【基础研究】

黄芪多糖对糖尿病大鼠胰岛功能及血清胰高血糖素样肽 -1 水平的影响

沙雯君，徐碧林，申　甜，陈　琳，朱近悦，陆　明，汪红平，高　洁，刘美志，雷　涛*
（上海市普陀区中心医院，上海中医药大学附属普陀医院内分泌科，上海 200062）

摘要：目的 研究黄芪多糖（astragalus polysaccharide，APS）对糖尿病（diabetes mellitus，DM）大鼠胰岛功能及血清胰高血糖素样肽 -1（glucagon-like peptide-1，GLP-1）水平的影响。**方法** 将 20 只 Wister 大鼠随机分为模型组（生理盐水）和 APS 组，每组 10 只。腹腔注射链脲佐菌素联合高脂饮食构建 DM 大鼠模型，另设 10 只 Wistar 大鼠作为正常组。灌胃给药 8 周，评估早时相、第二时相胰岛素分泌，并计算胰岛素抵抗指数和敏感指数，观察大鼠胰腺组织变化，测定 GLP-1 水平。**结果** 糖负荷后，模型组血糖高峰后延，60 min 达到顶点，模型组血糖上升最高，APS 组干预后血糖显著下降（$P < 0.01$）。正常组在糖负荷后 15 min 胰岛素快速分泌达到高峰，模型组胰岛素分泌平缓，APS 组胰岛素分泌高峰后延至 30 min。模型组曲线下面积 $_{120\text{胰岛素}}$、胰岛素生成指数 $_{15}$、胰岛素生成指数 $_{120}$、稳态模型评价胰岛素敏感指数较正常组显著下降（$P < 0.01$），APS 干预后明显上升（$P < 0.01$）；模型组稳态模型胰岛素抵抗指数较正常组明显增高（$P < 0.01$），APS 干预后下降（$P < 0.05$）。正常组胰岛细胞较多，颗粒饱满，胰岛形态完整，边界清晰；模型组胰岛细胞严重受损，数目减少，颗粒脱失，胰岛变小、数目减少，呈淀粉样变，形态边缘不规则，明显萎缩；APS 组胰岛细胞多，形态较完整，但胰岛变小，形态改变。**结论** APS 可明显升高各时间点 GLP-1 水平，改善 DM 大鼠胰岛功能紊乱，降低 DM 大鼠糖耐量、胰岛素抵抗，提高早时相胰岛素分泌、胰岛素敏感性及 GLP-1 水平，调控血糖。

关键词：黄芪多糖；糖尿病；胰岛功能；胰高血糖素样肽-1
中图分类号：R932；R587.1　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1672-9188（2022）03-0243-05
DOI：10.13683/j.wph.2022.03.006

Effects of astragalus polysaccharide on islet function and glucagon-like peptide-1 expression on diabetic rats

SHA Wenjun, XU Bilin, SHEN Tian, CHEN Lin, ZHU Jinyue, LU Ming, WANG Hongping, GAO Jie, LIU Meizhi, LEI Tao*
(*Department of Endocrinology and Metabolism, Shanghai Putuo District Central Hospital, Putuo Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200062, China*)

Abstract: ***Objective*** To study the effects of astragalus polysaccharide (APS) on islet function and serum glucagon-like peptide-1 (GLP-1) level in diabetes mellitus (DM) rats. ***Methods*** Twenty Wister rats were randomly divided into model group (normal saline) and astragalus polysaccharide group, with ten rats in each group. The DM rat model was established by intraperitoneal injection of streptozotocin combined with high-fat diet, and ten Wistar rats were set as the normal group. After intragastric administration for eight weeks, the insulin secretion in the early phase and the second phase was evaluated, the insulin resistance index and sensitivity index were calculated, the changes of pancreatic tissue were observed, and the level of GLP-1 was measured. ***Results*** After glucose load, the peak of blood glucose in the model group was delayed and reached the peak at sixty minutes. The blood glucose in the model group increased the most, and the blood glucose in the APS group decreased significantly after intervention ($P<0.01$). In the normal group, the rapid insulin secretion reached

