

· 实验研究 ·

川芎嗪对环孢素引起的大鼠胰岛 β 细胞
毒性防护作用的实验研究

上海市长征医院(上海 200003) 顾明君 刘志民

内容提要 给大鼠应用环孢素(CsA)50 mg/kg·d 灌胃, 共 10 天, 引起高血糖症及血浆和胰腺组织中胰岛素水平下降。同时联合应用川芎嗪(LIG)50 mg/kg·d 共 10 天, 能有效地防止和(或)减轻 CsA 引起的上述变化。LIG 还有效地减轻了 CsA 引起的尿血栓素 B_2 和尿血栓素 $B_2/6$ -酮-前列腺素 $F_{1\alpha}$ 值的升高。结果提示 LIG 对 CsA 引起的胰岛 β 细胞毒性的防护作用可能与调节前列腺素代谢有关。

关键词 川芎嗪 环孢素 胰岛 β 细胞

环孢素(Cyclosporine A, CsA)是一种有效的免疫抑制剂, 广泛用于器官移植患者, 近年来也用于治疗胰岛素依赖型糖尿病患者。然而, CsA 除有明显的肝肾毒性外, 对胰岛 β 细胞也有毒性作用^[1-3]。据报道中药川芎对 CsA 引起的急性肾毒有良好的保护作用^[4]。本研究旨在探讨川芎的有效成分川芎嗪(Ligustrazine, LIG)对 CsA 引起的大鼠胰岛 β 细胞毒性有无保护作用及其可能的机理。

材料和方法

一、动物分组和用药 成年雄性 SD 大鼠(上海劳动卫生研究所提供)18 只, 随机等分为 3 组。LIG 组给予盐酸川芎嗪注射液(江苏无锡药厂, 批号 900611); CsA 组给予 CsA 口服液(瑞士山德士药厂); LIG+CsA 组给予盐酸川芎嗪注射液及 CsA 口服液。LIG 为 50 mg/kg·d, 腹腔注射; CsA 为 50 mg/kg·d, 灌胃, 均每日晨给药 1 次, 共 10 天。

二、观察项目 给药前当天(D_0)及开始给药后第 11 天(D_{11})收集各组大鼠 24 h 尿液测定血栓素 B_2 (TXB₂)及 6-酮-前列腺素 $F_{1\alpha}$ (6-Keto-PGF_{1 α})。 D_0 及 D_{11} 各组大鼠禁食 12 h, 称体重, 尾尖采血, 肝素抗凝, 测定空腹及葡萄糖负荷(葡萄糖 1.5 g/kg, 灌胃)后 45 min 血浆葡萄糖(PG)及免疫反应性胰岛素(PI)水平。 D_{11} 采血后断头处死动物, 摘取胰腺, 去除胰外组织, 滤纸吸干, 称湿重, 剪碎, 加盐酸乙醇(75%乙醇: 12 mmol/L 盐酸, 50:1)5 ml 制备匀浆, 置 4℃ 24 h 后收集上清液, 测定免疫反应性胰岛素(TI)。测定前用含 0.25% 牛血清白蛋白的磷酸盐缓冲液适当稀释及 1 mmol/L 氢氧化钠中和至

pH 7.4。PG 测定采用葡萄糖氧化酶法, PI 及 TI 测定采用放射免疫双抗体法, TXB₂及 6-Keto-PGF_{1 α} 测定采用放射免疫法^[5]。所有结果均以 $\bar{x} \pm S$ 表示, 采用 t 检验分析。

结 果

一、LIG 和(或)CsA 对大鼠体重的影响 LIG、CsA 单独或联合应用对大鼠体重无明显影响, 处理前及处理后各组比较 P 均 > 0.05 (见表 1)。

表 1 各组大鼠体重比较 ($\bar{x} \pm S$)

组别	鼠数 (只)	体重(g)	
		处理前	处理后
LIG	6	209 $\pm$ 10	233 $\pm$ 15
CsA	6	209 $\pm$ 8*	228 $\pm$ 10*
LIG+CsA	6	208 $\pm$ 12*	238 $\pm$ 12*

注: *与 LIG 组比较 P 均 < 0.05

二、LIG 和(或)CsA 对大鼠血糖水平的影响 LIG 对大鼠空腹及葡萄糖负荷后 45 min 血糖(PG)水平无明显影响, CsA 则明显升高空腹及糖负荷后血糖, LIG 与 CsA 联合应用可防止 CsA 引致的血糖升高(见表 2)。

表 2 各组大鼠血浆葡萄糖含量比较 ($\bar{x} \pm S$)

