

青钱柳三萜酸对高糖所致的胰岛 α 细胞胰岛素抵抗的影响

王依婷^{1,2,3}, 赵梦鸽^{1,2,3}, 盛雪萍^{1,2,3}, 张健^{2,3}, 蒋翠花^{2,3*}, 殷志琦^{1**}

(¹中国药科大学天然药物化学教研室 & 天然药物活性组分与药效国家重点实验室, 南京 210009; ²南京中医药大学附属中西医结合医院, 南京 210028; ³江苏省中医药研究院转化医学实验室, 南京 210028)

摘要 为探究青钱柳三萜酸(TAE)对胰岛素抵抗胰岛 α 细胞胰高血糖素分泌的影响及其可能的干预机制, 采用长期高糖诱导小鼠胰高血糖素瘤细胞株(α TC1-6)建立胰岛 α 细胞胰岛素抵抗细胞模型。实验分组为: 正常对照组(5.5 mmol/L 葡萄糖), 模型组(25 mmol/L 葡萄糖), 青钱柳三萜酸组(TAE, 1、5、10 μ g/mL), TAE + PI3K 抑制剂渥曼青霉素组(10 μ g/mL TAE + 10 nmol/L wortmannin)。给药后收集上清液, 裂解细胞。采用 ELISA 试剂盒检测 α TC1-6 细胞上清液的胰高血糖素含量, qPCR 和 Western blot 检测细胞裂解液中的胰岛素受体-1(IRS-1)、磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)及其胰岛素信号通路中下游蛋白激酶 B(Akt)的 mRNA 和蛋白表达水平。结果显示, TAE 可以浓度依赖性降低高糖诱导的 α TC1-6 细胞的胰高血糖素分泌量, 并可增加胞内 IRS-1、PI3K 和 Akt 的基因表达和磷酸化水平, 而给予渥曼青霉素后能够逆转其作用。研究表明, TAE 对高糖所致的胰岛 α 细胞胰岛素抵抗具有一定的改善作用, 并可能与激活 IRS/PI3K/Akt 信号通路有关。

关键词 青钱柳; 三萜酸; α TC1-6 细胞; 胰岛素抵抗; 2 型糖尿病

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2018)02-0215-07

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20180212

引用本文 王依婷, 赵梦鸽, 盛雪萍, 等. 青钱柳三萜酸对高糖所致的胰岛 α 细胞胰岛素抵抗的影响[J]. 中国药科大学学报, 2018, 49(2): 215–221.

Cite this article as: WANG Yiting, ZHAO Mengge, SHENG Xueping, et al. Effect of triterpenic acid-enriched fraction from *Cyclocarya paliurus* on high glucose-induced pancreatic α cells insulin resistance[J]. *J China Pharm Univ*, 2018, 49(2): 215–221.

Effect of triterpenic acid-enriched fraction from *Cyclocarya paliurus* on high glucose-induced pancreatic α cells insulin resistance

WANG Yiting^{1,2,3}, ZHAO Mengge^{1,2,3}, SHENG Xueping^{1,2,3}, ZHANG Jian^{2,3}, JIANG Cuihua^{2,3*}, YIN Zhiqi^{1**}

¹Department of Natural Medicinal Chemistry & State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009; ²Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028; ³Jiangsu Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

Abstract To investigate the effect and possible mechanisms of triterpenic acid-enriched fraction from *Cyclocarya paliurus* (TAE) on glucagon secretion in insulin-resistance pancreatic α cells, the model of insulin resistance in α TC1-6 cells was induced by long term exposure to high glucose. Experimental groups were divided as follow: control (5.5 mmol/L glucose), model (25 mmol/L), TAE (1, 5, 10 μ g/mL), and TAE (10 μ g/mL) plus wortmannin (10 nmol/L) group. The supernatant and lysate of treated cells were collected to determine glucagon secretion by ELISA kit. The mRNA and protein abundance of IRS-1, PI3K and Akt were measured by qPCR and Western blot analysis. Results showed that TAE could not only significantly reduce glucagon secretion induce by high glucose in a dose-dependent manner, but also remarkably increased the mRNA and protein abundance of IRS-1, PI3K and Akt in α TC1-6 cells. However, these effects of TAE were reversed by PI3K inhibitor

收稿日期 2017-09-19 通信作者 * Tel: 025-52362116 E-mail: jiangshan806@163.com

** Tel: 025-86185371 E-mail: chyzq2005@126.com

基金项目 国家自然科学基金资助项目(No. 81503316); 江苏省自然科学基金资助项目(No. BK20161460); 江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPP)

wortmannin. In conclusion, it suggested that TAE could improve the insulin resistance induced by high glucose in pancreatic α cells which may be related with the activation of IRS-1/PI3K/Akt signaling pathway.

