

• 药理与临床 •

左归复方对 MKR 转基因 2 型糖尿病小鼠糖代谢及抗氧化应激的影响

成细华¹, 喻 嵘^{1*}, 吴勇军¹, 胡 伟^{1**}, 肖漫江^{1**}, 李 萍^{1***}, 赵 愈^{1***}, 伍参荣¹, LIU Jun-li²

(1. 湖南中医药大学 中医内科学重点实验室, 湖南 长沙 410007; 2. Fraser Laboratories, Department of Medicine, McGill University, Montreal, QC, Canada)

摘要:目的 观察左归复方(滋阴益气活血解毒组方)干预治疗 MKR 小鼠后糖代谢及抗氧化应激的影响。方法 50 只 MKR 小鼠经鉴定后,随机分为 MKR 模型组,左归复方高、中、低剂量组,阳性对照组(文迪雅),每组 10 只。各药物组分别以相应剂量连续 ig 给药 30 d。于给药前、给药第 15 天及第 30 天,分别测定空腹血糖(FBG)。末次给药后 0.5 h,心脏取血,放射免疫法测血清胰岛素,比色法测定心、肾和肝组织中总抗氧化能力(T-AOC)、丙二醛(MDA)水平、超氧化物歧化酶(SOD)及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性。结果 左归复方干预治疗后,其高剂量具有显著的降低 MKR 小鼠空腹血糖、改善高胰岛素血症的作用($P < 0.05, 0.01$),且呈剂量依赖性;MKR 小鼠心、肾和肝组织中 MDA 水平显著高于 C57 野生鼠组($P < 0.05, 0.01$),而 T-AOC 及 SOD 和 GSH-Px 活性显著低于 C57 野生鼠组($P < 0.01$)。左归复方干预治疗后,能显著降低 MKR 小鼠心、肝和肾组织中 MDA 水平($P < 0.05, 0.01$),提高各组织 T-AOC,显著增强 SOD 和 GSH-Px 的活性($P < 0.05, 0.01$),其作用呈剂量依赖性。**结论** 左归复方具有显著地改善 MKR 小鼠糖代谢,保护心、肝和肾的抗氧化酶,抑制氧化应激反应,对 MKR 小鼠产生保护作用。

关键词:左归复方; 2 型糖尿病; MKR 小鼠; 糖代谢; 氧化应激

中图分类号:R285.5 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2008)11-1675-05

Effect of Zuogui Recipe on glucose metabolism and antioxidative stress in MKR mice of Type 2 diabetes

CHENG Xi-hua¹, YU Rong¹, WU Yong-jun¹, HU Wei¹, XIAO Man-jiang¹, LI Ping¹, ZHAO Yu¹, WU Cen-rong¹, LIU Jun-li²

(1. Key Laboratory of Internal Medicine for Chinese Medicine, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, China; 2. Fraser Laboratories, Department of Medicine, McGill University, Montreal, QC, Canada)

Abstract: Objective To observe the effect of Zuogui Recipe on glucose metabolism and antioxidative stress in MKR mice. **Methods** Fifty MKR mice were identified and randomly grouped. They were model group (MG), low Zougui Recipe group (LZG), middle Zuogui Recipe group (MZG), high Zuogui Recipe group (HZG), and positive control group (Rosiglitazone Maleate Tablets, PCG), ten mice each group. LZG, MZG, HZG, and PCG were treated by ig corresponding drug for 30 d. Using C57 mice as controls, the fasting blood glucose (FBG) level was determined before administration, after administration day 15, and day 30, respectively. And the serum insulin level was determined by radioimmunoassay. Total antioxidative capacity (T-AOC), malondialdehyde (MDA) levels, superoxide diamutase (SOD), and glutathioneperoxidase (GSH-Px) activities in heart, kidney, and liver tissue were determined by spectrophotometric method in 0.5 h of last administration. **Results** After treating MKR mice with Zuogui Recipe, the hyperglycemia was significantly ameliorated and the serum insulin in HZG was decreased ($P < 0.05$ and 0.01) in a dose dependent manner. The levels of MDA were significantly higher ($P < 0.05$ and 0.01), while capacity of T-AOC and activities of SOD and GSH-Px were significantly lower ($P < 0.01$) in heart, kidney, and liver tissue of MKR mice than those of C57 mice. After treating with Zuogui Recipe, the levels of MDA were significantly decreased ($P < 0.05$ and 0.01) and capacity of T-AOC, activities of

