

小檗碱对胰岛素抵抗卵巢甾体激素体外合成和代谢的调控作用

王秀秀 李 威 刘逸超 侯丽辉 吴效科

摘要 **目的** 研究体外培养的胰岛素抵抗卵巢模型的功能和代谢变化,观察具有胰岛素增敏作用中药单体小檗碱对胰岛素抵抗的改善情况。**方法** 体外培养小鼠卵巢,地塞米松(dexamethasone, Dex)诱导卵巢胰岛素抵抗模型,通过检测培养液葡萄糖含量、激素水平及逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)评估胰岛素抵抗模型卵巢功能的变化情况,检测胰岛素通路及激素合成通路关键分子的表达情况以及小檗碱对胰岛素抵抗的改善情况。**结果** (1) Dex 诱导卵巢胰岛素抵抗的效果存在时间剂量依赖性,经浓度为 300 nmol/L Dex 处理 48 h 后,卵巢对葡萄糖的摄取量[(2.48 ± 0.29) mg/g]较未用 Dex 培养卵巢 48 h 组[(9.05 ± 0.75) mg/g]下降($P < 0.05$);在胰岛素刺激下, Dex 处理的卵巢对葡萄糖的摄取量[(1.94 ± 0.19) mg/g]下降,与未用 Dex 处理 72 h 组[(9.59 ± 1.74) mg/g]比较,差异有统计学意义($P < 0.01$),卵巢胰岛素抵抗模型理想。应用中药小檗碱后,卵巢葡萄糖摄取量[(13.95 ± 3.30) mg/g]较模型组[(1.89 ± 0.33) mg/g]明显升高($P < 0.05$)。(2) 模型组培养液中睾酮(T)和雄烯二酮(A₂)水平升高,孕酮(P)和 17-羟孕酮(17-OHP)水平明显下降,小檗碱能显著进一步降低 T 和 A₂ 浓度,并使得培养液 17-OHP 水平升高,但对 P 水平影响不大。(3) RT-PCR 结果显示: Dex 诱导后,卵巢 17-羟化酶(CYP17)、极微染色体维持蛋白(MCM-2)的 mRNA 表达水平升高,细胞外信号调节激酶-1(ERK-1)、蛋白激酶 B(AKT-2)、糖原合酶激酶-3(GSK-3β)的 mRNA 表达水平下降,应用小檗碱后,上述分子指标明显逆转。**结论** (1) Dex 能够诱导卵巢器官胰岛素抵抗,卵巢产生胰岛素抵抗对雄激素合成可能存在促进作用。(2) 中药小檗碱能降低卵巢的胰岛素抵抗程度和雄激素合成,提示对胰岛素有增敏作用的中药,对多囊卵巢综合征有良好的治疗作用。

关键词 胰岛素抵抗;多囊卵巢综合征;卵巢;小檗碱

Controlling Effect of Berberine on *in vitro* Synthesis and Metabolism of Steroid Hormones in Insulin Resistant Ovary WANG Xiu-xiu, LI Wei, LIU Yi-chao, et al *Department of Obstetrics and Gynecology, the First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin (150040)*

ABSTRACT **Objective** To investigate the functional and metabolic alterations in cultured insulin resistant ovary model *in vitro*, and to observe the effect of berberine (Ber, a Chinese medical monomer) in improving insulin resistance (IR). **Methods** Ovary of mouse was cultured *in vitro* and treated by dexamethasone (Dex) to induce IR for establishing IR model ovary. The functional alteration in model ovary was assessed through detecting glucose and hormone levels in medium using RT-PCR, meanwhile, the expression of key molecules in insulin signal and steroid synthetic pathway were detected, and condition of IR improved by berberine was evaluated also. **Results** (1) The model ovary was made by Dex in dose- and acting time-dependent manner. After being treated by 300 nmol/L Dex for 48 h, the glucose uptake of ovary reduced from 9.05 ± 0.75 mg/g to 2.48 ± 0.29 mg/g ($P < 0.05$); it further decreased (from 9.59 ± 1.74 mg/g to 1.94 ± 0.19 mg/g, $P < 0.01$) under the stimulation of insulin, which proved that the IR model ovary was made successfully. Berberine significantly increased the glucose uptake of model ovaries (1.89 ± 0.33 mg/g to 13.95 ± 3.30 mg/g, $P < 0.05$). (2) As compared with control group, levels of testosterone (T) and androstenedione (A₂) were higher, and levels of progesterone (P) and 17-hydroxyprogesterone (17-OHP) were lower significantly in the model. Berberine reversed the alter-

