

蒲公英水提取物对 2 型糖尿病大鼠胰岛素抵抗的作用研究

张新鹃, 王海凤, 孙永显, 邢冬杰(山东中医药高等专科学校, 山东 烟台 264199)

摘要: **目的** 观察蒲公英水提取物对 2 型糖尿病大鼠胰岛素抵抗的影响, 并探讨其改善胰岛素抵抗的作用机制。**方法** 用高脂高糖饮食联合小剂量链脲佐菌素(STZ)建立 2 型糖尿病大鼠胰岛素抵抗模型。将成模大鼠随机分为模型组, 蒲公英水提取物高、中、低剂量组及吡格列酮组, 并设正常组作对照。蒲公英水提取物高、中、低剂量组分别灌胃 500、250、125 mg·kg⁻¹ 蒲公英水提取物稀释液, 吡格列酮组灌胃 3.15 mg·kg⁻¹ 吡格列酮溶液, 正常组及模型组灌胃等体积生理盐水, 每日 1 次, 连续 4 周。观察大鼠一般状态及测定体质量; 测定大鼠空腹血糖(FBG), 行口服葡萄糖耐量试验(OGTT)并计算血糖曲线下面积(AUC); 测定大鼠血清胰岛素(FINS)并计算胰岛素敏感指数(ISI)及胰岛素抵抗指数(IRI); 测定大鼠血清白细胞介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)及肝脏组织 IκB 激酶 β(IKK-β)、核因子 κB(NF-κB)mRNA 表达; HE 染色观察大鼠胰岛形态; 免疫组化染色观察大鼠胰岛 β 细胞数目及胰岛素表达。**结果** 与正常组比较, 模型组大鼠多饮、多食、多尿现象明显, 精神不振、活动减少, 体质量下降明显($P < 0.01$); FBG、OGTT 各时间点血糖、AUC 均明显升高($P < 0.01$); FINS、IRI 明显升高($P < 0.01$), ISI 明显降低($P < 0.01$); IL-6、TNF-α、IKK-β、NF-κB 均明显增加($P < 0.01$); HE 染色胰岛形态不规则, 边界模糊, 胰岛细胞数目明显减少; 免疫组化染色胰岛 β 细胞数目及胰岛素表达均明显减少。与模型组比较, 蒲公英水提取物高、中剂量组大鼠的多饮、多食、多尿现象及精神状态明显改善, 体质量增加明显($P < 0.01$, $P < 0.05$); FBG、OGTT 各时间点血糖及 AUC 均明显降低($P < 0.01$, $P < 0.05$); FINS、IRI 明显降低($P < 0.01$, $P < 0.05$), ISI 明显升高($P < 0.01$); IL-6、TNF-α、IKK-β、NF-κB 均明显减少($P < 0.01$, $P < 0.05$); HE 染色胰岛形态及胰岛细胞数目改善明显, 以高剂量组为佳; 免疫组化染色胰岛 β 细胞数目及胰岛素表达明显增加, 以高剂量组为佳。**结论** 蒲公英水提取物可以有效改善 2 型糖尿病大鼠的胰岛素抵抗, 以高剂量为佳, 其机制可能与下调 IKK-β/NF-κB 信号通路中 IKK-β、NF-κB 的表达, 减少炎症因子 IL-6、TNF-α 的生成有关。

关键词: 蒲公英水提取物; 2 型糖尿病; 胰岛素抵抗; 炎症因子; 白细胞介素 6(IL-6); 肿瘤坏死因子 α(TNF-α); 大鼠

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2021)01-0017-06

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.01.002

Effect of Dandelion Water Extract on Insulin Resistance in Type 2 Diabetic Rats

ZHANG Xinjuan, WANG Haifeng, SUN Yongxian, XING Dongjie (Shandong College of Traditional Chinese Medicine, Yantai 264199 Shandong, China)

Abstract: **Objective** To observe the effect of dandelion water extract on insulin resistance in type 2 diabetic rats, and to explore its mechanism of improving insulin resistance. **Methods** The insulin resistance model of type 2 diabetic rats was established by high-fat and high-sugar diet combined with low-dose streptozotocin (STZ). The model rats were randomly divided into model group, dandelion water extract high, medium and low dose group, pioglitazone group, and normal group as control. The dandelion water extract high, medium and low dose group were given 500, 250, 125 mg·kg⁻¹ water extract dilutions by gavage, pioglitazone group was given 3.15 mg·kg⁻¹ pioglitazone solution, normal group and model group were given equal volume of normal saline, once a day for

