

# 加味桃核承气汤对Ⅱ型糖尿病大鼠胰岛素抵抗的影响\*

熊曼琪<sup>1</sup> 林安钟<sup>1</sup> 朱章志<sup>1</sup> 蔡文就<sup>1</sup> 郑高飞<sup>2</sup> 钟春宁<sup>3</sup>  
陈芝喜<sup>2</sup> 贾可亮<sup>2</sup> 沈穗婷<sup>1</sup> 何 敏<sup>1</sup>

**内容提要** 目的: 观察加味桃核承气汤对Ⅱ型糖尿病(NIDDM)的影响。方法: 采用链脲佐菌素和高热量饲料的方法模拟NIDDM大鼠模型, 研究加味桃核承气汤对NIDDM大鼠肝细胞膜胰岛素介体释放、脂肪细胞葡萄糖氧化和胰岛素敏感性指数的影响。结果: 加味桃核承气汤可明显降低空腹血糖、胰岛素、摄食量和饮水量( $P < 0.05 \sim 0.01$ ), 提高胰岛素敏感性( $P < 0.05$ ), 增加肝细胞膜释放的抑制腺苷酸环化酶活力的胰岛素介体量( $P < 0.05$ ), 提高基础和胰岛素刺激的大鼠脂肪细胞葡萄糖氧化能力( $P < 0.05$ )。结论: 加味桃核承气汤治疗可提高NIDDM大鼠靶细胞对胰岛素的敏感性和反应性, 即可使受体和受体后胰岛素抵抗减轻, 但不能使之完全逆转。

**关键词** 桃核承气汤 Ⅱ型糖尿病 胰岛素抵抗 胰岛素介体 葡萄糖代谢 胰岛素敏感性

**Effects of Supplemented Taohe Chengqi Decoction in Treating Insulin Resistance in Rats with Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus** XIONG Man-qi, LIN An-zhong, ZHU Zhang-zhi, et al *The First Affiliated Hospital of Guangzhou TCM University, Guangzhou (510407)*

**Objective:** To investigate the effect of Supplemented Taohe Chengqi Decoction (STHCQD) in treating non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM). **Methods:** The model of rats with NIDDM was formed with injection of streptozotocin and fed on high calorie diet to study the effects of STHCQD on the release of insulin mediator from liver cell membranes, the glucose oxidation in adipocytes as well as the insulin sensitivity. **Results:** (1) Fasting serum glucose, serum insulin, intake of food and water were significantly decreased ( $P < 0.05 \sim 0.01$ ) in STHCQD-treated diabetic rats as compared with untreated diabetic rats, while the insulin sensitivity was significantly increased ( $P < 0.05$ ). (2) The liver cell membranes from STHCQD-treated diabetic rats released the quantity of insulin receptor which inhibited adenylate cyclase activity, but this effect was blunted in untreated diabetic rats ( $P < 0.05$ ). (3) A significantly increased glucose oxidation in adipocyte of STHCQD-treated diabetic rats was found as compared with those of untreated diabetic rats ( $P < 0.05$ ). **Conclusions:** STHCQD therapy increased sensitivity and responsiveness of target cells to insulin, i. e., it might decrease insulin resistance at receptor sites and postreceptor sites in rats with NIDDM, but could not reverse the insulin resistance.

**Keywords** Supplemented Taohe Chengqi Decoction, non-insulin dependent diabetes mellitus, insulin resistance, insulin mediator, glucose metabolism, insulin sensitivity

\* 国家中医药管理局科研基金资助课题

1. 广州中医药大学第一附属医院(广州 510405); 2. 广州中医药大学; 3. 中山医科大学分子医学中心

以往研究表明, 加味桃核承气汤对Ⅱ型糖尿病即非胰岛素依赖型糖尿病(NIDDM)患者和链脲佐菌素(STZ)诱发之糖尿病大鼠均有改善症状、降糖、降脂

的疗效,并有改善胰岛素抵抗的作用倾向<sup>[1,2]</sup>。已知胰岛素抵抗是 NIDDM 的显著特征,且主要由受体和受体后缺陷所致<sup>[3]</sup>。本实验观察了加味桃核承气汤对实验性 NIDDM 大鼠肝细胞膜胰岛素介体释放、脂肪细胞葡萄糖氧化及胰岛素敏感性指数的影响,以探讨该治疗能否提高靶细胞对胰岛素的敏感性和反应性,即是否使受体和受体后胰岛素抵抗减轻。