基金项目:科技部国家“十一五”科技支撑计划(No. 2007BAI20B015)

作者单位:黑龙江中医药大学附属第一医院妇产科(哈尔滨 150040)

通讯作者:吴效科, Tel: 0451-82130094, E-mail: xiaokewu2002@vip.sina.com

nations of T, A₂ and 17-OHP levels, but did not influence the level of P. (3) RT-PCR showed that the mRNA expressions of cytochrome 17-hydroxylase (CYP17) and mini-chromosome maintenance protein-2 (MCM-2) elevated, but extracellular regulated protein-1 (ERK-1), protein kinase B (AKT-2) and glycogen synthase kinase-3 (GSK-3 β) lowered in the medium after Dex inducing. Berberine treatment restored these molecular index obviously. **Conclusions** (1) Dex could induce IR in mouse ovary, which might enhance the androgenic synthesis. (2) Berberine could alleviate the degree of IR and the androgen synthesis, indicating that the Chinese sensitizing agents has favorable therapeutic effect for the treatment of polycystic ovaries.

KEYWORDS insulin resistance; polycystic ovarian syndrome; ovary; berberine

多囊卵巢综合征 (polycystic ovarian syndrome, PCOS) 以月经稀发、无排卵、高雄激素血症为主要特征。PCOS 患者存在明显的糖代谢异常, 表现为胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 及高胰岛素血症。IR 是 PCOS 糖代谢异常和卵巢功能障碍的共同病理生理学机制, 并且胰岛素增敏剂能同时治疗 IR 和卵巢功能障碍。吴效科等^[1]的研究表明, 多囊卵巢组织中存在 IR, 卵巢自身的 IR 可能是 PCOS 发病的主要原因之一。研究表明, 小檗碱作为中药胰岛素增敏剂有治疗 2 型糖尿病的作用^[2], 可以明显改善患者的 IR, 本实验选取小檗碱进行研究, 观察其对于卵巢 IR 的作用以及对卵巢功能的改善情况。地塞米松能诱导猪卵巢细胞 (包括卵泡膜细胞和颗粒细胞) 的 IR^[3-5], 本研究旨在探讨 IR 与卵巢功能异常之间的关系及相关的分子机制, 并在此基础上探讨小檗碱对 IR 卵巢的增敏作用。

材料与方法

1 主要试剂 DMEM/F12 培养基, 青、链霉素 (SM-PC), 为美国 Hyclone 公司产品; 5% 牛血清白蛋白 (BSA)、二甲基亚砜 (DMSO)、地塞米松 (Dex)、曲格列酮、小檗碱 (中药单体, B3251-10G), 均为美国 Sigma 公司产品; 胰岛素为美国 NovoNordisk 公司产品; RT-PCR 所需试剂为美国 Invitrogen 公司产品。

2 卵巢培养 实验动物由黑龙江中医药大学实验动物中心提供, 选取雌性昆明小白鼠 [体重为 (18 $\pm$ 1) g/只], 经阴道涂片确定周期稳定并处于动情间期的雌性鼠为实验对象。取出卵巢在显微镜下剥离周围组织, 用配备好的 DMEM 和 5% BSA 的混合液冲洗卵巢 3 次以上。每组随机放入 4 个小鼠卵巢用 DMEM/F12 培养基 (含 5% BSA、0.1% DMSO 和 10 nmol/L 胰岛素) 进行体外培养 (培养箱空气湿度 100%, CO₂ 含量 5%)。应用不同浓度 (100 nmol/L、300 nmol/L) 的 Dex 分别体外诱导小鼠卵巢 48 h 和 72 h, 分为 6 组: 未用 Dex 培养卵巢 48 h 组 (A1), 100 nmol/L Dex

诱导 48 h 组 (A2), 300 nmol/L Dex 诱导 48 h 组 (A3), 未用 Dex 培养卵巢 72 h 组 (B1), 100 nmol/L Dex 诱导 72 h 组 (B2) 及 300 nmol/L Dex 诱导 72 h 组 (B3)。根据体外培养的卵巢糖代谢的变化情况来确定理想的卵巢 IR 模型, 用药组使用曲格列酮 3×10^{-4} nmol/L、小檗碱 0.5 μ g/L 分别处理模型卵巢 72 h。