收稿日期: 2020-05-28

作者简介: 张新鹃, 女, 副教授, 硕士, 研究方向: 糖尿病的基础研究及临床教学研究。Email: zhangxinjuan1113@163.com。

基金项目: 山东省中医药科技发展计划项目(2015-219)。

4 weeks. The body weight of rats was measured and the general state was observed; The fasting blood glucose(FBG) in rat was measured, oral glucose tolerance test(OGTT)was performed and area under blood glucose curve(AUC) was calculated; ELISA was used to quantify fasting insulin(FINS), and insulin sensitivity index(ISI) and insulin resistance index(IRS) were calculated; Subsequently, serum interleukin-6(IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α), expression of inhibitor kappa B kinase β (IKK- β) and nuclear factor κ B (NF- κ B) mRNA in liver tissue were measured; HE staining was used to observe the morphology of islets; Immunohistochemical staining was used to investigate the number of islet β cells and insulin expression. **Results** Compared with the normal group, the rats in the model group had polydipsia, polyphagia, polyuria, listlessness, less activity and weight loss ($P < 0.01$); FBG, blood glucose at each time point of OGTT and AUC increased significantly ($P < 0.01$); FINS and IRS increased significantly ($P < 0.01$), ISI decreased significantly ($P < 0.01$); IL-6, TNF- α , IKK- β and NF- κ B increased significantly ($P < 0.01$); HE staining showed that the shape of islet was irregular, the boundary was fuzzy, and the number of islet cells reduced significantly; Immunohistochemical staining showed that the number of islet β cells and the expression of insulin reduced significantly. Compared with the model group, the polydipsia, polyuria and mental state of rats in the high and medium dose dandelion water extract group were significantly improved, and the body weight was significantly increased ($P < 0.01$, $P < 0.05$); FBG, blood glucose at each time point of OGTT and AUC decreased significantly ($P < 0.01$, $P < 0.05$); FINS and IRS decreased significantly ($P < 0.01$, $P < 0.05$), ISI increased significantly ($P < 0.01$); IL-6, TNF- α , IKK- β and NF- κ B decreased significantly ($P < 0.01$, $P < 0.05$); HE staining showed that the islet morphology and the number of islet cells were significantly improved, especially in the high dose group; Immunohistochemical staining showed that the number of islet β cells and the expression of insulin increased significantly, especially in the high dose group. **Conclusion** Dandelion water extract can effectively improve insulin resistance in type 2 diabetic rats, especially in high dose. The mechanism may be related to down regulating the expression of IKK- β and NF- κ B in IKK- β /NF- κ B signal pathway, and reducing the production of inflammatory factors IL-6 and TNF- α .

Keywords: Dandelion water extract; type 2 diabetes; insulin resistance; inflammatory factors; IL-6; TNF- α ; rats

蒲公英, 为菊科蒲公英属植物, 广泛生长于我国大部分地区^[1]。综合大多数蒲公英药理作用的研究^[2]发现: 蒲公英具有抗炎、抑菌、抗氧化及抗肿瘤的作用。近来发现蒲公英还可以降低血糖^[3-5]。但蒲公英对 2 型糖尿病胰岛素抵抗的影响及其作用机制的研究较为少见, 故本研究以蒲公英水提取物对 2 型糖尿病胰岛素抵抗大鼠进行干预, 观察蒲公英水提取物对胰岛素抵抗的影响, 并初步探讨蒲公英水提取物影响胰岛素抵抗的作用机制, 以期对 2 型糖尿病的新药研发及蒲公英的药理研究提供理论和实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物 SPF 级健康 SD 雄性大鼠 80 只, 12 周龄, 体质量(242.31 ± 16.23)g, 山东鲁抗医药股份有限公司质监中心实验动物室提供, 动物许可证号: SCXK(鲁)20130001, 动物合格证号: 0028440。大鼠

