文章编号:1000-5404(2014)05-0461-05

论著

赖氨大黄酸对2型糖尿病小鼠胰腺保护作用

胡 刚[1],甄永占[2],骆广玲[3],魏 洁[1],林雅军[1] (100730 北京,卫生部北京医院/卫生部北京老年医学研究所[1];063000 河北 唐山,河北联合大学基础医学院组织学与胚胎学教研室[2];063000 河北 唐山,开滦医疗集团林西医院妇产科[3])

[摘要] **目的** 探讨赖氨大黄酸(rhein lysinate, RHL)对2型糖尿病小鼠胰腺保护作用。**方法** 建立小鼠2型糖尿病模型并根据体质量分层,采用随机数字表分为3组:模型组、25 mg/kg RHL和50 mg/kg RHL治疗组,另外设对照组为同龄正常小鼠。检测体质量、血糖、血脂、胰岛素水平;检测胰腺活性氧水平和抗氧化酶活性。体外培养小鼠胰岛β细胞系,检测细胞凋亡情况。**结果** 与对照组相比,糖尿病模型组小鼠血糖、总胆固醇、甘油三酯和胰腺活性氧水平均显著升高($P<0.05$),体质量、胰岛素和抗氧化酶活性均显著降低($P<0.05$)。与模型组相比,25、50 mg/kg RHL治疗组血糖、总胆固醇、甘油三酯和胰腺活性氧水平均显著降低($P<0.05$),体质量、胰岛素和抗氧化酶活性均显著升高($P<0.05$)。体外研究发现RHL能抑制过氧化氢诱导的胰岛β细胞凋亡。**结论** RHL对2型糖尿病小鼠胰腺的保护作用与抑制氧化应激、减少胰岛β细胞凋亡有关。

[关键词] 2型糖尿病;赖氨大黄酸;胰岛β细胞;细胞凋亡;小鼠
[中图法分类号] R285.5; R335.6; R587.1 [文献标志码] A

Rhein lysinate protects pancreas in type 2 diabetic mice

Hu Gang[1], Zhen Yongzhan[2], Luo Guangling[3], Wei Jie[1], Lin Yajun[1] ([1]Beijing Hospital & Beijing Institute of Geriatrics of Ministry of Health, Beijing, 100730; [2]Department of Histology and Embryology, Hebei United University, Tangshan, Hebei Province, 063000; [3]Department of Gynecology and Obstetrics, Linxi Hospital of Kailuan Medical Systems, Tangshan, Hebei Province, 063000, China)

[**Abstract**] Objective To investigate the protective effect of rhein lysinate (RHL) to pancreas in type 2 diabetic mice. Methods Mouse model of type 2 diabetic was established, and then were stratified according to body weight. They were divided into the following groups by random number table, model, 25 and 50 mg/kg RHL treatment groups. Another 10 normal mice were designated as normal control. Body weight, blood glucose, total cholesterol, total triglyceride, insulin, level of reactive oxygen species and activities of anti-oxidation enzymes were determined in 4 weeks after treatment. After pancreatic beta-cell line NIT-1 were treated by RHL at 0, 5 and 10 μmol/L for 24 h, cell apoptosis and the expression of Bcl-2 and Bax were detected by flow cytometry and Western blotting. Results In comparison with normal control group, blood glucose, total cholesterol, triglyceride and the level of reactive oxygen species of pancreatic tissues were increased, however, insulin, body weight and the activities of anti-oxidation enzymes were decreased in the model group (all $P<0.05$). RHL treatment resulted in significant decreases in blood glucose, total cholesterol, triglyceride and the level of reactive oxygen species in pancreatic tissues, while obvious increases in insulin, body weight, and the activities of anti-oxidation enzymes when compared with model group (all $P<0.05$). *In vitro* study showed that RHL inhibited the apoptosis in NIT-1 cells induced by hydrogen peroxide. Conclusion RHL protects the pancreas in type 2 diabetic mice, which might be correlated with its inhibiting oxidative stress and beta-cell apoptosis.