Key words *Cyclocarya paliurus*; triterpenic acid-enriched (TAE); α TC1-6 cells; insulin resistance; type 2 diabetes

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81503316), the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (No. BK20161460), and the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions (PAPD)

2 型糖尿病 (type 2 diabetes, T2DM) 是一种以高血糖为特征的慢性代谢性疾病, 可引发肾功能衰竭、心脏病发作、失明、下肢坏疽等并发症^[1]。据世界卫生组织最新报告统计, 2014 年全球约有 4.22 亿糖尿病患者, 其中 T2DM 患者超过 90%^[2]。“双激素异常假说”认为糖尿病的主要病因不仅是胰岛素不足, 也与胰高血糖素的相对或绝对过多有关^[3–4]。而胰高血糖素分泌过多的原因之一是 α 细胞的胰岛素抵抗。在高糖、炎症等持续刺激下, 胰岛 α 细胞可能会产生原发性的胰岛素抵抗, 胰岛素受体-1 (IRS-1)、磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) 及其胰岛素信号通路中下游蛋白激酶 B (Akt) 的表达明显降低, 与此同时外源性胰岛素对胰高血糖素分泌的抑制作用明显减弱, 胰高血糖素分泌异常增加, 引起血糖急剧上升^[5–7]。因此通过干预 IRS-1/PI3K/Akt 信号通路改善 α 细胞胰岛素抵抗可能是治疗 T2DM 的有效途径之一。

青钱柳 (*Cyclocarya paliurus*) 为胡桃科青钱柳属植物, 是我国特有物种^[8]。现代药理学研究表明, 青钱柳具有降血糖、降血脂等功效^[9–12]。本课题组前期研究发现, 青钱柳叶富含三萜酸部位可通过影响小鼠脂肪组织中 IRS-1/PI3K/Akt 信号通路传导而改善胰岛素抵抗, 其对胰岛 α 细胞胰岛素抵抗是否具有调节作用有待研究^[13]。本文拟采用高糖诱导小鼠胰高血糖素瘤细胞株 (α TC1-6) 建立胰岛素抵抗细胞模型, 探究青钱柳三萜酸对胰岛 α 细胞胰高血糖素分泌的影响及其可能的干预机制^[14]。

1 材料

1.1 试剂

DMEM 培养基 (低糖)、HEPES [4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸]、双抗 (青霉素和链霉素)、MEM 非必需氨基酸 (美国 Gibco 公司); 胎牛血清 (美国 ScienCell 公司); 胰蛋白酶-EDTA 消化液、噻唑兰

MTT、PBS 溶液 (江苏凯基生物技术股份有限公司); 二甲亚砜 DMSO、RIPA 裂解液、PMSF、渥曼青霉素、Anti-Glucagon antibody (美国 Cell Signaling Technology 公司); KRBH 缓冲液 (广州沛瑜生物制品有限公司); 胰岛素 (美国 Sigma 公司); Trizol Reagent (美国 Life Technologies 公司); 葡萄糖检测试剂盒 (上海荣盛生物药业有限公司); 胰高血糖素 ELISA 试剂盒 (美国 R&D 公司); 引物、DEPC 水 (上海捷瑞生物工程有限公司); SYBR Green Real-time PCR Master Mix、ReverTra Ace qPCR RT Master Mix with gDNA Remover [东洋纺 (上海) 生物科技有限公司]; 其他试剂均为市售分析纯。

1.2 仪器

倒置荧光显微镜 (德国 Carl Zeiss 公司); Microfuge 22R 台式微量冷冻离心机 (美国 Beckman Coulter 公司); 恒温干燥箱 Synergy H1 多功能酶标仪 (美国 Biotek 公司); QuantStudio[®] Dx Real-Time PCR 循环仪; S1000 PCR 热循环仪 (美国 Bio-Rad 公司)。

1.3 药物

青钱柳采自南京林业大学 (GPS 坐标: N32°04' 46.95", E118°48' 47.40"), 由中国药科大学中药资源与开发教研室秦民坚教授鉴定为 *Cyclocarya paliurus* (Batal) Iljinskaja。样本保存于中国药科大学天然药化教研室 (No. L20100033)。取青钱柳干燥粉末 2.5 kg 用 80% 乙醇回流提取 (20 L \times 3, 每次 2 h)。合并提取物, 减压浓缩无醇味后加适量水混悬, 用石油醚脱脂并用氯仿分离, 得到氯仿部位提取物 171.9 g。取部分氯仿提取物用 3% NaOH 水溶液提取后, 水相部分用 5% HCl 溶液反复萃取 3 次, 得到三萜酸富集部位 84.7 g (得率为 3.39%)。