3 卵巢葡萄糖摄取量的测定 体外培养卵巢前将卵巢称重, 采用 (空白培养液葡萄糖浓度 - 体外培养卵巢组的培养液葡萄糖浓度) $\times$ 培养液体积/卵巢重量的方法计算葡萄糖摄取量。造模阶段卵巢葡萄糖摄取量的测定分为基础组和胰岛素刺激组。基础组为应用 Dex 培养相应时间后取 6 组培养液测定葡萄糖含量, 更换培养液后每组均加入 200 nmol/L 的胰岛素刺激 2 h, 再测定培养液含糖量。应用上述公式分别计算卵巢葡萄糖摄取量。用药组在使用药物干预模型卵巢 72 h 后取培养液, 测定葡萄糖含量, 分析药物对卵巢糖代谢的影响。

4 各组卵巢分泌激素水平测定 在造模阶段, 采用放射免疫测定法测定培养液睾酮 (T)、孕酮 (P)、雌二醇 (E₂) 水平。在用药阶段, 测定空白组、模型组、曲格列酮组及小檗碱组培养液中 T、P、E₂、雄烯二酮 (A₂)、17-羟孕酮 (17-OHP) 水平。

5 逆转录 - 聚合酶链反应 (RT-PCR) 检测 mRNA 表达量 (1) 总 RNA 提取及逆转录: 取每组 4 个卵巢加入 1 mL Trizol, 提取总 RNA, 按照试剂盒说明书方法在 20 μ L 体系下完成逆转录和 PCR 扩增。(2) PCR 引物序列 (表 1)。(3) 扩增产物分析: 取 5 μ L 产物在 80 V 电压下经 2% 琼脂糖凝胶电泳 50 min, 利用凝胶成像系统分析、扫描、拍照, 获取条带平均密度和面积数据, 计算 CYP17、19-羟化酶 (CYP19)、ERK-1、AKT-2、GSK-3 β 、MCM-2、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 的 mRNA 相对含量, 即 GSR 计算方法为: 测得的目的基因的平均密度 $\times$ 面积/GAPDH 的平均密度 $\times$ 面积。

6 统计学方法 所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 11.0 系统软件, 对资料进行 *t* 检验和方差分析。

表 1 PCR 反应引物序列表

基因名称	引物序列	产物大小	退火温度
GAPDH	上游TCCACCACCGCTGTTGCTGTA 下游ACCACAGTCCATGCCATCAC	452 bp	58.2 ℃
CYP17	上游TCCGAAGGCGCAATAACT 下游CTCTGTGCTGAGCTGGAT	385 bp	50.0 ℃
CYP19	上游CGCCACCTACTCGATAAA 下游ACTTCCCTAAGCCCAATG	375 bp	53.0 ℃
ERK-1	上游TGTGATGCGCTTCTTTTGG 下游GGCTTTCTGACGGAGTATGT	366 bp	58.2 ℃
AKT-2	上游GTGGGCGACTTCATCCTT 下游CCCTGACCAGACCTTACC	457 bp	51.7 ℃
GSK-3β	上游AAGCAGCTGACTTTCCTC 下游TTATTTGACCGCATAGTTC	253 bp	58.4 ℃
MCM-2	上游CCTTGAGTGCTCCAGATT 下游AGACTACCGTCCCATTCCG	299 bp	53.0 ℃

结 果

1 卵巢 IR 模型的建立

1.1 Dex 诱导的卵巢的糖代谢(表 2) 基础组中,两种浓度的 Dex 诱导的卵巢葡萄糖摄取量都显著低于同期对照组,培养液葡萄糖摄取量 A3 组明显低于 A1 组($P < 0.05$);胰岛素刺激后培养 48 h 组呈现对 Dex 剂量依赖性的下降,葡萄糖摄取量 A3 组明显低于 A1 组($P < 0.01$),延长培养时间至 72 h,葡萄糖摄取没有进一步的下降,B3 组明显高于 A3 组。结果说明,应用 300 nmol/L Dex 诱导 48 h,卵巢 IR 模型理想。

表 2 各组 Dex 诱导的卵巢葡萄糖摄取量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	基础组卵巢葡萄糖 摄取量 (mg/g)	胰岛素刺激后卵巢葡萄糖 摄取量 (mg/g)
A1	4	9.05 ± 0.75	9.59 ± 1.74
A2	4	1.71 ± 0.13*	3.69 ± 0.58*
A3	4	2.48 ± 0.29*	1.94 ± 0.19*
B1	4	13.55 ± 1.64	6.12 ± 0.71
B2	4	4.64 ± 0.63 ^Δ	3.24 ± 0.26 ^Δ
B3	4	2.93 ± 0.18 ^Δ	4.86 ± 0.42

