



大豆异黄酮对胰岛素抵抗大鼠低度炎症因子水平的影响

因肥胖而引发的糖尿病、高血压、动脉粥样硬化等以胰岛素抵抗(IR)为共同发病土壤的慢性疾病的患病率呈现逐年升高的趋势已是不争的实事。研究表明,机体过多的脂肪沉积,特别是腹部脂肪的增多是IR发生、发展的关键因素[1]。目前,认为脂肪细胞已不仅是过剩能量的储存器官,更是一种内分泌细胞[2]。它所分泌的肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6(IL-6)、抵抗素、脂联素等低度炎症因子的平衡状态是IR发生的关键[3],即低度炎症状态决定了IR水平。大豆异黄酮(SIF)对以IR为发病基础的糖尿病、心血管疾病等慢性病的防治作用已基本得到证实[4],但其作用机理还不甚明了,特别是SIF对脂肪细胞因子的影响,目前尚未见系统报道。为此,本研究从脂肪细胞分泌的低度炎症因子的角度探讨SIF改善肥胖性IR的可能机制。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂 大豆异黄酮(华北制药股份有限公司生产,总含量是82.63%),胰岛素、IL-6及TNF- α 试剂盒(北京北方生物技术研究所),大鼠抵抗素与脂联素酶免试剂盒(美国TPI),大鼠C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)酶免试剂盒(美国BD Biosciences Pharmingen)。

1.1.2 主要仪器 血糖仪(ARKRAY),SN-697型 γ -记数仪(上海),酶标仪(芬兰)。

1.1.2 大鼠饲料 在四川大学动物中心普通大鼠饲料配方的基础上加以改进,即用酪蛋白代替配方中的豆粕后作为基础饲料。高脂饲料为76.2%基础饲料、12%大油、10%蔗糖、1.5%胆固醇、0.3%猪胆盐。

1.1.3 实验动物 180-200 g雄性SPF级SD大鼠80只,购于四川省医学科学院实验动物研究所,批号SCXK(III)2004-16。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与给药 于独立通风系统下适应饲养1周后,按体质量将动物随机分为2组,1组10只大鼠喂饲基础饲料,另1组70只喂饲高脂高糖饲料。自由饮水与摄食2月后检测两组大鼠的空腹血糖与胰岛素水平,计算胰岛素抵抗指数(IRI)。按照喂饲高脂高糖饲料大鼠的IRI大于基础饲料组大鼠IRI均数加1.96个标准差者为IR大鼠的判断标准,筛选出IR模型大鼠47只。将此47只大鼠依IRI再随机分为模型对照组(灌胃无菌水)和3个SIF组(50、150、450 mg/kg),4组均继续喂养高脂饲料。取原来基础饲料对照组的9只大鼠继续喂饲基础饲料(空白对照组,灌胃无菌水)。各组给予相应受试物1月后,禁食过夜称重后股动脉采血、分离肾及睾丸周围的脂肪组织[按内脏脂肪(VAT)计]称重。

1.2.2 脂体比 脂体比(%)= 内脏脂肪质量/空腹体质量 \times 100%。

1.2.3 血糖及胰岛素检测 采用血糖仪及其相应血糖试纸检测血糖;按试剂盒说明书,放免法检测胰岛素。计算IRI=空腹血糖 \times 空腹胰岛素/22.5。

1.2.4 血清抵抗素、脂联素水平检测 按照试剂盒说明书,采用酶免法(竞争法)检测。

1.2.5 血清CRP浓度监测 按试剂盒说明书,采用双抗夹心法检测。终止反应后30 m内检测450 nm吸光

度。

1.2.6 血清IL-6与TNF- α 的检测 严格按照试剂盒说明书操作步骤进行。

1.3 数据处理分析

所有数据以均数 \pm 标准差表示。采用SPSS12.0 for Windows软件one-way ANOVA方法分析，组间比较用Dunnett法。

2 结果

2.1 SIF对膳食诱导IR大鼠内脏脂肪相对含量的影响

在开始给予SIF时，喂饲高脂饲料的4组间体质量无统计学差异($P>0.05$)，但显著高于基础组($P<0.01$)，说明肥胖模型是成立的。SIF干预1月后，SIF中、高剂量组的内脏脂肪重、脂体比及高剂量组的空腹体重显著低于模型组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)，提示SIF具有减轻大鼠体质量、预防体内脂肪沉积的作用。具体见表1。

表1 SIF对IR大鼠体重及内脏脂肪含量的影响
Tab.1 Effects of SIF on body weight and visceral fat content in IR rats (Mean \pm SD)