1.4 细胞株

小鼠胰高血糖素瘤细胞株 α TC1-6, 购买自美国 ATCC 细胞库。

2 方 法

2.1 细胞胰岛素抵抗模型建立

2.1.1 高糖对 α TC1-6 细胞毒性的影响 将对数生长期 α TC1-6 细胞消化后,以每孔 7.5×10^3 个细胞的密度接种于 96 孔板中,细胞贴壁后将含有 11 mmol/L 葡萄糖的培养基换成含有 5.5、25、30 和 33 mmol/L 葡萄糖的 DMEM 培养基,分别培养 1、3、5 和 7 d 后,每孔加入 5 mg/mL MTT 20 μ L,孵育 4 h,吸去上清液,每孔加入 DMSO 溶液 150 μ L,振荡 10 min,570 nm 处测定吸收度(A)。

2.2.2 高糖对 α TC1-6 细胞胰高血糖素分泌的影响 取对数生长期 α TC1-6 细胞,以每毫升 2.5×10^5 个细胞的密度接种于 12 孔板中,细胞贴壁后分别给予含有 5.5、25、30 和 33 mmol/L 葡萄糖的 DMEM 培养基,分别培养 1、3、5 和 7 d,用 ELISA 试剂盒测定上清液中的胰高血糖素含量。

2.3 TAE 对 α TC1-6 细胞活力的影响

待 α TC1-6 细胞生长密度达到 85% ~ 90% 时,按照每孔 7.5×10^3 个细胞的密度接种于 96 孔板中,细胞贴壁后吸去培养基,加入不完全 DMEM 培养基 (11 mmol/L) 和待测药物,药物的质量浓度分别为 1、2、5、10、15、20、25 和 30 μ g/mL。加药孵育 24 h 后,方法同“2.1.1”,测定 MTT,计算细胞活力。

2.4 TAE 对 α TC1-6 细胞胰高血糖素分泌的影响

α TC1-6 细胞以每孔 5×10^5 个细胞的密度接种于 6 孔板,分别给予含 5.5、25 mmol/L 葡萄糖的 DMEM 培养基培养 5 d 后,共分为两大组:加胰岛素组 (100 nmol/L) 和不加胰岛素组。每组再分为 6 组,分别为正常对照组 (5.5 mmol/L 葡萄糖)、模型组 (25 mmol/L 葡萄糖)、青钱柳氯仿部位三萜酸组 (TAE, 1、5、10 μ g/mL) 和 10 μ g/mL TAE + PI3K 抑制剂渥曼青霉素 (10 nmol/L) 组。各组用对应葡萄糖的浓度 DMEM 培养 5 d 后,将培养基换为不含血清的 DMEM 培养基,同时加入药物孵育 20 h 后,加入胰岛素孵育 4 h。孵育完成后,吸去上清液,用 KRBH 溶液清洗两遍,然后用 KRBH 溶液孵育 30 min,吸去上清液,再用含 1 mmol/L 葡萄糖的 KRBH 缓冲液 (0.5% BSA) 孵育 1.5 h,留取上清液,于 -20 $^{\circ}$ C 保存,ELISA 试剂盒检测胰高血糖素含量。同时抽提各孔细胞总蛋白,采用 BCA 定量试剂盒测定蛋白浓度,以校正胰高血糖素浓度。

2.5 Real-time PCR 实验

α TC1-6 细胞按照“2.4”项下方法处理后,PBS 液清洗细胞两次,用 Trizol 试剂提取细胞 RNA,酶标仪测定 $A_{260/280}$ 及其浓度。RNA 在 65 $^{\circ}$ C 条件下预变性 5 min 后,立即置于冰上,按照反转录试剂盒说明配制体系,将 RNA 反转录为 cDNA,反映参数为:37 $^{\circ}$ C,15 min;50 $^{\circ}$ C,5 min;98 $^{\circ}$ C,5 min。按照 PCR 试剂盒配置反应体系后进行 PCR 反应,反应参数为:95 $^{\circ}$ C,15 s;60 $^{\circ}$ C,15 s;72 $^{\circ}$ C,45 s。其中,95 $^{\circ}$ C 预变性 60 s;共循环 40 次。测得各基因引物序列见表 1。

Table 1 Primer sequence for real-time PCR assay

Gene	Primer sequence
Glucagon	Forward 5'-CCTCCAAGTAAGAACTCACATCAC-3'
	Reverse 5'-CACCAGCGACTACAGCAAATA-3'
IRS-1	Forward 5'-ATGCAGAGCTGTGGCGTTTAA-3'
	Reverse 5'-ACCTACTCGGGCTGGCAATAC-3'
PI3K	Forward 5'-TTCCCTCGCAATAGGTTCTCC-3'
	Reverse 5'-GACCAATACCTGATGTGGCTGAC-3'
AKT	Forward 5'-CACTGGCTGAGTAGGAGAACIT-3'
	Reverse 5'-TCTGAGACTGACACCAGGTATTT-3'
GAPDH	Forward 5'-AAGAAGGTGCTGAAGCAGG-3'
	Reverse 5'-GAAGGTGGAAGACTGGGAGT-3'

