

um content of ATP and ADP ($P<0.01$), increased serum content of AMP ($P<0.05$), and down-regulated protein expression of p-AMPK, PGC-1 α , and SIRT1 ($P<0.01$). Additionally, the model group displayed severely shrunken and deformed nuclei of gastric antrum tissue, a sparse distribution of mitochondria outside the nucleus, and fused internal crest of the chromosomes. Compared with the model group, the high-dose HPS group and the mosapride group exhibited elevated content of ATP and ADP ($P<0.01$, $P<0.05$), decreased AMP content ($P<0.05$), up-regulated protein expression of p-AMPK, PGC-1 α , and SIRT1 ($P<0.01$), restored nuclei of gastric antrum tissue, increased mitochondria outside the nucleus, and improved internal crest of mitochondria. **Conclusion:** HPS can improve the energy metabolism imbalance of gastric antrum tissue in DGP rats, and its mechanism may be related to the activation of the AMPK/PGC-1 α signaling pathway, promotion of mitochondrial biosynthesis, increase in cell energy supply, and regulation of energy metabolism.

Key words *Hedysarum polybotrys* saccharide, diabetic gastroparesis, AMP-activated protein kinase/peroxisome proliferator-activated receptor γ co-activator 1 α signaling pathway, energy metabolism

多穗柯总黄酮对 db/db 小鼠胰岛 β 细胞功能的影响*

陈敬民 李燕婧 王 丽

(广西中医药研究院 南宁 530022)

摘 要 目的: 探讨多穗柯总黄酮对 db/db 糖尿病小鼠胰岛 β 细胞的作用。方法: 选取 db/db 雄性小鼠按空腹血糖值(FPG)随机分为模型对照组、二甲双胍 83 mg/kg 组、多穗柯总黄酮 100、200 mg/kg 组,另取 C57BL/Ks 小鼠作为正常对照组,各组灌胃给予相应药物或蒸馏水,连续给药 28 d,给药结束后进行口服葡萄糖耐量(OGTT)试验,测定血糖(PG)、糖化血红蛋白(GHb)和胰岛素(INS)含量,对胰腺组织进行免疫组化检查,计算血糖曲线下面积(AUC_{PG})、早期胰岛素分泌量($AUC_{INS0-30}$)、 β 细胞功能修正指数(MBCI)及胰腺中 β 细胞率。结果: 与正常对照组比较,模型对照组小鼠空腹血糖(FPG)含量随时间增加,GHb、空腹胰岛素(FINS)水平增高, $AUC_{INS0-30}$ 、MBCI 及胰岛 β 细胞率显著降低($P<0.01$);与模型对照组比较,多穗柯总黄酮 100、200 mg/kg 组小鼠的 FPG、GHb 及 FINS 含量明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),OGTT 的 $AUC_{INS0-30}$ 、MBCI、胰岛 β 细胞率明显增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论: 多穗柯总黄酮能够较好改善 db/db 糖尿病小鼠胰岛 β 细胞功能。

关键词 多穗柯总黄酮;糖化血红蛋白;早期相胰岛素; β 细胞功能修正指数

DOI:10.13412/j.cnki.zyyl.2021.03.016

糖尿病是胰岛素分泌和(或)作用异常的内分泌疾病,胰岛 β 细胞功能缺陷是糖尿病发生发展的主要因素之一^[1],恰当评估 β 细胞胰岛素分泌功能对于正确评价药物治疗糖尿病效果有重要指导作用^[2]。多穗柯是壳斗科植物木姜叶柯的干燥嫩叶,富含以根皮苷、三叶苷、3-羟基根皮苷为主的黄酮类物质^[3,4],系广西壮族地区常用于降血糖的民间草药。本课题组人员曾研究发现其在治疗糖尿病方面有显著的药理作用^[5],本实验在早期相胰岛素分泌、 β 细胞功能修正指数评价基础上,结合免疫组化技术,探讨多穗柯总黄酮对 db/db 小鼠胰岛 β 细胞功能的作用。