组别	鼠数 (只)	血浆葡萄糖(mmol/l)			
		处理前		处理后	
		空腹	糖负荷后	空腹	糖负荷后
LIG	6	5.17 $\pm$ 0.28	8.17 $\pm$ 0.39	5.00 $\pm$ 0.39	8.11 $\pm$ 0.56
CsA	6	5.22 $\pm$ 0.28	8.00 $\pm$ 0.33	7.17 $\pm$ 0.44	12.11 $\pm$ 1.11
LIG+CsA	6	5.11 $\pm$ 0.33	8.33 $\pm$ 0.56	5.44 $\pm$ 0.39	8.67 $\pm$ 0.67

注: 与 LIG 组比较* $P < 0.001$; 与处理前比较 $\Delta P < 0.001$

三、LIG 和(或)CsA 对大鼠血浆及胰腺组织中胰岛素水平的影响 LIG 对空腹及糖负荷后 45 min 血浆胰岛素(PI)水平无明显影响, CsA 则明显降低空腹及糖负荷后 45 min PI 水平。LIG 和 CsA 联合应用可防止空腹 PI 水平下降, 对糖负荷后 45 min PI 下降也有一定的防护作用。LIG 对 CsA 引起的胰腺组织中胰岛素水平(TI)下降也有部分防护作用(见表 3)。

表 3 LIG 和(或)CsA 对大鼠血浆和胰腺组织中胰岛素水平的影响 ($\bar{x} \pm S$)

组别	鼠数 (只)	血浆胰岛素(mU/L)				胰腺组织
		处理前		处理后		胰岛素 (μ U/g)
		空腹	糖负荷后	空腹	糖负荷后	
LIG	6	10.8 $\pm$ 1.4	19.6 $\pm$ 2.9	9.6 $\pm$ 1.6	21.0 $\pm$ 2.4	1200 $\pm$ 380
CsA	6	10.7 $\pm$ 2.4	18.8 $\pm$ 2.2	6.6 $\pm$ 2.4	12.4 $\pm$ 2.0	740 $\pm$ 128
LIG+ CsA	6	9.8 $\pm$ 1.4	20.1 $\pm$ 2.4	10.0 $\pm$ 2.4	16.4 $\pm$ 2.9	980 $\pm$ 232

注: 与 LIG 组比较* $P < 0.05$, ** $P < 0.001$; 与处理前比较 $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.001$

四、LIG 和(或)CsA 对大鼠尿 TXB₂、6-Keto-PGF_{1 α} 水平的影响 见表 4。LIG 对尿 TXB₂、6-Keto-PGF_{1 α} 及 TXB₂/6-K-PGF_{1 α} 值无明显影响。CsA 明显升高 TXB₂ 及 TXB₂/6-K-PGF_{1 α} 值, 对 6-Keto-PGF_{1 α} 无明显影响。LIG 和 CsA 联合应用时 CsA 升高 TXB₂ 和 TXB₂/6-Keto-PGF_{1 α} 的作用减低。

表 4 LIG 和(或)CsA 对大鼠尿 TXB₂、6-Keto-PGF_{1 α} 水平的影响 ($\bar{x} \pm S$)

组别	鼠数 (只)	TXB ₂ (ng/dl)		6-Keto-PGF _{1α} (ng/dl)		TXB ₂ /6-Keto- PGF _{1α}	
		处理前		处理前		处理前	
		处理前	处理后	处理前	处理后	处理前	处理后
LIG	6	52 $\pm$ 4	52 $\pm$ 3	63 $\pm$ 2	63 $\pm$ 1	0.82 $\pm$ 0.03	0.74 $\pm$ 0.23
CsA	6	49 $\pm$ 5	99 $\pm$ 12	62 $\pm$ 5	62 $\pm$ 3	0.80 $\pm$ 0.03	1.61 $\pm$ 0.25
LIG + CsA	6	50 $\pm$ 4	60 $\pm$ 5	62 $\pm$ 3	63 $\pm$ 3	0.80 $\pm$ 0.03	0.94 $\pm$ 0.04

注: 与 LIG 组比较* $P < 0.05$, ** $P < 0.001$; 与处理前比较 $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$, $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$

讨 论

我们本次及以前的研究^[2, 3]均证明 CsA 对大鼠 β 细胞有毒性作用。CsA 能引起血糖升高, 血浆及胰腺组织中胰岛素水平下降。CsA 除直接抑制 β 细胞分泌胰岛素外^[3], 本研究提示可能还通过调节前列腺素代谢影响 β 细胞。我们观察到 CsA 明显升高大鼠尿 TXB₂ 及 TXB₂/6-Keto-PGF_{1 α} 值。LIG 与 CsA 合用对 CsA 引起的 β 细胞毒性有良好的保护作用, 可防止 CsA 引起的空腹及葡萄糖刺激的血糖水平升高, 部分防止 CsA 引起的血浆及胰腺组织中胰岛素水平的下降。已经证明 LIG 抑制血小板花生四烯酸代谢, 对血栓烷 A₂(TXA₂) 样物质的生物合成和活性有抑制作用, 即影响 TXA₂ 和前列环素(PGI₂) 的平衡。前列腺素代谢调节剂 K-MAP 对 CsA 引起的 β 细胞毒性有保护作用^[6]。故可以推测 LIG 对 CsA 的 β 细胞毒的防护作用与调节前列腺素代谢, 改善 TXA₂ 和 PGI₂ 平衡有关。但 LIG 的防护作用是通过调节前列腺素代谢而改善胰岛微循环抑或前列腺素直接作用于胰岛细胞尚不清楚。总之, LIG 与 CsA 联合应用不仅对 CsA 的肾毒性, 而且对 CSA 的 β 细胞毒性均有防护作用, 可提高 CsA 的安全性。