收稿日期：2021-03-06；**修回日期**：2021-12-21
作者简介：沙雯君，主治医师，研究方向：糖尿病及其慢性并发症。
通信作者：雷涛，博士生导师，主任医师，研究方向：糖脂代谢及骨质疏松等。
基金项目：国家自然科学基金（81704027、81774083）；上海市重点专科（ZK2019B16）；上海市卫计委临床研究专项（201840345）

the peak 15 minutes after glucose load, the insulin secretion in the model group was gentle, while the peak insulin secretion peaked at thirty minutes in the APS group. In the model group, the area under ROC curve$_{120\ insulin}$, insulin production index$_{15}$, insulin production index$_{120}$ and insulin sensitivity index of steady-state mode evaluation method were significantly lower than those in the normal group ($P<0.01$), and APS increased significantly after intervention ($P<0.01$). The prognosis of APS group was significantly higher than that of normal model group ($P<0.05$). The normal group had more islet cells, plump granules, complete islet morphology and clear boundary. In the model group, the islet cells were severely damaged, the number decreased, the granules lost, the islets became smaller and the number decreased, showing amyloidosis, irregular morphological edges and obvious atrophy. In the APS group, there were more islet cells with complete morphology, but the islets became smaller and changed in morphology. ***Conclusion*** APS can significantly increase the level of GLP-1 at each time point, improve the islet dysfunction of DM rats, reduce glucose tolerance and insulin resistance, improve early insulin secretion, insulin sensitivity and GLP-1 level, and regulate blood glucose.

Key words: astragalus polysaccharide; diabetes mellitus; islet function; glucagon-like peptide-1

糖尿病（diabetes mellitus，DM）是一种代谢性疾病，是由于胰岛素抵抗（insulin resistance，IR）和胰岛素分泌不足，导致体内葡萄糖稳态被打破而引起[1-2]。目前，我国DM患者总例数居世界首位，且还在不断增长。既往研究显示，肠降糖激素通路或调节因素的改变，是导致IR和β细胞无法按需分泌的因素之一[3-4]。因此，调节肠道激素分泌，改善IR，进而促进胰岛素分泌是调控血糖的有效方法。

胰高血糖素样肽-1（glucagon-like peptide-1，GLP-1）是肠道L细胞响应养分摄入而分泌的肠降糖激素[5]。GLP-1的作用机制是通过葡萄糖依赖性刺激胰岛素分泌，抑制胰高血糖素释放，抑制食欲并减缓胃排空。GLP-1目前被广泛应用于2型DM的治疗，临床降糖效果显著。黄芪具有健脾益气之效，自古用于DM及其慢性并发症的治疗，而黄芪多糖（astragalus polysaccharide，APS）是黄芪的主要活性成分之一。现代药理研究证明，APS作用广泛，包括抗氧化、调节免疫、抗炎等[6-9]，在血糖调控上，可增加下丘脑-垂体-肾上腺轴活性，减轻糖脂代谢紊乱[10]，通过调节线粒体功能控制代谢记忆，减轻体质量，控制血糖，改善早期DM肾病[11]，逆转DM大鼠记忆障碍[12]等。而目前关于APS对DM影响的研究相对较少，故笔者从肠促胰岛素和胰岛功能入手，探讨APS调控血糖的内在机制，现报道如下。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

APS（纯度75%，上海融禾医药科技发展有限公司）。链脲佐菌素（美国Sigma公司）。酶联免疫吸附测定试剂盒（测定GLP-1，美国Crystal Chem公司）。胰岛素（诺和诺德制药有限公司）。血糖仪及血糖试纸（罗氏ACCU-CHEK）。苏木素-伊红（Hematoxylin-Eosin，HE）染色试剂盒（南京建成生物工程研究所）。TP1020自动脱水机、EG1150H石蜡包埋机、RM2245半自动轮转式切片机、ST5010全自动染色机、CV5030自动封片机均来自德国Leica公司。680酶标仪（美国Bio-Rad公司）。

1.2 动物及饲料

6周龄Wistar大鼠30只，SPF级，雄性，体质量（96.33±2.42）g，购自上海斯莱克实验动物有限责任公司。实验动物生产许可证号：SCXK（沪）2007-0005，实验动物使用许可证号：SYXK（沪）2008-005。普通饲料、高脂高糖饲料（基础饲料＋20%炼猪油＋10%蔗糖）由上海普路滕生物科技有限公司提供。

1.3 动物造模及分组

DM大鼠造模：大鼠适应性喂养1周后，采用高糖高脂饲料喂养6周，腹腔注射链脲佐菌素（25 mg/kg），以随机血糖＞16.7 mmol/L并稳定1周为造模成功[13]。将成模DM大鼠随机分为模型组、

APS 组，每组 10 只。另取未作干预的健康 Wistar 大鼠 10 只作为正常组。

1.4 给药

正常组、模型组给予等容量生理盐水灌胃（1 ml/100 g）。APS 组给予 400 mg/kg 中药药液灌胃。各组大鼠饮食不变，一日 1 次，连续给药 8 周。

