

人参总皂甙对大鼠胰岛释放胰岛素的_{作用及其特点}

中国协和医科大学生理教研室 李国栋* 陆钟琦

内容提要 人参总皂甙本身可以刺激分离的大鼠胰岛释放胰岛素,并可促进葡萄糖引起的胰岛素释放。人参总皂甙与胰岛素释放之间的剂量—反应关系曲线呈“S”型。人参总皂甙对胰岛素释放的作用不依赖细胞外钙的存在,也不被肾上腺素所抑制,提示人参总皂甙对胰岛素释放的作用机理与葡萄糖不同。

很早以前人们就用人参来治疗“消渴”病,它可以降低糖尿病患者和正常或四氧嘧啶糖尿病模型动物的血糖^[1,2]。日本学者也发现人参能刺激或促进大鼠胰腺或胰岛释放胰岛素^[3,4]。包天桐则发现人参总皂甙有降低糖尿病模型动物血糖的作用^[5]。本实验目的在于观察人参总皂甙对分离的大鼠胰岛的胰岛素释放有何影响及其特点。

材料与方法

一、试剂: V型胶原酶(256U/mg,美国Sigma公司产品); Hepes; 西德Merck公司产品; 异搏定针剂: 天津和平制药厂产; EGTA; 北京化工厂产; 肾上腺素针剂, 杭州第一制药厂产; 人参总皂甙: 由本实验室按Kimura方法提取^[6]; 胰岛素放射免疫测定箱由海军总医院中心实验室惠供。

二、缓冲液组成: (1)Hanks缓冲液: 含50mg%葡萄糖和0.1%牛血清白蛋白, pH值调至7.4。(2)KRBH缓冲液: 各组成成分为130mM NaCl, 4.7mM KCl, 2.5mM CaCl₂, 1.2mM MgSO₄, 1.2mM KH₂PO₄, 5.0mM NaHCO₃, 10.0mM Hepes, 0.5%牛血清白蛋白; 用NaOH将pH值调至7.4。

三、分离胰岛: 胰岛的分离参照Lacy等报道方法^[7]并稍作改良。Wistar大鼠, 雄性, 体重250~350g, 不禁食水。动物经腹腔注射戊巴比妥麻醉后将其胰腺取下, 快速剪碎呈1~2mm大小, 加入胶原酶(每只大鼠胰腺约加10mg), 在37℃水浴中快速振荡消化20分钟左右。消化后的组织经Hanks液反复洗去胶原酶和消化掉的碎组织等。将最后剩下的组织放在解剖显微镜下于黑色背景上进行观察, 把游离的完整胰岛挑

选出来用作下面的实验。每只大鼠胰腺一般可分离到100~200个胰岛。

四、胰岛的静态温育: 每管随机放5~6个分离所得的胰岛, 内装含所需试剂的KRBH缓冲液。充氧后置试管于37℃水浴中温和振荡90分钟, 取上清部分冰冻保存待测胰岛素含量。

五、胰岛的动态灌流: 灌流系统的组成连接和液体流动情况参照Lacy报道方法^[8]。每个灌流室放50~60个胰岛, 灌流液用KRBH缓冲液。流量为0.7ml/分。流出液用部分收集器收集。测定流出液中的胰岛素含量。

六、胰岛素测定: 参照吕植等报道方法^[9], 并作改良。胰岛素含量以猪胰岛素为标准。结果的表示单位, 温育时用 $\mu\text{U}/90\text{分}/\text{胰岛}$, 灌流时用 $\mu\text{U}/\text{分}/\text{胰岛}$ 。实验数据均用非配对资料的双尾Student t检验作统计学处理。

结 果

一、人参总皂甙对胰岛素释放的影响

表1为不同浓度的人参总皂甙在无葡萄糖时对温育大鼠胰岛的胰岛素释放的作用, 可见人参总皂甙依剂量地刺激胰岛素释放。人参总皂甙也刺激灌流的大

表1 人参总皂甙刺激温育大鼠胰岛释放胰岛素

人参总皂甙 (mg/ml)	胰岛素释放量($\mu\text{U}/90\text{分}/\text{胰岛}$) ($\bar{M} \pm \text{SD}$)	P值
0	5.8 $\pm$ 2.8(17)	对照组
0.10	10.0 $\pm$ 4.7(5)	<0.05
0.25	13.0 $\pm$ 2.7(4)	<0.01
0.35	24.5 $\pm$ 7.9(18)	<0.01

