

姜黄素对代谢综合征大鼠血浆 TNF- α 和血清 sICAM-1 水平的影响

赵慧娟¹ 陶正贤¹ 龙明智² 谭晓² 王迪斌² 陶立翠²

摘要 目的:探讨姜黄素对代谢综合征大鼠血浆 TNF- α 和血清 sICAM-1 水平的影响。**方法:**雄性 SD 大鼠 20 只施行两肾一夹术后普通饲料喂养 4 周,诱发肾性高血压,继以高果糖饲料喂养 4 周,诱导建立代谢综合征模型。将造模成功的 17 只 SD 大鼠随机分为模型组(n=8),姜黄素组(200mg/kg/d)(n=9),另设假手术对照组(n=8)。姜黄素组直接灌胃给药,模型组和假手术组灌等量的生理盐水。用药 6 周后,检测血清学指标,以及用 ELISA 法测定血浆 TNF- α 和血清 sICAM-1 的蛋白水平,以胰岛素敏感指数判断机体胰岛素抵抗状态。**结果:**模型组大鼠血浆 TNF- α 和血清 sICAM-1 水平明显高于正常对照组大鼠($P<0.05$);姜黄素组大鼠血浆 TNF- α 和血清 sICAM-1 水平明显低于模型组大鼠($P<0.05$)。**结论:**姜黄素能明显降低代谢综合征大鼠血浆 TNF- α 和血清 sICAM-1 水平,改善胰岛素抵抗,阻止或延缓减慢动脉粥样硬化的发生。

关键词 肿瘤坏死因子- α ;细胞间黏附分子-1;代谢综合征;胰岛素抵抗;姜黄素

中图分类号: R28,R587 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1242(2006)-07-0599-03

Effects of curcumin on TNF- α level in plasm and sICAM-1 level in serum of metabolic syndrome rats/
ZHAO Huijuan,TAO Zhengxian, LONG Mingzhi, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2006, 21
(7):599-601

Abstract Objective: To investigate the effects of curcumin on the levels of TNF- α in plasm and sICAM-1 in serum of metabolic syndrome rats. **Method:** Twenty-two adult male SD rats were operated on two kidneys, one-chipped to induce renal hypertension. After operation, the rats were fed with a common diet for 4 weeks, and subsequently a high fructose diet for 4 weeks to induce metabolic syndrome. The 18 surviving insulin resist syndrome rats were grouped randomly as MS control, curcumin(200mg/kg/d). sham-operated group(n=8) were taken randomly as non-infraction control. Four weeks after treatment with the drugs by gastric gavage. The levels of TNF- α in plasm and sICAM-1 in serum were measured by ELISA. Insulin resist of animal and human was assessed by ISI. **Result:** In comparing with that of the control group, the levels of TNF- α in plasm and sICAM-1 in serum were significantly increased in MS rats ($P<0.05$). The levels of TNF- α in plasm and sICAM-1 in serum of curcumin group were significantly decreased in contrast to that of the MS rats ($P<0.05$). **Conclusion:** Curcumin can reduce the levels of TNF- α in plasm and sICAM-1 in serum, also can improve the symptom of insulin resistance and stop or make the happening of atherosclerosis slower.

Author's address The Second Hospital Affiliated to Nan Jing Medical University, Nan Jing, 210011

Key words tumor necrosis factor- α ; intercellular adhesion factor-1; metabolic syndrome; insulin resist; curcumin

1988 年 Reaven 提出 X 综合征, 目前多称“代谢综合征”(metabolic syndrome, MS), 也称“胰岛素抵抗综合征”(insulin resist syndrome, IRS), 它不等同于胰岛素抵抗(insulin resistance, IR), 而是一组临床和实验室的征候群。其主要表现为: 胰岛素抵抗、中心性肥胖、高血压、高胰岛素血症及脂质代谢紊乱, 其病理生理基础是胰岛素抵抗, 该病的发生, 既有遗传因素, 也有环境因素共同作用的结果^[1]。近年来炎症机制在代谢综合征与动脉粥样硬化的关系研究中已成为热点, 同时, 众多研究表明肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 是细胞因子的重要代表以及细胞因子及黏附分子在炎症反应中所起的重要作用^[2]。姜黄素(curcumin, 二阿魏酰基甲烷)是

从中药姜黄中提取的一种酚性色素, 安全性高, 几乎无毒, 除具有抗氧化、抗感染、抗凝、降血脂、抑制肿瘤等作用外, 还具有抗炎的作用^[3], 但是姜黄素对非胰岛素缺乏的代谢综合征是否具有改善作用以及对细胞炎症因子和黏附分子的影响尚未见明确报道。对此, 本实验拟采用两肾动脉一夹术、高果糖液饮食来复制代谢综合征模型大鼠, 观察姜黄素对该模型大鼠胰岛素敏感性, 血浆肿瘤坏死因子- α 和血清可溶性细胞间黏附分子-1 (serum intercellular adhesion

