

- 及相关性研究[J]. 中国免疫学杂志, 2017, 33(1): 120 - 125
- 9 Wang XJ, Yang B, Zhang AH, *et al.* Potential drug targets on insomnia and intervention effects of Jujuboside A through metabolic pathway analysis as revealed by UPLC/ESI - SYNAPT - HDMS coupled with pattern recognition approach[J]. *J Proteom*, 2012, 75(4): 1411 - 1427
- 10 Tu T, Zhou S, Liu Z, *et al.* Quantitative proteomics of changes in energy metabolism related proteins in atrial tissue from valvular disease patients with permanent atrial fibrillation[J]. *Circulat J*, 2014, 78(4): 993 - 1001
- 11 Lenski M, Schleider G, Kohlhaas M, *et al.* Arrhythmia causes lipid accumulation and reduced glucose uptake [J]. *Basic Res Cardiol*, 2015, 110(4): 40
- 12 Liu Y, Zhang L, Wei S, *et al.* Endogenous L - carnosine level in diabetes rat cardiac muscle[J]. *Evidence - Based Complement Alternat Med*, 2016, 2016(6): 1 - 7
- 13 Shui SF, Shen SJ, Huang RQ, *et al.* Metabonomic analysis of biochemical changes in the plasma and urine of carrageenan - induced rats after treatment with Yi - Guan - Jian decoction[J]. *J Chromatograph B*, 2016, 1033 - 1034: 80 - 90
- 14 徐玲, 马红艳, 李佳, 等. 富生酮氨基酸饮食对高脂诱导的小鼠胰岛素抵抗的影响[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2016, 32(5): 399 - 404
- 15 刘焰华, 吴继雄. 高血压并发心房颤动相关危险因素分析[J]. *重庆医学*, 2016, 45(24): 3431 - 3234
- (收稿日期: 2017 - 05 - 31)
(修回日期: 2017 - 06 - 20)

松果菊苷对 2 型糖尿病小鼠血脂代谢的影响

张 雪 郝亚荣 唐凤娟

摘 要 **目的** 探讨松果菊苷对 2 型糖尿病小鼠血脂代谢影响的特点, 并初步探讨其对 db/db 糖尿病小鼠肝脏组织中成纤维细胞因子 21 (fibroblast growth factor 21, FGF21) 含量的影响, 寻找松果菊苷调节 2 型糖尿病血脂代谢可能的途径。**方法** 取 6 周 db/db 小鼠 20 只, 随机选取 10 只作为模型组, 剩余 10 只作为实验组, 另取 6 周 db/m 小鼠 8 只 (SPF 级) 作为空白对照组, 适应 2 周后检测空腹血糖均 > 16.7 mmol/L 进入实验。各组予以灭菌蒸馏水、松果菊苷、灭菌蒸馏水灌喂 8 周后, 取血清测总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL - C)、低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL - C)、丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 的水平, 并取肝脏组织测 FGF21 的水平。**结果** 模型组血清 TG、TC 及 LDL 含量明显高于对照组 ($P < 0.01$), 血清 HDL 的含量明显低于对照组 ($P < 0.01$); 实验组血清 TG、TC 及 LDL 的水平明显低于模型组 ($P < 0.01$), 血清 HDL 的含量明显高于模型组 ($P < 0.01$); 模型组小鼠肝脏中 FGF21 表达的水平显著低于对照组 ($P < 0.01$), 实验组小鼠肝脏中 FGF21 表达的水平显著高于模型组 ($P < 0.01$); 模型组小鼠血清 ALT、AST 的含量显著高于对照组 ($P < 0.01$), 实验组小鼠血清 ALT、AST 的含量显著低于实验组 ($P < 0.01$)。**结论** 松果菊苷给药 8 周后能够显著改善 db/db 糖尿病小鼠血脂代谢紊乱, 且不加重肝功能损害, 其作用机制可能与其提高肝脏组织中 FGF21 表达水平有关。

关键词 松果菊苷 2 型糖尿病 血脂代谢 FGF21 肝功能

中图分类号 R3 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.03.013

Effect of Echinacoside on Lipid Metabolism in Type 2 Diabetic Mice. Zhang Xue, Hao Yarong, Tang Fengjuan. Department of Geriatrics; Central Laboratory, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei 430060, China