收稿日期:2008-01-11

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30400604); 国家中医药管理局回国留学人员项目(国中医药发[2004]68号-1); 湖南省教育厅重点项目(04A040); 湖南省自然科学基金杰出青年基金项目(08JJ1005)

作者简介:成细华(1974—),女,湖南省湘潭县人,博士,副教授,主要研究方向为糖尿病及其血管并发症、心脑血管疾病的研究。

Tel: (0731) 5381822 E-mail: chengxihua0309@yahoo.com.cn

* 通讯作者 喻 嵘 Tel: (0731) 8458072

** 湖南中医药大学 2001 级中医 7 年制研究生, 2006 级硕士研究生

*** 湖南中医药大学 2005 级中西 10 班本科生

SOD and GSH-Px in heart, kidney, liver tissue of MKR mice was significantly increased ($P < 0.05$ and 0.01) in a dose dependent manner. **Conclusion** The mechanism of protective effect of Zuogui Recipe on heart, kidney, and liver may be partly correlated with increasing the antioxidative capacity in MKR mice.

Key words: Zuogui Recipe; Type 2 diabetes; MKR mice; glucose metabolism; oxidative stress

糖尿病及其慢性并发症的发病机制及有效防治是世界各国医学界亟待解决的重要课题。近年来,越来越多的证据发现高糖、氧化应激和糖尿病并发症之间密切相关。Brownlee^[1]提出的糖尿病并发症的统一机制学说更是引起了广泛关注。统一机制学说的核心是高糖引起线粒体中超氧阴离子生成过多,导致组织细胞中发生氧化应激,最终导致了糖尿病的各种并发症。了解糖尿病中氧化应激的损伤机制,是寻找新的治疗方法和充分利用当前药物的关键环节之一。

本课题组从美国国立卫生研究院引进的 MKR 小鼠(骨骼肌特异性胰岛素样生长因子-1 及胰岛素双受体功能缺失鼠)是至今为止非常良好的研究 2 型糖尿病的动物模型之一^[2~4],前期工作已证实该模型在国内能成功培育繁殖,且遗传稳定,为国内 2 型糖尿病的研究提供了一个很好的研究平台^[5]。

左归复方(滋阴益气活血解毒组方)由熟地、山茱萸、黄芪、山药、菟丝子、丹参、黄连、葛根等 11 味药组成。喻嵘等^[6]用左归复方治疗转基因 2 型糖尿病 MKR 鼠,证明其能有效改善糖脂代谢,降低血清中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的水平。本实验以左归复方对 MKR 小鼠进行干预治疗,探讨左归复方对 MKR 小鼠糖代谢及抗氧化应激的影响,为其临床用于 2 型糖尿病及其并发症的治疗提供依据。

1 材料

1.1 动物:MKR 小鼠(采用组织特异性过度表达转基因技术产生),由美国国立卫生研究院(Dr. Derek LeRoith)提供的 MKR 小鼠(纯合子),经自然交配后繁殖的子代用于实验观察。C57 野生鼠购自中南大学(实验动物学部),SPF 级,生产许可证号为 SCXK(湘)2006-0002。

1.2 饲养条件及环境:实验用小鼠饲养在湖南中医药大学 SPF 级实验动物中心。饲养笼具、垫料、饲料、饮水均按 SPF 级实验动物的要求进行制备与消毒。

1.3 药物:左归复方由熟地 18 g、山茱萸 12 g、黄芪 18 g、山药 12 g、菟丝子 6 g、丹参 12 g、黄连 6 g、葛根 9 g 等组成,各中药购自湖南中医药大学杏林药号,均由湖南中医药大学附一医院的王雨虹教授鉴定为正品。经水煎两次,合并煎液,滤过,浓缩至含