[**Key words**] diabetes mellitus, type 2; rhein lysinate; pancreatic beta-cell; apoptosis; mice

Supported by the National Natural Science Foundation of China(81001439). Corresponding author: Lin Yajun, Tel:86-10-58115040, E-mail:linyajun2000@126.com

[基金项目] 国家自然科学基金(81001439)
[通信作者] 林雅军,电话:(010)58115040,E-mail:linyajun2000@126.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20131220.1111.005.html(2013-12-20)

糖尿病是以血糖升高为特征的慢性疾病。2型糖尿病一般发生于成年患者,比1型常见。其特征是胰岛β细胞进行性损害,胰岛素分泌相对不足,导致血糖升高。2型糖尿病一般发生于成人,但其目前出现年轻化发病趋势[1-2]。糖尿病成为继肿瘤、心血管疾病之后的第三大严重威胁人们健康的慢性疾病。我国20岁以上的成人糖尿病患病率已达9.7%,而糖尿病前期(空腹血糖受损和糖耐量减低)的患病率已经达15.5%[3]。成为威胁人类健康的重大社会问题。因此,寻找新的糖尿病治疗药物具有重要社会和经济意义。

大黄是一种常用的传统中药,毒性较低,临床应用比较安全。近期研究表明,大黄中蒽醌类化合物之一——大黄酸具有改善糖尿病血糖、改善胰岛素抵抗和保护胰腺β细胞的功效[4-6],但其机制尚不清楚。而且大黄酸不溶于水,这也限制了其临床应用。赖氨大黄酸(rhein lysinate, RHL)是本室合成的大黄酸赖氨酸盐,其与大黄酸的区别是RHL能溶于水,这方便了大黄酸的研究和应用[7]。本研究旨在探讨RHL是否通过保护链脲佐菌素对胰腺组织的损伤,来发挥其改善糖尿病血糖和胰岛素抵抗的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 50只雄性C57BL/6小鼠,体质量20~24 g,购自斯备福动物中心(北京),在恒温(22 ℃)、相对湿度65%~70%、光照周期12 h∶12 h环境中适应饲养1周后实验。

1.1.2 细胞系 小鼠胰岛β细胞系NIT-1由本室保存,DMEM培养基和胎牛血清(FBS)购自HyClone公司(犹他州,美国)。应用含有10%胎牛血清的DMEM培养基在37 ℃含有5% CO_2的培养箱中培养NIT-1细胞。隔天细胞传代1次,实验用对数生长期细胞。

1.1.3 试剂 赖氨大黄酸(自制,纯度98%,相对分子质量:430,室温储存,批号:20130312)。链脲佐菌素(streptozotocin, STZ,Sigma公司,美国),临用前溶解在0.01 mol/L枸橼酸缓冲液中,pH 4.5;丙二醛(malonaldehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,南京);小鼠胰岛素检测试剂盒(Mercodia公司,乌普萨拉,瑞典);二氢乙锭(dihydroethidium, DHE)染色试剂盒(北京威格拉斯生物技术有限公司,北京)。Annexin V-FITC/PI凋亡检测试剂盒(Promega公司,威斯康星,美国),Bcl-2、Bax、β-actin购自Cell Signal Technology公司(波士顿,美国)。

1.1.4 仪器 可见光和荧光成像系统(Olympus公司,东京都,日本),FAITH-4060全自动生化分析仪(中国南京劳拉电子有限公司,南京),Spectra Max 190酶标仪(Molecular Device公司,加利福尼亚,美国),伯乐电泳转印系统(Bio-Rad公司,加利福尼亚,美国),Chemilmager 5500凝胶成像系统(Alpha Innotech公司,加利福尼亚,美国)。

1.2 方法

1.2.1 建立小鼠2型糖尿病模型[8] 腹腔一次性注射STZ 80 mg/kg,注射前后小鼠均用高脂高糖饲料喂养,注射STZ 72 h后尾静脉采血用血糖仪测定全血血糖,血糖>16.7 mmol/L以上确定为糖尿病小鼠,对血糖未达标的小鼠再次腹腔注射1次STZ,把血糖>16.7 mmol/L的小鼠与前面糖尿病小鼠合并。对照组正常饮食,注射等量枸橼酸缓冲液。