## 材料与方法

### 1 材料

1.1 主要试剂和设备 链脲佐菌素、胶原酶 (Collagenase type I)、海胺 (Benzethonium hydroxide)、胰岛素 (27.5u/mg)、ATP-二钠盐均为 Sigma 公司产品; cAMP 购自中国医学科学院上海生物化学研究所, D-[U-<sup>14</sup>C]-葡萄糖 (248mCi · mmol<sup>-1</sup> · L<sup>-1</sup>) 购自中国医学科学院放射医学研究所, <sup>125</sup>I-cAMP 药盒购自上海中医药大学同位素研究所, 1mol/L 酚试剂购自华西医科大学载脂蛋白研究室。Beckman L8-制备超速离心机、全自动凝胶层析仪、低温工作室等租借中山医科大学分子医学中心的设备, XSZ-D2 倒置显微镜、JEN-1200EX 透射电镜、Beckman 5500 自动计数仪和 Beckman Ls1801 液体闪烁谱仪等由我校电镜室和核医学研究室提供。

1.2 药物 加味桃核承气汤由黄芪、大黄、桃仁、桂枝、芒硝、生地等组成<sup>[1]</sup>, 中药购自医院门诊药房, 并经我校中药系鉴定。诸药水煎浓缩成含生药 3g/ml, 置 -4℃ 冰箱保存备用。美吡达 (glipizide, 意大利 Farmitalia Crrloerba 药厂生产) 临用前用生理盐水配成 1mg/ml 的混悬液。

1.3 动物及分组 雄性 SD 大鼠 100 只; 10~12 周龄, 体重 140~190g, 由广东省医用实验动物场提供。随机取 75 只, 按刘永玉等采用 STZ 注射和高热量饲料喂养的方法<sup>[4]</sup>造模, 第 13 周结束造模条件, 从中随机取 12 只与正常大鼠 10 只断头处死, 剪取附睾脂肪垫供脂肪细胞葡萄糖氧化能力的研究; 并挑选具有多饮、多食、超重、高血糖和血脂、胰岛素水平增高及胰岛素敏感性降低的大鼠确定为实验性 NIDDM 大鼠, 共 42 只, 随机分为中药组、西药组和空白组, 并设正常大鼠对照组, 各组均改以基础饲料喂养。中药组按成人 (60kg) 剂量的 25 倍灌服加味桃核承气汤煎液 (即 12.5ml/kg 体重); 西药组以 5mg/kg 大鼠的剂量灌服美吡达混悬液; 空白组和正常组灌服相同容积的生理盐水, 均于上午灌胃 1 次, 连续治疗 5 周。治疗前后记录摄食量、饮水量、体重, 禁食 12h 后眶静脉采

血检测血糖、血脂和胰岛素; 治疗结束后分 4 批断头处死大鼠, 剪取肝脏用冰冷生理盐水洗 2 次, 立即制备肝细胞膜; 同时取附睾脂肪垫和腹部脂肪用于分离脂肪细胞。

### 2 方法

2.1 肝细胞膜 制备按严孝强等方法<sup>[5]</sup>。膜蛋白浓度用 Lowry 法<sup>[6]</sup>测定, 5'-核苷酸酶活性用 Trouster 法<sup>[7]</sup>测定, 并常规电镜制片, 共同对提取的肝细胞膜质量进行鉴定。

