

目前,国内外尚无苦参碱与 hTERT 基因的相互关系报道。鉴于 hTERT 在肿瘤发生发展过程中的重要性,结合苦参碱对肺腺癌 A549 细胞具有诱导凋亡作用,研究 hTERT 在苦参碱诱导肺腺癌 A549 细胞凋亡中的表达情况,必将有助于探讨苦参碱抑制 A549 细胞生长的可能机制。

在本实验研究中,观察了苦参碱对肺腺癌 A549 细胞的生长抑制与促进凋亡作用,并研究了凋亡过程中端粒酶活性与 hTERT mRNA 表达量的变化,探讨其可能的抗肿瘤机制。结果显示,电镜下肺腺癌 A549 细胞经 0.2 mg/mL 苦参碱处理 48 h 后,细胞表现凋亡细胞的特征性形态变化,细胞体积缩小、细胞表面纤毛丧失、细胞质固缩,核碎裂,可见凋亡小体形成。同时,经 0.2 mg/mL 苦参碱作用后肺腺癌 A549 细胞 DNA 片断呈现典型的梯状条带,进一步证实了苦参碱可诱导 A549 细胞凋亡。端粒酶活性测定与 hTERT mRNA 表达量的改变,则提示苦参碱可能通过下调肺腺癌 A549 细胞 hTERT 基因表达,抑制端粒酶活性,破坏端粒酶稳定性而促进肺癌细胞凋亡。

本研究提示,苦参碱抗肺腺癌 A549 细胞的可

能机制是通过下调 hTERT 基因的表达,抑制端粒酶活性,破坏端粒稳定性而导致细胞凋亡的发生。抗端粒酶治疗已成为从分子水平上治疗肺癌的一种新手段,从天然中药库中筛选并制备有效的端粒酶抑制剂将可能为肺癌的临床治疗开辟新的途径。

参考文献:

- [1] Zhang L P, Jiang J K, Tam J W, *et al.* Effects of matrine on proliferation and differentiation in K-562 cells [J]. *Leuk Res*, 2001, 25(9): 793-800.
- [2] Herrmann M, Lorenz H M, Voll R, *et al.* A rapid and simple method for the isolation of apoptotic DNA fragments [J]. *Nucleic Acid Res*, 1994, 22(24): 5506-5507.
- [3] Kolquist K A, Ellisen L W, Counter C M, *et al.* Expression of TERT in early premalignant lesions and a subset of cells in normal tissues [J]. *Nat Genet*, 1998, 19(2): 182-186.
- [4] Paradis V, Bieche I, Dargere D, *et al.* hTERT expression in sporadic renal cell carcinomas [J]. *J Pathol*, 2001, 195(2): 209-217.
- [5] Pendino F, Tarkany I, Dudognon C, *et al.* Telomeres and telomerase: Pharmacological targets for new anticancer strategies? [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2006, 6(2): 147-180.
- [6] 司维柯, 罗朝学. 流式细胞术分析苦参碱诱导人肝癌细胞 HepG2 凋亡 [J]. *肿瘤*, 2001, 21(3): 213-221.
- [7] 钟 声, 徐永健, 张珍祥. CC10 在苦参碱诱导的肺腺癌细胞凋亡中的表达 [J]. *华中科技大学学报:医学版*, 2006, 35(1): 124-126.

小檗碱与梓醇及其配伍对胰岛素抵抗 3T3-L1 脂肪细胞葡萄糖转运子 4 蛋白及 C-Cb1 相关蛋白表达的影响

陈 立, 杨明炜*, 汪忠煜, 刘艳娟, 陆付耳, 黄光英

(华中科技大学同济医学院附属同济医院 中西医结合研究所, 湖北 武汉 430030)

摘 要:目的 观察梓醇与小檗碱及其配伍对胰岛素抵抗 3T3-L1 脂肪细胞葡萄糖消耗及这一过程中葡萄糖转运子 4 (Glut4) 和 C-Cb1 相关蛋白 (CAP) 表达的影响。方法 采用高糖联合高胰岛素诱导 3T3-L1 脂肪细胞产生胰岛素抵抗 (IR), 分别给予小檗碱、梓醇、小檗碱+梓醇、盐酸罗格列酮进行干预, 以葡萄糖氧化酶法检测培养液中葡萄糖消耗量, 以 Western Blotting 法检测 Glut4 和 CAP 蛋白的表达。结果 与模型组相比, 小檗碱能增加培养液中葡萄糖的消耗, 但对 Glut4 蛋白的表达无影响; 梓醇、小檗碱+梓醇均能显著增加培养液中葡萄糖的消耗, 并使细胞中 Glut4 蛋白的表达增强, 且小檗碱+梓醇组的效应优于梓醇组及小檗碱组; 与模型组相比, 小檗碱与梓醇及其配伍对 CAP 的表达没有显著性影响。结论 小檗碱、梓醇及其配伍能改善 IR 3T3-L1 脂肪细胞的胰岛素活性, 其作用机制与罗格列酮不同。