生药 1 g/mL,4 ℃ 冰箱贮存备用。文迪雅,葛兰素史克(天津)有限公司,批号为 06030009。

1.4 试剂与试剂盒:末端全血葡萄糖测试条,北京怡成生物电子技术有限公司,批号为 20070810;胰岛素放免试剂盒,北京北兔东雅生物技术有限公司提供(批号为 070620);考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒、总抗氧化能力(T-AOC)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性测定试剂盒,均购自南京建成生物工程研究所。

1.5 主要仪器:JPS-Ⅲ型怡成超越血糖测试仪,北京怡成生物电子技术有限公司提供;高速冷冻离心机(Beckman Allerga 25 R),美国;Ultraspac4300 紫外-可见分光光度计,瑞士安法玛西亚公司。

2 方法

2.1 左归复方对 MKR 小鼠的干预作用:50 只经遗传鉴定的 MKR 小鼠在出生第 8 周时剪尾采血进行血糖检测。根据血糖水平、性别分层,随机分为 MKR 模型组,左归复方高、中、低剂量组,阳性对照组(文迪雅),另取 10 只 C57 野生鼠作为对照组。左归复方高、中、低剂量组分别以生药 62.4、31.4、15.6 g/kg ig 给药,文迪雅组以 0.52 g/kg ig 给药, MKR 模型组及对照组以等体积蒸馏水 ig 给药,体积为 0.2 mL/10 g。每日定时给药 1 次,连续给药 30 d。于给药前、给药第 15 天及第 30 天,分别取小鼠尾静脉血,测定空腹血糖。末次给药后 0.5 h,心脏取血,分离血清,-20 ℃ 冰箱保存备用。

2.2 指标检测:电化学法血糖仪进行血糖检测。血糖胰岛素水平采用放射免疫法测定。抗氧化指标的检测:末次给药后 0.5 h,心脏取血后,分离各小鼠心、肾和肝,与预冷的 PBS 缓冲液(1:9)冰上电动匀浆器匀浆,4 ℃ 离心,分离上清液,-20 ℃ 冰箱保存备用。上清液蛋白质定量、T-AOC、MDA 水平、SOD 及 GSH-Px 活性测定严格按试剂盒说明书进行操作。

2.3 统计学处理:多组计量资料数据处理,采用 SPSS 13.0 统计软件 One-Way ANOVA 进行处理分析。

3 结果

3.1 左归复方不同给药时间对 MKR 小鼠血糖及胰岛素的影响:以左归复方 ig 给药 30 d,检测不同时间各组小鼠的空腹血糖及胰岛素的变化。结果表明,左归复方的高剂量与文迪雅阳性对照药在给药 15 d 时,即有显著的降低空腹血糖的作用,与模型组相比差异显著 ($P < 0.05$),且呈剂量依赖性降低。给药 30 d 时,左归复方的高剂量与文迪雅阳性对照药均有显著的降低空腹血糖的作用,与模型组相比差异非常显著 ($P < 0.01$);与给药前相比差异显著 ($P < 0.05$)。且左归复方的高剂量与阳性对照药文迪雅的降低空腹血糖的作用相当。此外,给药 30 d 时,左归复方有降低空腹胰岛素水平的作用,且呈剂量依赖性,左归复方的高剂量与文迪雅阳性对照药

均有显著的降低空腹胰岛素的作用,与模型组相比,差异显著 ($P < 0.01, 0.05$)。结果见表 1。

3.2 左归复方对 MKR 小鼠心、肝和肾抗氧化应激的影响

3.2.1 对 MKR 小鼠心脏 T-AOC、MDA 水平、SOD 和 GSH-Px 活性的影响:与对照组比较,模型组心脏 MDA 水平显著升高 ($P < 0.01$),T-AOC、SOD 和 GSH-Px 活性显著降低 ($P < 0.01$)。左归复方 ig 给药 30 d,MKR 鼠心脏 T-AOC 增强,呈剂量依赖性,但与模型组比较无统计学意义 ($P > 0.05$);不同剂量左归复方治疗后,MDA 水平均显著降低 ($P < 0.05, 0.01$),SOD 和 GSH-Px 活性均显著升高 ($P < 0.05, 0.01$),且呈剂量依赖性,结果见表 2。