2.2 胰岛素介体的产生与分离 按康有厚等方法<sup>[8]</sup>。鼠肝膜用 10mmol/L 磷酸钾缓冲液 (pH7.4) 稀释膜蛋白浓度为 5g/L, 置于小瓶中加或不加终浓度为 2nmol/L 的胰岛素, 37℃ 保温 5min 后迅速放入冰浴中 10min, 4℃ 离心取上清液, 经 Sephadex G 25 柱层析, 用 10mmol/L 磷酸钾缓冲液洗脱, 流速 1ml/10min; 在 230nm 波长监测下收集各组分, 选择胰岛素介体活性最强的组分测对腺苷酸环化酶 (AC) 活力的抑制作用。

2.3 胰岛素介体活力的测定 按康有厚等的方法<sup>[8]</sup>, AC 活力测定用非标志的 ATP 为底物, 再用体外放射分析法测定其经酶作用后生成的 cAMP 产量, 以反映 AC 的活性。cAMP 浓度用放射免疫药盒测定。

2.4 脂肪细胞葡萄糖氧化测定 按 Pedersen 方法<sup>[9]</sup>, 产生的 <sup>14</sup>C-CO<sub>2</sub> 用 0.4ml 25% 海胺甲醇液吸收。

2.5 胰岛素敏感性指数测定 按李光伟等<sup>[10]</sup>引入的方法, 为空腹血糖与胰岛素乘积的倒数, 因其非正态分布, 故分析时计算其自然对数 (胰岛素单位换算为 μu/ml)。

2.6 数据处理 两组均数比较用团体 *t* 检验, 多组均数比较用单因素方差分析。

## 结 果

1 各组大鼠体重、摄食量、饮水量的比较 治疗前糖尿病 3 组大鼠的体重、摄食量、饮水量均较正常组显著增加, 治疗后中药组和西药组的摄食量、饮水量较治疗前显著减少 ( $P < 0.05$  和  $0.01$ ), 体重略有减轻而接近正常组 ( $P > 0.05$ ); 治疗两组比较均无显著性差异。空白组体重较治疗前显著减轻, 多食、多饮等无改善。说明加味桃核承气汤治疗后使病情得到控制, 从而使 NIDDM 大鼠的多饮、多食和超重等得以减轻。

2 各组大鼠空腹血糖、胰岛素及胰岛素敏感性的比较 见表 1。治疗后糖尿病中药组空腹血糖、胰岛素较治疗前及糖尿病空白组均显著降低 ( $P < 0.05$ ), 下降率分别为 32% 和 27%, 但仍显著高于正常组 ( $P <$

0.01); 治疗后中药组的相对胰岛素敏感性显著提高,但仍明显低于正常组。西药组治疗后有相似的变化,与中药组比较无显著性差异 ( $P>0.05$ )。说明加味桃核

承气汤或美吡达治疗,虽有明显的降低血糖及改善高胰岛素血症和胰岛素敏感性的作用,但均不能使其异常恢复到正常大鼠的水平。

表 1 各组大鼠血糖、胰岛素及胰岛素敏感性的比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别 | 鼠数 | 空腹血糖 (mmol/L)     |                          | 空腹胰岛素 (pmol/L)     |                           | 胰岛素敏感性指数                  |                                  |
|----|----|-------------------|--------------------------|--------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------------|
|    |    | 治疗前               | 治疗后                      | 治疗前                | 治疗后                       | 治疗前                       | 治疗后                              |
| 正常 | 10 | 5.8±0.8           | 5.6±0.7                  | 89.1±2.4           | 88.5±2.6                  | -1.91±0.07(1.00)          | -1.85±0.06(1.00)                 |
| 空白 | 12 | 24.7±4.0 $\Delta$ | 21.9±3.8 $\Delta$        | 150.8±3.1 $\Delta$ | 147.2±3.5 $\Delta$        | -2.70±0.09(0.62) $\Delta$ | -2.65±0.08(0.63) $\Delta$        |
| 中药 | 15 | 24.2±3.8 $\Delta$ | 16.4±3.5* $\Delta\Delta$ | 145.3±2.9 $\Delta$ | 106.2±2.7* $\Delta\Delta$ | -2.70±0.11(0.62) $\Delta$ | -2.38±0.10(0.77)* $\Delta\Delta$ |
| 西药 | 13 | 24.0±3.7 $\Delta$ | 15.9±3.7* $\Delta\Delta$ | 144.6±2.6 $\Delta$ | 110.5±2.8* $\Delta\Delta$ | -2.68±0.14(0.63) $\Delta$ | -2.39±0.12(0.75)* $\Delta\Delta$ |