1.5 口服葡萄糖耐量试验（oral glucose tolerance test，OGTT）

大鼠过夜禁食 12 h，空腹采血后灌胃给予 50% 葡萄糖液（2 g/kg），眼眶采血，分别测定第 15、30、60、90、120 min 血糖、胰岛素及 GLP-1 水平。

1.6 HE 染色

取大鼠胰腺组织，固定于 4% 多聚甲醛，经脱水、石蜡包埋、切片、HE 染色，进行组织学分析。

1.7 疗效观察

计算胰岛素早时相生成指数（insulinogenesis index，IGI）$_{15}$ = $(INS_{15} - INS_0)/(G_{15} - G_0)$。第二时相 IGI_{120} = $(INS_{120} - INS_0)/(G_{120} - G_0)$。梯形面积法计算 0 ～ 120 min 血糖曲线下面积（area under the curve，AUC）$_{120\ 血糖}$和 $AUC_{120\ 胰岛素}$。稳态模型评价（homeostasis model assessment，HOMA）胰岛素敏感指数（insulin sensitivity index，ISI）= Ln[1/（空腹血糖 × 空腹胰岛素）]。HOMA-IR =空腹胰岛素 × 空腹血糖 /22.5。

1.8 统计与方法

采用 SPSS20.0 软件分析数据，计量资料以（$\bar{x}\pm s$）表示，检验各组变量正态性，非正态分布资料经对数转换后分析，组间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 APS 对糖耐量及胰岛功能的影响

糖负荷后模型组血糖高峰后延，60 min 达到顶点。比较 $AUC_{120\ 葡萄糖}$，模型组血糖上升最高，APS 干预后血糖显著下降（$P < 0.01$）。胰岛素分泌方面，正常组在糖负荷后 15 min 胰岛素快速分泌达到高峰，模型组胰岛素分泌平缓，APS 组胰岛素分泌高峰后延至 30 min。模型组 $AUC_{120\ 胰岛素}$、IGI_{15}、IGI_{120}、HOMA-ISI 较正常组显著下降（$P < 0.01$），APS 干预后则上升。模型组 HOMA-IR 较正常组明显增高（$P < 0.01$），APS 干预后则下降（$P < 0.05$），见图 1、表 1。

2.2 APS 对胰腺组织形态的影响

正常组胰岛细胞较多，颗粒饱满，胰岛形态完整，边界清晰；模型组胰岛细胞严重受损，细胞数目明显减少，细胞颗粒脱失，坏死、消失，胰岛变小、数目减少，呈淀粉样变，形态边缘不规则，胰岛融和，存在较为明显的萎缩；APS 组胰岛细胞多，形态较为完整，但胰岛变小，形态有所改变，见图 2。

2.3 APS 对血清 GLP-1 的影响

与模型组和正常组比较，APS 可明显升高各时间点 GLP-1 水平，见图 3。

3 讨论

IR 和（或）胰岛素分泌不足是造成高血糖的主要原因之一。葡萄糖是胰岛素的主要生理促泌剂[13]，餐后血糖突然升高可刺激胰岛素双相分泌。胰岛素分泌的第一时相发生在葡萄糖刺激后 5 ～ 10 min，