2.6 Western blot 分析

细胞按照“2.4”项处理后,PBS 液清洗细胞两次,每孔加蛋白裂解液 150 μ L 在冰上裂解 5 min,吹打细胞数次,收集细胞,0 $^{\circ}$ C 超声波破碎 3 次,冰上放置 30 min 后在 -20 $^{\circ}$ C 和 37 $^{\circ}$ C 之间反复冻融 3 次,12 000 r/min 离心 10 min,收集上清液,用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。将蛋白质样品稀释至相同且合适的浓度进行 SDS-PAGE 电泳 (电泳条件:85 V,20 min;120 V,80 min),然后转移至 PVDF 膜上在 5% 脱脂奶粉封闭液中室温封闭 1 h,加入一抗 (1:800) 4 $^{\circ}$ C 过夜,之后加入二抗 (1:2 000) 37 $^{\circ}$ C 孵育 2 h,采用电化学发光检测法 (ECL 检测法) 显色,并对感光胶片条带进行灰度值分析。

2.7 数据分析

相关数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS 22.0 统计软件进行单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 作为显著性指标。

3 结 果

3.1 α TC1-6 细胞胰岛素抵抗模型的建立

高浓度葡萄糖培养基分别培养 α TC1-6 细胞

1、3、5 和 7 d 后,测定不同糖浓度培养下 α TC1-6 细胞培养液中胰高血糖素含量。结果显示葡萄糖浓度超过 25 mmol/L,培养时间超过 5 d 时,胰高血糖素分泌明显升高(图 1)。其中葡萄糖浓度为 25 mmol/L,培养时间为 5 d 时,不仅可以显著增加胰高血糖素分泌($P < 0.05$),且数据稳定性较好,故采用葡萄糖含量为 25 mmol/L 的培养基培养 5 d 建立 α TC1-6 细胞胰岛素抵抗模型。

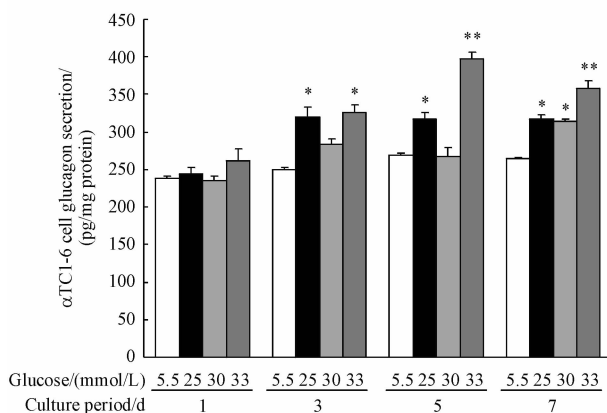


Figure 1 Time- and dose-dependency of glucose-induced glucagon secretion in α TC1-6 cells ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs 5.5 mmol/L for 1 day

3.2 TAE 对 α TC1-6 细胞活力的影响

如图 2 所示,MTT 法检测 1、2、5、10、15、20、25 和 30 μ g/mL 青钱柳三萜酸的细胞毒性实验结果显示,与正常对照组相比,质量浓度为 1、2、5、10 和 15 μ g/mL 的青钱柳三萜酸细胞活力明显大于 90%,无细胞毒性,故选择 1、5、10 μ g/mL 3 个质量浓度进行相关实验内容。

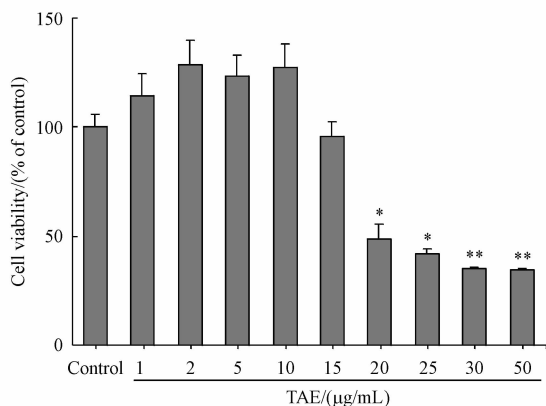


Figure 2 Effect of triterpenic acid-enriched fraction from *Cyclocarya paliurus* (TAE) on cell viability of α TC1-6 cells. α TC1-6 cells were treated with different concentration of TAE for 24 h, and then cell viability was measured by MTT assay ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group

3.3 TAE 对 α TC1-6 细胞胰高血糖素分泌的影响

如图 3 所示,与正常对照组相比,高糖模型组胰高血糖素分泌量显著增加($P < 0.05$)。与模型组相比,青钱柳三萜酸 1、5 和 10 μ g/mL 作用于 α TC1-6 细胞模型 24 h 后,给药组细胞的胰高血糖素分泌量明显降低,并存在浓度依赖性。胰岛素条件下,正常对照组和模型组的胰高血糖素分泌量均下降,说明胰岛素可以抑制胰高血糖素的分泌。而青钱柳三萜酸各给药组胰高血糖素显著下降,说明其可降低胰高血糖分泌且具有一定的胰岛素依赖性。

