

电针“足三里”“肾俞”穴对 T2DM 大鼠 GLUT2、GCK 的影响

贾 宁 李 瑞 曹曷焱 田环环 胡晓刚 马艳佳 王跃颖

(北京中医药大学针灸推拿学院,北京,100029)

摘要 目的:探讨电针不同穴位对 2 型糖尿病大鼠的疗效差异及其机制。方法:40 只雄性 SD 大鼠随机选取 8 只作为空白组,其余大鼠予高糖高脂饲料喂养 50 d 后,按 35 mg/kg 质量比腹腔注射 2% 链脲佐菌素 (Streptozotocin, STZ) 溶液进行 T2DM 造模,并将造模成功的 32 只大鼠随机分为模型组、电针足三里组、电针肾俞组、格列美脲灌胃组,每组 8 只。各电针组分别取双侧“足三里”“肾俞”穴进行电针治疗,电针参数为 2 Hz, 2 mA 连续波 20 min/次,1 次/d,6 d/周,连续 4 周。于干预前及干预后,检测各组大鼠灌胃前空腹血糖 (Fasting Blood Glucose, FBG)、体质量及 OGTT 实验。末次干预结束,处死大鼠取血,取胰腺组织,采用放免法测血清胰岛素 (FINS),计算胰岛素分泌指数 (HOMA-B), Real-time PCR 检测胰腺中葡萄糖转运蛋白-2 (Glucose Transporter-2, GLUT2)、葡萄糖激酶 (Glucokinase, GCK) 的 mRNA 表达水平,HE 染色观察胰腺的形态变化。结果:干预 4 周后,除空白组体质量显著增加 ($P < 0.01$),其余各组体质量均显著减轻 ($P < 0.01$);模型组 FBG 显著高于干预前、空白组 ($P < 0.01$),格列美脲灌胃组显著低于模型组 ($P < 0.01$),两电针组比较模型组均有下降趋势 ($P > 0.05$);葡萄糖耐量实验 (Oral glucose Tolerance, OGTT) 实验结果与 FBG 同步;电针足三里组、格列美脲灌胃组 FINS 显著低于空白组、模型组及电针肾俞组 ($P < 0.01$);模型组 HOMA-B 显著低于空白组 ($P < 0.01$),各干预组比较模型组均有上升趋势 ($P > 0.05$);模型组 GLUT2 的 mRNA 表达水平显著低于空白组 ($P < 0.01$),电针足三里组、电针肾俞组显著高于模型组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$);模型组 GCK 的 mRNA 表达水平显著低于空白组 ($P < 0.01$),各干预组均显著高于模型组 ($P < 0.01$, $P < 0.05$),且电针足三里组显著高于格列美脲灌胃组 ($P < 0.01$)。HE 染色:模型组胰岛边界不清,体积明显变小,胰岛细胞数量减少且排列杂乱,细胞肿胀、坏死,可见细胞空泡变性。3 个干预组与模型组比较,有不同程度的改善,胰岛边界较模型组清晰,体积增大,胰岛内细胞数量增加,排列也较均匀,细胞空泡变性减少。结论:电针足三里、肾俞穴可能是通过上调 GLUT2、GCK mRNA 的表达水平而改善 T2DM 大鼠的胰岛 B 细胞的分泌功能、保护胰岛 B 细胞的形态、降低 FINS 水平,其中足三里穴的效果更优。

关键词 2 型糖尿病;电针;足三里穴;肾俞穴;GLUT2;GCK

Effects of Electroacupuncture at “Zusanli” and “Shenshu” on GLUT2 and GCK in T2DM Rats

Jia Ning, Li Rui, Cao Bingyan, Tian Huanhuan, Hu Xiaogang, Ma Yanjia, Wang Yueying