1.2.2 动物分组及处理 先对小鼠进行编号(1~50号),使用随机数字表选取10只小鼠作为对照组,其余40只小鼠腹腔注射STZ造糖尿病模型,然后选取血糖>16.7 mmol/L的30只小鼠,按照体质量由高到低分成10层,每层3只小鼠。使用随机数字表将每层的3只小鼠随机分配到模型组、25 mg/kg RHL和50 mg/kg RHL治疗组。用药方案:药物治疗组灌胃给予相应剂量的RHL,对照组、模型组灌胃给予等量溶媒,治疗4周。

1.2.3 血生化指标、氧化指标和胰岛素的测定 观察4周后收集标本。小鼠空腹12 h后,在水合氯醛腹腔注射麻醉下行右心房收集血标本,4 ℃离心15 min,3 000 r/min,取血清保存在-20 ℃待测血糖、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG),血糖测定采用葡萄糖氧化酶法,TC和TG采用酶比色法,由全自动生化分析仪测得。MDA含量,SOD、GSH-Px活性以及胰岛素含量分别应用相应的试剂盒,按照说明书进行检测。

1.2.4 胰腺组织冰冻切片DHE染色 胰腺在4 ℃预冷的生理盐水中反复清洗,切成小块,置于液氮中,制成7 μm厚的胰腺组织冷冻切片,置于4%多聚甲醛溶液中固定15 min,PBS洗3次,每次5 min,然后滴加DHE染色液,室温避光染色20 min,PBS洗3次,每次5 min。然后在荧光显微镜下观察并拍照。

1.2.5 流式细胞仪检测细胞凋亡 选取对数生长期NIT-1细胞,应用RHL(0、5、10 μmol/L)预处理24 h,然后再加入300 μmol/L H_2O_2处理30 min。各组细胞经过胰酶消化、离心后,用200 μL结合缓冲液(10 mmol/L Hepes, pH 7.4, 140 mmol/L NaCl和2.5 mmol/L $CaCl_2$)重悬,加入5 μL Annexin V-FITC室温避光孵育10 min,PBS洗涤,然后用300 μL结合缓冲液重悬,加入10 μg/mL PI。在FACScan流式细胞仪(FACScalibur, BD公司,新泽西州,美国)上进行检测,每组样品至少收集10 000个细胞,使用Cell Quest软件进行分析。通过Annexin V-FITC和PI双染情况检测凋亡细胞百分率。

1.2.6 Western blot检测凋亡相关蛋白表达水平改变 同样选取对数生长期NIT-1细胞,应用RHL(0、5、10 μmol/L)预处理24 h,然后再加入300 μmol/L H_2O_2处理30 min。消化收集各组细胞,用150 μL细胞裂解液(50 mmol/L Tris-HCl pH 7.4, 150 mmol/L NaCl, 1% Triton X-100, 1%脱氧胆酸钠, 0.1% SDS, 10%甘油,临用时加入蛋白酶和磷酸酶抑制剂cocktail)在冰上裂解20 min,期间用超声破碎10次,每次10 s,然后4℃ 12 000 r/min离心20 min,取上清,BCA法测蛋白浓度。等量蛋白(40 μg)经10% SDS-PAGE分离后,电转至PVDF膜,5%脱脂牛奶37 ℃封闭1 h,分别加入抗Bcl-2(1∶1 000)、抗Bax(1∶1 000)和抗β-actin(1∶1 000)抗体,4 ℃孵育过夜。洗涤10 min×4次,用含辣根过氧化物酶(HRP)标记的相应二抗(1∶5 000)孵育1 h,洗膜15 min×4次,膜上滴加化学发光底物(Immobilon Western, Millipore,马萨诸塞,美国),按照试剂说明进行操作,通过化学发光成像系统ChemiImager 5500检测并分析。

1.3 统计学处理

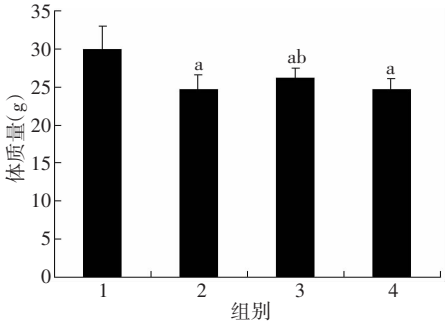
实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 12.0统计软件进行单因