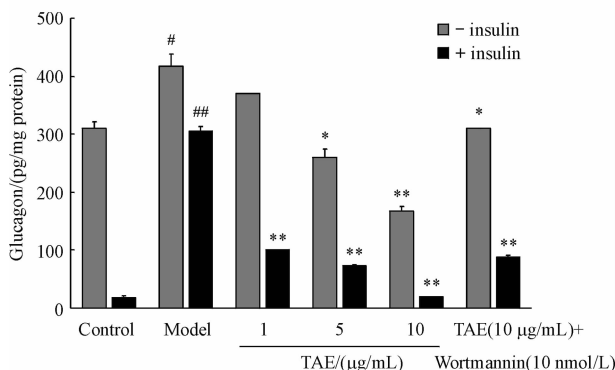


Figure 3 Effect of TAE on glucagon secretion in α TC1-6 cells. α TC1-6 cells were incubated for 5 days in DMEM media containing 5.5 mmol/L glucose or 25 mmol/L glucose in the presence or absence of different concentration of TAE for 24 h with or without insulin (100 nmol/L) for 4 h. Wortmannin (10 nmol/L) was added 30 minutes before insulin at the last group ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

$P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs model group

3.4 TAE 对 α TC1-6 细胞中 IRS-1、PI3K 和 Akt 磷酸化水平的影响

与正常对照组相比,高糖刺激下模型组的 IRS-1、PI3K、Akt 含量均降低,符合糖尿病症状(图 4)。TAE 干预后,IRS-1、PI3K 和 Akt 的磷酸化水平较模型组显著上升,并具有浓度依赖性($P < 0.05$)。加入 PI3K 抑制剂渥曼青霉素后,PI3K 和 Akt 的蛋白水平有所降低(图 4)。

3.5 TAE 对 α TC1-6 细胞胰高血糖素、IRS-1、PI3K 和 Akt 的 mRNA 表达的影响

如图 5 显示,不加胰岛素时,与正常对照组相比,模型组的胰高血糖素 mRNA 水平明显提高,并具有显著性差异($P < 0.05$),IRS-1、PI3K 和 Akt 水平均显著性降低。与模型组相比,TAE (10 μ g/mL)能够轻微降低胰高血糖素的基因表

并增加 IRS-1、PI3K 和 Akt 的表达。加入胰岛素后,与正常对照组相比,模型组胰高血糖素的表达轻微增加,IRS-1、PI3K 和 Akt 水平都显著性降低;与模型组相比,TAE 能够显著性降低胰高

血糖素的表达并显著性增加 IRS-1、PI3K 和 Akt 的表达,差异有统计学意义($P < 0.05$)。而 PI3K 抑制剂渥曼青霉素的加入能够逆转 TAE 对 PI3K 和 Akt 的作用。

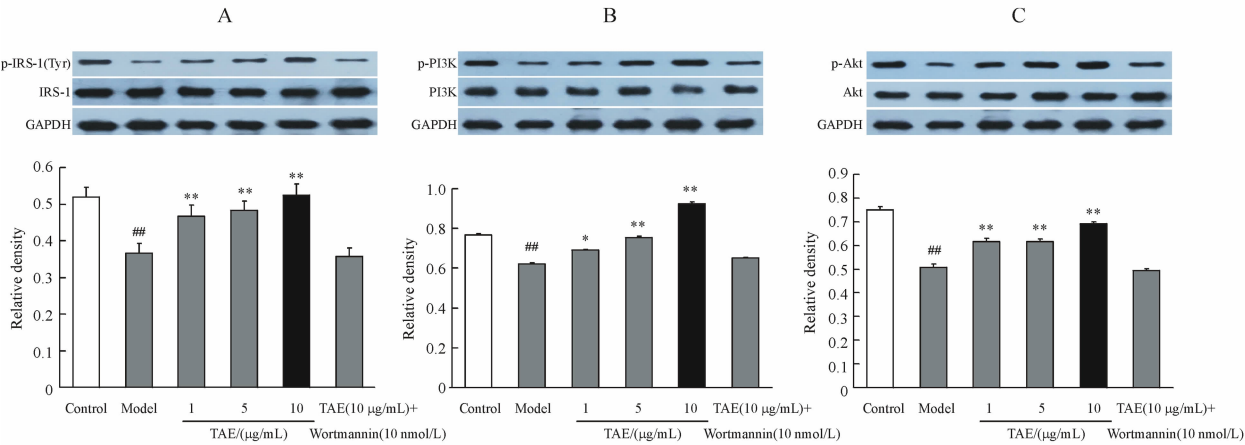


Figure 4 Effects of TAE on protein levels of IRS-1, PI3K and Akt in α TC1-6 cells. α TC1-6 cells were incubated for 5 days in DMEM media containing 5.5 mmol/L glucose or 25 mmol/L glucose in the presence or absence of different concentration of TAE for 24 h with insulin (100 nmol/L) for 4 h. P-IRS-1 (A), p-PI3K (B) and p-Akt (C) was measured by Western blot ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
$P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs model group