关键词:梓醇; 小檗碱; 3T3-L1; 葡萄糖转运子 4 (Glut4); C-Cb1 相关蛋白 (CAP)

中图分类号:R285.5 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2008)10-1510-05

收稿日期: 2008-01-31

基金项目: 湖北省卫生厅 2004 年度中医药中西医结合课题

作者简介: 陈 立 (1980—), 男, 湖北襄樊人, 在读研究生, 研究方向为中西医结合内分泌专业。

Tel: (027) 83663304 Fax: (027) 83663237 E-mail: chenlimail@163.com

* 通讯作者 杨明炜 Tel: (027) 83663275 E-mail: mwyang@tjh.tjmu.edu.cn

Effect of catalpol, berberine, and their combination on expression of Glut4 protein and C-Cb1 associated protein in insulin resistant 3T3-L1 adipocytes

CHEN Li, YANG Ming-wei, WANG Zhong-yu, LIU Yan-juan, LU Fu-er, HUANG Guang-ying

(Institution of Integrated Chinese and Western Medicine, Affiliated Tongji Hospital, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

Abstract: Objective To observe the effect of catalpol, berberine, and protein and C-Cb1 associated protein (CAP) on 3T3-L1 adipocytes induced with insulin resistance (IR). **Methods** IR Model of adipocyte was induced with the combination of high glucose and hyperinsulinism, cells were treated with rosiglitazone, catalpol, berberine, and combination of catalpol and berberine. Glucose consumption of cells incubated with corresponding medicine was assayed with glucose oxidase method, Glut4 protein and CAP expression were detected with Western Blotting. **Results** Glucose consumption and Glut4 protein expression were significantly increased in catalpol group and combination of berberine and catalpol group compared to model group. At the same time, the capacity is more significant in the combination of berberine and catalpol group; Berberine group could improve glucose consumption, but it had no effect on the expression of Glut4. compared with model group, these three groups had no significant effect on the expression of CAP. **Conclusion** Berberine, catalpol, and combination of berberine and catalpol could improve the insulin sensity of 3T3-L1 adipocytes induced with IR, but the machanism might be different from that of rosiglitazone.

Key words: catalpol; berberine; 3T3-L1; Glut4; C-Cb1 associated protein (CAP)

胰岛素敏感细胞对胰岛素介导的葡萄糖摄取和利用的抵抗是 2 型糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 的主要病理特征之一。脂肪组织是机体能量调节器官,近年来也发现它是机体重要的内分泌器官,在胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 和 2 型 DM 的发病中起重要作用。本课题组前期实验发现,黄连活性成分小檗碱、生地活性成分梓醇及其配伍可增加胰岛素抵抗 3T3-L1 脂肪细胞的葡萄糖消耗,改善 IR^[1]。本研究进一步观察小檗碱、梓醇及其配伍对胰岛素抵抗 3T3-L1 脂肪细胞葡萄糖转运子 4 (Glut4) 和 C-Cb1 相关蛋白 (CAP) 表达的影响,以深入探讨其改善 IR 的作用机制。

1 材料

3T3-L1 细胞株购自中国协和医科大学细胞库;盐酸小檗碱、梓醇 (质量分数 99.9%) 购自中国药品生物制品检定所;罗格列酮盐酸盐购自北京高盟化工有限公司;3-异丁基-1-甲基黄嘌呤 (IBMX)、地塞米松、胰岛素购自 Sigma 公司;高糖 DMEM 培养基 (葡萄糖浓度为 25 mmol/L) 及低糖 DMEM 培养基 (葡萄糖浓度为 5 mmol/L) 购自 Gibco 公司;胎牛血清购自杭州四季清公司;牛血清白蛋白 (BSA) 购自 Roche 公司;Western 及 IP 细胞裂解液、PMSF 购自碧云天生物技术研究;单克隆 Glut4 抗体购自 R&D Systems 公司;多克隆 CAP 抗体购自 Santa Cruz 公司;辣根过氧化物酶标记兔抗山羊 IgG、辣根过氧化物酶标记羊抗小鼠

