

治疗前列腺炎和前列腺增生症。有补肾固本的作用。花粉有抗雄性激素的作用,能改善尿道黏膜及其周围组织水肿,缩小前列腺体积。同时花粉具有促进机体代谢及造血、免疫等功能,因此更适合老年病例的临床应用,值得进一步推广<sup>[3]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] 国际协调会有关前列腺疾病患者诊断和治疗方法的推荐意见[S]. 1994.
- [2] 郭芳彬. 蜂花粉与前列腺增生[J]. 蜜蜂杂志, 2000(10): 27-28.
- [3] 祝匡普, 刘明. 前列腺治疗良性前列腺增生症的药效分析[J]. 中国社区医师, 2006(1): 16.

## 新工艺金芪降糖片对小鼠胰岛素抵抗和脾细胞功能的影响

潘亮, 朱江\*, 谢文利, 晋玉章, 金鑫

(武警医学院 药理学教研室, 天津 300162)

**摘要:**目的 研究新工艺金芪降糖片对小鼠胰岛素抵抗和脾细胞免疫功能的影响,并与原工艺金芪降糖片进行比较,验证降低成本后新工艺制备金芪降糖片的疗效。方法 健康雄性 ICR 小鼠 60 只、C57BL/6 小鼠 36 只,采用氢化可的松分别诱导胰岛素抵抗性糖尿病模型及免疫抑制模型。观察 ig 给予高、中、低剂量新工艺金芪降糖片(7.2、3.6、1.8 生药 g/kg,对小鼠胰岛素抵抗及脾 T 淋巴细胞增殖转化能力、脾细胞分泌白细胞介素-2 (IL-2) 和产生抗体能力的影响。结果 与模型组比较,高、中剂量组新工艺金芪降糖片可以改善氢化可的松诱发的胰岛素抵抗;不同程度地提高氢化可的松免疫抑制小鼠的脾脏 T 淋巴细胞增殖转化能力及脾细胞分泌 IL-2 和产生抗体能力 ( $P < 0.05$ )。结论 新工艺金芪降糖片可以改善小鼠胰岛素抵抗及脾细胞免疫功能,降低成本后新工艺制备金芪降糖片与原工艺金芪降糖片在相同剂量下疗效相当。

**关键词:**新工艺金芪降糖片;胰岛素抵抗;氢化可的松

**中图分类号:**R286.1

**文献标识码:**A

**文章编号:**0253-2670(2009)12-1947-03

目前全球糖尿病患者已超过 1 亿人,其中 2 型糖尿病患者约占 90%。金芪降糖片是以金银花、黄芪为主要组成的中药降糖药物,已在临床就用多年<sup>[1]</sup>。在不改变主要原料配方的前提下,从生产工艺上应用超声冷冻技术新工艺制备金芪降糖片,使现有药物含量增中 1 倍,大大降低了生产成本。本实验通过氢化可的松诱导建立动物模型,观察新工艺金芪降糖片对于小鼠胰岛素抵抗和脾细胞免疫功能的调控作用,并与原工艺药物进行比较,验证新工艺金芪降糖片的疗效,为临床用药提供实验依据。

### 1 材料

1.1 药物:新工艺金芪降糖片(批号 0405001,规格:药粉相当于生药 4.2 g/kg,由天津市药品检验所提供,实验前用蒸馏水配制成混悬液,保存于 0~4 °C 冰箱内备用)。原工艺金芪降糖片(批号 040601,规格:药粉相当于生药 2.1 g/g,天津中新药业集团股份有限公司生产)。氢化可的松注射液(批号 20050101,江苏扬州制药厂生产),胰岛素注射液(批号 0406001,吉林省通化东宝药业有限公司生产)。

司生产)。

1.2 试剂:PRMI 1640 (美国 Gibco 公司),噻唑蓝 (MTT,美国 Amresco 公司),刀豆蛋白 (ConA,美国 Sigma 公司)。

1.3 实验仪器:SUNRISE 酶标仪 (瑞士 TECAN 公司),CO<sub>2</sub> 细胞培养箱 (美国 SIM 公司),TS100 倒置显微镜 (日本 Nikon 公司),AT250 电子天平 (瑞士 Mettler 公司),JA1003N 普通电子天平 (上海精密科学仪器有限公司),LDZ 0.8 离心机 (北京医用离心机厂)。

1.4 动物:健康雄性 ICR 小鼠 60 只,C57BL/6 小鼠 36 只,北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号:SCXK (京) 2002-0003。