注:与 A1 组比较,* $P < 0.05$;与 B1 组比较,^Δ $P < 0.05$

1.2 各组卵巢甾体激素分泌水平比较(表 3)

同一时间组(包括 48 h 组和 72 h 组)T 水平呈现剂量依赖性上升,P 呈现剂量依赖性下降,但 P 的水平有明显时间依赖性升高。A3 组 T 水平与 A1 组比较明显升高($P < 0.05$),P 水平明显下降($P < 0.05$)。各组间 E₂ 水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 3 各组卵巢甾体激素分泌水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	T (nmol/L)	P (nmol/L)	E ₂ (pmol/L)
A1	4	0.07 ± 0	20.64 ± 0.64	177.20 ± 4.50
A2	4	0.41 ± 0.09	4.95 ± 1.39*	180.70 ± 4.87
A3	4	2.11 ± 0.07*	3.45 ± 1.03*	187.70 ± 3.12
B1	4	0.07 ± 0	123.55 ± 9.54	163.20 ± 1.46
B2	4	0.52 ± 0.02 ^Δ	19.42 ± 2.09 ^Δ	152.90 ± 3.46
B3	4	2.75 ± 0.13 ^Δ	8.87 ± 0.24 ^Δ	161.40 ± 5.80

注:与 A1 组比较,* $P < 0.05$;与 B1 组比较,^Δ $P < 0.05$

1.3 Dex 诱导下与卵巢代谢及甾体激素合成相关的重要分子的表达(图 1) 分子基因表达的灰度比-GSR 分析图能反映其 mRNA 的相对含量和基因的转录水平。从图中看到:CYP17、MCM-2 的表达水平呈现剂量依赖性的升高,CYP19 的表达水平在各组间无差异。A3 组与 A1 组相比:CYP17、MCM-2 的表达水平明显升高,ERK-1、AKT-2、GSK-3β 的表达水平明显下降。

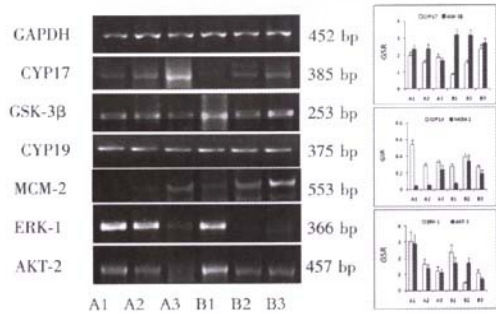


图 1 与卵巢代谢及甾体激素合成相关的重要分子表达

2 胰岛素增敏剂对 IR 模型卵巢的影响 根据时间剂量依赖实验所提供的的基础组及胰岛素刺激后卵巢对葡萄糖摄取的变化情况,确定 300 nmol/L Dex 作用 48 h 为诱导卵巢 IR 的最佳浓度和时间。在此条件下诱导 IR 卵巢模型进行胰岛素增敏剂调控作用的研究。

2.1 胰岛素增敏剂对模型卵巢葡萄糖摄取量的影响 模型组卵巢葡萄糖摄取量为(1.89 ± 0.33) mg/g,曲格列酮组为(2.25 ± 0.39) mg/g,小檗碱组为(13.95 ± 3.30) mg/g。应用药物后,曲格列酮组和小檗碱组的葡萄糖摄取量均升高($P < 0.05$),其中以小檗碱组升高更为显著($P < 0.01$)。

2.2 胰岛素增敏剂对模型卵巢甾体激素分泌的影响(表 4) 模型组与空白组比较,T 和 A₂ 水平升高($P < 0.05$),P 和 17-OHP 下降($P < 0.05$),E₂ 水平无明显变化。曲格列酮组与模型组比较,T 水平下降($P < 0.05$),P、17-OHP 水平升高($P < 0.05$),而 A₂ 水平未见明显变化。小檗碱组与模型组比较,T、A₂ 水平下降($P < 0.05$),17-OHP 水平升高($P < 0.05$),曲格列酮组和小檗碱组 E₂ 水平均无明显变化。因此,可以看出发生 IR 时,T 和 A₂ 水平升高,小檗碱可以降低 T 和 A₂ 水平。