IgG 购自武汉博士德生物工程有限公司。

2 方法

2.1 3T3-L1 前脂肪细胞的培养和诱导分化:按文献所述方法^[2],将 3T3-L1 前脂肪细胞置于含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基中,在 37℃、5% CO₂饱和湿度下培养。细胞状态良好时接种于培养板,待细胞融合 2 d 后,加含 0.5 mmol/L IBMX, 0.25 μmol/L 地塞米松、1 mg/L 胰岛素,10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基培养 48 h,换以含 1 mg/L 胰岛素的培养基再培养 48 h,随后以含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基继续培养,2 d 换培养液 1 次,诱导分化 8~12 d 的细胞 90% 以上呈脂肪细胞表型可用于试验。

2.2 胰岛素抵抗细胞模型的建立:将诱导分化成熟的 3T3-L1 脂肪细胞换以含 10% 胎牛血清的 DMEM 低糖培养基培养 48 h,再换入无血清的 DMEM 低糖培养基培养 12 h,最后换入含 100 nmol/L 胰岛、10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基干预 30 min 从而完成胰岛素抵抗细胞模型的建立^[3]。

2.3 葡萄糖消耗试验:将 96 孔板中诱导分化成熟并存在胰岛素抵抗的 3T3-L1 脂肪细胞换以含 0.5% BSA 的培养基孵育 12 h 后,换以含或不含 10 nmol/L 胰岛素的 0.5% BSA 及相应药物 (罗格列酮 5 μmol/L、小檗碱 5 μmol/L、梓醇 5 μmol/L、小檗碱 5 μmol/L+梓醇 5 μmol/L) 的培养基作用 24 h,以葡萄糖氧化酶法检测每孔培养液中葡萄糖

的量,与未接种细胞的空白孔的糖质量分数均值相减,计算葡萄糖的消耗量。

2.4 Western blotting 法检测 Glut4 及 C-Cbl 相关蛋白的表达

2.4.1 总蛋白的提取:细胞培养及药物处理同前。去除培养基,用 PBS 将细胞洗3遍,按照6孔板每孔加入 100 μ L 裂解液的比例加入裂解液,吹打数下,使裂解液和细胞充分接触。置冰上 1 h,期间每隔 10 min 用振荡仪振荡1次。充分裂解后,12 000 $\times g$ 离心 10 min,取上清即为细胞总蛋白。用考马斯亮蓝测定蛋白浓度。

2.4.2 Glut4 蛋白表达的检测:依据蛋白质量浓度取各组样品 50 μ g 蛋白质,以 12% SDS-PAGE 胶分离蛋白,然后湿转法 (200 mA, 3 h) 将蛋白质转移至 PVDF 膜上,再用含 5% 脱脂奶粉的 TBST (含 0.1% 聚山梨酯 20) 室温下封闭 2 h 后加入一抗,4 $^{\circ}$ C 过夜,液膜后和辣根过氧化物酶标记的二抗,室温轻摇 2 h,充分洗涤后用 ECL 显影曝光,洗片后用激光扫描仪测各条带吸光度。

2.4.3 CAP 蛋白表达的检测:依据蛋白浓度取各组样品 50 μ g 蛋白质,以 8% SDS-PAGE 胶分离蛋白,然后湿转法 (200 mA, 295 min) 将蛋白质转移至 PVDF 膜上,再用含 5% 脱脂奶粉的 TBST (含 0.1% 聚山梨酯 20) 室温下封闭 2 h 后加入一抗,4 $^{\circ}$ C 过夜,洗膜后加辣根过氧化物酶标记的二抗,室温轻摇 2 h,充分洗涤后用 ECL 显影曝光,洗片后用激光扫描仪测各条带光密度。

2.5 统计学处理:数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异显著性用多因素方差分析,数据统计用 SPSS13.0 统计软件。

3 结果

3.1 对 IR 3T3-L1 脂肪细胞葡萄糖消耗的影响:经双因素等重复试验方差分析,不同处理之间、胰岛素存在与否以及不同处理和胰岛素的交互作用对脂肪细胞葡萄糖消耗的作用差异均具有极显著意义 ($F_{\text{不同处理}}=130.818, P<0.01$; $F_{\text{胰岛素}}=133.039, P<0.01$; $F_{\text{交互作用}}=18.156, P<0.01$)。不同处理之间经多重比较,模型组与其余各组差异均具有显著性意义 ($P<0.01$);小檗碱组和梓醇组差异无统计学意义,梓醇+小檗碱组与梓醇单药组、小檗碱组差异具有显著性意义 ($P<0.01$)。结果见表1。