### 2 方法

2.1 新工艺金芪降糖片对氢化可的松诱发小鼠胰岛素抵抗的影响:按文献方法<sup>[2]</sup>,取健康雄性 ICR 小鼠 60 只,随机分为 6 组,分别为对照组,模型组,原工艺金芪降糖片 (生药 3.6 g/kg) 组,新工艺金芪降糖片低、中、高剂量 (生药 1.8、3.6、7.2 g/kg)

收稿日期:2009-01-17

基金项目:武警部队科研基金 (WKH2006-2)

作者简介:潘亮 (1980—),男,武警医学院硕士研究生在读,主要从事降糖药物的药理作用研究。

\* 通讯作者 朱江 Tel: (022) 60578033 E-mail: tuofu666@sina.com

组。除对照组外,其余 5 组 sc 氢化可的松 (36 mg/kg) 诱导胰岛素抵抗性糖尿病模型,同时 ig 给予受试药,对照组与模型组分别 ig 生理盐水 0.2 mL/10 g,连续 9 d,第 10 天 ip 0.5 μg/kg 胰岛素,葡萄糖氧化酶法测定给予胰岛素后 0、0.67 h 的血糖值,计算血糖下降百分数。

2.2 新工艺金芪降糖片对 ConA 诱导的氢化可的松免疫抑制小鼠脾脏淋巴细胞增殖转化的影响:取健康雄性 C57BL/6 小鼠 36 只,按 2.1 项方法随机分为 6 组,除对照组外,其余 5 组 sc 氢化可的松 (36 mg/kg) 诱导免疫抑制模型<sup>[3]</sup>,同时分别 ig 给予相应剂量受试药。10 d 后处死小鼠,无菌取脾制备细胞悬液,参照 Seki 等<sup>[4]</sup>的方法,MTT 法检测各组小鼠脾脏 T 淋巴细胞对 ConA 的增殖反应,以 A<sub>570 nm</sub> 值表示。

2.3 新工艺金芪降糖片对氢化可的松免疫抑制小鼠脾细胞分泌白细胞介素-2 (IL-2) 能力的影响:动物分组、给药及造模方法同 2.2 项。参考文献方法<sup>[5]</sup>,将脾细胞悬液浓度调整至 5×10<sup>9</sup> 个/mL,以 ConA 刺激适当培养后,离心收集上清液待检。以 ConA 刺激,制备活化的脾淋巴细胞,配成 5×10<sup>8</sup> 个/L 的细胞悬液,作为测定 IL-2 的反应细胞,MTT 法测定小鼠脾细胞分泌 IL-2 的能力,以 A<sub>570 nm</sub> 值表示。

2.4 新工艺金芪降糖片对氢化可的松免疫抑制小鼠脾细胞产生抗体能力的影响:动物分组、给药及造模方法同 2.2 项。调整脾细胞悬液浓度至 5×10<sup>6</sup> 个/mL,采用脾细胞介导的绵羊红细胞溶血分光光度计测定 (QHS) 法<sup>[6]</sup>测定小鼠脾细胞产生抗体能力,以 A<sub>405nm</sub> 值表示。

2.5 统计学方法:所有实验结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,统计方法用 SPSS 11.0 进行单因素方差分析,用 F、q 检验。

3 结果

3.1 新工艺金芪降糖片对氢化可的松诱发小鼠胰岛素抵抗的影响:应用胰岛素后 0.67 h,各组小鼠血糖值均有下降,与模型组比较,高、中、剂量组新工艺金芪降糖片使血糖值下降幅度明显增高 (P<0.05),同剂量下与原工艺金芪降糖片组作用相近 (P>0.05),高、中剂量组间差异不明显,结果见表 1。

3.2 新工艺金芪降糖片对 ConA 诱导的氢化可的松免疫抑制小鼠脾脏淋巴细胞增殖转化的影响:与模型组比较,只有高剂量新工艺金芪降糖片能提高氢化可的松免疫抑制小鼠脾脏 T 淋巴细胞的增殖