(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

Abstract Objective: To observe the effects and mechanism of different acupuncture points on rats who were infected with type-2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods:** Among forty male SD rats, 8 rats were randomly selected into a control group, and the rest rats were fed on high fat and sugar diet in 50 days. T2DM model was established by intraperitoneal perfusion with 2% STZ solution according to the mass ratio of 35 mg/kg after the diet. A total of 32 rats who were made as model successfully were randomly divided into the model group, the group of electroacupuncture at Zusanli (ST36), electroacupuncture at Shenshu (BL23) group and Glimepiride group, 8 rats in each. The rats in all the electroacupuncture groups were treated with electroacupuncture on Zusanli and Shenshu respectively. Electro-acupuncture (2 Hz, 2 mA) was applied as the intervention, 6 times per week, lasting for 4 weeks. Fasting blood glucose (FBG) and body mass were measured and OGTT experiment was conducted before intervention and after intervention respectively. After the last intervention, the rats were killed, and blood samples and pancreatic tissue were collected. Radioimmunoassay was used to test FINS, calculating the homeostasis model assessment-B (HOMA-B). The mRNA level of GLUT2 and GCK in the pancreas was tested with Real-time PCR. And the morphological changes of the pancreas were stained with HE. **Results:** After the 4 weeks' intervention, except that the rat's mass body in the control group continued increasing ($P < 0.01$), body mass in other groups faced significant reduction ($P < 0.01$). FBG of the model group was significantly higher than that before intervention and that of the blank group ($P < 0.01$). FBG of the Glimepiride group was prominently lower than that of

基金项目:教育部科学技术研究重大项目(编号:313010)

作者简介:贾宁(1991.07—),女,硕士研究生,研究方向:针刺干预 2 型糖尿病的作用机制研究, E-mail: qyzjanning@126.com

通信作者:李瑞(1963.12—),男,博士,教授,研究方向:针灸经典理论及腧穴的临床实验研究, E-mail: tingxuezhai@126.com

the model group($P < 0.01$). Compared with the model group, the two electroacupuncture groups showed a decrease tendency($P > 0.05$). The results of the OGTT experiment was in accord with FBG. FINS of electroacupuncture at Zusanli(ST36) group and Glimepiride group was markedly lower than the control group,model group and electroacupuncture at Shen-shu group($P < 0.01$). HOMA-B of the model group was significantly lower than the blank group($P < 0.01$) and all groups after intervention had an increase tendency in comparison with the model group($P > 0.05$). The mRNA level of GLUT2 in the blank group($P < 0.01$) was markedly higher than that of the model group($P < 0.01$), whose mRNA level of GLUT2 was significantly lower than that of electroacupuncture at Zusanli group and electroacupuncture at Shen-shu group($P < 0.05$, $P < 0.01$). The mRNA level of GCK in the blank group($P < 0.01$) was significantly higher than that of the model group, whose GCK level was markedly lower than that of all other groups after intervention. And the GCK level of electroacupuncture at Zusanli group was significantly higher than that of Glimepiride group($P < 0.01$). HE staining: the islet boundary of the model group was not clear and the volume of the islet markedly became smaller. The islet cells whose number reduced arrayed disordered and appeared swelling and necrosis, which proved vacuolar degeneration. In comparison with the model group, the three groups after intervention all got improved to some degree. The islet boundary of theirs was clear and the volume of the islet appeared bigger. The islet cells whose number increased arrayed evenly and degeneration of which got reduced. **Conclusion:** Electroacupuncture at Zusanli(ST36) and Shenshu(BL23) could enhance the mRNA level of GLUT2 and GCK to improve islet B cell secretory function in rats with T2DM, protect islet B cell morphology and reduce the level of FINS, especially Zusanli point.

Key Words T2DM; Electroacupuncture; Point ST36 (Zusanli); Point BL23 (Shenshu); GLUT2; GCK

中图分类号: R245.31+1 文献标识码: A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.05.040

2 型糖尿病(Type 2 Diabetes Melitus, T2DM)是以慢性高血糖为特征的一组异质性代谢性疾病,其高发病率和致残率^[1-2]造成了很大的社会、经济负担,迫切需要有效的治疗手段。研究表明^[3-5]针灸疗法不仅可以降血糖,改善糖尿病症状,还可以改善糖尿病胃轻瘫、糖尿病周围神经病等并发症,具有广泛的应用前景。

近年来研究表明^[6-8],胰岛素抵抗可能不是 T2DM 的唯一致病因素,无糖尿患者群也存在胰岛素抵抗,而胰岛 B 细胞功能的衰退则总伴有高血糖出现,说明胰岛 B 细胞的异常可能是 T2DM 发病的关键环节。同时研究亦指出^[9]针灸治疗 2 型糖尿病在降低血糖的同时,又能够改善胰岛 B 细胞分泌胰岛素的功能,但其起效的具体机制尚不明确。研究指出 GLUT2 和 GCK 作为“葡萄糖感受器”与葡萄糖刺激胰岛 B 分泌胰岛素密切相关^[10-12]。有鉴于此,本实验基于胰岛 B 细胞功能异常这一发病的关键环节,通过观察电针对 T2DM 大鼠胰岛 B 细胞中葡萄糖代谢调节因子 GLUT2 和 GCK 的影响,旨在探索针刺干预 T2DM 的可能机制,为针刺治疗 T2DM 提供科学实验基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 40 只清洁级雄性 SD 大鼠,体质量(155 ± 5)g,购于斯贝福(北京)实验动物科技有限公司(许可证号:SCXK(京)2011-004),于室温 23℃,空气流通,相对湿度 60%,12 h 循环光照的条件