饲养于室温 20~26℃、湿度 50%~65%、安静、避强光、12 h 照明交替的条件下, 摄食、饮水自由。基础维持饲料适应性喂养 1 周后进行实验。

1.2 药物及试剂 蒲公英, 批号: 20151026013, 购于山东中医药高等专科学校附属医院中药房, 经本校中药鉴定教研室陈桂玉副教授鉴定为真品; 链脲佐菌素(STZ), 购于美国 Sigma 公司, 规格: 1 g, 批号: S0130; 吡格列酮, 购于杭州中美华东制药有限公司, 规格: 15 mg, 批号: 20170608; Trizol 试剂, 购于宝生物工程(大连)有限公司, 规格: 100 mL, 批号: A180404A; SYBR Premix Ex Taq, 购于宝生物工程(大连)有限公司, 规格: 200 次, 批号: AIG2018A; 胰岛素免疫组化试剂盒, 购于南京烁朴生物科技有限公司, 规格: 96 T, 批号: 20180405; FINS、TNF- α 、IL-6 ELISA 测定试剂盒, 均购于南京建成生物工程研究所, 规格均为 96 T, 批号均为 20180115; 逆转录试剂盒, 购于宝生物

工程(大连)有限公司,规格:200次,批号:AJ51486A;引物由生工生物工程(上海)股份有限公司设计、合成;高脂高糖饲料,购于江苏省协同医药生物工程有限责任公司,配方比:66.5%基础维持饲料、2.5%胆固醇、10%猪油、1%胆酸盐、20%蔗糖,货号:20171018、20171202。

1.3 仪器 活力型罗氏血糖仪及配套试纸,德国 Roche 公司;L-530 型多管架自动平衡离心机,长沙湘仪离心机仪器有限公司;SSW-600-2S 型电热恒温水槽,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;ELx5012 型全自动酶标仪,美国 Bio Tek 公司;DW-86L-626 型立式超低温保存箱,青岛海尔特种电器有限公司;7500 型实时荧光定量 PCR 仪,美国应用生物系统公司;CX43 型光学显微镜,日本 OLYMPUS 公司;1600 型组织切片机,德国 Leica 公司。

1.4 药材处理及给药剂量 蒲公英 300 g 加入纯净水 3 L,煎煮 1 h,煎煮 2 次后过滤合并,60 ℃水浴浓缩至生药含量约 1 g·mL⁻¹的蒲公英水提取物。采用体表面积计算法,根据成人蒲公英的用量换算大鼠的给药剂量,采用 500、250、125 mg·kg⁻¹的剂量梯度给药,按照 5 mL·kg⁻¹进行灌胃,将蒲公英水提取物稀释至 100、50、25 mg·mL⁻¹;根据成人吡格列酮的临床用量换算大鼠的给药剂量为 3.15 mg·kg⁻¹,按照大鼠 5 mL·kg⁻¹的标准进行灌胃,将吡格列酮片研磨均匀加纯净水配置为 0.63 mg·mL⁻¹的溶液。

1.5 分组、模型复制及给药方法 将 80 只大鼠按照体质量随机分为正常组(10 只)和模型复制组(70 只)。正常组基础维持饲料喂养,模型复制组参考高脂高糖饮食联合小剂量 STZ 诱导建立 2 型糖尿病大鼠模型的方法^[6]:高脂高糖饲料喂养 4 周后,空腹(禁食不禁水 12 h)称体质量后按 35 mg·kg⁻¹剂量一次性左下腹注射 STZ(临用前溶于 0.1 mol·L⁻¹柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液中, pH4.4),3 d 后尾部取血测空腹血糖,以空腹血糖超过 16.7 mmol·L⁻¹并保持 10 d 以上为模型复制成功。将模型复制成功的大鼠随机分为模型组,蒲公英水提取物高、中、低剂量组及吡格列酮组,每组 10 只。蒲公英水提取物高、中、低剂量组灌胃相应浓度的蒲公英水提取物稀释液,吡格列酮组灌胃配置好的吡格列酮溶液,正常组及模型组灌胃等体积生理盐水,每日 1 次,连续 4 周。

1.6 大鼠一般状态观察及体质量测定 观察大鼠的毛发光泽度、精神状态、摄食、饮水及尿量的改变;