注: 括号中数字为样本数

* 现在江西医学院生理教研室

鼠胰岛释放胰岛素见图1。其中,在灌流的第37、46、51和61分钟时胰岛素释放量均值分别为44、72、88和74 μ U/分/胰岛(二次实验的平均值)。

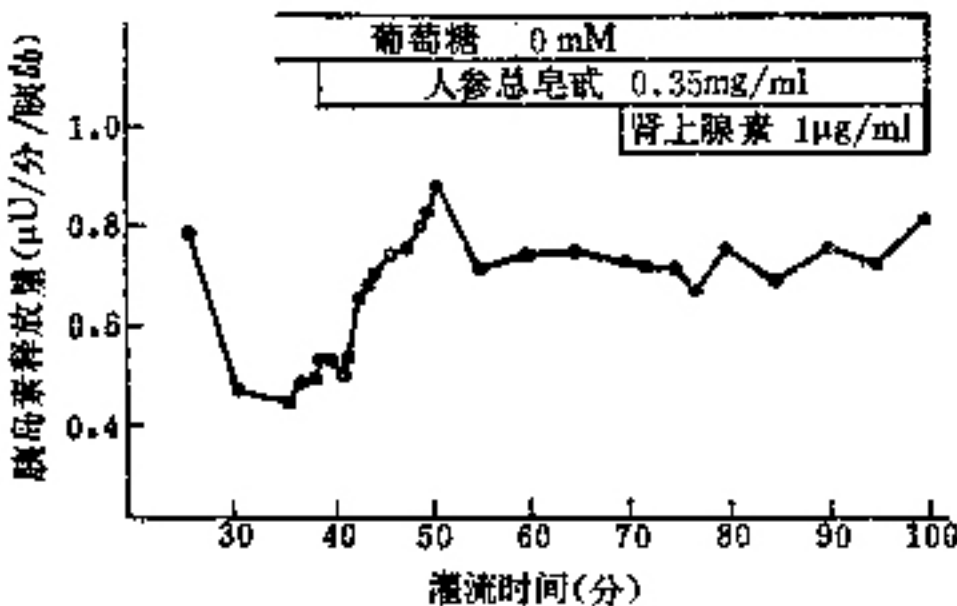


图1 人参总皂甙刺激灌流大鼠胰岛释放胰岛素以及肾上腺素对其的影响

图2显示了大鼠胰岛在有2.8mM葡萄糖存在下(这种浓度的葡萄糖不能刺激胰岛素释放)温育时,人参总皂甙浓度与胰岛素释放量之间的剂量-反应关系曲线,呈“S”型。人参总皂甙浓度在0、0.05、0.10、0.25、0.35和0.50mg/ml时胰岛素释放量(M $\pm$ SD)分别为7.8 $\pm$ 3.0、6.8 $\pm$ 2.5、9.0 $\pm$ 3.4、20.8 $\pm$ 7.7、25.9 $\pm$ 9.5和24.5 $\pm$ 8.6 μ U/90分/胰岛(图2)。