下饲养。饲料购自北京华阜康生物科技股份有限公司,许可证号:SCXK(京)2014-0008。

1.1.2 分组与模型制备 所有动物于 1 周适应性饲养后,随机抽取 8 只为空白组,并予普通饲料喂养。其余动物参考文献^[13]并改进,制备 T2DM 模型。具体方法为:以高糖高脂饲料(含 70% 普通饲料、10% 猪油、10% 蔗糖、10% 蛋黄粉)喂养 50 d 后,按 35 mg/kg 质量比腹腔注射 2% STZ 溶液(溶剂为 pH 值 4.2~4.5,浓度 0.1 mol/L 的柠檬酸-柠檬酸钠混合液。注射需在 30 min 内完成,且越快越好,操作均在冰浴中进行)。参考文献^[14-15]并改进,注射 STZ 72 h 后尾静脉取血测 FBG,1 周后对注射 STZ 72 h FBG ≥ 11.1 mmol/L 的大鼠行 OGTT,2 h 后血糖仍 ≥ 11.1 mmol/L 的大鼠纳入后续实验。血糖 < 11.1 mmol/L 的继续喂养 2 周,待血糖降至正常水平,再次腹腔注射 STZ 35 mg/kg,最终 32 只均达到成模标准。成模动物按照空腹血糖值随机区组分为模型组、电针足三里组、电针肾俞组、格列美脲灌胃组,每组 8 只。

1.1.3 干预方法 成模动物自分组之日起仍以高糖高脂饲料喂养,并进行电针干预(1 次/d,6 d/周,4 周)。电针足三里组:与模型组同步、同法固定,以 0.16 mm $\times$ 7 mm 中研太和无菌针灸针(Lot:031426),依据实验针灸学^[16]穴位定位,直刺双侧“后三里”穴(膝关节后外侧,腓骨小头下约 5 mm)4 mm,相当于人的足三里,双穴接通电针形成回路,电针参数:2 Hz,2 mA 连续波 20 min(英迪 KWD-808

电针)。电针肾俞组:与模型组同步、同法固定,依据实验针灸学^[16]穴位定位,直刺双侧“肾俞”(第2腰椎棘突下两旁)4 mm。每侧穴位均与黏贴于同侧后足上的,以0.9%氯化钠溶液浸润的棉球形成电针回路,电针参数同上。格列美脲灌胃组:将化学纯格列美脲以双蒸水配成0.2 mg/mL溶液,将大鼠按体质量(10 mL/kg)灌胃给药,与电针干预同步。空白组:不干预。模型组:于鼠套中固定20 min,不干预。

1.2.3 检测指标与方法 末次干预行OGTT实验后,所有动物禁食不禁水12 h过夜后称量体质量,并按体质量30 mg/kg予戊巴比妥腹腔注射麻醉,以5 mL注射器腹主动脉取血致死,将血液移至10 mL离心管,室温静置20 min后,4℃、3 000 r/min离心20 min提取血清,于冰浴状态下取大鼠部分胰腺于波恩氏液中固定,另取部分大鼠胰腺组织于液氮中速冻后,-80℃冰箱中保存待检。

1.2.4 一般情况 体质量:在实验开始的前1 d、造模期间每周末、干预期间的每周末及干预结束后,对各组大鼠体质量进行称量、记录,观察体质量变化情况。FBG:在实验开始的前1 d、造模期间每周末、干预期间的每周末及干预结束后,对各组大鼠采用尾静脉点刺取血,用罗氏血糖仪检测大鼠空腹血糖水平。OGTT实验^[17]:于开始干预前及末次干预后,按1 mL/100 g灌胃20%葡萄糖溶液,检测灌胃30、60、120 min后血糖,并计算干预前OGTT曲线下面积(AUC-A)、干预4周后OGTT曲线下面积(AUC-B)。葡萄糖曲线下面积(AUC)=(血糖值0 min+血糖值30 min)×0.5/2+(血糖值30 min+血糖值60 min)×0.5/2+(血糖值60 min+血糖值120 min)×1/2。空腹胰岛素(FINS):放免法测各组大鼠血清。胰岛素分泌指数(HOMA-B)^[18]:计算公式为:HO-MA-B=20×FINS(mU/L)/[FBG(mmol/L)-3.5](%)。