禁食不禁水 12 h,称大鼠体质量。

1.7 大鼠空腹血糖(FBG)测定、口服葡萄糖耐量试验(OGTT)及血糖曲线下面积(AUC)计算 禁食不禁水 12 h,剪尾取血,罗氏血糖仪测定 FBG;同时给予葡萄糖 2.5 g·kg⁻¹灌胃行 OGTT,测定葡萄糖灌胃后 0.5、1.0、2.0 h 的血糖值,FBG 视为 OGTT 的 0 h 血糖值。计算 AUC:采用近似梯形面积公式,即 $AUC(\text{mmol} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}) = 0 \text{ h 血糖}/2 + 0.5 \text{ h 血糖} + 1 \text{ h 血糖} + 2 \text{ h 血糖}/2$ 。

1.8 大鼠血清胰岛素(FINS)测定及胰岛素敏感指数(ISI)、胰岛素抵抗指数(IRI)计算 2%戊巴比妥钠腹腔麻醉后腹主动脉取血,以 3 000 r·min⁻¹离心 8 min,留取血清于-20 ℃保存。采用酶联免疫吸附(ELISA)法严格按照试剂盒进行操作测定 FINS,并计算 ISI、IRI。其中 $ISI = 1/(FBG \times FINS)$,ISI 非正态分布,计算结果取其自然对数; $IRI = FBG \times FINS / 22.5$ 。

1.9 大鼠血清白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)及肝脏 IKB 激酶 β(IKK-β)、核因子 κB(NF-κB)mRNA 表达的测定 采用 ELISA 法测定大鼠血清 IL-6、TNF-α;取肝脏组织一小块,PBS 液冲洗后装冷冻管置于液氮中-80 ℃保存。采用实时荧光定量 PCR(RT-PCR)法测定肝脏 IKK-β、NF-κB mRNA 的表达:Trizol 法提取总 RNA;测定 RNA 浓度、纯度和完整性;引物序列如下:IKK-β 上游引物为 5'-ACTCCAAAGTCCGGCAGAAG-3',下游引物为 5'-CCGTTGGGTATGTGTGAACG-3',产物 268 bp;NF-κB 上游引物为 5'-CGTGCCCTCTGTCTACTGTT-3',下游引物为 5'-GCCTCATAGTAGCCAGGTGC-3',产物 196 bp;内参 β-actin 上游引物为 5'-GTTGACATCCGTAAAGACC-3',下游引物为 5'-TCATCGTACTCCTGCTTG-3',产物 233 bp;按照逆转录试剂盒说明书进行逆转录,PCR 扩增,根据各个扩增曲线读取 Ct 值并分析结果。

1.10 HE 染色观察大鼠胰岛形态 剪取胰腺组织,置于 10%甲醛溶液中固定,常规石蜡包埋,切片,进行 HE 染色,光学显微镜拍照分析。

1.11 免疫组化染色观察大鼠胰岛 β 细胞数目及胰岛素表达 将切片脱蜡,高温抗原修复,冷却后 3% H₂O₂ 孵育,血清封闭,胰岛素单抗(1:200)4 ℃过夜;按试剂盒说明进行操作,DAB 显色,蒸馏水冲洗,苏木素复染,干燥封片,光学显微镜拍照分析。

1.12 统计学处理方法 用统计软件 SPSS 13.0 进行数

据分析, 计量数据均采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)的形式记录, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较用 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 蒲公英水提取物对大鼠一般状态及体质量的影响 治疗完成后, 正常组大鼠精神良好, 摄食饮水及二便均正常, 活泼好动, 体毛顺滑有光泽。模型组大鼠多饮、多食、多尿现象明显, 精神萎靡不振、活动减少, 体毛粗糙无光泽, 并有掉毛现象。与模型组大鼠比较, 蒲公英水提取物高剂量组大鼠的多饮、多食、多尿现象及精神状态改善最明显, 中剂量组稍次之, 低剂量组无明显改善。

治疗完成后, 与正常组比较, 模型组大鼠体质量下降明显($P < 0.01$); 与模型组比较, 蒲公英水提取物高、中剂量组大鼠体质量增加明显($P < 0.01$, $P < 0.05$)。见表 1。