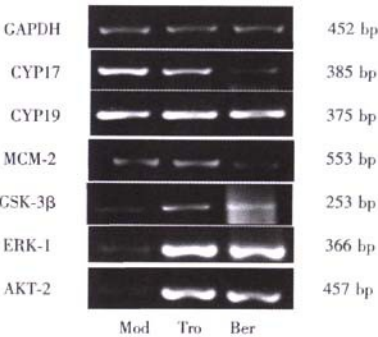
根据 CYP17、CYP19、MCM-2 mRNA 的表达水平(图 2),计算它们的 GSR 值。小檗碱组 CYP17 的 GSR 为 0.195,较模型组的 GSR(0.713)降低了 2.65 倍,较曲格列酮组的 GSR(0.433)降低了 0.65 倍(60.7%)。模型卵巢 MCM-2 表达明显,应用小檗碱后,MCM-2 明

表 4 各组 T、A₂、P、17-OHP 及 E₂ 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	T (nmol/L)	A ₂ (nmol/L)	P (nmol/L)	17-OHP (nmol/L)	E ₂ (pmol/L)
空白	4	0.13 ± 0.02	0.84 ± 0.07	79.38 ± 3.87	1.33 ± 0.18	151.1 ± 4.19
模型	4	1.85 ± 0.11*	22.48 ± 2.41*	14.64 ± 0.68*	0.54 ± 0.06*	158.5 ± 3.54
曲格列酮	4	0.81 ± 0.26 ^Δ	19.27 ± 0.66	18.43 ± 2.24 ^Δ	2.42 ± 0.36 ^Δ	136.3 ± 7.29
小檗碱	4	0.73 ± 0.39 ^Δ	12.26 ± 1.12 ^Δ	6.85 ± 2.96	1.18 ± 0.24 ^Δ	265.1 ± 92.24

注:与空白组比较,*P<0.05;与模型组比较,^ΔP<0.05

显下降。不同处理组 CYP19 的 GSR 差异无统计学意义。从中可以看出,小檗碱和曲格列酮均有抑制 CYP17 的作用,且小檗碱比曲格列酮对 CYP17 的影响大。



注: Mod:模型组; Tro:曲格列酮组; Ber:小檗碱组

图 2 胰岛素增敏剂对卵巢代谢及甾体激素合成相关的重要分子表达的影响

2.3 胰岛素增敏剂对卵巢 IR 模型胰岛素信号传导通路重要分子的调控(图 2) ERK-1、AKT-2、GSK-3 β 都是胰岛素信号传导通路上的重要分子。模型组 ERK-1 的 GSR 为 0.178,加入中药后小檗碱组的 GSR (0.982) 增加了 4.5 倍。模型组 AKT-2 的 GSR 为 0.108,小檗碱组与模型组比较升高了 3.3 倍。模型组 GSK-3 β 的 GSR 为 0.069,加入小檗碱后升高了 0.9 倍。可以看出:卵巢 IR 模型在应用小檗碱后,胰岛素信号传导通路上的这些分子指标明显逆转。

讨 论

1 卵巢 IR 模型的构建及机理 长期应用糖皮质激素会引起患者胰岛素生物效应降低,机体对葡萄糖的摄取利用减少,血糖升高,最终引起患者发生胰岛素抵抗^[6]。因此糖皮质激素成为研究 IR 的重要激素,其中 Dex 应用最多,体外实验已经证明它能诱导动物和细胞产生胰岛素抵抗^[3]。Sakoda H 等^[7]用 Dex 联合胰岛素作用于 3T3-L1 脂肪细胞,发现 3T3-L1 脂肪细胞产生 IR,其作用机制为抑制 GLUT4 由细胞质向细胞表面转位,从而抑制细胞对葡萄糖的摄取。脂肪细

胞的 IR 反映的是外周组织的变化,不能反映卵巢组织本身,本实验研究了卵巢组织这一器官 IR 的情况和分子机制,证明 Dex 可以体外诱导小鼠卵巢 IR 模型,并且 Dex 对卵巢糖代谢的影响表现出剂量依赖性和时间依赖性。