素方差分析。

2　结果

2.1　RHL 对糖尿病模型小鼠体质量的影响

与对照组相比，模型组小鼠体质量明显下降（$P<0.05$）；与模型组相比，25 mg/kg RHL 治疗组的体质量明显升高（$P<0.05$），50 mg/kg RHL 治疗组对小鼠体质量无明显影响（图 1）。



1：对照组；2：模型组；3：25 mg/kg RHL 治疗组；4：50 mg/kg RHL 治疗组；a：$P<0.05$，与对照组比较；b：$P<0.05$，与模型组比较

图 1　RHL 对链脲佐菌素诱导的糖尿病模型小鼠体质量的影响（$n=10$，$\bar{x}\pm s$）

2.2　RHL 对糖尿病模型小鼠血糖、血脂和胰岛素的影响

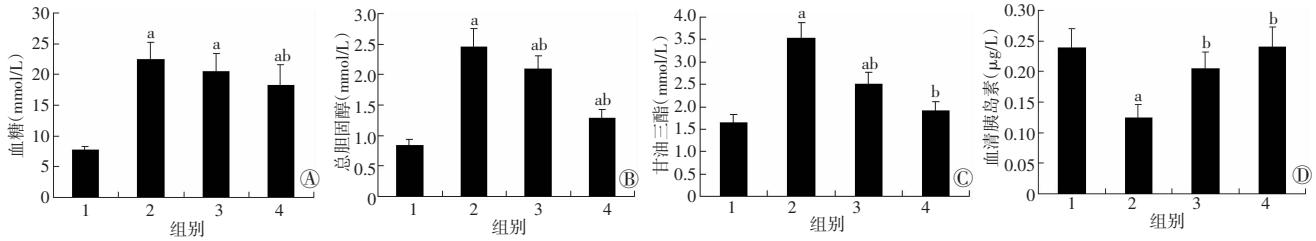
结果见图 2。与对照组相比，模型组小鼠血糖明显升高（$P<0.05$）；与模型组相比，RHL 治疗组能降低血糖水平，且为剂量依赖性（$P<0.05$）。与对照组相比，模型组小鼠血清 TC 和 TG 明显升高（$P<0.05$）；与模型组相比，各治疗组均可降低血清 TC 和 TG 水平（$P<0.05$）。与对照组相比，模型组小鼠胰岛素水平下降（$P<0.05$），与模型组相比，各治疗组均可升高胰岛素水平（$P<0.05$）。

2.3　RHL 对糖尿病模型小鼠血液 MDA 含量与 SOD 和 GSH-Px 活性的影响

与对照组相比，模型组小鼠血液 SOD 和 GSH-Px（$P<0.05$）活性显著降低，而 MDA 含量没有显著变化。与模型组相比，25 mg/kg 和 50 mg/kg RHL 治疗后，均能改善血液 SOD 和 GSH-Px 活性，50 mg/kg RHL 治疗组的 SOD 和 GSH-Px 活性与模型组相比差异有统计学意义（$P<0.05$），见图 3。

