP) was conducted 12 weeks after NBM lesioning. **Results** In NBM lesioned mice, the ChAT-positive neurons, serotonin-positive neurons, and GAD-positive neurons in right NBM reduced, and ChAT-positive neurons reduced most evidently. At the same time, the ChAT-positive fibers in prefrontal and parietal cortices decreased significantly, serotonin-positive axons slightly, accompanied by heavily AP co-expression. On the contrary, there was no change of GAD-positive neurons in cortex. The working memory error increased significantly. **Conclusion** Ibotenic acid lesioning in NBM can provide as a model of AD in that it produces deafferentation of cholinergic system and recent memory disruption.

Key words Nucleus basalis of Meynert; Cholinergic neuron; Alzheimer dementia model; Mouse

Alzheimer 痴呆 (AD) 是一种常见的神经系统退行性疾病, 其在老年人群中的发病率呈逐年上升的趋势^[1]。AD 的首发症状是进行性近事记忆下降。胆碱能学说在 AD 发病机制中占有重要地位。尸体解剖发现 AD 患者基底巨细胞核 (NBM) 内胆碱能神经元缺失和额、颞、顶叶广泛皮质的失胆碱能支配, 全脑退行性变及广泛性脑萎缩。在 AD 的额、颞、顶叶皮质内最明显的病理改变是细胞外 β -淀粉样蛋白 (AP) 沉积所致的痴呆斑 (SP)^[2,3]。目前认为 SP 主

要累及皮质胆碱能神经系统, 从而引起以记忆障碍为主的痴呆症状。本研究以破坏 NBM-脑皮质胆碱能系统为设想, 以脑皮质去胆碱能支配和小鼠近事记忆损害为观察指标, 探索建立一种 AD 模型以供实验研究。

材料与方法

1. 动物与分组: 9 周龄雄性 C57BL/6 小鼠, 体重 20~22g, 随机分为 3 组。①损伤组 ($n=14$), 采用 ibotenic 酸毁损右侧 NBM; ②假手术组 ($n=12$), 右侧 NBM 注射 PBS; ③正常对照组 ($n=15$), 同龄小鼠不做任何处理。

2. NBM 毁损: 应用 ketamine (60mg/kg 体重) 和 xylazine (20mg/kg 体重) 复合液腹腔注射麻醉后, 小鼠固定于立体定