Abstract Objective To explore the characteristics of the effect of echinacoside on lipid metabolism in type 2 diabetic mice, and to investigate the content of growth factor 21 in liver tissue of diabetic mice, providing further insight into the possible way of regulating blood lipid metabolism in type 2 diabetic mice with Echinacea. **Methods** Twenty db/db mice (6 - week - old) were randomly divided into two groups: experimental group and model group; while six db/m mice (SPF) (6 - week - old) were control group. We detected the fasting blood glucose after 2 weeks that was higher than 16.7 mmol/L in experiment. Each group was given sterilized distilled water, echinacoside, sterilized distilled water. The serum total, cholesterol, triglyceride, high density lipoprotein, low density lipoprotein, alanine amin-

基金项目: 湖北省自然科学基金资助项目 (2013CFB251, 2016CFB673)

作者单位: 430060 武汉大学人民医院老年病科、中心实验室

通讯作者: 郝亚荣, 主任医师, 电子信箱: 984022801@qq.com

otransferase level, aspartate, aminotransferase level, and the liver tissue measurement of fibroblast growth factor 21 levels were detected after eight weeks. **Results** The model group serum TG, TC and LDL were significantly higher than the control group ($P < 0.01$). The content of serum HDL was significantly lower than the control group ($P < 0.01$). Experimental group of serum TG, TC and LDL levels were significantly lower than the model group ($P < 0.01$). The content of serum HDL was significantly higher than that in the model group ($P < 0.01$). The expression of FGF21 in model group in liver were significantly lower than that of control group ($P < 0.01$). The experimental group the expression of FGF21 in mouse liver was significantly higher than that in the model group ($P < 0.01$). The content of ALT and AST in serum of model group was significantly higher than the control group ($P < 0.01$). Experimental group serum ALT, AST were significantly lower than the experimental group ($P < 0.01$). **Conclusion** After 8 weeks of administration, the serum lipid metabolism disorder of db/db diabetic mice was significantly improved, and the liver function damage was not increased. The mechanism of FGF21 may be related to the improvement of the expression level of liver tissue.

Key words Echinacea; Type 2 diabetes mellitus; Lipid metabolism; FGF21; Liver function

2 型糖尿病是一种严重危害人类健康的非传染性的慢性疾病,长期的高血糖状态影响机体的能量代谢,可致使机体发生严重的血脂代谢紊乱,大幅度增加糖尿病患者大血管并发症的发生率^[1]。近年来,松果菊苷作为天然植物化合物发挥调节血糖、血脂代谢的功能备受关注^[2]。而 FGF21 是近年来发现的一种新的糖脂代谢调节因子,具有特异性的作用于肝脏、脂肪、胰岛细胞且不依赖于胰岛素有效安全地调节血糖血脂的能力^[3]。因此,本研究采用由 C57BL/KsJ 近亲交配株常染色体隐形遗传衍化而来 db/db 小鼠作为 2 型糖尿病动物模型。本实验小鼠发生严重的糖尿病症状及血脂紊乱,对其予以松果菊苷灌喂,观察小鼠在实验中的状态、表现及其肝脏组织的大体形态,以血脂、肝功、FGF21 作为检测指标,研究松果菊苷对糖尿病小鼠脂质代谢的影响。

材料与方法

1. 实验材料:(1)实验动物:6 周龄 db/db 小鼠 20 只,体重 $43.19 \pm 1.78\text{g}$,db/m 小鼠 8 只(SPF 级),体重 $21.51 \pm 1.71\text{g}$,均为雄性,由南京大学-南京生物医药研究院提供;(2)实验药物及试剂:松果菊苷购自上海融禾医药有限公司,经 HPLC 检测纯度为 94%。小鼠 FGF21 酶联免疫吸附测定试剂盒购自伊莱瑞特生物科技有限公司,批号:E-EL-M0029c(48t)。

2. 实验方法:(1)分组:所有动物饲养于武汉大学人民医院中心标准动物房,室温 20°C ,相对湿度 60%,每日光照 12h,自由饮水、摄食,适应 2 周后检测空腹血糖均 $> 11.1\text{mmol/L}$ 进入实验。随机选取 10 只 db/db 小鼠作为模型组,剩余 10 只 db/db 小鼠作为实验组,8 只 db/m 小鼠作为对照组。(2)给药:模型组和对照组予以灭菌蒸馏水灌喂 $[0.1\text{ml}/(20\text{g} \cdot \text{d})]$,实验组予以松果菊苷溶液 $[松果菊苷溶于灭菌蒸馏水 300\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})]$ 灌喂,持续 8 周。