1 南京医科大学 03 级心血管专业研究生, 210011

2 南京医科大学第二附属医院

作者简介: 赵慧娟, 女, 硕士研究生

收稿日期: 2006-04-03

factor-1, sICAM-1) 水平的影响, 为姜黄素改善代谢综合征症状, 有利于阻止或减慢动脉粥样硬化的形成, 降低心脑血管事件的发生率提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物和分组

清洁级雄性 SD 大鼠 28 只, 体重(350±20)g, 由南京医科大学动物实验中心提供, 合格证号: 苏动(质 2002-0031)。大鼠随机分成两组: 假手术对照组 8 只(n=8), 普通饲料喂养 8 周; 肾性高血压+高果糖组 20 只, 再将造模成功的 17 只 SD 大鼠随机分为模型组(n=8), 姜黄素组(200mg/kg/d, n=9)。

1.2 主要试剂和仪器

D-果糖(D-Fructose, 南京生兴生物技术有限公司, 批号: S20050118); 姜黄素粉(国药集团化学试剂有限公司, 批号: F20050102); TNF- α ELISA 试剂盒和 sICAM-1 ELISA 试剂盒购自上海西唐生物技术有限公司; 胰岛素放免试剂盒购自北京北方生物技术有限公司; 鼠尾动脉测压仪(HX-1 型)由南京医科大学循环生理学教研室研制; HITACH717 全自动生化分析仪由日本生产; 全自动放射免疫 γ 计数器由北京生产。

1.3 实验方法

1.3.1 模型制备方法: 清洁级雄性 SD 大鼠 28 只, 普通饲料适应性喂养 1 周, 手术组大鼠(n=20)术前禁食过夜, 自由饮水, 用 4% 戊巴比妥钠(40mg/kg)腹腔注射麻醉, 无菌状态下, 分离左肾动脉, 用一间隙为 0.25mm 的 U 型夹使左肾动脉部分狭窄, 右肾及动脉不触及, 制造肾性高血压大鼠模型。假手术对照组大鼠(n=8)施以假手术, 除不结扎肾动脉外, 其他操作相同。术后大鼠普通饲料喂养, 术后约 3d 动物恢复正常, 手术组大鼠死亡 2 只(n=18), 术后第 4 周末于清醒状态下(09-12AM)用尾套法(尾动脉血压计与心电图机相连)测大鼠的收缩压(systolic blood pressure, SBP), 筛选出 SBP>130mmHg 的大鼠(1 只不成功, n=17), 改用高果糖液喂养 4 周^[4]。术后 8 周末取尾动脉血测空腹血糖(fasting blood sugar, FBS), 空腹血胰岛素(fasting sensitive insulin, FSI), 并按试剂盒要求测定并计算胰岛素敏感指数(insulin sensitive index, ISI)和血脂(胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白), 然后手术组再分为两组: 模型组(n=8)和姜黄素组(n=9)继续药物干预 6 周; 姜黄素组(200mg/kg/d)直接灌胃给药, 模型组和假手术对照组灌等量的生理盐水。

1.3.2 指标检测: 姜黄素干预 6 周末, 禁食禁水

12h, 以 4% 戊巴比妥钠(40mg/kg)腹腔注射麻醉大鼠, 开胸暴露心脏, 用 12 号针头直接从心脏采血, FBS 测定用 ONETOUCH II 血糖仪(葡萄糖氧化酶法), 空腹胰岛素(FIns)测定用全自动放射免疫 γ 计数器(放免法), TG、TC、LDLC、HDLc 用 HITACH717 全自动生化分析仪测定(酶法), 计算胰岛素敏感指数 ISI 按照李光伟等的方法: $ISI = \ln [1/(FBG \times FIns)]^{[5]}$; 血浆 TNF- α 和血清 sICAM-1 水平用双抗体夹心 ELISA 法(批内变异系数为 5%, 批间变异系数为 8%)。

1.4 统计学分析

所有结果用 Stata7.0 软件处理, 各组数据均采用均数±标准差表示, 组间比较采用非配对 *t* 检验。

2 结果

见表 1—2。姜黄素干预 6 周后, 模型组大鼠血糖、血清胰岛素、空腹血脂(TC, TG, LDL-C)、平均动脉压水平较假手术对照组明显升高($P<0.05$), ISI 较假手术对照组明显降低($P<0.05$); 姜黄素组大鼠血糖、血清胰岛素、空腹血脂较模型组明显降低($P<0.05$), ISI 较模型组明显升高($P<0.05$)。姜黄素干预 6 周后, 模型组大鼠血浆 TNF- α 和血清 sICAM-1 水平明显高于假手术对照组大鼠($P<0.05$); 姜黄素组大鼠血浆 TNF- α 和血清 sICAM-1 水平明显低于模型组大鼠($P<0.05$)。