1 材料与方法

1.1 试验药物 多穗柯来源于广西百色,经广西中医药研究院饶伟源主任中药师鉴定为壳斗科植物木姜叶柯 *Lithocarpus litseifolius* (Hance) Chun. 的干燥嫩叶。多穗柯总黄酮由本院重点实验室制备,药材经粉碎、70%乙醇溶液回流提取、浓缩、大孔树脂分离、浓缩干燥等工艺制成多穗柯总黄酮粉末;以生药材计,每 100 g 生药材得 4.8 g 多穗柯总黄酮(以根皮苷为标准,紫外

分光光度法测总黄酮含量为 89%);加适量蒸馏水研磨均匀,定容至相应浓度备用。盐酸二甲双胍片 0.25 g/片,人日用量 1 g~1.5 g,北京丰制药有限公司生产,批号:190610;以盐酸二甲双胍片 250 mg 研细,加适量蒸馏水溶解均匀备用。

1.2 动物 SPF 级 C57BL/Ks(体质量 20 g~22 g)、db/db 小鼠(体质量 42 g~44 g),雄性,7 w 龄,由常州卡文斯实验动物有限公司提供,动物生产许可证号:SCXK(苏)2016-0010;饲养于广西中医药研究院动物房,动物使用许可证号:SYXK 桂 2016-0006,动物伦理审批号:2020052601,饲养温度(22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,环境相对湿度(50 ± 5)%,无菌水,标准鼠料,12 h 自由进食/12 h 禁食,自由饮水。

1.3 试剂 卓越金采血糖试纸(罗氏血糖健康医护公司,批号:478292);小鼠糖化血红蛋白(HbA1c)试剂盒(上海仁捷生物科技有限公司,批号:202007);小鼠胰岛素(INS)试剂盒(南京建成生物工程有限公司,批号:20200520);Anti-insulin Mouse mAb 抗体、Anti-Glucagon Rabbit pAb 抗体、Cy3 标记山羊抗小鼠 IgG(红色)、488 标记山羊抗兔 IgG(绿色)、细胞核染色剂 DAPI(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号:202009)。

1.4 仪器 卓越精采血糖仪(罗氏血糖健康医护公司);Thermo

* 基金项目:广西科技基地与人才专项(编号:桂科 AD17195002);广西重点研发计划专项(编号:桂科 AB17195013)。
敬民,副主任药师,从事中药药理研究,E-mail:406353213@qq.com。

作者简介:陈

1510 酶标仪(赛默飞世尔科技(中国)有限公司); Eclipse Ci-L 正置荧光拍照显微镜(日本 Nikon 公司); Image-pro Plus 6.0 图片分析软件(美国 Media Cybemetics 公司)。

1.5 方法

1.5.1 动物分组与给药 动物适应性饲养 3 d, db/db 小鼠测空腹血糖值(FPG), 按血糖值随机分为模型对照组、二甲双胍 83 mg/kg 组、多穗柯总黄酮 100、200 mg/kg 组, 每组 8 只, 另取 8 只 C57 小鼠作为正常对照组, 给药前鼠尾静脉取血, 测血清糖化血红蛋白、胰岛素含量。各给药组灌胃给药, 给药体积为 20 mL/kg, 连续 28 d, 正常对照组及模型对照组给予蒸馏水。同时每周小鼠尾静脉针刺取血, 血糖仪测定空腹血糖值^[6]。

1.5.2 口服葡萄糖耐量试验(OGTT) 试验前禁食 12 h, 按 1.0 g/kg 灌胃给予 10% 葡萄糖溶液, 于 0、30、60、120 min 鼠尾静脉取血, 血糖仪测定各时间点血糖值(血糖值超 35 mmol/L, 0.1 mL 血液加 0.7% 生理盐水对倍稀释再测定)^[7-10], 并按试剂盒 Elisa 方法测血清 0 min 血红蛋白及 0、30 min 胰岛素含量, 绘制血糖曲线并计算其曲线下面积(AUC_{PG}), 计算 0 min~30 min 胰岛素面积($AUC_{INS0-30}$)^[11]、 β 细胞功能修正指数(MBCI)^[2]。