注:与治疗前比较,\* $P<0.05$ ;与正常组比较, $\Delta P<0.01$ ;与空白组比较, $\Delta P<0.05$ ;表中( )内数字为相对胰岛素敏感性,设正常大鼠观察前后的胰岛素敏感性为 1.0

### 3 各组大鼠肝细胞膜胰岛素介体释放量的比较

3.1 肝细胞膜质量鉴定 本实验共提取肝细胞膜 46 份,膜蛋白产率为  $1.95\pm 0.36$ mg 蛋白/g,膜标志酶 5-核苷酸酶活性为  $38.22\pm 7.75$ μmol 磷·mg 蛋白<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>;各批组膜蛋白产率和标志酶活性的比较无显著性差异;肝细胞膜组分超薄切片表明,提取的 37%~41% 界面成分主要是肝细胞膜,具有胆管和双层膜结构。以上说明制备方法可靠、肝细胞膜质量好。

3.2 胰岛素介体的鉴定 胰岛素介体洗脱曲线表明,在 230nm 监测下得到两个洗脱峰,第一个峰洗脱液约 11ml,第二个峰洗脱液约 12ml,据文献报道<sup>[11]</sup>,第二个峰洗脱液为产生的胰岛素介体。

3.3 胰岛素介体对 AC 活力的抑制作用 见表 2。正常组、中药组、西药组大鼠肝细胞膜在加入胰岛素诱导时释放的胰岛素介体组分对 AC 活力的抑制作用比不加胰岛素时明显增强;空白组大鼠肝细胞膜在加入胰岛素诱导时,虽然释放的胰岛素介体组分对 AC 活力的抑制作用也较不加胰岛素强,但其抑制幅度小。胰岛素刺激肝细胞膜释放的组分对 AC 活力的抑制程度用抑制率 (AC 差值÷不加诱导值) 表示,其结果表明,中药组、西药组与正常组及空白组比较均有显著

性差异 ( $P<0.05$ ),而中药组、西药组间比较无显著性差异 ( $P>0.05$ )。说明加味桃核承气汤或美吡达治疗可使 NIDDM 大鼠显著减少的肝细胞膜胰岛素介体释放量明显增加,但仍低于正常大鼠的水平。

表 2 各种大鼠肝细胞膜胰岛素介体对 AC 活力的抑制作用 ( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别 | 鼠数 | AC 活力 [pmol cAMP/(mg 膜蛋白·min)] |            | 抑制率                   |
|----|----|--------------------------------|------------|-----------------------|
|    |    | 加胰岛素诱导                         | 不加胰岛素诱导    |                       |
| 正常 | 10 | 7.82±1.51                      | 11.25±1.62 | 0.338±0.045           |
| 空白 | 11 | 8.05±1.69                      | 8.71±1.54  | 0.097±0.021**         |
| 中药 | 12 | 7.41±1.55                      | 9.41±1.75  | 0.198±0.038* $\Delta$ |
| 西药 | 12 | 7.48±1.52                      | 9.63±1.68  | 0.202±0.045* $\Delta$ |

注:与正常组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与空白组比较, $\Delta P<0.05$

4 各种大鼠脂肪细胞葡萄糖氧化能力的比较 见表 3。基础情况下(不加胰岛素时)和胰岛素(1、5、10、20μg/L)刺激时的脂肪细胞葡萄糖氧化,在空白组较正常组、中药组及西药组均显著降低 ( $P$  分别  $<0.01$  和  $0.05$ ),其基础葡萄糖氧化率的结果与上述改变相一致。说明加味桃核承气汤或美吡达治疗可明显改善 NIDDM 大鼠靶细胞对胰岛素的反应性,但尚不能提高到正常大鼠的水平。