1.2.5 形态学检测 HE染色:胰腺组织经多聚甲醛溶液固定、石蜡包块、切片、脱蜡等步骤后苏木素-伊红染色,光镜下观察各组胰岛细胞形态。

1.2.6 Real-time PCR检测 检测胰腺中GLUT2、

GCK mRNA表达水平,要点如下:将组织从-80℃冰箱中取出,TRizol一步法提取胰腺总RNA,严格按照PCR操作要求及Promega试剂盒说明书进行逆转录合成cRNA,反应条件:95℃预变性5 min,(95℃变性35 s,Tm:GLUT2 57℃,GCK 57℃,GADPH 55℃,退火35 s,72℃延伸35 s),32次循环,凝胶图像分析系统对RT-PCR产物电泳带进行密度分析,以GAPDH为内参,计算GLUT2、GCK基因的相对表达量。

1.3 统计学方法 采用SPSS 22.0统计软件对数据进行分析,用均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间比较若各组数据均符合正态分布且满足方差齐性时采用单因素方差分析,两两比较用LSD;若不符合正态分布或方差不齐时采用非参数检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

造模前各组大鼠发育正常、生长良好、反应灵敏;造模后,造模各组大鼠逐渐出现精神萎靡、形体消瘦、摄食量、饮水量及排尿量明显增多等糖尿病症状。

2.1 各组大鼠干预前、后体质量、FBG比较 干预前,各组大鼠体质量比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。干预4周后,各干预组体质量比较正常组,均显著减轻($P < 0.01$),模型组体质量虽有所减轻,但差异有统计学意义($P > 0.05$);造模各组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。与同组干预前比较,空白组体质量显著增加($P < 0.01$),其余各组体质量均显著减轻($P < 0.01$)。干预前,造模各组FBG均显著高于空白组($P < 0.01$),且模型组与各干预组血糖比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。干预4周后,模型组显著高于空白组($P < 0.01$);格列美脲灌胃组显著低于模型组($P < 0.01$);电针肾俞组、电针足三里组FBG有下降趋势,且与格列美脲灌胃组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与同组干预前比较,模型组FBG显著升高($P < 0.01$),各干预组血糖变化不显著($P > 0.05$)。见表1。

表1 各组大鼠干预前后体质量、FBG值比较($\bar{x} \pm s$)

分组	数量	干预前体质量(g)	干预后体质量(g)	干预前FBG(mmol/L)	干预后FBG(mmol/L)
空白组	8	362.29±46.10	410.59±58.94 ^{▲▲}	4.99±0.56	5.38±0.60
模型组	8	375.50±18.38	290.88±48.86 ^{▲▲}	18.49±4.48 ^{**}	27.53±4.74 ^{**▲▲}
电针足三里组	8	366.45±24.45	279.79±51.98 ^{**▲▲}	18.99±4.77 ^{**}	21.70±6.59 ^{**}
电针肾俞组	8	368.45±34.22	280.13±69.74 ^{**▲▲}	19.76±6.91 ^{**}	24.80±7.62 ^{**}
格列美脲灌胃组	8	359.55±26.49	295.69±42.91 ^{**▲▲}	18.54±5.65 ^{**}	20.69±4.07 ^{*△△}

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$;与同组干预前比较,▲▲ $P < 0.01$ 。

2.2 干预前后 OGTT 2 h 曲线下面积 AUC-A、AUC-B 的情况 AUC-A:造模各组均显著高于空白组($P < 0.01$);其余各组两两比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。AUC-B:模型组显著高于空白组($P < 0.01$);电针足三里组、格列美脲灌胃组显著低于模型组($P < 0.05$);3 个干预组间两两比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与同组干预前比较,干预 4 周后,模型组 OGTT 2 h 曲线下面积显著升高($P < 0.05$),其余各组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 1。