血糖曲线面积(AUC_{PG}) = $15 \times FPG + 30 \times PG_{30} + 45 \times PG_{60} + 30 \times PG_{120}$;
早期相胰岛素分泌功能($AUC_{INS0-30}$) = $(INS_{30} - FINS) \times 15$;
 β 细胞功能修正指数(MBCI) = $(FINS \times FPG) / (PG_{120} + PG_{60} - 2FPG)$ 。

FPG 为空腹血糖, PG_{30} 、 PG_{60} 、 PG_{120} 分别表示负荷后 30、60、120 min 血糖, FINS 为空腹胰岛素, INS_{30} 为负荷后 30 min 胰岛素。

表 1 多穗柯总黄酮对 db/db 小鼠糖尿病模型空腹血糖的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(mg/kg)	空腹血糖浓度/(mmol/L)				
		给药前	给药 7 d	给药 14 d	给药 21 d	给药 28 d
正常对照	-	6.5±0.5**	6.7±0.8**	6.7±0.8**	6.3±0.3**	6.6±0.7**
模型对照	-	17.2±1.3	21.5±1.8	24.8±2.1	26.4±2.4	27.4±4.2
二甲双胍	83	17.3±1.4	19.2±1.6*	21.5±1.8**	23.9±1.8*	23.6±2.2*
多穗柯总黄酮	100	16.9±1.4	19.5±1.4*	22.1±1.6*	24.3±2.5	25.9±2.6
多穗柯总黄酮	200	17.0±1.3	19.0±1.2**	21.7±1.3**	23.4±2.0*	23.7±2.4*

与模型对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (下同)。

2.2 多穗柯总黄酮对 db/db 小鼠糖尿病模型糖化血红蛋白的影响 表 2 所示, 与正常对照组比较, 模型对照组小鼠糖化血红蛋白含量明显增高 ($P < 0.01$); 与模型对照组比较, 给药 28 d 后多穗柯总黄酮 100、200 mg/kg 组、二甲双胍 83 mg/kg 组糖化血红蛋白含量显著降低 ($P < 0.01$)。

表 2 多穗柯总黄酮对 db/db 小鼠糖尿病模型糖化血红蛋白的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(mg/kg)	糖化血红蛋白/(ng/mL)	
		给药前	给药 28 d
正常对照	-	170±12**	189±11**
模型对照	-	201±13	230±12
二甲双胍	83	205±12	205±8**
多穗柯总黄酮	100	209±13	207±7**
多穗柯总黄酮	200	202±9	202±11**

2.3 多穗柯总黄酮对 db/db 小鼠糖尿病模型口服葡萄糖耐量的影响 表 3、4 所示, 与正常对照组比较, 模型动物各组的血糖含量、AUC 均显著升高 ($P < 0.01$), OGTT 的血糖峰值明显延后; 与模型对照组比较, 多穗柯总黄酮 100、200 mg/kg 组连续给药 28 d 能明显减少糖尿病小鼠的 OGTT 各时间点血糖值及 AUC

1.5.3 胰岛分泌胰岛素 β 细胞检测 实验结束后, 小鼠禁食 12 h, 脱颈椎处死, 摘取胰腺组织 4% 多聚甲醛固定, 修剪、脱水、包埋、切片、脱蜡、抗原修复、一抗孵育、二抗覆盖、DAPI 复染、淬灭封片, 荧光拍照显微镜下每张切片选取 3 个目的区域 200 倍成像, 拍摄胰岛素、胰高血糖素及 DAPI 荧光照片, 使用图片分析软件分析胰腺组织 α 、 β 及其他细胞数, 计算胰岛 β 细胞百分率^[12]。

β 细胞占总细胞百分率 = 胰岛 β 细胞染色区域面积 / (α 、 β 及 DAPI 细胞染色区域面积总和) $\times 100\%$;

β 细胞占 $\alpha\beta$ 细胞百分率 = 胰岛 β 细胞染色区域面积 / (α 、 β 细胞染色区域面积总和) $\times 100\%$ 。

1.5.4 统计分析 采用 SPSS19.0 软件统计分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间数据比较采用单因素方差分析, 组间差异进行 LSD 检验, $P < 0.05$, $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 多穗柯总黄酮对 db/db 小鼠糖尿病模型空腹血糖的影响