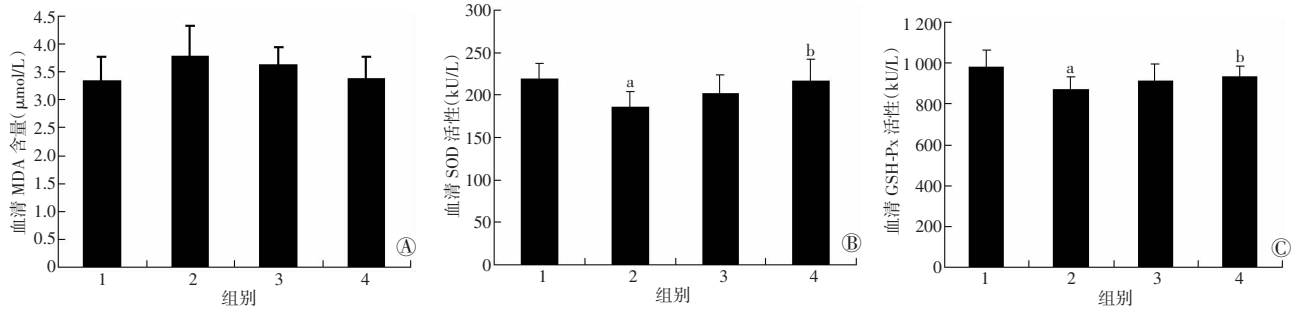
2.4　RHL 能够抑制糖尿病模型小鼠胰腺组织活性氧水平

DHE 染色（图 4）观察到糖尿病模型小鼠胰腺活性氧水平明显增高（$P<0.05$）。与模型组相比，25 mg/kg 和 50 mg/kg RHL 治疗后，小鼠胰腺组织中活性氧水平明显降低（$P<0.05$）。



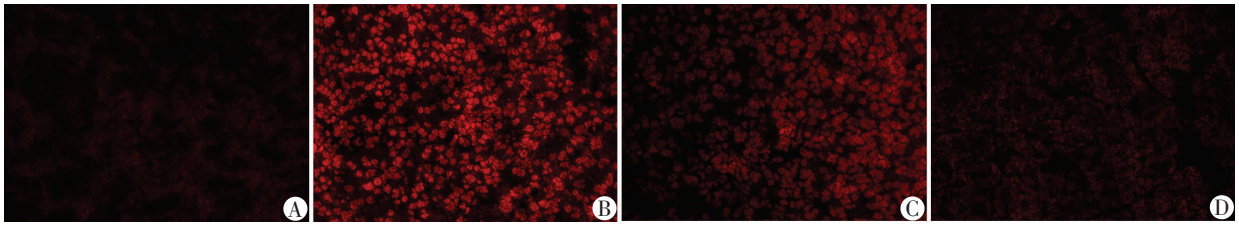
1：对照组；2：模型组；3：25 mg/kg RHL 治疗组；4：50 mg/kg RHL 治疗组；a：$P<0.05$，与对照组比较；b：$P<0.05$，与模型组比较；A：小鼠血糖水平；B：小鼠血清总胆固醇水平；C：小鼠血清甘油三酯水平；D：小鼠血清胰岛素水平

图 2　RHL 对链脲佐菌素诱导的糖尿病模型小鼠血糖、血脂和胰岛素的影响（$n=10$，$\bar{x}\pm s$）



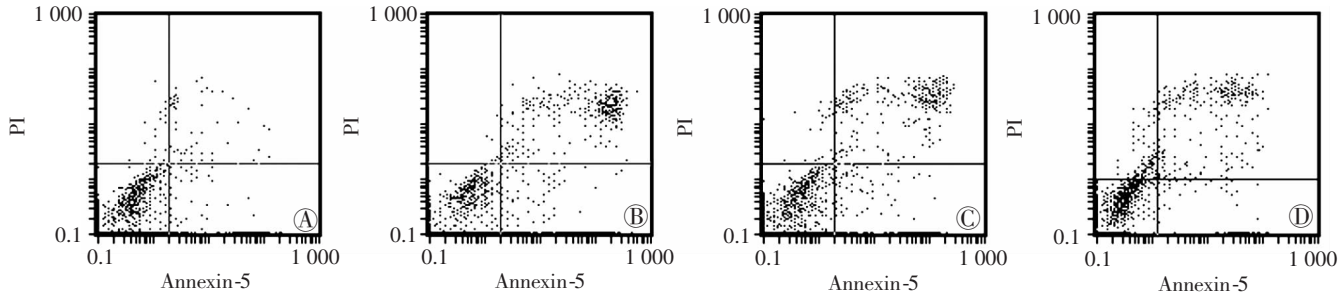
1：对照组；2：模型组；3：25 mg/kg RHL 治疗组；4：50 mg/kg RHL 治疗组；a：$P<0.05$，与对照组比较；b：$P<0.05$，与模型组比较；A：小鼠血清 MDA 水平；B：小鼠血清 SOD 活性；C：小鼠血清 GSH-Px 活性