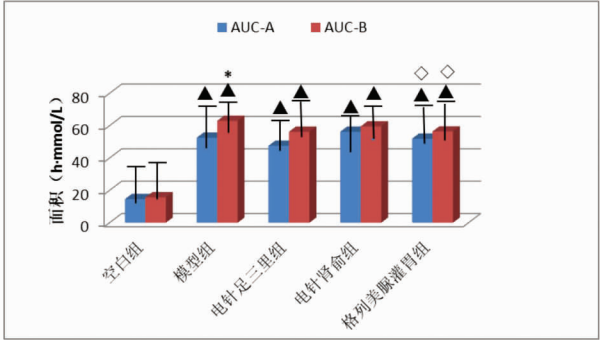


图 1 干预前后 OGTT 2 h 曲线下面积 AUC-A、AUC-B 的情况($\bar{x} \pm s, h \cdot \text{mmol/L}$)

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与同组干预前比较, $\Delta P < 0.05$ 。

2.3 各组血清中 FINS 及 HOMA-B 的情况 FINS:电针足三里组、格列美脲灌胃组 FINS 显著低于空白对照组、模型对照组及电针肾俞组($P < 0.01$)。HOMA-B:与正常组比较,模型组、电针足三里组、电针肾俞组、格列美脲灌胃组显著降低,差异有统计学意义($P < 0.01$);各干预组与模型组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 各组血清中 FINS 及 HOMA-B 的情况($\bar{x} \pm s$)

分组	数量	FINS($\mu\text{IU/mL}$)	HOMA-B
空白组	8	17.99 $\pm$ 2.37	215.51 $\pm$ 89.64
模型组	8	18.07 $\pm$ 1.80	15.54 $\pm$ 3.27**
电针足三里组	8	14.43 $\pm$ 2.56* $\Delta\Delta\Delta$	17.81 $\pm$ 6.52**
电针肾俞组	8	17.86 $\pm$ 2.59	19.60 $\pm$ 9.50**
格列美脲灌胃组	8	14.75 $\pm$ 2.59* $\Delta\Delta\Delta$	17.78 $\pm$ 4.13**

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与电针肾俞组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

2.4 各组 GLUT2、GCK mRNA 的表达情况 GLUT2 的 mRNA 表达水平:模型组、电针足三里组、电针肾俞组、格列美脲灌胃组显著低于空白组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);电针足三里组、电针肾俞组显著高于模型组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);3 个干预组间两两比较差异无统计学意义。GCK 的 mRNA 表达水平:模型组、

电针肾俞组、格列美脲灌胃组均显著低于正常组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);电针足三里组、电针肾俞组、格列美脲灌胃组均显著高于模型组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);3 个干预组间两两比较,电针足三里组显著高于格列美脲灌胃组($P < 0.01$)。见图 2。

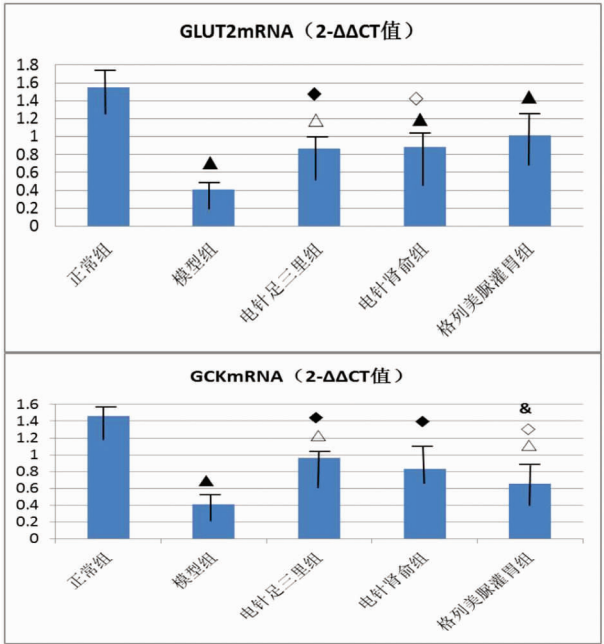


图 2 各组 GLUT2、GCK mRNA 的表达情况($\bar{x} \pm s$)

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与电针足三里组比较, $\Delta P < 0.01$ 。