表 3 各组大鼠脂肪细胞葡萄糖氧化能力的比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别 | 鼠数 | <sup>14</sup> C-葡萄糖 [nmol/L (5×10 <sup>5</sup> 细胞·90min)] |                     |                     |                     |                     |
|----|----|-----------------------------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|    |    | 0                                                         | 1                   | 5                   | 10                  | 20(μg/L)            |
| 正常 | 10 | 9.1±1.27                                                  | 17.9±1.54           | 22.8±1.75           | 24.5±1.96           | 27.2±1.98           |
| 空白 | 12 | 6.2±1.36**                                                | 8.7±1.45**          | 13.2±1.65**         | 15.1±1.70**         | 15.4±1.66**         |
| 中药 | 12 | 8.6±1.45* $\Delta$                                        | 12.2±1.65* $\Delta$ | 16.5±1.78* $\Delta$ | 17.3±1.75* $\Delta$ | 17.8±1.85* $\Delta$ |
| 西药 | 12 | 8.8±1.42* $\Delta$                                        | 14.4±1.69* $\Delta$ | 17.2±1.64* $\Delta$ | 17.6±1.77* $\Delta$ | 18.3±1.72* $\Delta$ |

注:与正常组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与空白组比较, $\Delta P<0.05$

## 讨 论

1 加味桃核承气汤对实验性 NIDDM 大鼠的治疗作用 本实验选用美吡达与加味桃核承气汤进行对

照观察,从空腹血糖、摄食量、饮水量及体重等指标来比较,两药之间差异无显著性,提示加味桃核承气汤对 NIDDM 大鼠有与美吡达相似的降糖及改善症状的治疗作用。

2 加味桃核承气汤对实验性 NIDDM 大鼠胰岛素敏感性的影响 NIDDM 患者多有高胰岛素血症存在,其空腹血糖高表明存在胰岛素抵抗,首先表现为靶细胞胰岛素受体缺陷所致的胰岛素敏感性降低<sup>(3)</sup>。先前研究表明,加味桃核承气汤治疗可使 STZ 糖尿病大鼠在血糖下降 36% 的同时,其肝细胞膜高亲和力胰岛素受体数目明显增加并接近正常,低亲和力受体数目亦有所上升<sup>(2)</sup>,本实验结果表明,加味桃核承气汤在降糖和改善高胰岛素血症的同时,能提高 NIDDM 大鼠显著降低的胰岛素敏感性。提示增加靶细胞胰岛素受体数目、改善靶细胞对胰岛素的敏感性,从而使受体环节的胰岛素抵抗减轻,是该方治疗 NIDDM 的作用机理之一。

3 加味桃核承气汤对实验性 NIDDM 大鼠胰岛素反应性的影响 虽有报告认为细胞膜受体与胰岛素亲和力有下降,但这不足以解释 NIDDM 胰岛素抵抗的程度,其主要是受体后缺陷所致,表现为靶细胞对胰岛素的反应性降低。已知胰岛素与靶细胞膜上受体结合后,能诱导胰岛素介体的产生,胰岛素介体被认为是胰岛素生理作用的第二信使<sup>(12)</sup>。康有厚等研究表明,STZ 糖尿病大鼠肝细胞膜释放的抑制 AC 活力的胰岛素介体量较正常大鼠显著减少,其基础的和胰岛素刺激的脂肪细胞葡萄糖氧化能力也较正常大鼠显著降低,提示胰岛素介体释放量减少可能是引起受体后胰岛素抵抗的原因之一<sup>(8)</sup>。本实验结果表明,NIDDM 大鼠用加味桃核承气汤治疗 5 周后,肝细胞膜胰岛素介体释放量明显增多,基础及胰岛素刺激的脂肪细胞葡萄糖氧化能力也显著提高,但仍显著低于正常大鼠组。提示加味桃核承气汤治疗可明显提高靶细胞对胰岛素的反应性,即可使实验性 NIDDM 大鼠的受体后