3.2 对脂肪细胞 Glut4 蛋白表达的影响:无论有无胰岛素的参与,模型组 Glut4 蛋白表达水平均较对照组明显降低 ($P<0.01$),小檗碱组 Glut4 蛋白的表达与模型组相比无显著性差异 ($P>0.05$),梓醇

表1 各组 3T3-L1 脂肪细胞葡萄糖消耗 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 1 Glucose consumption of 3T3-L1 lipocytes in each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	C/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	葡萄糖消耗量/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	
		含胰岛素	不含胰岛素
对照	—	16.55 $\pm$ 0.88 $\Delta\Delta$	12.19 $\pm$ 1.45 $\Delta\Delta$
模型	—	4.44 $\pm$ 1.68	2.74 $\pm$ 1.32
小檗碱	5	7.45 $\pm$ 1.15 $\Delta\Delta$ ••	6.58 $\pm$ 0.92 $\Delta\Delta$ ••
梓醇	5	7.34 $\pm$ 1.21 $\Delta\Delta$ ••	5.95 $\pm$ 1.30 $\Delta\Delta$ ••
小檗碱+梓醇	5+5	10.65 $\pm$ 1.69 $\Delta\Delta$	8.80 $\pm$ 1.00 $\Delta\Delta$
罗格列酮	5	14.20 $\pm$ 1.62 $\Delta\Delta$ ••	6.10 $\pm$ 0.92 $\Delta\Delta$ ••

与模型组比较: $\Delta\Delta P<0.01$

与梓醇+小檗碱组比较: •• $P<0.01$

$\Delta\Delta P<0.01$ vs model group

•• $P<0.01$ vs berberine + catalpol group

组 Glut4 蛋白的表达与模型组相比显著升高 ($P<0.01$)。在有胰岛素参与的情况下,小檗碱+梓醇组 Glut4 蛋白的表达明显高于梓醇组 ($P<0.01$),但低于罗格列酮组 ($P<0.05$)。在无胰岛素参与的情况下,小檗碱+梓醇组 Glut4 蛋白的表达高于梓醇组 ($P<0.05$) 及罗格列酮组 ($P<0.01$)。结果见图1及表2。

3.3 对脂肪细胞 CAP 蛋白表达的影响:无论有无胰岛素的参与,模型组 CAP 蛋白的表达均较对照组明显降低 ($P<0.01$);与模型组相比,3个中药组 CAP 蛋白的表达无显著性差异 ($P>0.05$)。在有胰岛素参与的情况下,罗格列酮组 CAP 蛋白的表达明显高于模型组 ($P<0.01$);在无胰岛素参与的情况下,罗格列酮组 CAP 蛋白的表达与模型组无显著性差异 ($P>0.05$)。结果见图2及表2。

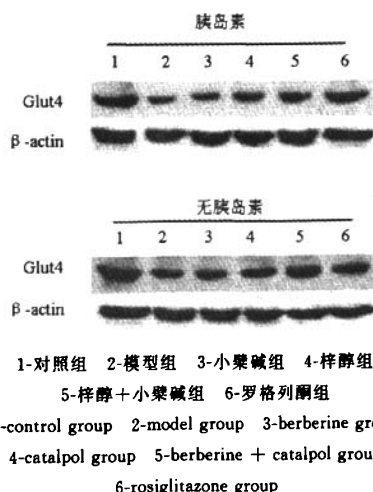


图1 各组 3T3-L1 脂肪细胞 Glut4 蛋白的表达
Fig. 1 Glut4 protein expression of 3T3-L1 adipocytes in each group