表 1 姜黄素对 MS 大鼠血脂、血糖、血胰岛素、平均血压的影响 ($\bar{x} \pm s$)

	假手术对照组	模型组	姜黄素组
样本个数(只)	8	8	9
TC(mmol/L)	1.40±0.12	2.50±0.29 ^①	1.49±0.10 ^②
TG(mmol/L)	0.58±0.24	1.77±0.30 ^①	0.78±0.17 ^②
LDL-C(mmol/L)	0.61±0.14	1.38±0.18 ^①	0.60±0.14 ^②
HDL-C(mmol/L)	0.66±0.08	0.34±0.11 ^①	0.64±0.07 ^②
FBS(mmol/L)	6.15±0.39	9.58±0.42 ^①	7.65±0.27 ^②
FIns(μ mol/L)	133±5.61	74.0±7.9 ^①	136±7.3 ^②
ISI	-6.69±0.12	-7.97±0.28 ^①	6.84±0.19 ^②
SBP(mmHg)	123.8±5.21	55.8±6.2 ^①	126.7±6.2 ^②

①与假手术对照组大鼠比较 $P<0.05$, ②与模型组大鼠比较 $P<0.05$

表 2 姜黄素对 MS 大鼠血浆 TNF- α 和血清 sICAM-1 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	TNF- α (pg/ml)	sICAM-1(pg/ml)
假手术对照组	8	201.2±14.4	0.56±0.17
模型组	8	284.3±29.1 ^①	0.94±0.22 ^①
姜黄素组	9	214.5±22.2 ^②	0.63±0.17 ^②

①与正常组大鼠比较 $P<0.05$, ②与模型组大鼠比较 $P<0.05$

3 讨论

胰岛素抵抗是指全身性胰岛素感受性下降, 体内血液循环中正常浓度的胰岛素引起的生物效应低于正常状态。胰岛素抵抗常伴有胰岛素介导的葡萄糖摄取抵抗、糖耐量减退、高胰岛素血症、高血压病、冠心病、脂质代谢紊乱, 中心性肥胖等, 上述代谢和

生理紊乱及疾病状态称之为代谢综合征。胰岛素抵抗是代谢综合征最根本的缺陷,与高血压和脂质代谢紊乱^[6]之间相互作用,使病情不断发展和恶化,最终引起动脉粥样硬化,导致心脏疾病的发生率和病死率迅速增加。

TNF- α 主要是由激活的巨噬细胞分泌的一种具有多种生物学效应的细胞因子,Matthias B 等证明 TNF- α 可干扰周围组织胰岛素作用而导致胰岛素抵抗,伴有胰岛素抵抗的肥胖啮齿类动物和人类肥胖者的脂肪组织 TNF- α 基因均呈过度表达,而去 TNF- α 基因肥胖小鼠胰岛素敏感性明显高于肥胖小鼠,表明 TNF- α 参与胰岛素抵抗的形成^[7-8]。TNF- α 致胰岛素抵抗的机制可能有:①TNF- α 致胰岛素受体底物-1 (insulin receptor substrate-1, IRS-1) 丝氨酸磷酸化而抑制了胰岛素受体酪氨酸激酶的活性^[9];②TNF- α 致血 FFA 增高,干扰了周围葡萄糖的摄取;③TNF- α 抑制脂肪细胞葡萄糖转运体-4 的表达,从而抑制脂肪细胞摄取葡萄糖^[10]。ICAM-1 属黏附分子中的免疫球蛋白超家族,其配体尾 LFA-1 和 Mac-1,可在内皮细胞、上皮细胞、白细胞上表达。正常情况下其在内皮细胞上的表达处于低水平,但在 TNF- α 、IL-1 和 LPS 等炎症介质刺激后表达急剧增加,参与白细胞与血管内皮细胞黏附及向血管外迁移、扩大脂质斑块的过程^[11]。血液中存在 sICAM-1 的形式,可能是由酶蛋白裂解细胞表面的 ICAM-1 脱落而成,或是通过对 mRNA 的选择性剪切而由细胞合成分泌产生的。外周血中 sICAM-1 水平可反映细胞表面表达 sICAM-1 的程度^[12-13]。血管内皮细胞(vessel endothelial cell)表面存在 TNF- α 受体,是其作用的主要靶细胞之一,对血管内皮细胞可产生直接和间接的损伤作用,同时它还能促进血管内皮细胞分泌 ICAM-1 等黏附分子,介导着炎症细胞与内皮细胞的黏附,这又进一步刺激巨噬细胞分泌 TNF- α 增加,从而形成一个恶性循环。