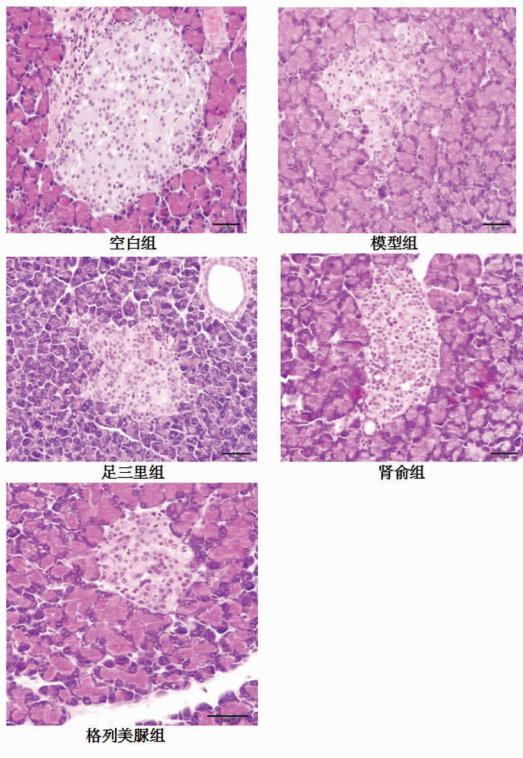


图 3 各组 HE 染色图

2.5 各组 HE 染色结果 HE 染色:空白组的胰岛边界清晰,呈较大的椭圆形或柱状形,胰岛细胞数量多,细胞胞质丰富,排列紧密。模型组胰岛边界不清,体积明显变小,胰岛细胞数量减少且排列杂乱,细胞肿胀、坏死,可见细胞空泡变性。3 个干预组与模型组比较,有不同程度的改善,胰岛边界较模型组清晰,体积增大,胰岛内细胞数量增加,排列也较均匀,细胞空泡变性减少。见图 3。

3 讨论

糖尿病对应中医学中的消渴,病变脏腑在肺、脾、肾,又以肾为关键,病机以阴虚为本,燥热为标,故针灸治疗大法为养阴生津、清热润燥^[19]。朴耕希等^[20]对近 20 年针灸治疗糖尿病及其并发症的文献统计,发现主穴选取特点为多取四肢部的五输穴及背俞穴,其中足三里和肾俞分别被最频繁应用。《针灸甲乙经》载有“阴气不足,热中,消谷善饥……足三里主之”。足三里穴为足阳明胃经之合穴,阳明经多气多血,针之可以益气生津、健脾益胃。《千金方》云“消渴小便数……又灸背上脾俞下四十,肾俞两处”。肾俞为肾之背俞穴,常用于治疗相应脏腑疾病,针之可滋阴补肾。故电针足三里、肾俞二穴均能满足针灸治疗 T2DM 的需要。

在早期胰岛素抵抗出现时,胰岛 B 细胞代偿性分泌更多的胰岛素以维持正常的血糖,后期 B 细胞逐渐失代偿,功能减退甚至衰竭,最终发展为 T2DM^[21-22]。同时研究表明 T2DM 患者胰岛 B 细胞功能不仅在确诊时已明显降低且呈每年进行性降低趋势,但胰岛素抵抗水平却没有明显变化^[23-25],这表明进行性的胰岛 B 细胞功能衰竭是 T2DM 发生发展的中心环节。GLUT2 是以葡萄糖为底物,镶嵌在细胞膜上的一种低亲和性、高容量的载体蛋白质,广泛存在胰岛 B 细胞内,是啮齿类动物具有吸收功能的上皮细胞最主要的葡萄糖转运体^[26],GCK 是主要在胰岛 B 细胞和肝细胞内表达,使葡萄糖磷酸化,是细胞利用葡萄糖的限速酶^[27],两者共同被称为“葡萄糖感受器”。葡萄糖通过膜上的 GLUT2 进入细胞,被 GCK 磷酸化引起一系列的氧化代谢过程,此过程中 ATP/ADP 比值升高,使 ATP 敏感性钾通道关闭,细胞膜除极化,开放电压依赖性 Ca^{2+} 通道,使细胞内 Ca^{2+} 升高,与其他第二信使相协同,使胰岛素颗粒释放。当血糖升高,B 细胞功能失代偿,GLUT2、GCK 等基因表达降低,导致胰岛素释放减少,表现为胰岛素脉冲式分泌受损,分泌时相改变,胰岛素原分泌增加等^[28-29]。综上所述,本实验以胰