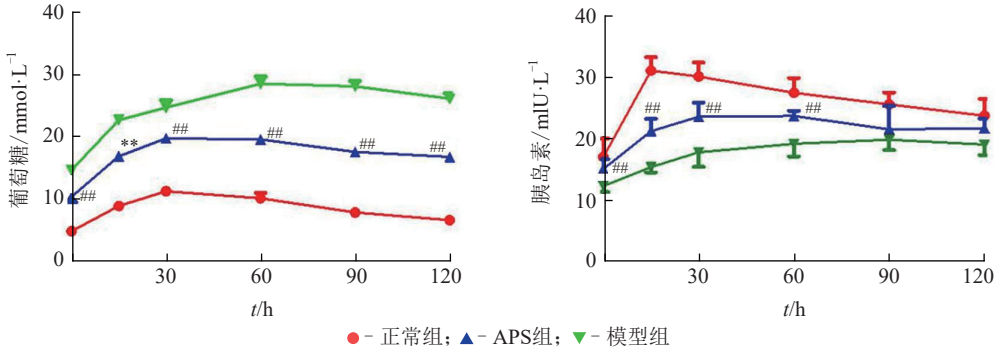
表 1 APS 对胰岛功能的影响

Table 1 Effects of APS restriction on islet function

组别	$AUC_{120血糖}$/mmol·L^{-1}×min	$AUC_{120胰岛素}$/mIU·L^{-1}×min	IGI_{15}	IGI_{120}	HOMA-IR	HOMA-ISI
正常组（n=10）	1 028.75±33.76	585.79±17.76	3.46±0.23	3.01±0.26	3.89±0.20	−4.47±0.05
模型组（n=10）	2 940.50±108.43**	288.31±40.50**	0.75±0.09**	0.71±0.09**	8.26±1.14**	5.07±0.09**
APS组（n=10）	2 541.25±447.48**$^{\#\#}$	424.53±97.38**$^{\#\#}$	1.33±0.19**$^{\#\#}$	1.22±0.79**$^{\#\#}$	6.84±0.21**$^{\#}$	5.24±0.11**$^{\#}$

注：与模型组比较，$^{\#\#}P < 0.01$，$^{\#}P < 0.05$；与正常组比较，$^{**}P < 0.01$

Note: *vs* model group, $^{\#\#}P < 0.01$, $^{\#}P < 0.05$; *vs* normal group, $^{**}P < 0.01$



注：与模型组比较，$^{\#\#}P < 0.01$；与正常组比较，$^{**}P < 0.01$

Note: *vs* model group, $^{\#\#}P < 0.01$; *vs* normal group, $^{**}P < 0.01$

图 1 OGTT 结果比较

Figure 1 Comparison of OGTT results

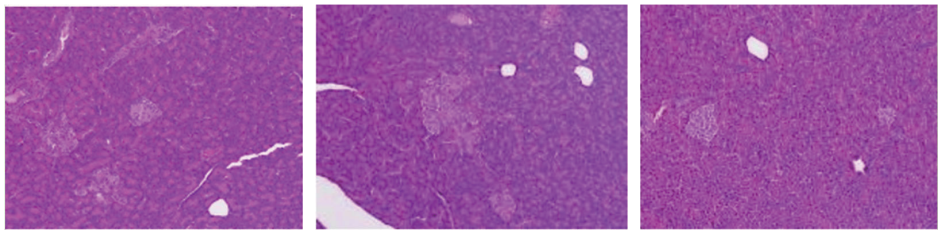
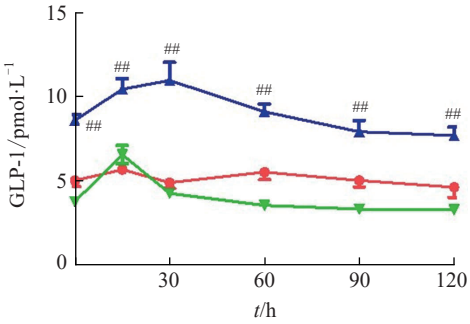


图 2 HE 染色（×400）

Figure 2 HE staining（×400）



注：与模型组比较，$^{\#\#}P < 0.01$

Note: *vs* model group, $^{\#\#}P < 0.01$

图 3 APS 对血清 GLP-1 的影响

Figure 3 Effects of APS on serum GLP-1

可直接反映胰岛素的储备；第二时相是在葡萄糖刺激后的 60 min 内，反映胰岛素的合成能力[14]。因此，动态测定葡萄糖刺激的胰岛素分泌可更好地评估 β 细胞功能。

APS 是黄芪的主要活性成分之一。既往研究显示，APS 可通过提高 DM 动物模型中肌肉组织、脂肪细胞的胰岛素敏感性[15]，减轻 IR，调节肝脏糖异生通路[16]，抑制炎症通路[17]等，恢复机体葡萄糖稳态，但对于肠道激素的影响及糖负荷后胰岛素动态分泌曲线却未见报道。本研究显示，APS 可促进 DM 大鼠早时相胰岛素分泌，从而改善 IR，并可能与增加肠促胰酶素 GLP-1 分泌有关。

本研究采用 OGTT 观测 DM 大鼠血糖及胰岛素动态变化，发现 APS 可明显降低血糖，APS 组胰岛素分泌曲线在糖负荷后 15、30、60 min 较模型组有明显提高，AUC、IGI 提示 APS 可明显增高 DM 大鼠第一时相和第二时相的胰岛素分泌，ISI、HOMA-IR 表明 APS 可改善胰岛素抵抗，增加胰岛素敏感性。在胰岛的 HE 染色图片中，亦发现 APS 组胰岛形态较其余两组 DM 大鼠有所改善。同时，本研究观察