表 1 所示, 与正常对照组比较, 模型对照组小鼠各时间点 FPG 含量显著升高, 且随时间增加 ($P < 0.01$)。与模型对照组比较, 多穗柯总黄酮 100、200 mg/kg 组给药 7 d、14 d 均明显降低 FPG 含量, 200 mg/kg 组给药 21 d、28 d FPG 含量明显降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

值 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表 3 多穗柯总黄酮对 db/db 小鼠糖尿病模型口服糖耐量血糖的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(mg/kg)	糖耐量/(mmol/L)			
		0 min	30 min	60 min	120 min
正常对照	-	6.6±0.7**	8.6±0.7**	6.9±0.7**	6.6±0.8**
模型对照	-	27.4±4.2	33.3±3.0	38.4±3.6	36.2±2.3
二甲双胍	83	23.6±2.2*	26.3±2.9**	28.3±2.7**	25.5±3.0**
多穗柯总黄酮	100	25.9±2.6	29.0±4.3*	30.7±3.5**	29.5±2.3**
多穗柯总黄酮	200	23.7±2.4*	26.6±4.2**	29.6±3.1**	27.0±4.6**

表 4 多穗柯总黄酮对 db/db 小鼠糖尿病模型口服糖耐量血糖曲线面积的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(mg/kg)	AUC/(mmol/L)	
		药前	药后
正常对照	-	858±74**	871±81**
模型对照	-	2 448±157	4 225±145
二甲双胍	83	2 454±158	3 183±132**
多穗柯总黄酮	100	2 483±163	3 527±148**
多穗柯总黄酮	200	2 359±154	3 301±166**

2.4 多穗柯总黄酮对 db/db 小鼠糖尿病模型胰岛 β 细胞功能的

影响 表 5 所示,与正常对照组比较,模型对照组小鼠的 FINS、INS₃₀活力显著升高($P < 0.01$) $AUC_{\text{INSO-30}}$ 、MBCI 水平显著降低($P < 0.01$);与模型对照组比较,二甲双胍 83 mg/kg 组、多穗柯总黄酮

酮 100、200 mg/kg 组连续给药 28 d 能明显降低 FINS、INS₃₀ 活力($P < 0.05$) 并明显升高 $AUC_{\text{INSO-30}}$ 、MBCI 水平($P < 0.01$)。

表 5 多穗柯总黄酮对 db/db 小鼠糖尿病模型 β 细胞功能的影响($\bar{x} \pm s$ $n=8$)

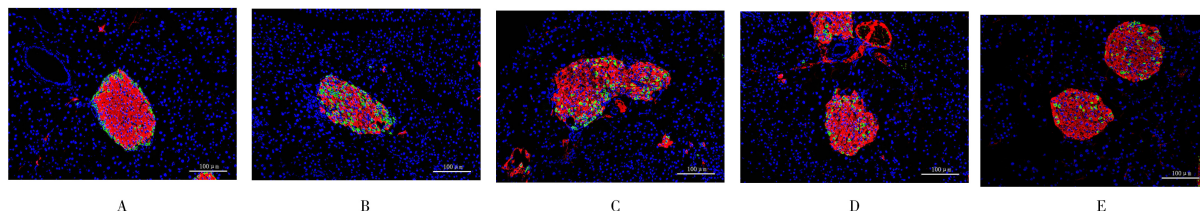
组别	剂量/(mg/kg)	药前 FINS/(mIU/L)	药后 FINS/(mIU/L)	INS ₃₀ /(mIU/L)	$AUC_{\text{INSO-30}}$	MBCI
正常对照	—	11.5±2.6**	11.7±2.8**	11.8±3.8**	68±30**	177±14**
模型对照	—	18.8±2.9	24.2±5.8	21.5±4.1	-168±22	24±9
二甲双胍	83	18.1±2.4	17.9±3.5*	15.3±4.3*	-72±26**	51±7**
多穗柯总黄酮	100	17.8±2.7	18.1±3.4*	16.6±2.7*	-109±35**	37±8**
多穗柯总黄酮	200	18.5±2.5	17.7±3.9*	15.7±4.5*	-70±33**	41±8**