图 3　RHL 对链脲佐菌素诱导的糖尿病模型小鼠血清 MDA、SOD 和 GSH-Px 的影响（$n=10$，$\bar{x}\pm s$）



A：对照组；B：模型组；C：25 mg/kg RHL 治疗组；D：50 mg/kg RHL 治疗组

图 4　DHE 染色检测小鼠胰腺组织活性氧变化　（×200）



A:对照组;B:H_2O_2处理组;C:5 μmol/L RHL和H_2O_2共同处理组;D:10 μmol/L RHL和H_2O_2共同处理组

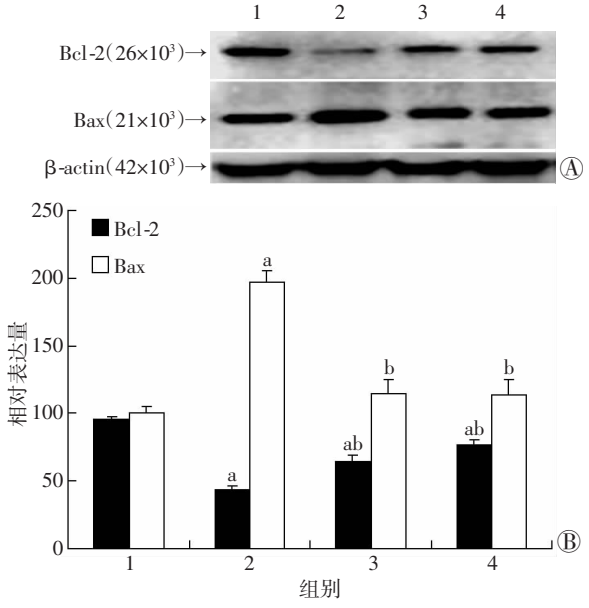
图5 RHL对H_2O_2诱导的胰岛β细胞凋亡的影响

2.5 流式细胞仪检测显示RHL能够减少H_2O_2诱导的胰岛β细胞凋亡

与对照组凋亡细胞率[(5.33±1.15)%]相比,300 μmol/L H_2O_2处理30 min能够明显诱导NIT-1细胞凋亡[(46.37±3.04)%,$P<0.05$]。提前应用5、10 μmol/L RHL处理NIT-1细胞24 h后,再用300 μmol/L H_2O_2处理30 min凋亡细胞百分率为(33.67±2.50)%、(27.57±2.19)%,较仅用H_2O_2处理组均显著降低($P<0.05$,图5)。

2.6 RHL调控H_2O_2诱导的胰岛β细胞凋亡相关基因的表达

与对照组相比,300 μmol/L H_2O_2处理30 min能够减少抗凋亡基因Bcl-2的表达,增加促凋亡基因Bax的表达($P<0.05$)。与仅用H_2O_2处理组比较,提前应用5、10 μmol/L RHL处理NIT-1细胞24 h后,再用300 μmol/L H_2O_2处理30 min,均能增加Bcl-2的表达,减少Bax的表达($P<0.05$,图6)。



1:对照组;2:H_2O_2处理组;3:5 μmol/L RHL和H_2O_2共同处理组;4:10 μmol/L RHL和H_2O_2共同处理组;A:Western blot检测凋亡相关蛋白表达;B:Bcl-2和Bax蛋白的相对表达量 a:$P<0.05$,与对照组比较;b:$P<0.05$,与H_2O_2处理组比较