2 IR 卵巢甾体激素水平的变化及机制 卵巢是 PCOS 生殖功能障碍的关键器官,虽然 IR 在 PCOS 患者当中较为普遍,但 IR 对生殖功能的影响尚不清楚。临床应用胰岛素增敏剂改善 IR,其生殖功能障碍也得到明显纠正。上述结果说明胰岛素抵抗可能是 PCOS 卵巢功能障碍的关键机制。高雄激素血症是 PCOS 的主要生化特征,CYP17 编码 P450c17 α 酶,是催化雄激素合成的限速酶,在 PCOS 患者中此酶的活性是上升的^[8]并且促进孕酮转化为 17 α -OHP 及 17 β -OHP 进一步转化为 A₂ 及 T^[9]。本研究中模型组卵巢 T 和 A₂ 水平明显升高而 P 和 17-OHP 水平下降,CYP17mRNA 表达水平上升,说明此模型符合 PCOS 高雄表现,并且实验结果解释了高雄激素的产生与 CYP17mRNA 表达水平的上升有关。CYP19 编码芳香化酶,促进雄激素向雌激素转化,一些研究表明在 PCOS 患者的卵泡中芳香化酶的活性是下降的,但是在本实验中,CYP19 在模型卵巢中的表达与空白组比较,差异无统计学意义,这与 E₂ 水平没有明显变化相符,可能是由于在体外培养的环境下,缺乏促性腺激素等对卵巢的刺激作用,导致 E₂ 水平没有产生明显的变化。另外,PCOS 会出现小的生长卵泡数量增多的现象,MCM-2 与 DNA 有关并且可以标记 DNA 的复制,MCM-2 是研究细胞增殖的一个很好的指标^[10]。实验结果显示正常卵巢中 MCM-2mRNA 表达很低,而 IR 的卵巢中 MCM-2mRNA 表达明显增强,说明模型卵巢出现了细胞增殖的趋势,这可能是颗粒细胞增殖亢进引起的^[10]。

3 模型卵巢内胰岛素信号传导的变化 胰岛素介导生物学效应的细胞内信号传递主要有两条通路:(1)磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 途径,调节细胞的葡萄糖代谢。(2)丝裂原激活蛋白激酶 (MAPK) 途径,调节细胞的分裂增殖。正常的信号传导主要是通过胰岛素与受体结合并发生酪氨酸磷酸化,进一步激活 PI-3 激酶^[11,12],通过一系列的作用使葡萄糖载体蛋白 (Glu-

cose transporter, Glut) 发挥由细胞外向细胞内转运葡萄糖的功能^[13]。不同组织(例如骨骼肌、脂肪细胞、成纤维细胞)中 IR 的分子机制有很大差异,卵巢中不同细胞(包括卵泡膜细胞和颗粒细胞)中 IR 的分子机制也表现出不同。例如在卵泡膜细胞的研究中显示,PCOS 患者较正常对照组卵泡膜细胞中的 MEK1 和 MEK2 的水平降低了 70%, ERK-1 和 ERK-2 的水平降低了 50%, MAPK 途径是非胰岛素依赖性的途径,与 PCOS 患者卵巢产生过多雄激素相关^[6]。而对 IR 的颗粒细胞的研究显示 PI3K 途径被阻断,胰岛素有丝分裂信号通路增强,说明卵巢颗粒细胞中存在不同胰岛素信号通路之间的对话机制,这和近年有些学者提出的“选择性”胰岛素抵抗学说^[14,15]相似。本实验研究了 PI3K 通路下游的重要信号分子 AKT-2、GSK-3 β 和 MAPK 通路中 ERK-1, 结果显示模型卵巢中 AKT-2、GSK-3 β 、ERK-1 的表达都下降, PI3K 通路和 MAPK 通路同时受到了抑制,糖代谢和分裂增殖途径都受损。这可能与胰岛素受体底物-1 (IRS-1) 的表达水平下降^[1,2]有关, IRS-1 同时抑制了 PI3K 和 MAPK 通路。