表 2 各组 3T3-L1 脂肪细胞 Glut4 及 CAP 蛋白表达的吸光度值 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 2 Optical density value of Glut4 and CAP protein expression of 3T3-L1 adipocytes in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	C/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Glut4/ β -actin		CAP/ β -actin	
		含胰岛素	不含胰岛素	含胰岛素	不含胰岛素
对照	—	1.050 $\pm$ 0.017 $\Delta\Delta$	2.036 $\pm$ 0.137 $\Delta\Delta$	0.690 $\pm$ 0.031 $\Delta\Delta$	0.773 $\pm$ 0.034 $\Delta\Delta$
模型	—	0.338 $\pm$ 0.018	0.989 $\pm$ 0.041	0.343 $\pm$ 0.052	0.345 $\pm$ 0.019
小檗碱	5	0.346 $\pm$ 0.019**	0.946 $\pm$ 0.581**	0.360 $\pm$ 0.019	0.363 $\pm$ 0.019
梓醇	5	0.470 $\pm$ 0.018 $\Delta\Delta$ *	1.353 $\pm$ 0.043 $\Delta\Delta$ *	0.351 $\pm$ 0.022	0.333 $\pm$ 0.019
小檗碱+梓醇	5+5	0.643 $\pm$ 0.025 $\Delta\Delta$	1.584 $\pm$ 0.046 $\Delta\Delta$	0.348 $\pm$ 0.021	0.346 $\pm$ 0.016
罗格列酮	5	0.836 $\pm$ 0.018**	1.105 $\pm$ 0.065**	0.485 $\pm$ 0.025	0.356 $\pm$ 0.014

与模型组比较: $\Delta\Delta P<0.01$; 与梓醇+小檗碱组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

$\Delta\Delta P<0.01$ vs model group; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs berberine + catalpol group

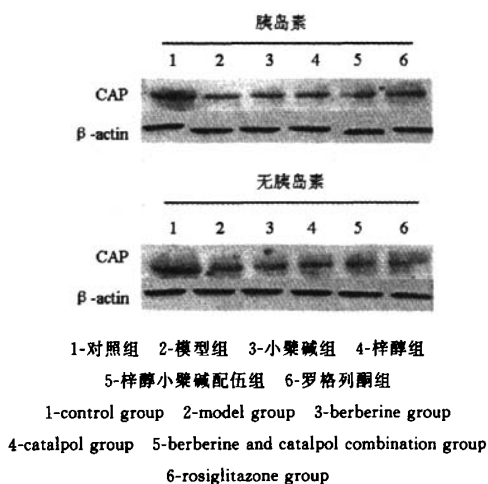


图 2 各组 3T3-L1 脂肪细胞 CAP 蛋白的表达

Fig. 2 CAP Protein expression of 3T3-L1 adipocytes in each group

4 讨论

IR 是 2 型糖尿病发生发展的中心环节,是糖尿病、肥胖、高血压病、高脂血症、冠心病等多种疾病的共同病理生理学基础。脂肪组织是外周胰岛素敏感组织之一,在基础状态下,脂肪细胞主要通过 Glut1 转运葡萄糖,而在胰岛素刺激条件下,脂肪细胞主要由 Glut4 转运葡萄糖^[4],胰岛素结合于其受体后,Glut4 囊泡从细胞内池移动到细胞膜,然后与膜融合、将 Glut4 分子固定在细胞膜上,从而发挥转运葡萄糖的作用^[5],胰岛素信号系统任何环节的异常均可导致 IR。目前认为胰岛素主要通过二条途径促进葡萄糖转运:PI-3K/Akt 和 CAP/Cb1 途径。Cb1 是胰岛素受体底物之一,在胰岛素刺激下其酪氨酸残基可被磷酸化,CAP 是一种适配蛋白,可与 Cb1 形成复合体,协助转导胰岛素信号,为 Glut4 的转位提供了与 PI-3K 途径相平行的第二个信号^[6]。研究发现,CAP 的显性突变可显著减少酪氨酸磷酸化的 Cb1 在浆膜脂质支架亚结构域的定位,完全阻断胰

岛素刺激的葡萄糖摄取和 Glut4 的转位^[7]。现已证明,胰岛素增敏剂噻唑烷二酮类药物(TZDs)可能主要通过调控 CAP 基因的表达增加胰岛素的敏感性,其作用依赖胰岛素的存在^[8]。

脂肪组织是胰岛素作用的主要靶器官,在 IR 和 2 型糖尿病的发病中起重要作用。3T3-L1 前脂肪细胞系,具有定向分化为成熟脂肪细胞的特性,是体外研究 IR 发病机制和降糖药物作用机制的重要细胞。本实验通过模拟 IR 病人体内高糖高胰岛素的环境,用高糖联合高胰岛素诱导 3T3-L1 脂肪细胞产生 IR。结果显示:模型组细胞的葡萄糖消耗量明显低于对照组细胞 ($P<0.01$),表明 IR 模型建立成功。