图6 RHL对凋亡相关蛋白表达的影响

3 讨论

糖尿病是一种慢性糖代谢障碍的疾病,常可发生一些严重并发症,如糖尿病肾病、糖尿病视网膜疾病和心血管系统病变等[9-12],严重危害人类的生命与健康,目前病因还未明确,发病机制复杂,尚无根治药物。因此,寻找新的降糖药物并能预防糖尿病晚期并发症的发生迫在眉睫。大黄酸是一种从传统中草药大黄中提取的有效成分,近年来研究表明大黄酸作为一种新型PPARγ激动剂,可以通过上调过氧化物酶体增殖物激活受体γ(PPARγ)和葡萄糖转运蛋白-2(GLUT-2)的表达,改善肝脏的葡萄糖利用不足和过度释放,从而改善胰岛素的敏感性[4];大黄酸能够直接与肝脏X受体(LXR)结合,激活棕色脂肪组织解偶联蛋白1(UCP1)的表达,实现对肥胖和代谢紊乱的保护作用[5];大黄酸通过抑制高糖诱导的线粒体分裂蛋白动力相关蛋白1(mitochondrial fission protein dynamin-related protein 1, Drp1)的表达,保护线粒体超微结构和高糖诱导的胰腺β细胞凋亡[6];但大黄酸降糖作用的确切机制尚不明确。与大黄酸不同的是,赖氨大黄酸(RHL)易溶于水,这很大程度上方便了RHL的给药和剂量控制。我们通过高糖高脂饲料喂养C57BL/6小鼠结合腹腔注射STZ诱导小鼠2型糖尿病模型,参考文献[8]以血糖>16.7 mmol/L为标准判定模型是否成功,对血糖未达标的小鼠再次腹腔注射一次STZ,把血糖>16.7 mmol/L的小鼠与前面糖尿病小鼠合并,根据体质量分层采用随机数字表分为模型组、25 mg/kg RHL治疗组和50 mg/kg RHL治疗组。同时选取10只正常小鼠做对照。

本研究结果显示,模型组小鼠出现体质量下降,推断可能与糖尿病症状有关。与模型组相比,RHL处理组小鼠体质量略有升高,推断可能与糖尿病症状改善有关。与25 mg/kg RHL治疗组比较,50 mg/kg RHL治疗组小鼠体质量降低,可能与大黄酸的减肥功效有

关[13]。STZ 造模后小鼠血糖、TC 和 TG 均升高,证明 STZ 诱导了胰腺损伤,小鼠糖、脂代谢功能紊乱,在应用 RHL 治疗后糖尿病小鼠的糖、脂代谢功能紊乱有所改善。与模型组比较,RHL 治疗组血糖、TC 和 TG 降低。STZ 通过 GLUT-2 进入胰岛 β 细胞内,代谢过程中产生大量毒性中间产物,包括甲基阳离子、甲基自由基以及一氧化氮自由基(NO ·)等,从而引起胰岛 β 细胞核 DNA 损伤碎裂[14],进而导致胰岛素产生不足,血糖血脂代谢紊乱。另外高糖高脂饮食喂养,也会加重胰岛 β 细胞损伤。本研究发现应用 STZ 诱导胰腺损伤的同时,抗氧化酶(SOD 和 GSH-Px)的活性显著降低,而与之相反的活性氧自由基明显增加。与模型组相比,应用 25、50 mg/kg RHL 治疗后均能升高抗氧化酶活性,而抑制活性氧自由基的产生。这与文献[15]报道相吻合。

胰岛 β 细胞数量不足所致的胰岛素相对或绝对分泌不足是造成高血糖的原因[16]。2 型糖尿病就是胰岛 β 细胞数量和分泌功能逐渐丧失所致[17],所以保护和恢复胰岛 β 细胞数量和分泌功能是治疗糖尿病的有效方法。为了进一步证实 RHL 对胰岛 β 细胞的保护作用,我们体外培养了小鼠胰岛 β 细胞 NIT-1,模仿 STZ 产生活性氧引起胰腺损伤的机制,应用H_2O_2 处理 NIT-1 细胞作为胰岛细胞损伤模型。在应用 300 μmol/L H_2O_2处理 NIT-1 细胞后,与对照组相比,凋亡细胞百分率明显升高。与模型组相比,应用 5、10 μmol/L RHL 预处理组能够明显降低由 H_2O_2诱导的凋亡细胞百分率。因此,可以推断 RHL 能够通过阻断活性氧诱导的细胞凋亡,发挥胰腺保护作用。我们通过 Western blot 方法检测了一些凋亡相关蛋白表达水平的变化。结果显示 H_2O_2处理组抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达水平降低,促凋亡蛋白 Bax 表达水平升高,Bcl-2/Bax 比值降低诱导了 NIT-1 细胞凋亡。与模型组相比,应用 5、10 μmol/L RHL 预处理组能够升高 Bcl-2 表达水平,降低 Bax 表达水平,增加 Bcl-2/Bax 比值,部分阻断 H_2O_2诱导的 NIT-1 细胞凋亡。

综上所述,本研究发现 RHL 能够通过清除氧自由基,部分阻断 STZ 诱导的胰腺细胞凋亡,保护胰岛 β 细胞,从而保护了胰岛的功能。RHL 有望成为糖尿病患者的预防和治疗药物。

参考文献:

[1] Defronzo R A. Banting Lecture. From the triumvirate to the ominous octet: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus [J]. Diabetes, 2009, 58(4):773 - 795.