(3)标本采集与处理:实验结束前 1 天下午 7 点开始,所有小鼠禁食不禁水。于第 2 天上午 8 点,采用 10% 水合氯醛溶液以腹腔注射麻醉后,心脏取血后处死。仰卧位固定于手术台,打开腹腔充分暴露肝脏,肉眼观察肝脏颜色及大小,然后取出整个肝脏,观察肝脏大体形态后将肝组织保存于 -80°C 冰箱待用。血液标本离心取血清,测定 TC、TG、HDL-C、LDL-C、AST、ALT 的含量。另取适量肝组织匀浆后测定 FGF21 含量;(4)检测指标与方法:TC、TG、HDL-C、LDL-C、ALT、AST:使用血清标本,于武汉大学人民医院检验科使用 ADVID 2400 生化分析仪测定;FGF21:使用肝脏组织标本,采用 ELISA 测定(酶标仪型号:Multiskan MK3,美国 Thermo Scientific 公司)。

3. 统计学方法:使用 SPSS 17.0 统计学软件进行数据统计分析处理,计量数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 小鼠一般情况:空白对照组的 db/m 小鼠在实验过程中状态较好,体重持续增长,毛色光滑,较活跃;模型组 db/db 小鼠出现排尿量、进食饮水量增加,毛发粗糙油腻,不喜动,并且有 1 只小鼠在实验中死亡;实验组 db/db 小鼠与模型组对比,进食饮水量较其减少,毛发稍粗糙油腻,活动量较增多。

2. 肝脏大体观察:空白对照组的 db/m 小鼠肝脏大小、形态可,边缘锐利,颜色暗红,表面细腻、光滑;模型组 db/db 小鼠肝脏体积明显增大,包膜紧张,边缘较钝圆,质地较软,颜色灰黄,表面油腻;实验组 db/db 小鼠与模型组对比,肝脏体积、形态、边缘圆钝情况、包膜紧张情况及质地等方面均有一定程度好转。

3. 血清检查:各组小鼠血清 TC、TG、HDL-C、LDL-C 含量结果比较见表 1。

表 1 松果菊苷对 2 型糖尿病小鼠血脂代谢的影响 (mmol/L)

组别	n	TC	TG	HDL - C	LDL - C
对照组	8	2.08 ± 0.36	0.98 ± 0.16	1.11 ± 0.21	0.15 ± 0.37
模型组	7	3.57 ± 1.07 *	1.94 ± 0.59 *	1.00 ± 0.13 *	0.21 ± 0.16 *
实验组	10	3.13 ± 0.66 #	1.72 ± 0.66 #	1.40 ± 0.31 #	0.19 ± 0.37 #

与对照组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.01$

4. FGF21 含量: 各组小鼠肝脏组织 FGF21 含量结果比较见表 2。

表 2 松果菊苷对 2 型糖尿病小鼠肝脏组织中 FGF21 含量的影响

组别	n	FGF21 (ng/mg)
对照组	8	1.86 ± 0.65
模型组	9	1.39 ± 0.42 *
实验组	10	2.40 ± 0.68 #

与对照组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.01$

5. ALT、AST 含量: 各组小鼠血清 ALT、AST 含量结果比较见表 3。

表 3 松果菊苷对 2 型糖尿病小鼠肝功能的影响 ($\bar{x} \pm s$, U/L)

组别	n	ALT	AST
对照组	8	54.62 ± 14.87	216.25 ± 48.51
模型组	7	151.28 ± 79.35 *	524.14 ± 340.63 *
实验组	10	79.10 ± 25.87 #	225.60 ± 150.41 #

与对照组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.01$

讨 论

随着经济发展和人民生活的改善,糖尿病的发生率逐年上升。糖尿病已经成为严重威胁人类健康的世界性公共卫生问题。目前在世界范围内,糖尿病的患病率、发生率急剧上升,研究发现 2013 年全球约有 3.82 亿人患有糖尿病,到 2035 年这一数字将上升到 5.92 亿^[4]。糖尿病是一类以高血糖为主要特征的代谢性疾病,是居肿瘤、心血管疾病之后严重危害人类健康的疾病。持续的高血糖影响体内能量代谢,高脂血症是其常见表现,常表现为混合型血脂代谢紊乱。单一应用他汀类或贝特类降脂药常难以达到糖尿病患者调脂治疗目标,而二者合用时患者肌溶解、肝功能受损等不良反应发生率明显升高。