参 考 文 献

1. 顾明君. 环孢素 A 对葡萄糖代谢和 β 细胞的影响. 上海医学 1990; 13: 728.
2. 顾明君, 等. 环孢素对大鼠葡萄糖代谢及 β 细胞功能的影响. 第二军医大学学报 1991; 12: 317.
3. 顾明君, 等. 环孢素对体外培养胰岛细胞的影响. 中华医学杂志 1991; 71: 496.
4. 刘沙勤, 等. 川芎对环孢素 A 所致急性肾毒防护作用的实验研究. 中华医学杂志 1992; 72: 345.
5. 杨梅芳, 等. 尿中 TXB₂ 和 6-Keto-PGF_{1 α} 放射免疫分析法. 中华核医学杂志 1988; 8: 41.
6. Teraoka S, et al. Cyclosporine-associated toxicity in pancreatic islet cells and its prevention by K-MAP in cyclosporine-treated animals. Transplant Proc 1989; 21: 2774.

ALT were randomly allocated to 3 groups. 30 cases were treated with *Salvia miltiorrhiza* (SM) and *Polyporus Umbellatus* polysaccharide (PUP) as group I, 30 cases were treated with SM solely as group II and 30 cases were treated with PUP only as group III. By the end of 3 months in the treatment course, normalization rate of ALT were 80.0%, 40.0% and 53.3% and the negative conversion rate of HBeAg were 56.7%, 50.0% and 16.7% in the group I, II and III respectively. Follow up for 3 months after the end of therapy, ALT level was normal in 82.6%, 42.7% and 59.1% respectively. HBeAg was negative in 60.9%, 52.4% and 22.7%. Follow up for 9 months after the end of the treatment, ALT was normal in 83.3%, 43.8% and 56.3%. HBeAg was negative in 66.7%, 56.3% and 25.0% respectively. These results showed that combined therapy with SM and PUP might be more potent than SM and PUP therapy alone.

Key word *Salvia miltiorrhiza*, *Polyporus Umbellatus* polysaccharide, chronic hepatitis B

(Original article on page 533)

Study of Effect in Treating Type II Diabetes Mellitus with Foot Reflexotherapy

Wang Xue-mei (王学美), et al

The First Teaching Hospital, Beijing Medical University, Beijing (100034)

32 cases of type II diabetes mellitus were randomly divided into two groups. One group was treated with conventional Western medicine hypoglycemic agent) plus foot reflexotherapy (FR), the other group with the same medicine only. After 30 days' treatment, fasting blood glucose levels, platelet aggregation, length and wet weight of the thrombus, senility symptom scores and serum lipid peroxide (LPO) were greatly reduced in FR group ($P < 0.05 - 0.01$), while no significant change was observed in the WM group. The study suggested that foot reflexotherapy was an effective treatment for type II diabetes mellitus.

Key word diabetes mellitus, foot reflexotherapy, blood rheology, senility symptom score

(Original article on page 536)

Prevention of Toxicity of Cyclosporine A on Rat Pancreatic Islet Beta-Cells by Ligustrazine

Gu Min-jun (顾明君), Liu Zhi-min (刘志民)

Dept. of Endocrinology, Changzheng Hospital, Shanghai (200003)

The toxic effect of cyclosporine A (CsA) on pancreatic islet beta-cells and the preventive effect of ligustrazine (LIG) on CsA-associated beta-cell toxicity in SD rats were investigated. The oral administration of CsA 50 mg/kg/day for ten days caused hyperglycaemia and lowering of plasma and pancreatic insulin levels that were prevented and/or minimized by the combined intra-peritoneal administration of LIG 50mg/kg/day. An increase of urinary thromboxane B₂ (TXB₂) and urinary TXB₂/6-keto-prostaglandin F_{1α} (6-k-PGF_{1α}) ratio in CsA-treated rats could also be prevented and/or minimized by the administration of LIG. The results suggested that the preventive effect of LIG on CsA-associated islet beta-cell toxicity was relevant to the improvement of prostacyclin-thromboxane A₂ imbalance.

Key word cyclosporine A, ligustrazine, pancreatic islet, beta-cell

(Original article on page 542)