3.2.2 对 MKR 小鼠肝脏组织中 T-AOC、MDA

表 1 左归复方对 MKR 小鼠血清空腹血糖及胰岛素的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Effect of Zuogui Recipe on fasting blood glucose and insulin in serum of MKR mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (g · kg ⁻¹)	空腹血糖/(mmol · L ⁻¹)			空腹胰岛素/(μU · mL ⁻¹)
		给药前	给药 15 d	给药 30 d	给药 30 d
对照	—	3.84 ± 0.37**	4.12 ± 0.31**	3.35 ± 0.28**	9.23 ± 2.54**
MKR	—	8.72 ± 2.16	9.18 ± 2.56	9.57 ± 1.73	32.58 ± 6.74
左归复方	15.6	9.47 ± 2.52	9.13 ± 1.63	8.72 ± 1.23	29.23 ± 6.32
	31.4	9.16 ± 2.13	8.85 ± 0.93	8.46 ± 1.05	23.02 ± 5.23
	62.4	9.34 ± 2.48	7.40 ± 0.75**	7.07 ± 0.89**Δ	17.06 ± 4.72**
文迪雅	0.52	9.25 ± 2.32	8.04 ± 1.23*	8.25 ± 1.62**	21.33 ± 5.48*

与 MKR 模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与文迪雅组比较: Δ $P < 0.05$; 与给药前比较: * $P < 0.05$

** $P < 0.01$ vs MKR model group; Δ $P < 0.05$ vs Wendiya group; * $P < 0.05$ vs before treatment

表 2 左归复方对 MKR 小鼠心脏 T-AOC、MDA 水平、SOD 和 GSH-Px 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effect of Zuogui Recipe on T-AOC capacity, MDA level, SOD and GSH-Px activities

in heart tissue of MKR mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g · kg ⁻¹)	T-AOC/(U · mg ⁻¹)	MDA/(nmol · mg ⁻¹)	SOD/(U · mg ⁻¹)	GSH-Px/(U · mg ⁻¹)
对照	—	15.08 ± 3.38**	5.02 ± 0.50**	119.18 ± 11.65**	782.94 ± 67.85**
MKR 模型	—	10.68 ± 1.39	5.85 ± 0.63	72.52 ± 10.55	655.81 ± 82.17
左归复方	15.6	21.15 ± 2.73	4.21 ± 0.74*	110.47 ± 15.52**	725.60 ± 42.92*
	31.4	12.54 ± 2.32	3.98 ± 0.69**	113.63 ± 13.58**	735.32 ± 51.21*
	62.4	12.74 ± 2.52	3.69 ± 0.77**	117.23 ± 13.23**	746.42 ± 80.81*
文迪雅	0.52	12.47 ± 2.25	4.50 ± 0.79**	116.94 ± 6.77**	734.66 ± 65.69*

与 MKR 模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs MKR model group

水平、SOD 和 GSH-Px 活性的影响:与对照组比较,模型组肝脏 MDA 水平显著升高 ($P < 0.01$),T-AOC、SOD 和 GSH-Px 活性显著降低 ($P < 0.01$)。左归复方 ig 给药 30 d,MKR 鼠肝脏 T-AOC 增强,呈剂量依赖性,仅高剂量组与模型组比较有统计学意义 ($P < 0.05$);不同剂量左归复方治疗后,MDA 水平均显著降低 ($P < 0.05$),SOD 和 GSH-Px 活性均升高,其中中、高剂量组与模型组比较有统计学意义 ($P < 0.05, 0.01$)。MDA 水平、SOD 和 GSH-Px 活性变化均呈剂量依赖性,结果见表 3。