天然植物化合物具有显著的健康保护效应,是药物研发很好的潜在供体,是近年来研究的热点。大量研究表明多种不同来源的酚类物质可通过调节机体脂代谢相关基因及其酶的表达水平发挥调节脂代谢

活性。在 2 型糖尿病小鼠模型中发现落枝果皮多酚可通过上调 PPAR α 发挥降血脂活性^[5]。此外,红豆多酚、紫色甘薯多酚都已被证实可通过提高 AMPK 磷酸化水平减轻机体脂肪蓄积^[6]。

松果菊苷是中药肉苁蓉苯乙醇苷类化合物的主要成分,其分子式为 C₃₅H₄₆O₂₀,分子结构中有若干个酚性羟基,故又属于多酚类化合物。目前已发现其有抗炎、抗氧化、保护肝脏、促进伤口愈合、改善学习记忆、抗肿瘤和免疫调节等作用^[7-10]。在对 db/db 糖尿病小鼠的研究中发现松果菊苷可改善胰岛素抵抗,提高 HDL 水平,降低 TG、TC 及 LDL 的水平,说明松果菊苷能有效改善糖尿病血脂代谢^[2]。此外,Shimoda 等^[11]研究证实松果菊苷可通过调节与肝胆固醇转运和代谢相关的 mRNA 影响血脂代谢。本实验以 db/db 糖尿病小鼠作为实验对象,予以松果菊苷灌注,证实松果菊苷可显著降低 2 型糖尿病小鼠 TG、TC 及 LDL 的水平,提高 HDL 的含量,调节其血脂代谢紊乱;此外,松果菊苷灌喂的 db/db 糖尿病小鼠肝脏中 FGF21 表达的水平显著高于未灌喂组,且可改善糖尿病小鼠肝功能。

FGF21 是近年来发现的一种新的糖脂代谢调节因子,最早由 Nishimura 等克隆出来,在肝脏、脂肪组织和中枢神经系统等多个组织中都有表达,血液循环中的 FGF21 都源于肝脏的分泌,其具有特异性的作用于肝脏、脂肪、胰岛细胞且不依赖于胰岛素有效安全地调节血糖血脂的能力^[3,12-14]。在肝脏中,长时间的禁食可诱导 FGF21 的表达,而 FGF21 能够刺激肝脏脂肪酸的氧化和酮体生成、抑制脂肪生成等^[15-18]。动物实验证实其可以有效改善胰岛素抵抗降低胰岛素浓度,显著降低血清中甘油三酯、胆固醇以及低密度脂蛋白的含量^[19,20]。近年来,研究显示 FGF21 可通过改变脂代谢相关基因的表达,对高脂诱导的肝脏脂肪变和胰岛素抵抗均具有保护作用。另外,与野生型小鼠相比,FGF21 基因敲除的小鼠在予以生酮饮食后体重显著增加,并形成肝脏脂肪变性,酮体合成功能受损。Kharitononkov 等^[19]发现,FGF21 能够显著降低通过基因控制或食物诱导产生的肥胖小鼠的体

重,同时还会减少肝脏和血清中的甘油三酯含量。同样在糖尿病猴中证实 FGF21 具有减少低密度脂蛋白胆固醇以及增加高密度脂蛋白胆固醇浓度的作用。此外,FGF21 可通过抑制胆固醇调控元件结合蛋白来降低与脂肪酸及 TG 合成相关的基因表达、并可激活解偶联蛋白 1 与 2 表达,增加能量消耗、促进脂肪利用和脂类排泄以降低水平。