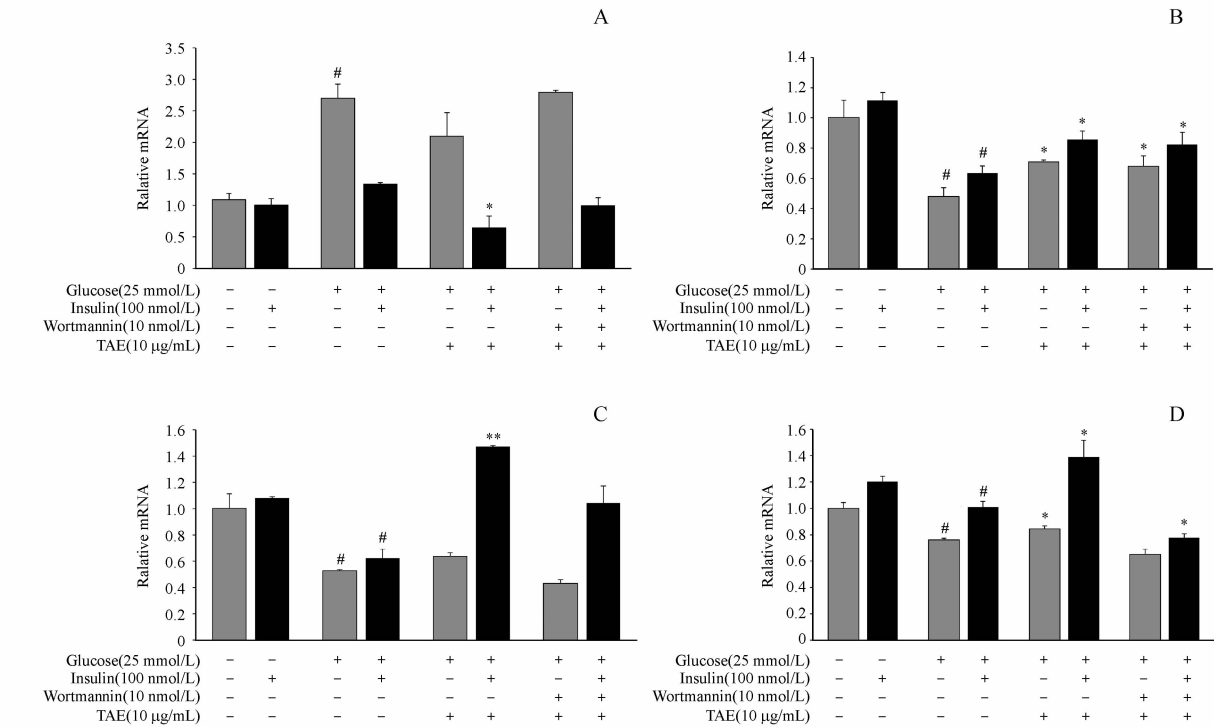


Figure 5 Effects of TAE on gene expression in α TC1-6 cells. α TC1-6 cells were incubated for 5 days in DMEM media containing 5.5 mmol/L glucose or 25 mmol/L glucose in the presence or absence of 10 μ g/mL TAE for 24 h with or without insulin (100 nmol/L) for 4 h, gene expression levels in α TC1-6 cells were determined and normalized to GAPDH. Data is expressed as relative level to 5.5 mmol/L glucose group without insulin. A: Glucagon levels; B: IRS-1 levels; C: PI3K levels; D: Akt levels ($\bar{x} \pm s, n = 3$). # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs 5.5 mmol/L glucose (control group) with or without insulin
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs 25 mmol/L glucose (model group) in the absence of wortmannin and TAE with or without insulin

4 讨论

胰岛素抵抗是 2 型糖尿病产生的主要病因^[15]。研究表明,长期高糖环境能诱导胰岛 α 细胞产生胰岛素抵抗,导致胰高血糖素异常分泌,产生高血糖^[16]。本实验采用 25 mmol/L 高糖连续培养 α TC1-6 细胞 5 d,成功建立胰岛 α 细胞胰岛素抵抗模型,并考察了 TAE 的干预效果。实验结果显示:TAE 能够显著降低高糖诱导的 α TC1-6 胰高血糖素分泌,升高 IRS-1、PI3K、Akt 的 mRNA 和蛋白水平,提示青钱柳三萜酸对胰岛 α 细胞胰岛素抵抗的改善作用可能与激活 IRS-1/PI3K/Akt 胰岛素信号通路有关。