表 2 蒲公英水提取物对大鼠 FBG、OGTT 及 AUC 的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Effects of dandelion water extract on FBG and OGTT of rats($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	FBG/(mmol·L ⁻¹)	0.5 h 血糖/(mmol·L ⁻¹)	1.0 h 血糖/(mmol·L ⁻¹)	2.0 h 血糖/(mmol·L ⁻¹)	AUC/(mmol·h·L ⁻¹)
正常组	5.65 $\pm$ 0.45	9.82 $\pm$ 0.51	7.98 $\pm$ 0.43	6.00 $\pm$ 0.48	23.63 $\pm$ 0.87
模型组	19.22 $\pm$ 1.38**	25.82 $\pm$ 2.22**	24.00 $\pm$ 2.11**	21.29 $\pm$ 1.83**	70.08 $\pm$ 5.62**
蒲公英高剂量组	14.88 $\pm$ 1.83 $\Delta\Delta$	18.19 $\pm$ 2.63 $\Delta\Delta$	15.91 $\pm$ 2.48 $\Delta\Delta$	14.24 $\pm$ 2.30 $\Delta\Delta$	48.66 $\pm$ 7.02 $\Delta\Delta$
蒲公英中剂量组	17.26 $\pm$ 2.33 Δ	22.95 $\pm$ 2.85 $\Delta\Delta$	21.68 $\pm$ 2.79 Δ	19.51 $\pm$ 2.67 Δ	63.02 $\pm$ 7.12 Δ
蒲公英低剂量组	18.84 $\pm$ 1.13	25.48 $\pm$ 2.41	23.72 $\pm$ 2.59	20.51 $\pm$ 1.36	68.88 $\pm$ 5.93
吡格列酮组	15.02 $\pm$ 2.25 $\Delta\Delta$	18.98 $\pm$ 2.36 $\Delta\Delta$	17.08 $\pm$ 1.98 $\Delta\Delta$	14.87 $\pm$ 2.30 $\Delta\Delta$	51.01 $\pm$ 6.43 $\Delta\Delta$

注: 与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

2.3 蒲公英水提取物对大鼠 FINS、ISI、IRI 的影响 见表 3。与正常组比较, 模型组大鼠 FINS、IRI 明显升高($P < 0.01$), ISI 明显降低($P < 0.01$); 与模型组比较, 蒲公英水提取物高、中剂量组的 FINS、IRI 明显降低($P < 0.01$, $P < 0.05$), ISI 明显升高($P < 0.01$)。

2.4 蒲公英水提取物对大鼠血清 IL-6、TNF- α 及肝脏 IKK- β 、NF- κ B mRNA 表达的影响 见表 4。与正常组比较, 模型组大鼠的 IL-6、TNF- α 、IKK- β 、NF- κ B 均明显增加($P < 0.01$); 与模型组比较, 蒲公英水提取物高、中剂量组大鼠的 IL-6、TNF- α 、IKK- β 、NF- κ B 均明显减低($P < 0.01$, $P < 0.05$)。

2.5 蒲公英水提取物对大鼠胰岛形态的影响 见图 1。正常组胰岛形态规则, 呈椭圆形或圆形, 边界清楚, 胰岛细胞数目较多, 分布均匀, 细胞核居中。模型组胰岛形态不规则, 边界模糊, 胰岛细胞

表 1 蒲公英水提取物对大鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Effects of dandelion water extract on body weight of rats($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	体质量/g
正常组	—	351.77 $\pm$ 14.34
模型组	—	271.16 $\pm$ 13.39**
蒲公英高剂量组	500	292.83 $\pm$ 18.95 $\Delta\Delta$
蒲公英中剂量组	250	285.62 $\pm$ 11.70 Δ
蒲公英低剂量组	125	279.88 $\pm$ 19.54
吡格列酮组	3.15	286.27 $\pm$ 15.05 Δ

注: 与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

2.2 蒲公英水提取物对大鼠 FBG、OGTT 及 AUC 的影响 见表 2。与正常组比较, 模型组大鼠 FBG 与 OGTT 0.5、1.0、2.0 h 血糖值及 AUC 均明显增高($P < 0.01$); 与模型组比较, 蒲公英水提取物高、中剂量组的大鼠 FBG 与 OGTT 0.5、1.0、2.0 h 血糖值及 AUC 均明显降低($P < 0.01$, $P < 0.05$)。