综上所述,松果菊苷可通过提高肝脏组织中 FGF21 的水平来调节糖尿病小鼠血脂代谢而不加重肝功能损害,但其具体信号通路及转导机制仍需进一步研究。

参考文献

- 1 李晓端. 糖脂平汤颗粒冲服治疗 2 型糖尿病并血脂代谢紊乱的疗效[J]. 糖尿病新世界,2015,21:42-44
- 2 Xiong WT, Gu L, Wang C, *et al.* Anti-hyperglycemic and hypolipidemic effects of *Cistanche tubulosa* in type 2 diabetic db/db mice[J]. *J Ethnopharmacol*,2013,150(3):935-945
- 3 Nishimura T, Nakatake Y, Konishi M, *et al.* Identification of a novel FGF, FGF-21, preferentially expressed in the liver[J]. *Biochim Biophys Acta*,2000,1492(1):203-206
- 4 Guariguata L, Whiting D R, Hambleton I, *et al.* Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035[J]. *Diabetes Res Clin Pract*,2014,103(2):137-149
- 5 Noh JS, Kim HY, Park CH, *et al.* Hypolipidaemic and antioxidative effects of oligonol, a low-molecular-weight polyphenol derived from lychee fruit, on renal damage in type 2 diabetic mice[J]. *Br J Nutr*, 2010,104(8):1120-1128
- 6 Mukai Y, Sun Y, Sato S. Azuki bean polyphenols intake during lactation upregulate AMPK in male rat offspring exposed to fetal malnutrition[J]. *Nutrition*,2013,29(1):291-297
- 7 You SP, Ma L, Zhao J, *et al.* Phenylethanol glycosides from *cistanche tubulosa* suppress hepatic stellate cell activation and block the conduction of signaling pathways in TGF-beta1/smad as potential anti-hepatic fibrosis agents[J]. *Molecules*,2016,21(1):10
- 8 雷箴,温韬. 松果菊苷对刀豆蛋白 A 所致急性肝损伤小鼠的保护作用及对细胞外组蛋白的影响[J]. 解放军医学杂志,2016,2:97-102
- 9 Dong L, Yu D, Wu N, *et al.* Echinacoside induces apoptosis in human SW480 colorectal cancer cells by induction of oxidative DNA Damages[J]. *Int J Mol Sci*,2015,16(7):14655-14668
- 10 Wang W, Luo J, Liang Y, *et al.* Echinacoside suppresses pancreatic adenocarcinoma cell growth by inducing apoptosis via the mitogen-activated protein kinase pathway[J]. *Mol Med Rep*,2016,13(3):2613-2618
- 11 Shimoda H, Tanaka J, Takahara Y, *et al.* The hypocholesterolemic effects of *cistanche tubulosa* extract, a Chinese traditional crude medicine, in mice[J]. *Am J Chin Med*,2009,37(6):1125-1138
- 12 Nishimura T, Nakatake Y, Konishi M, *et al.* Identification of a novel FGF, FGF-21, preferentially expressed in the liver[J]. *Biochim Biophys Acta*,2000,1492(1):203-206
- 13 Fon TK, Bookout AL, Ding X, *et al.* Research resource: Comprehensive expression atlas of the fibroblast growth factor system in adult mouse[J]. *Mol Endocrinol*,2010,24(10):2050-2064
- 14 Markan KR, Naber MC, Ameka MK, *et al.* Circulating FGF21 is liver derived and enhances glucose uptake during refeeding and overfeeding[J]. *Diabetes*,2014,63(12):4057-4063
- 15 Coskun T, Bina HA, Schneider MA, *et al.* Fibroblast growth factor 21 corrects obesity in mice[J]. *Endocrinology*, 2008, 149(12):6018-6027
- 16 Badman MK, Pissios P, Kennedy AR, *et al.* Hepatic fibroblast growth factor 21 is regulated by PPARalpha and is a key mediator of hepatic lipid metabolism in ketotic states[J]. *Cell Metab*,2007,5(6):426-437
- 17 Inagaki T, Dutchak P, Zhao G, *et al.* Endocrine regulation of the fasting response by PPARalpha-mediated induction of fibroblast growth factor 21[J]. *Cell Metab*,2007,5(6):415-425
- 18 Potthoff MJ, Inagaki T, Satapati S, *et al.* FGF21 induces PGC-1alpha and regulates carbohydrate and fatty acid metabolism during the adaptive starvation response[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2009,106(26):10853-10858
- 19 Kharitonov A, Wroblewski V J, Koester A, *et al.* The metabolic state of diabetic monkeys is regulated by fibroblast growth factor-21[J]. *Endocrinology*,2007,148(2):774-781
- 20 Inagaki T, Dutchak P, Zhao G, *et al.* Endocrine regulation of the fasting response by PPARalpha-mediated induction of fibroblast growth factor 21[J]. *Cell Metab*,2007,5(6):415-425

(收稿日期:2017-04-05)

(修回日期:2017-04-23)

关于《医学研究杂志》编辑部联系电话变更的通知

《医学研究杂志》编辑部联系电话发生变更,调整后的电话号码为:010-52328690、52328691、52328692、52328674。特此通知。

《医学研究杂志》编辑部