α TC1-6 是小鼠胰高血糖素瘤细胞株,因其细胞群体均匀单一并易于培养而优选于原代胰岛细胞,是研究胰岛 α 细胞功能的常用细胞株之一^[16–17]。此外,研究表明 α TC1-6 细胞在长期高糖环境下胰高血糖素分泌和基因表达的变化与原代细胞相比,没有显著性差异,表明 α TC1-6 细胞系具有代表性^[18–19]。本实验用含 25 mmol/L 葡萄糖的培养基培养 α TC1-6 细胞 5 d 后,细胞胰高血糖素分泌明显增加,胰岛素对胰高血糖素分泌的抑制作用减弱,表明长期高糖环境成功诱导 α TC1-6 细胞产生胰岛素抵抗,导致细胞胰高血糖素分泌异常,与文献^[14, 20]报道结果一致,表明 α TC1-6 细胞胰岛素抵抗模型建立成功。

“双激素异常”假说认为胰高血糖素分泌过多和胰岛素分泌不足是高血糖的主要原因^[2, 21]。正常生理状态下,进食后血糖浓度上升,胰岛素分泌增多,胰高血糖素分泌受到抑制而减少^[22]。而病理状态下,持续的高血糖会导致胰岛 α 细胞产生胰岛素抵抗,胰高血糖素分泌增多,加剧高血糖^[23]。本实验发现 TAE 可显著降低高糖诱导 α TC1-6 细胞的胰高血糖素分泌水平,提示其具有改善胰岛 α 细胞胰岛素抵抗功能。

IRS/PI3K/Akt 通路是胰岛素信号转导的主要途径^[24]。长期高糖刺激时,胰岛 α 细胞对外源性胰岛素无法产生正常应答,IRS/PI3K/Akt 胰岛素信号转导通路受阻,导致胰高血糖素分泌上升^[25]。本研究发现 TAE 能显著降低高糖诱导的 α TC1-6 细胞的胰高血糖素水平,增加其胞内 IRS-1、PI3K 和 Akt 的 mRNA 和蛋白水平。给予 PI3K 的抑制剂

渥曼青霉素干预后,PI3K 和 Akt 的表达明显降低,胰高血糖素水平显著上升。上述实验结果表明,TAE 可以改善胰岛素抵抗,可能是通过上调 IRS-1 和 PI3K 的酪氨酸磷酸化及其下游 Akt 的磷酸化来恢复胰岛素信号转导起作用。

综上所述,青钱柳三萜酸部位可通过干预 IRS-1/PI3K/Akt 信号通路改善胰岛 α 细胞胰岛素抵抗,抑制胰高血糖素的分泌,达到治疗糖尿病的效果。但青钱柳三萜酸在动物体内如何调控胰高血糖素分泌及哪种类型三萜发挥药效,仍需进一步深入研究。

参考文献

- [1] Heller A, Feldman B. Electrochemistry in diabetes management [J]. *Account Chem Res*, 2010, **43**(7): 963–973.
- [2] Organization WH. Global report on diabetes [J]. *Working Papers*, 2016.
- [3] Unger R, Orci L. The essential role of glucagon in the pathogenesis of diabetes mellitus [J]. *Lancet*, 1975, **1**(7897): 14–16.
- [4] Gosmain Y, Masson MH, Philippe J. Glucagon: the renewal of an old hormone in the pathophysiology of diabetes [J]. *J Diabetes*, 2013, **5**(2): 102–109.
- [5] Unger RH, Cherrington AD. Glucagonocentric restructuring of diabetes: a pathophysiologic and therapeutic makeover [J]. *J Clin Invest*, 2012, **122**(1): 4–12.
- [6] Tsuchiyama N, Takamura T, Ando H, et al. Possible role of alpha-cell insulin resistance in exaggerated glucagon responses to arginine in type 2 diabetes [J]. *Diabetes Care*, 2007, **30**(30): 2583–2587.
- [7] Hong J, Jeppesen PB, Hermansen K. Effects of elevated fatty acid and glucose concentrations on pancreatic islet function *in vitro* [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2010, **11**(4): 397–404.
- [8] Wang QQ, Jiang CH, Fang SZ, et al. Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effects of ethanol and aqueous extracts of *Cyclocarya paliurus* leaves in type 2 diabetic rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, **150**(3): 1119–1127.
- [9] Fan BD, Wei Y, Li CH, et al. Research progress in chemical constituents and hyperglycemic activity of *Cyclocarya paliurus* [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2014, **20**(13): 239–242.
- [10] Kurihara H, Fukami H, Kusumoto A, et al. Hypoglycemic action of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja in normal and diabetic mice [J]. *J Agric Chem Soc Japan*, 2003, **67**(4): 877–880.
- [11] Li TT, Wu CY, Fang SZ, et al. Content stability and hypoglycemic effect of *Cyclocarya paliurus* capsule [J]. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2013, **34**(19): 337–340.
- [12] Xu G, Yoshitomi H, Wen S, et al. *Cyclocarya paliurus* (Batal.)