2.5 多穗柯总黄酮对 db/db 小鼠糖尿病模型胰岛 β 细胞的影响 表 6 所示,与正常对照组比较,模型对照组小鼠胰岛分泌胰岛素的 β 细胞在胰腺组织中比例显著减少($P < 0.01$),与 α β 细胞比例也显著降低($P < 0.01$);与模型对照组比较,多穗柯总黄酮 200 mg/kg 组连续给药 28 d 能明显增加分泌胰岛素的 β 细胞在胰腺组织的比例($P < 0.05$),100、200 mg/kg 组均能增加分泌胰岛素的 β 细胞在 α β 细胞比例($P < 0.01$)。图 1 所示,正常对照组分泌胰岛素的 β 细胞位于胰岛中心, α 细胞分布于胰岛边缘;模型对照组小鼠两种细胞交错混杂于整个胰岛组织;给

药组 α 细胞分布趋向于胰岛边缘,使分布趋于正常。

表 6 多穗柯总黄酮对 db/db 小鼠糖尿病模型胰岛 β 细胞的影响($\bar{x} \pm s$ $n=8$)

组别	剂量/(mg/kg)	β 细胞/总细胞	β 细胞/ α β 细胞
空白对照	—	9.9±1.1**	77.6±0.8**
模型对照	—	5.2±1.6	54.4±3.4
二甲双胍	83	9.6±2.4**	75.2±3.6**
多穗柯总黄酮	100	6.9±2.5	59.2±2.8**
多穗柯总黄酮	200	7.8±2.7*	62.8±5.6**



红色: INS 阳性(β 细胞);绿色: glucagon 阳性(α 细胞);蓝色: DAPI 细胞核。

A: 正常对照; B: 模型对照; C: 二甲双胍 83 mg/kg; D: 多穗柯总黄酮 100 mg/kg; E: 多穗柯总黄酮 200 mg/kg。

图 1 多穗柯总黄酮对 db/db 小鼠糖尿病模型胰岛 β 细胞的影响($\times 200$)

3 讨论

db/db 小鼠是 C57 小鼠 4 号染色体瘦素受体基因定向敲除引起的一种自发性 2 型糖尿病模型小鼠,具有和人类 2 型糖尿病相似的临床症状,有多饮、多食、多尿、肥胖、高血糖、高胰岛素血症、胰岛素抵抗等综合征,是理想 2 型糖尿病模型^[13]。本研究发现 db/db 糖尿病模型小鼠从 7 周龄至实验结束 FPG 进行性升高, GHb 及 FINS 增高,胰岛 β 细胞明显减少,胰岛 β 细胞与 α 细胞分布交错混杂,使 OGTT 后血糖峰值延后及血糖 AUC 升高;多穗柯总黄酮 200 mg/kg 剂量给药对上述变化有着明显改善。血糖水平是反映 β 细胞胰岛素分泌功能最简单可靠指标^[2],多穗柯总黄酮显著降低 db/db 糖尿病小鼠 FPG 表明其有保护胰岛 β 细胞胰岛素分泌功能的作用。

早期相胰岛素在血糖调节过程中有着重要作用,是餐后调节血糖稳态重要激素^[14],早期相胰岛素分泌的下降是 2 型糖尿病胰岛素分泌缺陷的最早期表现,早期相缺陷会导致高血糖和高胰岛素血症^[15],恢复胰岛素生理分泌有助于预防 2 型糖尿病餐后血糖漂移及糖尿病的发展。本研究发现 db/db 糖尿病模型小鼠糖负荷 30 min 胰岛素含量低于空腹胰岛素含量,早期相胰岛素分泌量 $AUC_{\text{INSO-30}}$ 明显减少,表明模型小鼠胰岛 β 细胞分泌早期相胰岛素功能严重受损;多穗柯总黄酮 100、200 mg/kg 剂量给药 28 d 明显提高糖尿病小鼠 $AUC_{\text{INSO-30}}$,改善胰岛 β 细胞糖负荷早期分泌胰岛素的能力($P < 0.01$)。胰岛 β 细胞功能修正