表 3 蒲公英水提取物对大鼠 FINS、ISI、IRI 的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 3 Effects of dandelion water extract on FINS, ISI and IRI of rats($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	FINS/(mU·L ⁻¹)	ISI	IRI
正常组	—	16.36 $\pm$ 1.78	-4.52 $\pm$ 0.13	4.11 $\pm$ 0.55
模型组	—	23.29 $\pm$ 1.84**	-6.10 $\pm$ 0.12**	19.91 $\pm$ 2.32**
蒲公英高剂量组	500	19.14 $\pm$ 1.66 $\Delta\Delta$	-5.64 $\pm$ 0.17 $\Delta\Delta$	12.71 $\pm$ 2.30 $\Delta\Delta$
蒲公英中剂量组	250	21.21 $\pm$ 1.87 Δ	-5.68 $\pm$ 0.27 $\Delta\Delta$	16.17 $\pm$ 1.71 $\Delta\Delta$
蒲公英低剂量组	125	22.13 $\pm$ 2.00	-6.03 $\pm$ 0.11	18.53 $\pm$ 2.00
吡格列酮组	3.15	19.94 $\pm$ 1.69 $\Delta\Delta$	-5.69 $\pm$ 0.14 $\Delta\Delta$	13.25 $\pm$ 1.80 $\Delta\Delta$

注: 与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

数目明显减少, 部分细胞核出现偏心分布、胞浆空泡变性。与模型组比较, 蒲公英水提取物高、中剂

表 4 蒲公英水提取物对大鼠血清 IL-6、TNF-α 及肝脏 IKK-β、NF-κB mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 4 Effects of dandelion water extract on IL-6, TNF-α in serum and IKK-β, NF-κB mRNA expression in liver of rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	IL-6 ($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)	TNF-α ($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)	IKK-β mRNA	NF-κB mRNA
正常组	-	16.22 ± 2.52	121.90 ± 15.13	0.53 ± 0.13	0.45 ± 0.12
模型组	-	26.38 ± 2.22**	187.71 ± 30.58**	0.90 ± 0.07**	0.79 ± 0.08**
蒲公英高剂量组	500	21.10 ± 3.10 $\Delta\Delta$	159.15 ± 23.03 $\Delta\Delta$	0.65 ± 0.13 $\Delta\Delta$	0.56 ± 0.13 $\Delta\Delta$
蒲公英中剂量组	250	23.68 ± 1.37 Δ	164.09 ± 14.33 Δ	0.79 ± 0.11 Δ	0.67 ± 0.15 Δ
蒲公英低剂量组	125	26.08 ± 2.50	183.64 ± 33.28	0.87 ± 0.06	0.73 ± 0.10
吡格列酮组	3.15	23.04 ± 1.38 $\Delta\Delta$	163.84 ± 14.58 Δ	0.80 ± 0.06 Δ	0.67 ± 0.13 Δ

注：与正常组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较， $\Delta P < 0.05$ ， $\Delta\Delta P < 0.01$

量组胰岛形态及胰岛细胞数目有明显改善，以高剂量组为佳。

2.6 蒲公英水提取物对大鼠胰岛 β 细胞数目及胰岛素表达的影响 见图 2。因胰岛 β 细胞可以分泌胰岛素，所以胰岛素免疫组化染色呈阳性，表现为棕色或棕黄色程度不等的颗粒。与正常组比较，模型组胰岛 β 细胞数目、胰岛素表达均明显减少。与模型组比较，蒲公英水提取物高、中剂量组胰岛 β 细胞数目及胰岛素表达明显增加，以高剂量组为佳。