- Ijinskaja aqueous extract (CPAE) ameliorates obesity by improving insulin signaling in the hypothalamus of a metabolic syndrome rat model [J]. *Evid-Based Compl Alt*, 2017, **2017** (2):4602153.
- [13] Zhu KN, Jiang CH, Tian YS, *et al.* Two triterpenoids from *Cyclocarya paliurus* (Batal) Iljinsk (Juglandaceae) promote glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes; the relationship to AMPK activation [J]. *Phytomedicine*, 2015, **22** (9):837–846.
- [14] Shen XX, Li HL, Pan L, *et al.* Glucotoxicity and cell dysfunction; involvement of the PI3K/Akt pathway in glucose-induced insulin resistance in rat islets and clonal TC1-6 cells [J]. *Endocr Res*, 2012, **37** (1):12–24.
- [15] Godsland IF, Walton C, Wynn V. Role of glucose and insulin resistance in development of type 2 diabetes mellitus [J]. *Lancet*, 1992, **340** (8831):1347–1348.
- [16] Kisanuki K, Kishikawa H, Araki E, *et al.* Expression of insulin receptor on clonal pancreatic alpha cells and its possible role for insulin-stimulated negative regulation of glucagon secretion [J]. *Diabetologia*, 1995, **38** (4):422–429.
- [17] Mizusawa N, Hasegawa T, Ohigashi I, *et al.* Differentiation phenotypes of pancreatic islet beta- and alpha-cells are closely related with homeotic genes and a group of differentially expressed genes [J]. *Gene*, 2004, **331** (1):53–63.
- [18] Piro S, Maniscalchi ET, Monello A, *et al.* Palmitate affects insulin receptor phosphorylation and intracellular insulin signal in a pancreatic alpha-cell line [J]. *Endocrinology*, 2010, **151** (9):4197–4206.
- [19] Chen X, Hermansen K, Xiao J, *et al.* Isosteviol has beneficial effects on palmitate-induced α -cell dysfunction and gene expression [J]. *PLoS One*, 2012, **7** (3):e34361.
- [20] McGirr R, Ejbick CE, Carter DE, *et al.* Glucose dependence of the regulated secretory pathway in alphaTC1-6 cells [J]. *Endocrinology*, 2005, **146** (10):4514–4523.
- [21] Unger RH. The banting memorial lecture 1975. Diabetes and the alpha cell [J]. *Diabetes*, 1976, **25** (2):136–151.
- [22] Umpaichitra V, Bastian W, Taha D, *et al.* C-peptide and glucagon profiles in minority children with type 2 diabetes mellitus [J]. *J Clin Endocr Metab*, 2001, **86** (4):1605–1609.
- [23] Ferrannini E, Muscelli E, Natali A, *et al.* Association of fasting glucagon and proinsulin concentrations with insulin resistance [J]. *Diabetologia*, 2007, **50** (11):2342–2347.
- [24] Diao JY, Asghar Z, Chan CB. Glucose-regulated glucagon secretion requires insulin receptor expression in pancreatic α -cells [J]. *J Biol Chem*, 2005, **280** (39):487–496.
- [25] Kaneko K, Shirohara T, Araki E, *et al.* Insulin inhibits glucagon secretion by the activation of PI3-kinase in In-R1-G9 cells [J]. *Diabetes Res Clin Pr*, 1999, **44** (2):83–92.

· 校园信息 ·

ESI 最新学科排名公布:中国药科大学“药理学与毒理学” 国内高校排名第一“生物与生物化学”首次进入前1%

2018年3月15日ESI公布最新学科排名,中国药科大学“药理学与毒理学”(Pharmacology & Toxicology)学科国际排名为69名,居国内高校第一。“生物与生物化学”(Biology & Biochemistry)首次进入ESI世界前1%,学科国际排名为989名(本期共有997个机构进入ESI世界前1%)。

目前,中国药科大学共有四个学科进入ESI世界前1%,分别是:药理学与毒理学、化学、临床医学及生物与生物化学。其中,“药理学与毒理学”学科国际排名比上期上升3名(本期共有846个机构进入ESI世界前1%),第五次进入千分之一。

据初步统计,“药理学与毒理学”前100名中,国内有7所高校,其中,6所进入世界前千分之一。7所高校分别是:中国药科大学(69名)、浙江大学(70名)、北京大学(72名)、沈阳药科大学(80名)、上海交通大学(83名)、复旦大学(84名)及北京协和医学院(89名)。

据悉,论文“总被引次数”排在前1%的学科被视为国际高水平学科,而进入ESI世界排名前千分之一的学科则被认为已经达到国际顶尖水平,可称为世界一流学科。

(校园网)