岛 B 细胞中 GLUT2、GCK 的基因表达水平为研究对象,以期探讨电针不同穴位对 T2DM 大鼠的疗效及机制。

既往本课题组实验人员发现造模后普通饲料喂养后大鼠模型易自我修复^[30],故本次实验采用高糖高脂饲料联合腹腔注射小剂量(按 35 mg/kg) STZ,造模后继续以高糖高脂饲料喂养,并进行血糖测量,结果显示造模后造模各组大鼠体重质量先升高后降低,FBG 均能显著升高,符合 T2DM 诊断标准,并且干预过程中模型组大鼠 FBG 能保持持续性高血糖状态,表明此模型成功且稳定。干预 4 周后,模型组 FBG 较干预前升高显著,各干预组 FBG 较模型组有下降趋势,但差异无统计学意义,OGTT 2 h 实验表现出与 FBG 相同的结果,考虑可能是此大鼠模型血糖的进行性升高,对针刺和西药的干预有对抗性有关,可认为电针疗法和西药均有降血糖的作用。电针足三里组、格列美脲灌胃组可显著降低 FINS 水平,各干预组 HOMA-B 比较模型组均有上升趋势,HE 染色结果显示,两电针组和西药组均能改善胰岛 B 细胞的形态,使其大小、形态接近正常,说明电针疗法可改善 B 细胞的功能和保护 B 细胞形态。模型组的 GLUT2、GCK mRNA 的表达均显著降低,两电针组 GLUT2 mRNA 的表达与模型组比较,差异有统计学意义,西药组也有上升趋势,两电针组和西药组 GCK mRNA 的表达与模型组比较,差异有统计学意义,且电针足三里组 GCK mRNA 的表达显著高于西药组,说明电针疗法和西药均可上调胰岛 B 细胞中 GLUT2、GCK mRNA 的表达,且足三里穴上调 GCK mRNA 的表达的效果更优。研究结果中基础指标的改善与 GLUT2、GCK mRNA 表达水平并不对等,这可能与胰岛素的分泌过程受到营养物质(KATP 通道、 Ca^{2+} 通道、AMPK)、内分泌激素(GLP-1、瘦素)、细胞因子(IL-6、TGF- β)等多种因素共同调控的复杂性及胰岛素抵抗的存在有密切关系^[31]。可进一步实验观察电针疗法对 GLUT2、GCK 下游指标 Insulin 的 mRNA 表达的影响,以便更好的完善电针疗法的具体起效途径。

综上所述,可得结论:电针足三里、肾俞穴可能是通过上调 GLUT2、GCK mRNA 的表达水平而改善 T2DM 大鼠的胰岛 B 细胞的分泌功能、保护胰岛 B 细胞的形态、降低 FINS 水平,其中足三里穴的效果更优。

参考文献

[1] Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, et al. Global estimates of di-