姜黄素是从植物姜黄根茎中提取的一种酚类色素,为化学结构明确的单体成分。药理研究表明,姜黄素是一种有效的细胞保护剂,具有良好的抗炎、抗氧化、抗动脉粥样硬化和抗诱变治癌作用^[13,14],但尚未见国内外关于姜黄素可改善胰岛素抵抗的明确报道。本次实验结果显示姜黄素干预治疗后,可明显改善代谢综合征大鼠胰岛素抵抗(见表 1),姜黄素可降低大鼠空腹血糖、血清胰岛素水平,改善胰岛素敏感性,促进葡萄糖的摄取而降低血糖,并升高胰岛素敏感指数,其机制可能与姜黄素降低 TNF- α 水平有关;同时姜黄素明显降低血脂(TC、TG、LDL-C)水平,

改善脂质代谢紊乱等症状;实验结果表明,姜黄素可明显降低 TNF- α 水平代谢综合征大鼠血浆中过高的 TNF- α 水平和血清中过高的 sICAM-1 水平(见表 2),阻止进一步损伤血管内皮细胞。启动 TNF- α 基因表达的调控因子主要是核转录因子- κ B(Nuclear Factor- κ B, NF- κ B)与活化蛋白 AP-1^[15]。姜黄素可能是通过对 NF- κ B 和 AP-1 的抑制作用而减少了 TNF- α 的表达,从而也减少了 sICAM-1 的表达。

4 结论

实验结果显示,姜黄素可改善代谢综合征大鼠的胰岛素抵抗、高血脂、高血压等症状,对代谢综合征有明显防治作用,从而有利于阻止或减慢动脉粥样硬化的发生,降低了心脑血管事件的发生率,其机制可能部分与它降低代谢综合征大鼠血浆 TNF- α 和血清 sICAM-1 水平有关。

参考文献

- [1] Reaven GM, Banting Lecture. Role of insulin resistance in human disease[J]. Diabetes, 1988, 37(12):1595.
- [2] Festa A, Dagostini NO RJ, Howar DG, et al. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome; The insulin resistance atherosclerosis study (IRAS) [J]. Circulation, 2003, 107(7): 42—47.
- [3] Amon HPT, Wahl MA. Pharmacology of curcuma longa[J]. Plant Med, 1991, 57:1—7.
- [4] Miatello R, Risler N, Gonzalez S, et al. Effects of enalapril on the vascular wall in an experimental model of syndrome X [J]. Am J Hypertens, 2002, 15(10):872.
- [5] 李光伟, 潘孝仁. 检测人群胰岛素敏感性的一项新指数[J]. 中华内科杂志, 1993, 32: 656.
- [6] Natali A, Ferrannini F. Hypertension, insulin resistance, and the metabolic syndrome [J]. Endocrinol Metab Clin North Am, 2004, 33: 417—429.
- [7] Matthias B, Bai Y, Fine JB, et al. Plasma level of tumor necrosis factor alpha, Angiotensin 2, growth hormone and 2GF-1 are not elevated in insulin resistance obese individuals with impaired glucose tolerance [J]. Diabetes Care, 2001, 24:328—334.
- [8] Togashi N, Ura N, Higashiura K, et al. Effect of TNF- α converting enzyme inhibitor on insulin resistance in fructose-fed rats [J]. Hypertension, 2002, 39(2):578—580.
- [9] Ma Y, Toth B, Keeton AB, et al. Neutralization of tumor necrosis factor alpha reverses insulin resistance in skeletal muscle, but not adipose tissue[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2004, 10: 1152—1159.
- [10] Dalziel B, Gosby AK, Richman RM, et al. Association of the TNF- α , G/A promoter polymorphism with insulin resistance in obesity[J]. Obesity Res, 2002, 10:401—407.
- [11] Ikata J, Wakatsuki T, Oishi Y, et al. Leukocyte counts and concentration of soluble adhesion molecules as predictors of coronary atherosclerosis[J]. Coron Artery Dis, 2000, 11(6):445.
- [12] Omi H, Okayama N, Shimizu M, et al. Participation of high glucose concentration in neutrophil adhesion and surface expression of adhesion molecules on cultured human endothelial cells: effect of antidiabetic medicines [J]. Diabetes Complications, 2002, 16(3):201.
- [13] Haim M, Tanne D, Boyko V, et al. Soluble intercellular adhesion molecule-1 and long-term risk of acute coronary events in patients with chronic coronary heart disease[J]. J Am Coll Cardiol, 2002, 39(7):1133.
- [14] 龙明智, 陈磊磊. 姜黄素的药理作用[J]. 国外医学·中医中药分册, 2003, 25(5):270—272.
- [15] Christian RM, Helena D, Nikolaj I, et al. Tumor necrosis factor- α inhibits insulin stimulating effect on glucose uptake and endothelium dependent vasodilation in human [J]. Circulation, 2003, 108:1815—1820.