活性 (P<0.01),其他各组药物对脾脏 T 淋巴细胞的增殖转化作用不明显。见表 2。

表 1 新工艺金芪降糖片对氢化可的松诱导小鼠胰岛素抵抗的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , n=10)

| 组别       | 剂量/<br>(g·kg <sup>-1</sup> ) | 血糖值/(mmol·L <sup>-1</sup> ) |              | 下降率/<br>% |
|----------|------------------------------|-----------------------------|--------------|-----------|
|          |                              | 0 h                         | 0.67 h       |           |
| 对照       | —                            | 5.92±0.88                   | 3.59±1.21    | 39.13     |
| 模型       | —                            | 10.93±1.33△△                | 8.27±1.68△△  | 24.78     |
| 原工艺金芪降糖片 | 3.6                          | 9.38±1.18△△*                | 6.76±0.91△△* | 27.24     |
| 新工艺金芪降糖片 | 1.8                          | 10.01±2.37△△                | 7.08±1.32△△  | 26.77     |
|          | 3.6                          | 9.35±1.70△△*                | 6.81±0.87△△* | 24.36     |
|          | 7.2                          | 9.43±1.12△△*                | 6.68±1.32△△* | 29.28     |

与对照组比较:△△P<0.01; 与模型组比较:\*P<0.05  
△△P<0.01 vs control group; \*P<0.05 vs model group

表 2 新工艺金芪降糖片对氢化可的松免疫抑制小鼠脾细胞免疫功能的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , n=6)

| 组别       | 剂量/<br>(g·kg <sup>-1</sup> ) | 脾细胞增殖活性               | 脾细胞产生 IL-2            | 脾细胞产生抗体               |
|----------|------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
|          |                              | (A <sub>570nm</sub> ) | (A <sub>570nm</sub> ) | (A <sub>405nm</sub> ) |
| 对照       | —                            | 0.209±0.022           | 0.242±0.013           | 0.351±0.030           |
| 模型       | —                            | 0.112±0.018△△         | 0.168±0.016△△         | 0.257±0.025△△         |
| 原工艺金芪降糖片 | 3.6                          | 0.125±0.021△△         | 0.243±0.028**         | 0.350±0.020**         |
| 新工艺金芪降糖片 | 1.8                          | 0.095±0.022△△         | 0.186±0.021△△         | 0.281±0.018△△         |
|          | 3.6                          | 0.123±0.012△△         | 0.237±0.024**         | 0.366±0.022**         |
|          | 7.2                          | 0.188±0.024**         | 0.258±0.012**         | 0.377±0.022**         |

与对照组比较:△△P<0.01  
与模型组比较:\*P<0.05 \*\*P<0.01  
△△P<0.01 vs control group  
\*P<0.05 \*\*P<0.01 vs model group

3.3 新工艺金芪降糖片对氢化可的松免疫抑制小鼠脾细胞分泌 IL-2 能力的影响:与模型组比较,高、中剂量新工艺金芪降糖片可以明显提高氢化可的松免疫抑制小鼠脾细胞分泌 IL-2 的能力 (P<0.01),使其达到对照组的水平,同剂量下作用与原工艺金芪降糖片组相近 (P>0.05),低剂量新工艺金芪降糖片对脾细胞分泌 IL-2 的作用不显著。见表 2。

3.4 新工艺金芪降糖片对氢化可的松免疫抑制小鼠脾细胞产生抗体能力的影响:与模型组比较,3 个剂量新工艺金芪降糖片均可提高免疫抑制小鼠脾细胞产生抗体的能力 (P<0.01、0.05),同剂量下作用与原工艺金芪降糖片组相近 (P>0.05)。见表 2。

4 讨论

糖尿病是由胰岛素分泌和/或胰岛素作用受损而引起的以高血糖为主要特征的代谢疾病综合症,

临床上主要分为1型和2型糖尿病两种类型。现已证明,胰岛素抵抗是2型糖尿病的主要发病机制之一<sup>[7]</sup>,胰岛素抵抗与胰岛素作用的相对不足是2型糖尿病患者体内天然免疫的激活因素,并产生高细胞因子血症,这些细胞因子作为免疫反应的中介者和调节者,在胰岛 $\beta$ 细胞损伤中起重要作用<sup>[8]</sup>。有学者认为2型糖尿病患者HLA-DR抗原频率增高,在诱发因素的作用下导致血糖升高, $CD_4^+$ / $CD_8^+$ 比值下降, $CD_4^+$ 细胞的活性增殖受到抑制,使 $CD_4^+$ 细胞产生细胞因子(如IL-2)减少,协助B细胞产生抗体和辅助其他淋巴细胞功能减弱,IL-2R由 $CD_4^+$ 细胞膜上脱落入血液循环,抑制已活化的T细胞克隆性扩增,使机体的免疫功能受到抑制<sup>[9]</sup>。长期高血糖状态又进一步使红细胞胰岛素受体糖基化,受体敏感性降低,粒细胞功能受损,其趋化性、吞噬及杀菌能力减低,细胞介导的免疫受损,T淋巴细胞对有丝分裂原反应降低,致使2型糖尿病患者存在免疫功能缺陷,抵抗力较差,发生各种感染比正常人高数倍<sup>[10]</sup>。因此,是否能改善胰岛素抗性,是早期预防和治疗2型糖尿病的重要措施,而调节机体免疫功能对于糖尿病的治疗亦显得尤为重要。新工艺金芪降糖片是在不改变主要原料配方的前提下,从生产工艺上应用超声冷冻技术制备而成,使现有药物生药含量增加1倍,大大降低药物生产成本。本实验结果表明,新工艺金芪降糖片可以使胰岛素抵抗性糖尿病模型小鼠在注射胰岛素后,血糖值降低幅度显著增加。对ConA诱导的脾脏T淋巴细胞增殖转化影响有明显作用,并具有提高脾细胞产生IL-2的活性,增强免疫抑制小鼠脾细胞产生抗体的能力。同等生药剂量下作用与原工艺金芪降糖片