胰岛素抵抗减轻,但不能使之完全逆转。

### 参 考 文 献

1. 熊曼琪,梁柳文,林安钟,等. 加味桃核承气汤治疗 I 型糖尿病的的临床和实验研究. 中国中西医结合杂志 1992; 12 (2): 74—76.
2. 李惠林,熊曼琪,邓尚平,等. 加味桃核承气汤对实验性糖尿病大鼠胰岛素受体的影响. 中国中西医结合杂志 1995; 15(基础理论研究特集): 338—340.
3. 康有厚,池芝盛. 胰岛素抵抗和非胰岛素依赖型糖尿病. 中华内科杂志 1992; 31 (1): 42—45.
4. 刘永玉,毛良,莫启忠. 实验性 NIDDM 大鼠模型. 中华内分泌代谢杂志 1990; 6(2): 115—116.
5. 严孝强,陈曼玲,刘秉文,等. 肝细胞膜胰岛素受体放射分析的研究. 中华核医学杂志 1986; 6 (2): 91—93.
6. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem 1951; 193: 265—275.
7. Trouster O. Isolation of liver plasma membranes. Use of nucleotid pyrophosphatase and phosphodiesterase 1 as marker enzymes. J Cell Biol 1970; 47: 64—72.
8. 康有厚,刘亚兵,陈援朝,等. 链脲佐菌素糖尿病大鼠的胰岛素受体结合、胰岛素介体释放和葡萄糖氧化. 中华内分泌代谢杂志 1991; 7(2): 96—100.
9. Pedersen O, Højllund E, Lindskov HO. Insulin binding and action on fat cells from young healthy females and males. Am J Physiol 1982; 243: E158—167.
10. 李光伟,潘孝仁, Lilliojas, 等. 检测人群胰岛素敏感性的一项新指数. 中华内科杂志 1993; 32 (10): 656—660.
11. 许霖水,吴喜贵. 胰岛素介体对烫伤大鼠 cAMP 磷酸二酯酶的调节. 第三军医大学学报 1994; 16(2): 89—91.
12. 郭昆全. 胰岛素介体的研究进展. 中华医学杂志 1993; 73(1): 54—56.

(收稿: 1996—05—26 修回: 1996—11—19)

### 1997 年首届美国国际疼痛医学学术研讨会征文通知

为攻克疼痛医学难关,造福于人类,1997 年举办首届美国国际疼痛医学学术研讨会及优良中西药品、现代治疗仪器展销会。大会将邀请中国、美国、日本、韩国、加拿大等国家医学界的专家学者、大学教授、优秀医师及医疗仪器制造商,中西医药生产厂家参加。大会除进行学术论文宣讲、经验交流及评奖活动外,还将组织参观访问美国著名的医科大学、制药厂等。

(1) 大会主办单位: 美国国际疼痛医学研究院 (AIMRIP)。(2) 大会协办单位: 日本疼痛医学研究所、广西中医学院。(3) 会议时间: 1997 年 8 月 16—23 日。(4) 会议地点: 美国洛杉矶林肯会议中心。(5) 截稿日期: 1997 年 4 月 30 日。(6) 具体申报办法请与下列人员联系并索取报名表: ① 广西中医学院外事办公室, 联系人: 黄岑汉, 地址: 广西南宁市明秀东路 21 号, 邮编: 530001, 电话: 0771—3137401, 传真: 0771—3135812。② 北京 998 信箱第一干休所 17 楼, 联系人: 陈小姐, 电话: 010-62871542 (晚间); 传真: 010-62871542。③ 美国国际疼痛医学研究院 (AIMEIP) 联系人: 刘纯清 (CHUNG QING LIU); 地址: 312 EAST FIRST STREET, SUITE 220, LOS ANGELES, CA 90012, USA; 电话: 001—213—626—7682/001—310—320—3387; 传真: 001—213—687—0903/001—310—320—6987。(7) 有代表性学术论文, 以 3000—5000 字为宜, 500 字论文摘要 1 篇。内容: 疼痛医学在中西医领域的应用和各科疼痛治疗的新方法及临床经验等。