3.2.3 对 MKR 小鼠肾脏 T-AOC、MDA 水平、SOD 和 GSH-Px 活性的影响:与对照组比较,模型组肾脏 MDA 水平显著升高 ($P < 0.01$),T-AOC、SOD 和 GSH-Px 活性显著降低 ($P < 0.01$)。左归复方 ig 给药 30 d,MKR 鼠肾脏 T-AOC 增强,呈剂量依赖性,但与模型组比较各剂量组均无统计学意义 ($P > 0.05$);不同剂量左归复方治疗后,MDA 水平均显著降低 ($P < 0.01$),SOD 和 GSH-Px 活性均显著升高 ($P < 0.05, 0.01$),且呈剂量依赖性,结果见表 4。

表 3 左归复方对 MKR 小鼠肝脏 T-AOC、MDA 水平、SOD 和 GSH-Px 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effect of Zuogui Recipe on T-AOC capacity, MDA level, SOD and GSH-Px activities in liver tissue of MKR mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g · kg ⁻¹)	T-AOC/(U · mg ⁻¹)	MDA/(nmol · mg ⁻¹)	SOD/(U · mg ⁻¹)	GSH-Px/(U · mg ⁻¹)
对照	—	16.96 ± 3.31**	3.43 ± 0.73*	98.59 ± 8.28**	764.47 ± 78.17**
MKR 模型	—	8.69 ± 1.97	4.52 ± 0.86	73.67 ± 7.48	606.81 ± 91.77
左归复方	15.6	9.22 ± 2.00	3.80 ± 0.35*	94.98 ± 13.81	678.32 ± 69.18
	31.4	10.56 ± 2.36	3.67 ± 0.45*	89.13 ± 11.23*	702.19 ± 63.23*
	62.4	12.31 ± 2.58*	3.54 ± 0.84*	96.77 ± 10.80**	725.48 ± 46.36**
文迪雅	0.52	12.58 ± 2.85	3.62 ± 0.82*	93.58 ± 13.72**	749.28 ± 64.94**

与 MKR 模型组比较: *P<0.05 **P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs MKR model group

表 4 左归复方对 MKR 小鼠肾脏 T-AOC、MDA 水平、SOD 和 GSH-Px 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 4 Effect of Zuogui Recipe on T-AOC capacity, MDA level, SOD and GSH-Px activities in kidney tissue of MKR mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g · kg ⁻¹)	T-AOC/(U · mg ⁻¹)	MDA/(nmol · mg ⁻¹)	SOD/(U · mg ⁻¹)	GSH-Px/(U · mg ⁻¹)
对照	—	17.96 ± 3.74**	9.72 ± 1.15**	127.19 ± 18.15**	98.59 ± 8.28**
MKR 模型	—	8.40 ± 1.79	17.01 ± 2.12	77.05 ± 12.66	73.67 ± 7.48
左归复方	15.6	9.22 ± 2.00	13.13 ± 3.19**	114.18 ± 13.18**	84.98 ± 13.81*
	31.4	9.63 ± 1.89	12.13 ± 3.21**	121.22 ± 15.24**	89.56 ± 12.31*
	62.4	10.31 ± 2.38	11.06 ± 1.59**	128.40 ± 20.21**	96.77 ± 10.80**
文迪雅	0.52	10.58 ± 1.85	10.41 ± 1.91**	122.50 ± 15.77**	93.58 ± 13.72**

与 MKR 模型组比较: *P<0.05 **P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs MKR model group

4 讨论

近年来,随着脂肪内分泌学科的发展,炎症反应、氧化应激学说在 2 型糖尿病及其血管并发症的研究中成为热点。2 型糖尿病及其慢性并发症通常具有的“虚、瘀、毒”的中医病机与炎症反应、氧化应激发病学说之间有相当的认同性。2 型糖尿病及其并发症的“虚”,主要是肝肾阴虚,脾气亏虚,是机体产生炎症反应、氧化应激损伤的基本条件,而“瘀、毒”等病理产物的形成与聚积又标志着炎症因子的聚集、高凝状态、活性氧和活性氮的产生,以及炎症反应、氧化应激损伤的发生发展。同时,中医又有“脾肾为先后天之本”、“脾主四肢肌肉”的认识,本研究中所采用的 MKR 小鼠,因其骨骼肌特异性胰岛素样生长因子-1 受体和胰岛素受体功能缺失而出现的糖代谢异常、胰岛 β 细胞分泌障碍、胰岛素抵抗及慢性炎症状态(如 FFA、血液及肝脏中甘油三酯水平异常)等^[8-10],似与“虚、瘀、毒”的病机认识更有一致性。