3 讨论

胰岛素抵抗是指机体对胰岛素的生物调节作用的

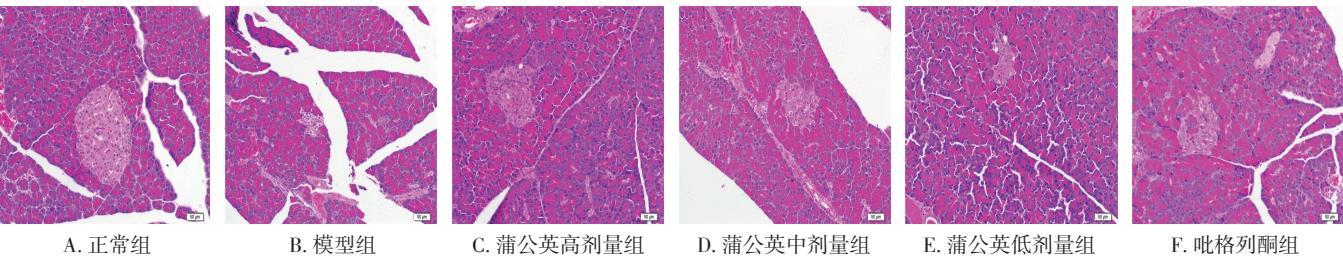


图 1 蒲公英水提取物对大鼠胰岛形态的影响(HE 染色, ×200)
Figure 1 Effects of dandelion water extract on the morphology of pancreatic islets in rats(HE, ×200)

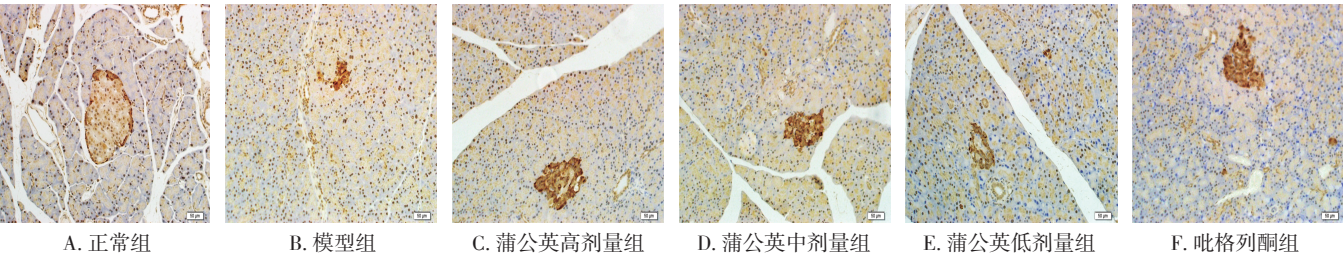


图 2 蒲公英水提取物对大鼠胰岛 β 细胞数目及胰岛素表达的影响(免疫组化, ×200)
Figure 2 Effects of dandelion water extract on the number of islet β cells and insulin expression in rats(immunohistochemistry, ×200)

反应性减低的一种状态，其重要标志为高胰岛素血症，具体表现为外周组织对胰岛素的敏感性降低以及对葡萄糖的利用障碍^[7]。胰岛素抵抗是 2 型糖尿病患者的主要病因，其发生率超过 80%^[8]。因此，改善患者的胰岛素抵抗就可以有效治疗 2 型糖尿病^[9]。

研究^[10]表明，高脂高糖饮食是 2 型糖尿病及胰岛素抵抗发生的重要因素。本实验的模型组与正常组比较，出现“三多一少”明显，FBG、OGTT 各时间点血糖及 AUC 均明显升高，FINS、IRI 明显升高，ISI 明显降低，胰岛形态改变，β 细胞数目及胰岛素表达明显减少。这些均说明高脂高糖饮食联合小剂量 STZ 复制的大鼠模型完全符合 2 型糖尿病的疾病特点并存在明显的胰岛素抵抗。

国内学者进行体外实验^[11]发现：蒲公英提取物能

够降低胰岛素抵抗脂肪细胞培养基中葡萄糖的含量，对胰岛素抵抗有明显的改善作用。国外研究^[12]也发现蒲公英可以有效对抗胰岛素抵抗。本实验结果为：治疗完成后，蒲公英水提取物高、中剂量组与模型组比较均出现体质量明显增加，FBG、OGTT 各时间点血糖及 AUC 均明显降低，FINS、IRI 明显降低，ISI 明显升高，胰岛形态改善明显，β 细胞数目及胰岛素表达明显增加，以蒲公英水提取物高剂量组为佳。以上结果表明：蒲公英水提取物可以保护胰岛 β 细胞、增加胰岛素分泌，有效改善胰岛素抵抗，剂量选择上以高剂量为佳。