了糖负荷后 GLP-1 的动态变化，发现 APS 可明显增加空腹及糖负荷后 GLP-1 的释放。既往研究证实，GLP-1 葡萄糖可依赖性刺激第一时相胰岛素分泌[18]，由 GLP-1 介导的胰岛素分泌占餐后胰岛素分泌总量的 50% ～ 70%。因此，笔者推测 APS 对于胰岛功能的改善可能与肠道降糖激素 GLP-1 分泌增加有关。

3 结论

利用中药有效成分探索 DM 病因病机的潜在机制，正成为药物研发的重要方向。本研究发现 APS 具有上调 GLP-1、改善胰岛功能、降低血糖的作用，这亦为中药黄芪稳定血糖的机制研究提供了一条新的思路。

参考文献：

[1] Sabu C, Henna TK, Raphey VR, *et al*. Advanced biosensors for glucose and insulin[J]. Biosens Bioelectron, 2019, 141: 111201.

[2] Rodriguez-Diaz R, Molano RD, Weitz JR, *et al*. Paracrine interactions within the pancreatic islet determine the glycemic set point[J]. Cell Metab, 2018, 27: 549-558.

[3] Yaribeygi H, Sathyapalan T, Sahebkar A. Molecular mechanisms by which GLP-1 RA and DPP-4i induce insulin sensitivity[J]. Life Sci, 2019, 234: 116776.

[4] Srivastava S, Pandey H, Singh SK, *et al*. GLP 1 regulated intestinal cell's insulin expression and selfadaptation before the onset of type 2 diabetes[J]. Adv Pharm Bull, 2019, 9(2): 325-330.

[5] Drucker DJ. Evolving concepts and translational relevance of enteroendocrine cell biology[J]. Clin Endocrinol Metab, 2016, 101(3): 778-86.

[6] Jin ML, Zhao K, Huang QS, *et al*. Structural features and biological activities of the polysaccharides from astragalus membranaceus[J]. Int J Biol Macromol, 2014, 64: 257-266.

[7] He XJ, Shu J, Xu L, *et al*. Inhibitory effect of astragalus polysaccharides on lipopolysaccharide-induced TNF-α and IL-1β production in THP-1 cells[J]. Molecules, 2012, 17(3): 3155-3164.

[8] Li XT, Zhang YK, Kuang HX, *et al*. Mitochondrial protection and anti-aging activity of astragalus polysaccharides and their potential mechanism[J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(2): 1747-1761.

[9] Liu M, Wu K, Mao XQ, *et al*. Astragalus polysaccharide improves insulin sensitivity in KKAy mice: regulation of PKB/GLUT4 signaling in skeletal muscle[J]. J Ethnopharmacol, 2010, 127(1): 32-37.

[10] Si MW, Yang MK, Fu XD. Effect of hypothalamic-pituitary-adrenal axis alterations on glucose and lipid metabolism in diabetic rats[J]. Genet Mol Res, 2015, 14(3): 9562-9570.

[11] Zhang YW, Wu CY, Cheng JT. Merit of astragalus polysaccharide in the improvement of early diabetic nephropathy with an effect on mRNA expressions of NF-kappaB and IkappaB in renal cortex of streptozotoxin-induced diabetic rats[J]. J Ethnopharmacol, 2007, 114(3): 387-392.

[12] Dun CP, Liu JQ, Qiu FC, *et al*. Effects of astragalus polysaccharides on memory impairment in a diabetic rat model[J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2016, 12: 1617-1621.

[13] 郭承伟, 宁云红, 田丽珍, 等. 大黄(庶虫)虫丸对p53介导的信号通路调控糖尿病大鼠视网膜周细胞凋亡的研究[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(3): 624-626.

[14] Komatsu M, Takei M, Ishii H, *et al*. Glucose-stimulated insulin secretion: a newer perspective[J]. J Diabetes Investig, 2013, 4(6): 511-516.

[15] Garduno-Garcia JJ, Gastaldelli A, DeFronzo R, *et al*. Older subjects with β-cell dysfunction have an accentuated incretin release[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2018, 103(7): 2613-2619.

[16] Zhang RX, Qin XZ, Zhang T, *et al*. Astragalus polysaccharide improves insulin sensitivity *via* AMPK activation in 3T3-L1 adipocytes[J]. Molecules, 2018, 23(10): 2711.

[17] Wei ZT, Weng SY, Wang L, *et al*. Mechanism of astragalus polysaccharides in attenuating insulin resistance in rats with type 2 diabetes mellitus *via* the regulation of liver microRNA-203a-3p[J]. Mol Med Rep, 2018, 17(1): 1617-1624.

[18] Gerich JE. Physiology of glucose homeostasis[J]. Diabetes Obes Metab, 2000, 2(6): 345-350.

（编辑：虞　瑛）