研究报道,糖尿病中抗氧化酶的基因表达由于高糖的作用而下调,而其活性基团发生糖基化,也可引起其活性下降,自由基清除能力减弱,故抗氧化酶在糖尿病氧化应激中起重要作用^[11]。本实验中,MKR 小鼠空腹血糖和空腹血胰岛素水平均高于 C57 野生鼠,有统计学意义,与已往报道一致^[5]。另

外,MKR 小鼠心、肾和肝中抗氧化酶 SOD 和 GSH-Px 活性均显著降低,T-AOC 降低,而 MDA 的水平显著升高,说明高血糖导致心、肾和肝中的氧化应激反应增强,过多的过氧化产物将进一步引起心、肾和肝等多种组织的损伤,参与糖尿病慢性并发症的发生和发展,其详细机制有待进一步研究。

2 型糖尿病及其并发症属于中医“消渴”的范畴。传统及现代中医临床研究已表明,气阴两虚兼燥热血瘀是 2 型糖尿病的基本病机。然而,时至今日,滋阴益气法仍然是临床治疗 2 型糖尿病的主要治法,而对清热解毒、活血化痰法的应用则未引起足够的重视,实验研究及相关机制的探讨更为不足。本课题组在前期临床研究与临床文献调研中认为其主要病理机制为气阴两虚,夹瘀血热毒(虚、瘀、毒),并据此以滋阴益气、活血解毒立法组成的左归复方分别用于 2 型糖尿病及其合并症的防治^[12,13]。本研究以左归复方进行干预治疗,研究表明左归复方具有显著降低 MKR 小鼠空腹血糖、改善高胰岛素血症的作用,对 MKR 小鼠心、肾和肝组织有明显保护作用,其作用机制部分与抑制心、肾和肝组织氧化应激增加有关,进一步研究可能为糖尿病心、肾和肝组织慢性并发症防治提供新措施。

致谢:美国 National Institutes of Health (Dr. Derek LeRoith) 提供 MKR 小鼠。

参考文献:

- [1] Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications [J]. *Nature*, 2001, 414: 813-820.
- [2] Fernandez A M, Kim J K, Yakar S, et al. Functional inactivation of the IGF-1 and insulin receptor in skeletal muscle causes type 2 diabetes [J]. *Genes Dev*, 2001, 15: 1926-1934.
- [3] Kim J K, Zisman A, Fillmore J J, et al. Glucose toxicity and the development of diabetes in mice with muscle-specific inactivation of GLUT4 [J]. *J Clin Invest*, 2001, 108: 153-160.
- [4] LeRoith D L, Kim H, Fernandez A M, et al. Inactivation of muscle insulin and IGF-1 receptors and insulin responsiveness [J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2002, 5: 371-375.
- [5] 喻嵘, 成细华, 胡伟, 等. 骨骼肌特异性胰岛素样生长因子1及胰岛素双受体功能缺失鼠糖尿病及其相关炎症因子的变化 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11(45): 9075-9078.
- [6] 喻嵘, 陈大舜, 邓奕辉, 等. 左归双降方对葡萄糖、胰岛素、低密度脂蛋白诱导人脐静脉内皮细胞损伤的干预作用 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2005, 12(1): 17-19.
- [7] 吴勇军, 喻嵘, 胡伟, 等. 滋阴益气活血解毒组方对 MKR 转基因2型糖尿病小鼠糖代谢的影响 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2007, 27(2): 20-23.
- [8] Fernandez A M, Dupont J, Farrar R P, et al. Muscle-specific inactivation of the IGF-1 receptor induces compensatory hyperplasia in skeletal muscle [J]. *J Clin Invest*, 2002, 109: 347-355.
- [9] Toyoshima Y, Gavrilova O, Yakar S, et al. Leptin improves insulin resistance and hyperglycemia in a mouse model of type 2 diabetes [J]. *Endocrinology*, 2005, 146(9): 4024-4035.
- [10] Kim H, Pennisi P, Zhao H, et al. MKR mice are resistant to the metabolic actions of both insulin and adiponectin: discordance between insulin resistance and adiponectin responsiveness [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2006, 291(2): 298-305.
- [11] Bhor V M, Raghuram N, Sivakamis S. Oxidative damage and altered antioxidant enzyme activities in the small intestine of streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *J Biochem Cel Biol*, 2004, 36: 89-97.
- [12] 喻嵘, 陈大舜. 左归丸加减方对实验性糖尿病大鼠降糖作用的实验研究 [J]. *中国中医药科技*, 2000, 7(3): 157-159.
- [13] 喻嵘, 陈大舜, 梅志刚, 等. 左归双降方对葡萄糖、胰岛素、低密度脂蛋白诱导损伤的血管内皮细胞 ICAM-1、tPA、PAI 的影响 [J]. *中医药学刊*, 2005, 23(1): 61-63.