黄连丸源自孙思邈《备急千金要方》,方中以黄连为君,生地为臣,相须为用,共奏滋阴清热之功效,主治消渴。后世医家与现代临床也多以黄连、生地配伍加减治疗糖尿病,取得了良好的临床疗效,显示出中医方剂配伍的独特优越性。小檗碱、梓醇分别是黄连、生地的主要活性成分,能在一定程度上反映黄连、生地的药理作用,《中国药典》明确指定小檗碱为黄连的定性指标,梓醇为生地的定性指标。本研究以小檗碱、梓醇及其配伍来干预 IR 的 3T3-L1 脂肪细胞,通过观察胰岛素信号转导上主要蛋白表达的变化,试图从分子水平揭示小檗碱、梓醇及其配伍改善 IR 的分子机制和黄连丸方剂配伍的科学内涵。本研究发现,无论有无胰岛素的参与,小檗碱均能增加 IR 3T3-L1 脂肪细胞的葡萄糖消耗量,但对 Glut4 蛋白的表达无影响,而梓醇不仅能增加细胞的葡萄糖消耗量并且能上调 Glut4 蛋白的表达,小檗碱与梓醇配伍后,无论是细胞的葡萄糖消耗量还是 Glut4 蛋白的表达均较梓醇组显著上升,揭示配伍具有协同性,复方作用优于各单味药。无论有无胰岛素的参与,小檗碱、梓醇、小檗碱配伍梓醇对 CAP 的表达均无影响,说明中药并非通过上调 CAP 的

表达来上调 Glut4 的表达,完全不同于罗格列酮在胰岛素的参与下上调 CAP 的表达从而促进 Glut4 表达的作用机制。另外,还发现小檗碱能增加 IR 3T3-L1 脂肪细胞的葡萄糖消耗量,但对 Glut4 蛋白的表达无影响,提示其改善 IR 的机制不同于梓醇及罗格列酮通过上调 Glut4 蛋白的表达从而增加细胞的葡萄糖消耗量。

本研究虽初步揭示了小檗碱、梓醇及其配伍改善 IR 的部分机制,但值得提出的是,小檗碱不通过上调 Glut4 的表达改善 IR,梓醇通过何种途径上调 Glut4^[9],尤其是在没有胰岛素的情况下依然能上调 Glut4 蛋白的表达该如何解释,均有待于做进一步探讨。

参考文献:

- [1] 刘芳芳,杨明炜,王晓强,等.梓醇与小檗碱及其配伍对胰岛素抵抗 3T3-L1 脂肪细胞的影响 [J]. 中草药, 2007, 38 (10): 1523-1526.
- [2] Anil Kumar K L, Marita A R. Troglitazone prevents and reverses dexamethasone induced insulin resistance on glycogen synthesis in 3T3 adipocyte [J]. *Br J Pharmacol*, 2000, 130: 351-358.
- [3] Baumann C A, Ribon V, Kanzaki M, et al. CAP defines a second signaling pathway required for insulin-stimulated glucose transport [J]. *Nature*, 2000, 407: 202-207.
- [4] Lienhard G E, Slot J W, James D E, et al. How cells absorb glucose? [J]. *Sci Am*, 1992, 266: 86-91.
- [5] Rea S, James D E. Moving GLUT4: the biogenesis and trafficking of GLUT4 storage vesicles [J]. *Diabetes*, 1997, 46: 1667-1677.
- [6] Chiang S H, Baumann C A, Kanzaki M, et al. Insulin stimulated GLUT4 translocation requires the CAP dependent activation of TC10 [J]. *Nature*, 2001, 410: 944-948.
- [7] Pessin J E, Saltiel A R. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance [J]. *Clin Invest*, 2000, 106: 165-169.
- [8] Baumann C A, Ribon V, Kanzaki M, et al. CAP defines a second signaling pathway required for insulin-stimulated glucose transport [J]. *Nature*, 2000, 407: 202-207.
- [9] Ke Y F, Zheng R T. Antihyperglycemic action of catalpol [A]. *Dissertation of Master Degree of Chenggong University* [D]. Taiwan: Chenggong University, 2003.