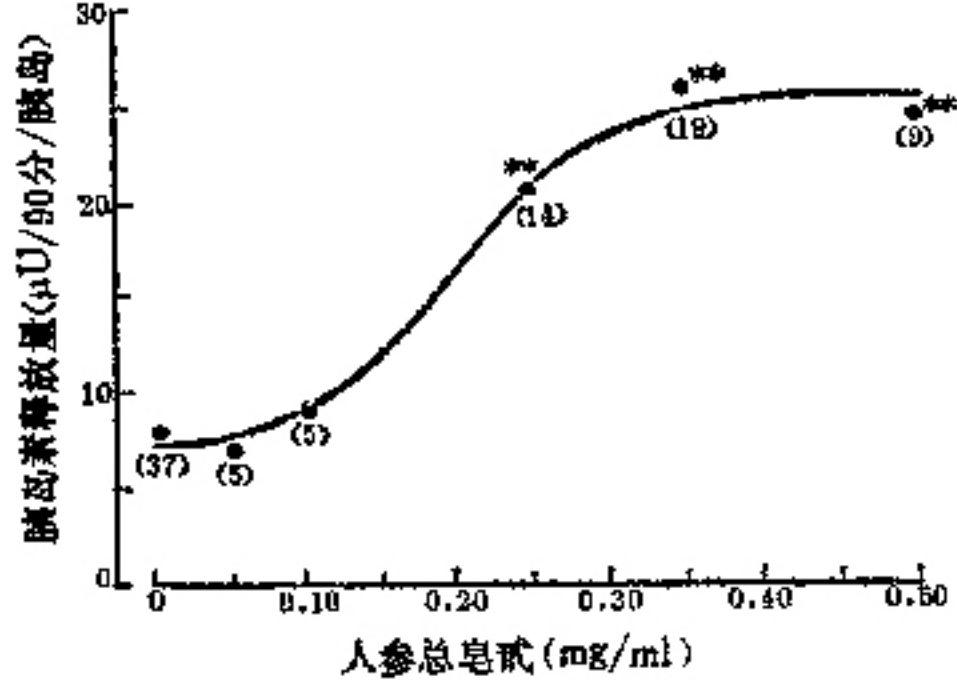


图2 温育大鼠胰岛时人参总皂甙与胰岛素释放之间的剂量-反应关系曲线。括号中数字为样本数,**P<0.01

当有16.7 mM葡萄糖存在时,人参总皂甙增加葡萄糖对大鼠胰岛引起的胰岛素释放,结果见表2。可见三种浓度的人参总皂甙的促分泌作用大小相近。

表2 人参总皂甙促进葡萄糖(16.7mM)引起的胰岛素从温育大鼠胰岛中释放

人参总皂甙 (mg/ml)	胰岛素释放量(μ U/90分/胰岛) (M $\pm$ SD)	P 值
0	20.5 $\pm$ 5.4(38)	对照组
0.10	29.8 $\pm$ 10.1(5)	<0.01
0.25	32.6 $\pm$ 6.4(5)	<0.01
0.35	29.8 $\pm$ 8.8(19)	<0.01

注:括号中数字为样本数

二、胞外钙和肾上腺素对人参总皂甙促胰岛素释放作用的影响

1. 缺钙的影响:钙通道阻断剂异搏定(55 μ M)或除去溶液中的游离钙离子(并加2mM EGTA,一种能与钙离子强烈结合的络合剂,以保证缺钙状态)均不能显著影响人参总皂甙(0.35mg/ml)对不同葡萄糖浓度下温育的胰岛中引起的胰岛素释放(P值均>0.05),结果见表3。

表3 异搏定或除钙对人参总皂甙在不同葡萄糖浓度时引起的胰岛素释放的影响

组 别	胰岛素释放量(μ U/90分/胰岛) (M $\pm$ SD)		
	葡萄糖 (mM)		
	0	2.8	16.7
对 照	24.5 $\pm$ 7.9(18)	25.9 $\pm$ 9.5(19)	29.8 $\pm$ 8.8(19)
异搏定	18.2 $\pm$ 7.4(4)	22.1 $\pm$ 5.5(5)	26.6 $\pm$ 4.0(4)
除 钙	25.4 $\pm$ 6.3(10)	19.7 $\pm$ 6.3(10)	27.5 $\pm$ 9.4(10)

注:大鼠胰岛温育90分钟。括号中数字为样本数。异搏定组和除钙组与对照组相比较,P均>0.05

2. 肾上腺素的影响:表4表明浓度为1 μ g/ml的肾上腺素不能改变人参总皂甙(0.35mg/ml)在不同葡萄糖浓度时对温育大鼠胰岛引起的胰岛素释放。同样浓度的肾上腺素对人参总皂甙在灌流胰岛时的作用也无显著影响,见图1。

表4 肾上腺素未能抑制人参总皂甙在不同糖浓度时引起的胰岛素从温育大鼠胰岛中释放

组 别	胰岛素释放量(μ U/90分/胰岛) (M $\pm$ SD)		
	葡萄糖 (mM)		
	0	2.8	16.7
对 照	24.5 $\pm$ 7.9(18)	25.9 $\pm$ 9.5(19)	29.8 $\pm$ 8.8(19)
肾上腺素	22.2 $\pm$ 10.0(7)	23.8 $\pm$ 2.9(5)	24.2 $\pm$ 2.8(7)