- abetes prevalence for 2013 and projections for 2035[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2014, 103(2):137-149.
- [2] 高蕾莉, 纪立农, 陆菊明, 等. 2009~2012 年我国 2 型糖尿病患者药物治疗与血糖控制状况调查[J]. *中国糖尿病杂志*, 2014, 22(7):594-598.
- [3] 杨红蓉, 郭培京, 张娜, 等. 健脾化痰方治疗腹型过敏性紫癜 89 例临床观察[J]. *中医杂志*, 2013, 54(6):503-505.
- [4] 赵兰凤, 李茜, 李昊杰, 等. 电针结合西药治疗糖尿病胃轻瘫的临床研究[J]. *针灸临床杂志*, 2014, 30(11):38-40.
- [5] 赵凌艳, 陈雄, 王娜娜, 等. 电针结合药物治疗 2 型糖尿病周围神经病疗效观察[J]. *上海针灸杂志*, 2014, 33(11):1005-1007.
- [6] Cerasi E. 胰岛素生成, 胰岛素分泌及 2 型糖尿病:问题的核心在于 β 细胞[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2005, 21(3):194-198.
- [7] Wallace DC. Bioenergetics in human evolution and disease: implications for the origins of biological complexity and the missing genetic variation of common diseases[J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2013, 368(1622):20120267.
- [8] Bertholet AM, Delerue T, Millet AM, et al. Mitochondrial fusion/fission dynamics in neurodegeneration and neuronal plasticity[J]. *Neurobiol Dis*, 2016, 90:3-19.
- [9] 汪家声. 米非司酮、米索前列醇与缩宫素用于妊娠(12~16)周终止妊娠的临床观察[J]. *中国民族民间医药*, 2010, 19(16):152.
- [10] Im SS, Kim SY, Kim HI, et al. Transcriptional regulation of glucose sensors in pancreatic beta cells and liver[J]. *Curr Diabetes Rev*, 2006, 2(1):11-18.
- [11] Chankiewicz E, Peschke D, Herberg L, et al. Did the gradual loss of GLUT2 cause a shift to diabetic disorders in the New Zealand obese mouse (NZO/Hl)? [J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2006, 114(5):262-269.
- [12] Király MA, Bates HE, Kaniuk NA, et al. Swim training prevents hyperglycemia in ZDF rats; mechanisms involved in the partial maintenance of beta-cell function[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2008, 294(2):E271-283.
- [13] 王保伟, 李颖, 刘晓红, 等. 高脂饲料喂养时间及链脲佐菌素剂量对实验型 2 型糖尿病大鼠造模的影响[J]. *卫生研究*, 2011, 40(1):99-102, 106.
- [14] 施红, 金国琴, 余文珍. 诱导构建最佳类似人类 2 型糖尿病大鼠的造模方式[J]. *中国临床康复*, 2005, 9(39):69-71.
- [15] 余传林, 朱正光, 雷林生, 等. 链脲佐菌素糖尿病模型动物血糖及体征动态变化的研究[J]. *南方医科大学学报*, 2008, 28(1):132-133.
- [16] 余曙光, 徐斌. 实验针灸学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社, 2013:269-270.
- [17] 吴晏, 韩静, 黄黎明, 等. 高脂喂养合并小剂量链脲佐菌素建立 2 型糖尿病大鼠模型[J]. *中国实验动物学报*, 2012, 20(2):11-15.
- [18] Levy JC, Matthews DR, Hermans MP. Correct homeostasis model assessment (HOMA) evaluation uses the computer program[J]. *Diabetes Care*, 1998, 21(12):2191-2192.
- [19] 许云祥, 张家维. 针灸治疗糖尿病研究思路[J]. *针刺研究*, 2000, 25(2):156-160.
- [20] 朴耕希, 徐玉东, 刘艳艳, 等. 近 20 年糖尿病针灸治疗处方特点分析[J]. *上海针灸杂志*, 2010, 29(4):262-264.
- [21] Donath MY, Halban PA. Decreased beta-cell mass in diabetes: significance, mechanisms and therapeutic implications[J]. *Diabetologia*, 2004, 47(3):581-589.
- [22] Poirout V, Robertson RP. Glucolipotoxicity; fuel excess and beta-cell dysfunction[J]. *Endocr Rev*, 2008, 29(3):351-366.
- [23] Youle RJ, van der Bliek AM. Mitochondrial fission, fusion, and stress[J]. *Science*, 2012, 337(6098):1062-1065.
- [24] Shutt TE, McBride HM. Staying cool in difficult times; mitochondrial dynamics, quality control and the stress response[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1833(2):417-424.
- [25] Cai H, Rasulova M, Vandemeulebroucke L, et al. Life-Span Extension by Axenic Dietary Restriction Is Independent of the Mitochondrial Unfolded Protein Response and Mitohormesis in *Caenorhabditis elegans*[J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2017, 17(3):13.
- [26] Stolarczyk E, Le GM, Even P, et al. Loss of sugar detection by GLUT2 affects glucose homeostasis in mice[J]. *PLoS One*, 2007, 2(12):e1288.
- [27] Coenish-Bowden A, Cardenas ML. Hexokinase and glucokinase in liver metabolism[J]. *Trends Biomed Sci*, 1991, 16(8):281-282.
- [28] Weir GC, Laybutt DR, Kaneto H, et al. Beta-cell adaptation and decompensation during the progression of diabetes[J]. *Diabetes*, 2001, 50 Suppl 1:S154-159.
- [29] 翁孝刚. 2 型糖尿病与胰岛 B-细胞功能[J]. *新乡医学院学报*, 2002, 19(3):231-234.
- [30] 高珊, 李瑞, 田环环, 等. 电针“胰俞”穴对 2 型糖尿病大鼠 HPA 轴相关激素的影响[J]. *中国针灸*, 2014, 34(11):1099-1105.
- [31] 杨希, 李卫华, 黄峥嵘. 胰岛 β 细胞胰岛素分泌的调节及其机制[J]. *医学研究杂志*, 2012, 41(10):175-178.

(2016-07-07 收稿 责任编辑:王明)