指数 MBCI 整合了传统胰岛素抵抗指数 HOMA-IR 及 β 细胞分泌指数 HOMA- β 的特性,综合 HOMA-IR 及糖负荷后的 PG₆₀、PG₁₂₀ 具有更强预测血糖变化与 β 细胞功能相关性的能力,并能更好评估胰岛 β 细胞功能受损情况^[2,16],db/db 糖尿病模型小鼠 MBCI 显著降低,多穗柯总黄酮 100、200 mg/kg 给药 28 d 明显提高 MBCI,表明多穗柯总黄酮具有减少胰岛 β 细胞功能受损,提高早期相胰岛 β 细胞的胰岛素分泌能力。

免疫荧光检查显示 db/db 糖尿病模型小鼠胰岛组织分泌胰岛素的 β 细胞排列紊乱, α 细胞混杂其中,数量明显减少($P < 0.01$);多穗柯总黄酮给药后分泌胰岛素的 β 细胞数量增加($P < 0.01$),胰岛素表达区域趋于均匀致密。

综上所述,多穗柯总黄酮增加了 db/db 小鼠分泌胰岛素的 β 细胞数量、糖负荷早期相 β 细胞的胰岛素分泌能力,增强了胰岛 β 细胞功能,从而发挥多穗柯总黄酮预防糖尿病的作用。

参考文献

- [1] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版)[J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(4): 292-344.
- [2] 陈晨, 徐向进, 陈频. 胰岛 β 细胞功能评估[J]. 医学综述, 2014, 20(9): 1561-1564.
- [3] 饶伟源, 冉国粮, 邱宏聪, 等. 多穗柯质量标准研究[J]. 中南药学, 2017, 15(6): 814-817.
- [4] 李胜华, 伍贤进, 杨青丹, 等. 多穗柯化学成分研究[J]. 中药材, 2010, 33(4): 549-551.
- [5] 韦宝伟, 刘布鸣, 曾宪彪, 等. 木姜叶柯总黄酮对大小鼠血糖和糖耐量

的影响[J].现代药物与临床 2012 27(1) : 19-22.

[6]Shan Jiang , Yong Jiang , You-Fei Guan et al.Effects of 95% ethanol extract of Aquilaria sinensis leaves on hyperglycemia in diabetic db/db mice [J].Chin Pharm J , 2011 (2011) : 609-614.

[7]罗园 华桦 曾安琪 等.变叶海棠提取物对链脲佐菌素所致糖尿病小鼠的作用研究[J].中药药理与临床 2020 36(1) : 115-120.

[8]刘春燕.银杏叶提取物对 db/db 小鼠胰岛功能的影响[J].南京大学 2013: 15-25.

[9]吴成香 杨达性 姚伟昊 等.白藜芦醇对 db/db 小鼠胰岛 β 细胞功能的影响[J].中国糖尿病杂志 2017 25(11) : 1027-1032.

[10]李浩然 李莉 尹竹君 等.微粉化四氢姜黄素对自发性 2 型糖尿病 db/db 小鼠的作用研究[J].中药药理与临床 2018 34(3) : 33-38.

[11]叶小珍 杜宏 邵加庆 等.大黄酸对 db/db 小鼠早期相胰岛素分泌

的影响[J].现代中西医结合杂志 2010 19(36) : 4668-4670.

[12]王丹 王芳 杨怡 等.桂皮醛对 db/db 糖尿病小鼠胰岛形态与功能的影响[J].实用医学杂志 2019 35(11) : 1744-1747.

[13]Hummel KP , Dickie MM , Coleman DL. Diabetes a new mutation in the mouse [J]. Science , 1966 (153) : 1127-1132.

[14]Stefano DP , Antonio T. The importance of first phase insulin secretion implications for the therapy of type 2 diabetes mellitus [J]. Diabetes Metab Resrev , 2001 (17) : 164-174.

[15]Stefano Del Prato.胰岛素早期分泌时相的丧失与餐后高血糖[J].国外医学内分泌学分册 2003 23(3) : 153-154.

[16]李光伟.对胰岛 β 细胞功能评估的再认识[J].国外医学内分泌学分册 2005 25(3) : 164-166.