注:括号中数字为样本数,两组比较 P均>0.05

讨 论

人参总皂甙能引起离体大鼠胰岛释放胰岛素,说明很可能它是人参中影响血糖降低的有效成分。由于人参对机体有广泛的作用,如它有拟胰岛素样作用(10),所以整体时人参通过改变胰岛素释放来影响血糖的作用比重有多大尚不能肯定。

人参总皂甙引起的胰岛素释放是它直接作用于胰岛的 β 细胞所致,因为实验已排除了人参总皂甙对胰岛素放射免疫测定方法的影响。单独由人参总皂甙刺

激的分泌也不可能是由其中所含有的少量糖所致,因为葡萄糖必须达到约4mM以上浓度时才能引起胰岛素释放。人参总皂甙的作用也不可能是通过增加胰高血糖素释放来促进胰岛素分泌,因为胰高血糖素引起的胰岛素释放需要胞外钙离子存在,并可被肾上腺素所抑制。

人参总皂甙本身能刺激胰岛素释放以及它的“S”型剂量—反应关系曲线均与葡萄糖的作用相类似⁽¹¹⁾。此外,人参总皂甙还能促进葡萄糖的作用。但人参总皂甙的作用还有与葡萄糖明显不同的地方,即它不依赖细胞外的钙离子和不能被肾上腺素所影响。葡萄糖依赖胞外钙离子经电压敏感钙通道进入 β 细胞来引起胰岛素释放⁽¹²⁾,并且肾上腺素受体激动剂可作用于胰岛 β 细胞膜上的 α 受体来抑制葡萄糖的促胰岛素释放作用⁽¹³⁾,我们的实验也显示相同的结果(另文发表)。这些说明人参总皂甙引起胰岛素释放的作用机理与葡萄糖是不同的。因为胞浆游离钙离子浓度的高低是胰岛素分泌过程中的中心环节⁽¹⁴⁾,所以人参总皂甙是不是改变了胰岛 β 细胞内的钙分布而使胞浆钙离子浓度增加来引起胰岛素释放尚待以后探讨。人参总皂甙为我们研究胰岛素释放的刺激—分泌偶联机理提供了一有用的工具。

参 考 文 献

- 1.王本祥。人参对内分泌系统的影响。药学通报 1984; 19:41.
- 2.王振纲,等。人参对正常狗及四氧嘧啶糖尿病狗的影响。中华内科杂志 1957; 5:861.
- 3.木村正康,他。药用人参画分のインスリン分泌に対する作用。日本药理学杂志 1976; 72:16.

- 4.木村正康,他。药用人参抗糖尿病有效画分による脾単離 β 細胞のインスリン分泌作用。日本药理学杂志 1977; 73:78.
- 5.包天桐。人参总皂甙对小鼠四氧嘧啶糖尿病的影响。药理学报 1981; 16:618.
- 6.Kimura M, et al. Pharmacological sequential trials for the fractionation of components with hypoglycemic activity in alloxan diabetic mice from ginseng radix. J Pharmacobiodyn 1981; 4:402.
- 7.Lacy PE, et al. Method for the isolation of intact islets of Langerhans from the rat pancreas. Diabetes 1967; 16:35.
- 8.Lacy PE, et al. Perfusion of isolated rat islets in vitro: participation of the microtubular system in the biphasic release of insulin. Diabetes 1972; 21:987.
- 9.吕植,等。血清胰岛素放射免疫测定方法探讨。解放军医学杂志 1981; 6:17.
- 10.Lu ZQ, et al. Ginseng extract inhibits protein degradation and stimulates protein synthesis in human fibroblasts. Biochem Biophys Res Commun 1985; 126:636.
- 11.Ashcroft SJH, et al. Insulin secretion mechanisms and glucose metabolism in isolated islets. Diabetes 1972; Suppl 2:538.
- 12.Wollheim CB, et al. The role of intracellular and extracellular Ca^{++} in glucose-stimulated biphasic insulin release by rat islets. J Clin Invest 1978; 62:451.
- 13.Malaisse W, et al. Effects of adrenergic and cholinergic agents upon insulin secretion in vitro. Endocrinol 1967; 80:975.
- 14.Prentki M, et al. Cytosolic free Ca^{++} in insulin secreting cells and its regulation by isolated organelles. Experientia 1984; 40:1052.