相当,基本达到了通过改变工艺降低成本而保证疗效不变的目的,同时减少患者药物服用量,方便使用。上述结果提示该药物可以明显改善氢化可的松诱发的胰岛素抵抗,不同程度地提高氢化可的松免疫抑制小鼠的脾细胞免疫功能。推测新工艺金芪降糖片在对改善胰岛素抵抗及调节脾细胞免疫功能方面具有一定作用,有益于增强机体免疫力,提高糖尿病患者的生活质量。

#### 参考文献:

- [1] 申竹芳. 金芪降糖片抗糖尿病的药理作用基础[J]. 国外医学:内分泌学分册, 2004, 5(24): 215-216.
- [2] Yamaguchi K, Matsuoka A. Effect of pretreatment with hydrocortisone in isolated islets from rats fed with a high fat diet[J]. *Exp Clin Endocrinol*, 1983, 82: 304-308.
- [3] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1993.
- [4] Seki H, Lwai K, Kanegane H, et al. Differential protective action of cytokines on radiation-induced apoptosis of peripheral lymphocyte subpopulations[J]. *Cell Immunol*, 1995, 163(22): 30-36.
- [5] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 第3版. 北京:人民卫生出版社, 2001.
- [6] 金伯泉. 细胞和分子免疫学实验技术[M]. 第四军医大学出版社, 2003.
- [7] Kernan W N, Inzuchi S E. Type 2 diabetes mellitus and insulin resistance; Stroke prevention and management[J]. *Cure Treat Options Neurol*, 2004, 6: 443-450.
- [8] Gupta D, Varma S, Khandelwal R L. Long-term effect of tumor necrosis factor- $\alpha$  treatment on insulin signaling pathway in HepG2 cells and HepG2 cells overexpressing constitutively active Akt/PKB[J]. *J Cell Biochem*, 2007, 100(3): 593-607.
- [9] Leinonen E, Hurt-Camejo E, Wiklund O, et al. Insulin resistance and adiposity correlate with acute-phase reaction and soluble cell adhesion molecules in type 2 diabetes[J]. *Atherosclerosis*, 2003, 166(2): 387-394.
- [10] Zambad S P, Upganlawar S P, Umathe S N. A synergistic decline in humoral and cellular immunity of diabetic mice on exposure to polluted air[J]. *Indian J Physiol Pharmacol*, 1999, 43: 474-478.

## 王不留行提取物抑制血管生成的药效学研究

冯磊<sup>1</sup>, 花慧<sup>1</sup>, 邱丽颖<sup>1</sup>, 张莲芬<sup>2</sup>, 金坚<sup>2\*</sup>

(1. 江南大学医药学院天然药物研究室, 江苏无锡 214122; 2. 江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 江苏无锡 214122)

**摘要:**目的 探讨王不留行提取物对肿瘤新生血管生成的抑制作用。方法 采用鸡胚尿囊膜血管生成模型分析王不留行提取物对新生血管生成的影响, 用免疫组化染色法检测荷瘤小鼠C51结肠癌细胞中CD31表达的变化。

收稿日期: 2009-03-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30772586)

作者简介: 冯磊(1974—), 男, 江苏省无锡人, 博士生, 副教授, 主要研究方向为天然药物的新药研究与开发、生物制药等。

Tel: (0510) 85327353 E-mail: feng2000lei@yahoo.com.cn

\* 通讯作者 金坚 E-mail: jinjian31@126.com