Effects of Total Flavone of *Lithocarpus litseifolius* on Pancreatic Islet β Cell in Db/db Mice *

Chen Jingmin , Li Yanjing , Wang Li

(Guangxi Institute of Chinese Medicine and Pharmaceutical Science , Nanning 530022)

Objective: To investigate the effect of total flavone of *Lithocarpus litseifolius* on pancreatic islet β cell function in db/db diabetic mice.

Methods: According to the fasting plasma glucose values , db/db male mice were divided into the model group , 83 mg/kg metformin group , and total flavones of *Lithocarpus litseifolius* groups (100 and 200 mg/kg) , then C57BL/Ks mice were selected as the control. All mice were orally administered with corresponding drugs or distilled water for 28 days. At the end of administration , the oral glucose tolerance test was performed. Blood glucose (PG) , Glycated hemoglobin (GHb) and insulin (INS) were measured. The pancreatic tissue was examined by immunohistochemistry. The area of blood glucose curve (AUC_{PG}) , the quantity of early phase insulin secretion ($AUC_{INS0-30}$) , modified β cell function index (MBCI) and the percentage of β cell in pancreas were counted. **Results:** Compared with the control group , the fasting blood glucose (FPG) in the model group was increased with time , the levels of GHb and fasting insulin (FINS) were increased , $AUC_{INS0-30}$, MBCI and percentage of β cell were decreased ($P < 0.01$) . Compared with the model group , the contents of FPG , GHb and FINS were decreased in Total flavones of *Lithocarpus litseifolius* groups (100 and 200 mg/kg) ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) . $AUC_{INS0-30}$, MBCI and the percentage of β cell in pancreas were significantly increased in OGTT ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) . **Conclusion:** Total flavones of *Lithocarpus litseifolius* can improve the function of pancreatic islet β cell in db/db diabetic mice.

Key words Total flavones of *Lithocarpus litseifolius* , Glycated hemoglobin , Early phase insulin , Modified beta cell function index

DOI:10.13412/j.cnki.zyyj.20210602.003

基于蛋白组学探讨哈蟆油对骨质疏松大鼠骨代谢调节作用机制*

李晓华¹ , 仇广杰² , 曹占鸿¹ , 姜艳清¹ , 李 晶¹ , 李宜平¹ , 杨 擎¹ , 石晓征¹ , 李娜¹ , 曲晓波¹ , 李银清^{1**}

(¹长春中医药大学 , 长春 130117; ²吉林农业大学 , 长春 130118)

摘 要 目的: 基于多肽体外标记定量技术(TMT) 蛋白定量检测 , 研究哈蟆油调节大鼠骨代谢 , 防治绝经后骨质疏松作用。方法: 采用蛋白裂解法提取大鼠股骨总蛋白 , 依次经过胰蛋白酶酶解、TMT 试剂标记、HPLC 分级、HPLC-MS 联用技术鉴定蛋白 , 利用生物信息学分析方法进行差异表达蛋白注释、GO 富集分析、通路富集分析和蛋白结构域富集分析 , 利用平行反应监测(PRM) 技术验证典型特异表达蛋白。结果: 蛋白质定量分析共鉴定到 5 654 个蛋白 , 其中注释到 4 889 个蛋白。与空白对照组比较 , 模型对照组参与富集度较高的信号通路中差异表达蛋白共 22 个($\text{fold change} > 2.0$, $\text{fold change} < 1/2.0$, $P < 0.05$) , 其中有 6 个蛋白发生表达上

* 基金项目: 长春中医药大学“杏林学者工程”青年科学家项目培养计划项目; 吉林省卫生计生委卫生与健康青年科技骨干培养计划项目(编号: 2018Q043) ; 吉林省大学生创新创业训练计划项目; 吉林省教育厅项目(编号: JJKH20181266KJ) ; 吉林省科技发展计划项目(编号: 20170309005YY) 。

** 通信作者: 李银清 , 博士 , 副研究员 , 研究方向: 从事中药及分子药理学 , E-mail: liyingqing2168@ qq.com;

作者简

介: 李晓华 , 博士 , 实验师 , 研究方向: 从事动物药防治骨质疏松分子机制研究 , E-mail: xiaohua130319@ 163.com。