丹参、654-2 治疗多发性神经炎 4 例

甘肃省永登县人民医院 刘世杰 赵玉珍

我们于1985年收治多发性神经炎患者4例,用丹参、654-2治疗,短期内全部治愈,现介绍如下。

临床资料 4例中男、女各2例;年龄24~45岁。3例为服痢特灵引起,1例病因不明。病程分别为25、34、46、60天。4例均有两前臂及小腿远端1/2典型的手套式、袜式发软,麻木、无力及触、痛、温觉减退。

治疗方法 丹参注射液4ml、654-2注射液10mg各于每6小时肌注一次;或用10%葡萄糖250ml加丹参20ml和10%葡萄糖250ml加654-2 40mg,每日各静滴一次。用药三天后视病情及有无654-2毒副作用而逐

渐减654-2为每日30mg、20mg或停药(丹参量不变)。

结果 痊愈标准:四肢麻、软、无力消失,触、痛、温觉正常。本组4例全部治愈。疗程20~75天。

体会 丹参为活血化瘀中药,已广泛应用于治疗心脑血管疾病。654-2有较强的平滑肌松弛、解除血管痉挛及镇痛作用,可用于感染性休克、脑血栓形成、血栓性脉管炎等病。本病的症状推断与血管痉挛、微循环改变及神经营养、代谢、传递障碍有关。丹参、654-2配合可能有改善末梢血管神经营养障碍的协同作用。

Effects of Ginsenosides on Myocardial Lactic Acid, Cyclic Nucleotides and Ultrastructural Myocardial Changes of Anoxia on Mice

Fang Yunxiang (方云祥), Chen Xiu (陈修)
Dept. of Pharmacology, Hunan Medical College, Changsha

Mice were placed in hermetically sealed flask for 10, 20, 30, 40 min. or to a minimal residual oxygen content of 7 %. The whole heart was used to determine the lactic acid, cAMP and cGMP level. Specimens from endocardium and apical part of heart were examined with electronmicroscope. The results revealed that ginsenosides (540 mg/kg ip) reduced the cerebral and myocardial lactic acid level and restored the reduction of cAMP/cGMP under severe anoxic state. The damage of myocardial capillaries and the ultrastructural change of mitochondria showed slight swelling, and nearly all of the capillaries remained normal. The present study suggests that ginsenosides protected both metabolic disturbances and ultrastructural damage of myocardium during severe anoxia.

(Original article on page 354)

Effect of Ginseng Saponins on Insulin Release from Isolated Pancreatic Islets of Rats

Li Guodong (李国栋), Lu Zhongqi (陆钟琦)
Dept. of Physiology, Peking Union Medical College, Beijing

The effect of ginseng saponins on insulin release from isolated pancreatic islets of rats was studied. It was shown that ginseng saponins could stimulate insulin release from incubated or perfused islets and promote its release induced by highly concentrated glucose. When containing 2.8 mM glucose in medium which could not stimulate insulin release, the dose, response curve of correlation between ginseng saponins and insulin release displayed as "S" type, and the concentrations of ginseng saponins which could cause the maximum insulin release was between 0.10 to 0.35 mg/ml. The effects of ginseng saponins on insulin release at different glucose concentrations were not significantly affected by adding 55 μ M verapamil to prevent the influx of Ca^{++} into the pancreatic cells or depriving Ca^{++} in solution, showing that it was not dependent on extracellular calcium. Adrenaline (1 g/ml) could not inhibit insulin release induced by ginseng saponins from incubated or perfused rat islets. It was suggested that the mechanism of effect of ginseng saponins on insulin release was different from that of glucose.

(Original article on page 357)

Effects of Adrenaline and Cold Stimulation on Erythrocyte Membrane of Rat

Nie Songqing (聂松青), et al
Dept. of Biophysics, Beijing Medical University, Beijing

This paper reports the surface structure and osmotic fragility and microviscosity of erythrocyte membrane of rat blood stasis model, which was formed after injecting adrenaline and cold stimulation. The experimental results showed: (1) Rate of abnormal cells of model rat (36.5 %) was higher than that of control (6.5 %) by scanning electronmicroscope. (2) The osmotic fragility of model rat was higher than that of control, which was nearer to the old rats. (3) The microviscosity of erythrocyte membrane of model rat was also higher than that of control and approached that of old rats. The changes of function caused by the abovementioned abnormalities were discussed.

(Original article on page 360)