关于胰岛素抵抗的发生机制，目前研究^[13]认为：胰岛素抵抗是一个慢性亚临床炎症过程，在此过程中，炎症和胰岛素抵抗相互促进，最终导致机体内

环境发生一系列改变。其中, IKK- β /NF- κ B 信号转导通路介导的炎症反应在胰岛素抵抗中发挥重要的作用^[14]。IKK- β 作为 NF- κ B 的上游因子, 能够活化 NF- κ B, 激活的 NF- κ B 可启动其下游基因, 使其发生转录产生炎症因子, 而炎症因子又可激活 IKK, 形成恶性循环。炎症因子可以抑制胰岛素受体底物 (IRS) 正常的酪氨酸磷酸化, 减少胰岛素受体与 IRS 结合, 导致胰岛素抵抗持续发展^[15]。本实验结果显示: 与模型组比较, 蒲公英水提取物高、中剂量组 IL-6、TNF- α 、IKK- β 、NF- κ B 均明显减少。这提示蒲公英水提取物可以下调 IKK- β /NF- κ B 信号通路中 IKK- β 、NF- κ B 的表达, 减少炎症因子 IL-6、TNF- α 的生成。

综上所述, 蒲公英水提取物能有效改善 2 型糖尿病大鼠的胰岛素抵抗, 以高剂量为佳。其机制可能与下调 IKK- β /NF- κ B 信号通路中 IKK- β 、NF- κ B 的表达, 减少炎症因子 IL-6、TNF- α 的生成有关。

参考文献:

- [1] 张小洁, 丛利家, 范红艳. 蒲公英多糖的药理作用研究进展[J]. 吉林医药学院学报, 2015, 36(5): 378-381.
- [2] 侯荣荣, 杜峰涛, 邹星月, 等. 蒲公英的活性物质及其应用研究进展[J]. 安徽农学通报, 2019, 25(22): 27-28, 53.
- [3] 杨咏洁, 金铁, 权伍荣. 野生蒲公英联合高山红景天对糖尿病模型小鼠的降血糖作用研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(2): 776-777.
- [4] 李雪石, 张彦文. 蒲公英水提取物对链脲佐菌素致糖尿病大鼠的降血糖作用及其机制[J]. 中草药, 2013, 44(7): 863-868.
- [5] 李诗语, 姜斌, 赵玉娟, 等. 不同采摘时期蒲公英功效成分的含量变化规律及降糖作用研究[J]. 食品科学, 2014, 35(7): 238-242.
- [6] 甘亚利, 韩晓春, 刘彩红, 等. 建立 2 型糖尿病大鼠模型的研究进展[J]. 西部中医药, 2020, 33(5): 152-154.
- [7] 张世卿, 佟丽. 胰岛素抵抗作用发生机制及实验模型的研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(3): 364-368.
- [8] OZBAVER C, KURT H, KEBAPCI M N, et al. Effects of genetic variations in the genes encoding NOD1 and NOD2 on type 2 diabetes mellitus and insulin resistance[J]. Journal of clinical pharmacy and therapeutics, 2017, 42(1): 98-102.
- [9] 张明丽, 陈吉全, 周新强. 泽泻多糖对 2 型糖尿病大鼠胰岛素抵抗及脂代谢紊乱的改善作用及机制研究[J]. 中国药房, 2018, 29(1): 42-45.
- [10] SUMIYOSHI M, SAKANAKA M, KIMURA Y. Chronic intake of high-fat and high-sucrose diets differentially affects glucose intolerance in mice[J]. The Journal of nutrition, 2006, 136(3): 582-587.
- [11] 刘爱华, 李昊. 蒲公英提取物改善胰岛素抵抗的体外实验研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(2): 361-362.
- [12] SANGEETHA K N, SHILPA K, JYOTHI KUMARI P, et al. Reversal of dexamethasone induced insulin resistance in 3T3L1 adipocytes by 3 β -taraxerol of *Mangifera indica*[J]. Phytomedicine, 2013, 20(3/4): 213-220.
- [13] 薛冰, 母义明. NF- κ B 信号转导通路胰岛素抵抗[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(8): 68-71.
- [14] 常化静, 何羨霞, 苏楠, 等. IKK/NF- κ B 信号通路对 2 型糖尿病及中药抗炎治疗[J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(8): 1952-1955.
- [15] 魏伊秋, 李满, 余佳. 慢性炎症与胰岛素抵抗机制关系的研究进展[J]. 临床与病理杂志, 2019, 39(3): 640-645.

(编辑: 修春)