大黄素对人高转移卵巢癌细胞中癌相关基因表达的影响

何太平^{1,2}, 莫丽儿³, CHEN George-gong⁴, 梁念慈^{1,3*}

(1. 广东医学院生物化学与分子生物学研究所, 广东 湛江 524023; 2. 广东医学院检验学院, 广东 湛江 524023; 3. 广东天然药物研究与开发重点实验室, 广东 湛江 524023; 4. 香港中文大学威尔斯亲王医院 外科学系, 香港 中国)

摘要:目的 探讨大黄素对人高转移卵巢癌抗肿瘤的可能作用机制。方法 应用肿瘤基因芯片检测大黄素 (40 μmol/L) 对人高转移卵巢癌 HO-8910PM 细胞中癌相关基因表达的影响, 并且实时定量 PCR 和 Western blotting 进行验证。结果 共筛选出表达差异基因 69 个, 其中 33 个基因表达水平上调, 36 个基因表达水平下调, 涉及细胞凋亡、细胞周期、细胞生长与分化、细胞运动、信号转导、基因转录和细胞代谢等 7 大类相关基因。结论 基因芯片结果提示大黄素抗肿瘤作用可能与转化生长因子-β(TGF-β)信号转导通路密切相关。

关键词: 大黄素; 卵巢癌; 基因芯片

中图分类号: R282.71; R963 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2008)11-1679-06

Effect of emodin on cancer-related gene expression in HO-8910PM cells

HE Tai-ping^{1,2}, MO Li-er³, CHEN George-gong⁴, LIANG Nian-ci^{1,3}

(1. Institute of Biochemistry and Molecular Biology, Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023, China; 2. College of Laboratory Medicine, Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023, China; 3. Guangdong Key Laboratory for Research and Development of Natural Drugs, Zhanjiang 524023, China; 4. Department of Surgery, Prince of Wales Hospital, The Chinese University of HongKong, HongKong China)

Abstract: Objective To explore the mechanism of antitumor effect of emodin on highly metastatic ovarian carcinoma HO-8910PM cells. **Methods** The cancer-related gene expression profiles of HO-8910PM cells with and without emodin-treatment were analyzed using genechip technology. To validate the gene chip data, some differential expression genes, including BRCA1, GDF15, and NR1D1 were analyzed by fluorescent quantitative real-time PCR and Western blotting assay. **Results** Sixty-nine

收稿日期: 2008-02-17

基金项目: 粤港科技合作项目 (GHP/022/06); 广东省中医药局课题 (1050047); 广东省科技计划项目 (2007B030702003)

作者简介: 何太平 (1970-), 男, 湖南祁东人, 副研究员, 硕士生导师, 从事中草药活性成分的生化药理学教学及科研工作, 发表论文 20 余篇, 获省、市厅级科研课题共 5 项。Tel: (0759) 2388634-5 E-mail: taipinghe@163.com

* 通讯作者 梁念慈 Tel: (0759) 2388501 E-mail: nliang@gdmc.edu.cn