补阳还五汤有效组分对血管内皮细胞抗血栓功能及蛋白激酶 C 的影响

欧明娥,唐利文,邓常清*

(湖南中医药大学 中西医结合学院,湖南 长沙 410007)

摘要:目的 探讨补阳还五汤及其有效组分生物碱、苷对凝血酶诱导的血管内皮细胞抗血栓功能改变及蛋白激酶 C (PKC) 活化的影响。方法 以凝血酶 (10 U/mL) 作用于培养的人脐静脉内皮细胞 (ECV304),同时加入药物,24 h 后测定上清液中组织型纤溶酶原激活物 (tPA) 和纤溶酶原激活物抑制物-1 (PAI-1) 水平、细胞组织因子 (TF)、组织因子途径抑制物 (TFPI)、凝血酶调节蛋白 (TM) mRNA 表达及 PKC_α 蛋白表达。结果 凝血酶作用内皮细胞后,tPA 释放增加 ($P < 0.01$),TF、TFPI mRNA 表达增强 ($P < 0.05$),而 PAI-1 释放及 TM mRNA 表达无显著性变化 ($P > 0.05$);PKC_α 表达增强 ($P < 0.05$)。补阳还五汤可抑制凝血酶诱导的 tPA 释放增加 ($P < 0.01$),生物碱对 tPA 释放增加无显著影响 ($P > 0.05$);苷 (1.25 mg/mL) 可使凝血酶诱导的 tPA 分泌增加 ($P < 0.05$);原方、生物碱 (2 mg/mL) 和苷 (5 mg/mL) 均可抑制内皮细胞分泌 PAI-1 ($P < 0.01$)。原方、生物碱 (1, 2 mg/mL) 和苷均可抑制凝血酶诱导的 TF mRNA 表达增强;生物碱 (0.5 和 1 mg/mL) 可抑制 TFPI mRNA 表达 ($P < 0.05$);各药对 TM mRNA 表达无显著影响;原方、生物碱和苷均可抑制凝血酶诱导的内皮细胞 PKC_α 表达的增强 ($P < 0.01$)。PKC 激活剂佛波酯 (PMA) 刺激内皮细胞后,PKC_α 被激活 ($P < 0.01$);PKC 抑制剂 H₇ 作用于 PMA 刺激的内皮细胞后,PKC_α 表达增强不明显,PAR-1 受体抑制剂 CATG 作用于凝血酶刺激的 ECV304 细胞后,PKC_α 表达显著抑制 ($P < 0.05$)。结论 凝血酶可诱导内皮细胞抗血栓性发生变化。补阳还五汤原方、生物碱和苷对凝血酶诱导的血管内皮细胞抗凝、纤溶功能的改变具有调节作用,使血管内皮细胞的抗凝、纤溶作用趋于正常,其作用可能主要是通过抑制凝血酶诱导的 PKC_α 的激活而介导的。生物碱和苷类有效组分可能为该方抗血栓作用的药效物质基础。

关键词:补阳还五汤;血管内皮细胞;组织型纤溶酶原激活物;纤溶酶原激活物抑制物-1;蛋白激酶 C

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)10-1514-07

收稿日期:2007-12-10

基金项目:国家自然科学基金项目 (30572301);教育部科学研究重点项目 (204100);湖南省教育厅重点资助项目 (03A033)

作者简介:欧明娥(1982—),女,湖南常德人,助教,医学硕士,主要从事心脑血管病临床基础研究,现在广东肇庆医学高等专科学校工作。Tel: 13527071045 E-mail: ome202@126.com

*通讯作者 邓常清 E-mail: dchangq@sohu.com

小檗碱与梓醇及其配伍对胰岛素抵抗3T3-L1脂肪细胞葡萄糖转运子4蛋白及C-Cb1相关蛋白表达的影响

作者：[陈立](#), [杨明炜](#), [汪忠煜](#), [刘艳娟](#), [陆付耳](#), [黄光英](#), [CHEN Li](#), [YANG Ming-wei](#), [WANG Zhong-yu](#), [LIU Yan-juan](#), [LU Fu-er](#), [HUANG Guang-ying](#)
作者单位：[华中科技大学同济医学院附属同济医院, 中西医结合研究所, 湖北, 武汉, 430030](#)
刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2008, 39(10)
被引用次数: 5次

参考文献(9条)

1. [刘芳芳](#); [杨明炜](#); [王晓强](#) [梓醇与小檗碱及其配伍对胰岛素抵抗3T3-L1脂肪细胞的影响](#) [期刊论文] - [中草药](#) 2007(10)

2. [Anil Kumar K L](#); [Marita A R](#) [Troglitazone prevents and reverses dexamethasone induced insulin resistance on glycogen synthesis in 3T3 adipocyte](#) [外文期刊] 2000(2)