4 中药胰岛素增敏剂小檗碱的作用 有研究表明曲格列酮可通过促进 Dex 快速代谢而降低 Dex 诱导的 IR^[17]。本实验选取曲格列酮用于比较小檗碱改善 IR 的程度和分子机制。Kong W 等^[18]研究发现小檗碱具有降血糖、纠正脂质紊乱作用,但无促胰岛素分泌作用,并发现小檗碱能促进葡萄糖在脂肪细胞内的转运和消耗,抑制脂肪细胞分化的作用,因此证实了小檗碱通过促进外周组织利用葡萄糖而起到降糖的作用。在对 db/db 小鼠的研究中表明小檗碱有胰岛素增敏的作用并且可以减轻体重、降低脂肪^[2]。其他研究证明小檗碱可以降低高脂饮食 Wistar 大鼠的体重和血脂水平并且有改善胰岛素的作用;在脂肪组织和肌肉中,小檗碱下调了与脂肪代谢相关的基因表达并且上调了与能量消耗有关的基因表达。这些发现都揭示了小檗碱在治疗肥胖和改善胰岛素抵抗方面有很好的作用。本课题组前期实验表明小檗碱可以改善猪卵泡膜细胞和颗粒细胞的胰岛素抵抗^[4]。本研究证明小檗碱作用于小鼠 IR 的卵巢,葡萄糖摄取量明显下降,改善了卵巢糖代谢的异常,使胰岛素信号分子 AKT-2、GSK3 β 、ERK mRNA 表达明显逆转,抑制了 CYP17、MCM-2 mRNA 的表达,并且显著降低雄激素水平。说明小檗碱是很好的胰岛素增敏中药,可以明显改善胰岛素抵抗和降低雄激素。

综上所述, Dex 能够诱导 IR 卵巢的模型, 小檗碱具有改善卵巢 IR 的作用, 并能进一步降低雄激素的合

成, 从而改善卵巢功能障碍。虽然小檗碱的作用机理有些方面还不清楚, 还有待于进一步深入的研究, 但是前期实验以及本实验都揭示小檗碱作为中药胰岛素增敏剂对治疗 PCOS 将具有良好的应用前景。

参 考 文 献

- [1] Wu XK, Zhou SY, Sallinen K, et al. Selective ovarian resistance to insulin signaling in women with polycystic ovary syndrome[J]. Fertil Steril, 2003, 80(4): 954-965.
- [2] Lee YS, Kim WS, Kim KH, et al. Berberine, a natural plant product, activates AMP-activated protein kinase with beneficial metabolic effects in diabetic and insulin-resistant states[J]. Diabetes, 2006, 55(8): 2256-2264.
- [3] Moran C, Huerta R, Conway-Myers BA, et al. Altered autophosphorylation of the insulin receptor in the ovary of a woman with polycystic ovary syndrome[J]. Fertil Steril, 2001, 75(3): 625-628.
- [4] 姚晶萍, 邱学敏, 高磊, 等. 小檗碱和葛根素对卵巢颗粒细胞胰岛素抵抗的调控[J]. 科技导报, 2008, 26(9): 37-41.
Yao JP, Qiu XM, Gao L, et al. Beneficial effect of berberine and daidzein on insulin resistance in ovarian granulosa cells induced dexamethasone[J]. Sci Technol Rev, 2008, 26(9): 37-41.
- [5] 高磊, 李威, 吴效科, 等. 卵泡膜细胞的胰岛素抵抗对其雄激素合成的影响以及胰岛素增敏剂的调控机制[J]. 科技导报, 2008, 26(19): 78-83.
Gao L, Li W, Wu XK, et al. Direct effect of insulin resistance on androgen excess within porcine ovarian thecal cells[J]. Sci Technol Rev, 2008, 26(19): 78-83.
- [6] Nelson-Degrave VL, Wickenheisser JK, Hendricks KL, et al. Alterations in mitogen-activated protein kinase and extracellular regulated kinase signaling in theca cells contribute to excessive androgen production in polycystic ovary syndrome[J]. Mol Endocrinol, 2005, 19(2): 379-390.
- [7] Sakoda H, Ogihara T, Anai M, et al. Dexamethasone-induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes is due to inhibition of glucose transport rather than insulin signal transduction[J]. Diabetes, 2000, 49(10): 1700-1708.
- [8] Rosenfield RL, Barnes RB, Cara JF, et al. Dysregulation of cytochrome P450c 17 alpha as the cause of polycystic ovarian syndrome[J]. Fertil Steril, 1990, 53(5): 785-791.
- [9] Gregoraszczuk EL, Zemla M, Ptak A, et al. The action of low- and high-chlorinated biphenyl mixture on prepubertal porcine ovary: steroid secretion and cells apoptosis[J]. Endocr Regul, 2005, 39(2): 33-41.