[2] Lian G, Yue X, Xianxiang Z, *et al*. Insulinization: A promising strategy for the treatment of type 2 diabetes mellitus [J]. Exp Ther Med, 2013, 6(5):1300 - 1306.

[3] Cicero A F, Ertek S. Hypertension and diabetes incidence: confounding factors [J]. Hypertens Res, 2011, 34(10): 1069 - 1070.

[4] 金苗苗, 迟铖, 母义明, 等. 大黄酸改善糖尿病大鼠空腹血糖、胰岛素敏感性并增强肝脏 PPARγ 和 GLUT-2 的表达 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2008, 24 (5): 537 - 541.

[5] Sheng X, Zhu X, Zhang Y, *et al*. Rhein protects against obesity and related metabolic disorders through liver X receptor-mediated uncoupling protein 1 upregulation in brown adipose tissue [J]. Int J Biol Sci, 2012, 8(10): 1375 - 1384.

[6] Liu J, Chen Z, Zhang Y, *et al*. Rhein protects pancreatic β-cells from dynamin-related protein-1-mediated mitochondrial fission and cell apoptosis under hyperglycemia [J]. Diabetes, 2013, 62(11): 3927 - 3935.

[7] 林雅军, 甄永占, 魏洁, 等. 赖氨大黄酸盐的合成工艺及活性研究 [J]. 中国现代应用药学, 2010, 27(11): 1010 - 1012.

[8] 夏玲玲, 齐向明, 吴永贵. 灯盏花素对糖尿病大鼠肝脏转化生长因子-β1 表达的影响 [J]. 安徽医科大学学报, 2007, 42(3) :303 - 305.

[9] Naruse R, Suetsugu M, Terasawa T, *et al*. Oxidative stress and antioxidative potency are closely associated with diabetic retinopathy and nephropathy in patients with type 2 diabetes [J]. Saudi Med J, 2013, 34(2):135 - 141.

[10] Satirapoj B. Nephropathy in diabetes [J]. Adv Exp Med Biol, 2012, 771:107 - 122.

[11] Stolar M. Addressing cardiovascular risk in patients with type 2 diabetes: focus on primary care [J]. Am J Med Sci, 2011, 341(2): 132 - 140.

[12] Zeber J, Parchman M L. Cardiovascular disease in type 2 diabetes: Attributable risk due to modifiable risk factors [J]. Can Fam Physician, 2010, 56(8):e302 - e307.

[13] Zhang Y, Fan S, Hu N, *et al*. Rhein reduces fat weight in db/db mouse and prevents diet-Induced obesity in C57Bl/6 mouse through the inhibition of PPARγ signaling [J]. PPAR Res, 2012:374936.

[14] 王怀清, 雷银雪, 刘敏, 等. 褪黑素减轻 STZ 大鼠高血糖及胰腺组织内氧化应激水平的研究[J]. 中国医药导刊, 2009, 11(1): 81 - 82.

[15] 罗志毅, 黄新, 包国荣. 大黄中主要成分清除超氧阴离子自由基的 ESR 研究[J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(3):612 - 614.

[16] Wajchenberg B L. beta-cell failure in diabetes and preservation by clinical treatment [J]. Endocr Rev, 2007, 28(2):187 - 218.

[17] Park E Y, Kim H J, Kim Y K, *et al*. Increase in Insulin Secretion Induced by Panax ginseng Berry Extracts Contributes to the Amelioration of Hyperglycemia in Streptozotocininduced Diabetic Mice [J]. J Ginseng Res, 2012, 36(2): 153 - 160.

(**收稿**:2013-09-09;**修回**:2013-11-21)

(编辑 张 维)