3. [Baumann C A](#); [Ribon V](#); [Kanzaki M](#) [CAP defines a second signaling pathway required for insulin-stimulated glucose transport](#) [外文期刊] 2000

4. [Lienhard G E](#); [Slot J W](#); [James D E](#) [How cells absorb glucose?](#) 1992

5. [Rea S](#); [James D E](#) [Moving GLUT4: the biogenesis and trafficking of GLUT4 storage vesicles](#) [外文期刊] 1997

6. [Chiang S H](#); [Baumann C A](#); [Kanzaki M](#) [Insulin stimulated GLUT4 translocation requires the CAP dependent activation of TC10](#) [外文期刊] 2001

7. [Pessin J E](#); [Sahiel A R](#) [Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance](#) [外文期刊] 2000(2)

8. [Baumann C A](#); [Ribon V](#); [Kanzaki M](#) [CAP defines a second signaling pathway required for insulin-stimulated glucose transport](#) [外文期刊] 2000

9. [Ke Y F](#); [Zheng R T](#) [Antihyperglycemic action of catalpol](#) 2003

本文读者也读过(6条)

1. [刘芳芳](#), [杨明炜](#), [王晓强](#), [王开富](#), [陆付耳](#), [LIU Fang-fang](#), [YANG Ming-wei](#), [WANG Xiao-qiang](#), [WANG Kai-fu](#), [LU Fu-er](#) [梓醇与小檗碱及其配伍对胰岛素抵抗3T3-L1脂肪细胞的影响](#) [期刊论文] - [中草药](#) 2007, 38(10)

2. [左益繁](#), [牛艳芬](#), [林华](#), [王芳](#), [刘伟平](#), [李玲](#), [ZUO Yi-qing](#), [NIU Yan-fen](#), [LIN Hua](#), [WANG Fang](#), [LIU Wei-ping](#), [LI Ling](#) [双\(α-呋喃甲酸\)氧钒对胰岛素抵抗3T3-L1脂肪细胞糖摄取的影响](#) [期刊论文] - [中国药理学通报](#) 2008, 24(7)

3. [杨帆](#), [YANG Fan](#) [灰色模型在静脉注射药动力学研究中的应用](#) [期刊论文] - [抗感染药学](#) 2009, 6(1)

4. [易屏](#), [陆付耳](#), [陈广](#), [徐丽君](#), [王开富](#), [YI Ping](#), [LU Fu-er](#), [CHEN Guang](#), [XU Li-jun](#), [WANG Kai-fu](#) [小檗碱抑制核因子NF-κB p65的核转位改善高糖诱导的3T3-L1细胞胰岛素抵抗的分子机制](#) [期刊论文] - [中国医院药学杂志](#) 2008, 28(12)

5. [SHE Qi-mei](#), [ZHAO Jing](#), [WANG Xia-lian](#), [ZHOU Chang-man](#), [SHI Xian-zhong](#) [Effect of dexamethasone on peroxisome proliferator activated receptor-gamma mRNA expression in 3T3-L1 adipocytes with the human recombinant adiponectin](#) [期刊论文] - [中华医学杂志\(英文版\)](#) 2007, 120(2)

6. [包·照日格图](#), [却翎](#), [万春平](#), [宋娜丽](#), [唐志国](#), [李翀](#) [五味清浊散对3T3-L1细胞TNF-α浓度和基因表达的影响](#) [期刊论文] - [中国民族医药杂志](#) 2008, 14(9)

引证文献(5条)

1. 李雪岩, 王嘉林 RP-HPLC法测定射干利咽丸中的梓醇含量[期刊论文]-河南中医 2013(1)
2. 郭建明, 段金廛, 郝海平, 唐于平, 钱大玮, 刘培 基于药物体内代谢过程的中药配伍禁忌研究思路与方法[期刊论文]-中草药 2011(12)
3. 陈立, 程瑾, 杨明炜, 库宝庆 梓醇对3T3-L1脂肪细胞糖脂代谢的影响及其机制研究[期刊论文]-中药新药与临床药理 2013(2)
4. 郑华, 戈延茹 改善胰岛素抵抗的中药活性成分及其作用机制研究进展[期刊论文]-中国中药杂志 2010(4)
5. 李井彬, 陆付耳 中医药改善胰岛素抵抗及其分子机制的研究进展[期刊论文]-中西医结合研究 2011(1)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200810023.aspx