- [10] Franks S, Stark J, Hardy K. Follicle dynamics and anovulation in polycystic ovary syndrome [J]. Hum Reprod Update, 2008, 14(4): 367-378.
- [11] White MF. The IRS-signaling system: a network of docking proteins that mediate insulin and cytokine action [J]. Recent Prog Horm Res, 1998, 53: 119-138.
- [12] Virkamäki A, Ueki K, Kahn CR. Protein-protein interaction in insulin signaling and the molecular mechanisms of insulin resistance [J]. J Clin Invest, 1999, 103(7): 931-943.
- [13] Pessin JE, Saltiel AR. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance [J]. Clin Invest, 2000, 106(2): 165-169.
- [14] Montagnani M, Quon MJ. Insulin action in vascular endothelium: potential mechanisms linking insulin resistance with hypertension [J]. Diabetes Obes Metab, 2000, 2(5): 285-292.
- [15] Montagnani M, Golovchenko I, Kim I, et al. Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase enhances mitogenic actions of insulin in endothelial cells [J]. J Biol Chem, 2002, 277(3): 1794-1799.
- [16] Baillargeon JP, Jakubowicz DJ, Luomo MJ, et al. Effects of metformin and rosiglitazone, alone and in combination, in non-obese women with polycystic ovary syndrome and normal indices of insulin sensitivity [J]. Fertil Steril, 2004, 82(4): 893-902.
- [17] Morita H, Oki Y, Ito T, et al. Administration of troglitazone, but not pioglitazone, reduces insulin resistance caused by short-term dexamethasone (DXM) treatment by accelerating the metabolism of DXM [J]. Diabetes Care, 2001, 24(4): 788-789.
- [18] Kong W, Wei J, Abidi P. Berberine is a novel cholesterol-lowering drug working through a unique mechanism distinct from statins [J]. Nat Med, 2004, 10(12): 1344-1347.

(收稿:2009-06-24 修回:2009-11-10)

中国中西医结合学会第七次中青年学术研讨会暨福建中西医结合研究院 2009 学术年会在福州召开

中国中西医结合学会第七次中青年学术研讨会暨福建中西医结合研究院 2009 学术年会于 2009 年 11 月 27—29 日在福建省福州市召开。本次会议由中国中西医结合学会青年工作委员会、福建中医学院·福建中西医结合研究院共同主办。参加本次会议的有陈可冀、秦伯益、曾毅、陈凯先院士以及来自北京、上海、台湾、美国等地的专家,全国各地的青年学术代表。

本次大会由福建中医学院党委罗莹书记主持,院长陈立典教授致开幕词。福建中医学院副院长、福建中西医结合研究院副院长刘献祥教授首先向与会代表介绍了福建中西医结合研究院 2009 年的工作情况及相关研究进展。福建中西医结合研究院成立 4 年来承担了 15 项国家级课题,35 项省部级课题,19 项科研成果获省部级科技进步奖,其中包括中国中西医结合学会科学技术奖一等奖 1 项,实现了省部级科学技术奖一等奖零的突破。该院的中药药理(细胞结构与功能)实验室、中药生药实验室和细胞生物学实验室在 2009 年同时成为国家中医药管理局中医药科研三级实验室。

原中国军事医学科学院院长、中国工程院院士秦伯益教授为大会作了“当前我国的科研道德建设”的报告。他联系社会实际,以生动的例子,批评了当前科技界的浮躁现象,提倡弘扬科学精神,建立良好的科学道德。北京工业大学生命科学与生物工程学院、中国科学院院士曾毅教授在“艾滋病的防治”的报告中介绍了国内外艾滋病流行病学情况、艾滋病的干预措施、疫苗研究现状。福建中医学院院长陈立典教授的报告“传统康复方法在脑卒中治疗中的应用”系统介绍了传统康复学结合现代综合康复理念在脑卒中治疗中的应用以及注意事项,提出了早期综合康复治疗的观点。

美国洛杉矶加州大学医学院东西方医学中心主任许家杰教授题为“Developing Whole Systems Research Evidence Base for Traditional Chinese Medicine”的报告,介绍了加州大学医学院东西方医学中心的组成和研究工作,以及结合医学在美国的研究现状。美国中医药针灸学会会长李永明教授在“中医药临床研究的十大学术难题”的报告中提出了中医药研究的十大难题以及可能的解决办法,对与会青年学术代表颇有启发。中国中医科学院中药研究所廖福龙研究员的报告“生物力药理学与活血化瘀”介绍了应用物理论研究血流动力变化,观察血管内皮细胞生物学效应,以探讨动脉粥样硬化、高黏血症形成机理以及活血化瘀作用。台湾养生保健协会秘书长、台湾中西整合医学会监事长李春兴教授“养生睡姿探讨暨俯卧睡、伏案桌睡之工学平台简介”的报告探讨了睡姿与养生的关系。

(蔡 晶 张松富整理)