Group	Dose (mg/kg)	<i>n</i>	Fasting body Weight at the beginning (g)	Fasting body Weight in the end (g)	VAT(g)	VAT vs body weight(%)
Blank		9	321.6 \pm 47.8**	354.1 \pm 54.7**	12.8 \pm 4.8**	3.54 \pm 0.96**
Model	/	12	392.2 \pm 46.1	463.8 \pm 51.50	21.7 \pm 4.500	4.64 \pm 0.550
SIF	50	11	404.8 \pm 50.5	435.9 \pm 64.10	19.8 \pm 4.800	4.40 \pm 0.590
	150	12	412.9 \pm 55.3	426.2 \pm 66.90	17.0 \pm 4.7*0	3.92 \pm 0.54*
	450	12	390.0 \pm 51.4	395.8 \pm 58.8*	15.5 \pm 4.8**	3.83 \pm 0.68**

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs model group. SIF: Soy isoflavone; VAT: Visceral adipose tissue

2.2 SIF对IR大鼠胰岛素敏感性的影响

由表2见，模型组的空腹胰岛素与IRI显著高于基础组，说明膳食诱导的IR大鼠模型是成立的。喂饲高脂饲料的4组间的空腹血糖值无明显的统计学差异，但中、高剂量组的空腹胰岛素水平及胰岛素抵抗指数明显低于模型组($P<0.01$)，提示SIF可提高肥胖性胰岛素敏感性，改善胰岛素抵抗状态。

2.3 SIF对IR大鼠血清低度炎症介质水平的影响

与模型组比，基础组的IL-6、TNF- α 、CRP及抵抗素水平均显著低于模型组，说明IR大鼠机体存在明显的低度炎症状态。SIF高剂量组的IL-6低于模型组、脂联素高于模型组；SIF 3组的TNF- α 水平均显著低于模型组；SIF中、高剂量组的抵抗素水平也显著低于模型组；3个SIF组的CRP与模型组比较则无显著性差异。具体见表3。

表 2 SIF 对 IR 大鼠空腹血糖、胰岛素及 IRI 的影响($\bar{x}\pm s$)

Tab.2 Effects of SIF on fasting blood glucose (FBG), fasting insulin (FINS) and insulin resistance index (IRI) in IR rats

Group	Dose(mg/kg)	n	FBG(mmol/L)	FINS(mIU/L)	IRI
Blank		9	4.34±0.74	22.0±4.54**	4.27±2.39**
Model	/	12	4.48±0.56	68.5±10.3	13.66±2.7600
SIF	50	11	4.14±0.68	65.7±10.4	12.13±2.8800
	150	12	4.66±0.38	45.8±9.1**	9.54±2.35**
	450	12	4.32±0.67	39.9±7.3**	7.72±2.13**

** $P<0.01$ vs model group表 3 SIF 对 IR 大鼠 IL-6、TNF- α 、CRP 及抵抗素含量的影响($\bar{x}\pm s$)Tab.3 Effects of SIF on serum IL-6, TNF- α , CRP, and resistin in IR rats

Group	Dose(mg/kg)	n	IL-6(pg/ml)	TNF- α (ng/ml)	CRP(mg/L)	Resistin(μ g/L)	Adiponectin(mg/L)
Blank		9	296.4±50.4**	1.43±0.19**	129.3±32.9**	5.65±1.53**	4.82±0.76
Model	/	12	370.2±63.7	1.93±0.27	281.7±47.2	10.12±2.25	4.20±0.9400
SIF	50	11	352.3±51.4	1.67±0.30*	280.2±37.7	9.10±1.71	4.71±0.9900
	150	12	342.4±50.9	1.48±0.25**	263.2±43.1	8.15±2.02*	5.08±0.8600
	450	12	307.7±67.5*	1.61±0.27**	263.1±46.7	6.08±2.01**	5.70±0.87**

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs model group. IL-6: Interleukin-6; TNF- α Tumor necrosis factor- α

3 讨论

随着对脂肪细胞因子的不断深入研究,已初步认定肥胖是一种低度炎症性疾病[5]。脂肪组织是炎症介质的重要来源[3]。低度炎症水平高低是IR发生与否的关键因素,低度炎症分子是联系肥胖与IR的纽带[6]。

机体过多的脂肪沉积,特别是腹部脂肪的增多,导致脂肪细胞因子分泌平衡的紊乱,促进IR的发生。由表1见,在给予SIF前,4组IR大鼠的平均体质量均明显高于基础对照组,试验结束时模型对照组的内脏脂肪含量也显著高于基础对照组,说明体内脂肪的沉积是IR发生的一个促进因素。经过30 d的SIF干预,中高剂量组大鼠内脏脂肪含量显著低于模型组,提示SIF可明显减少大鼠内脏脂肪沉积,减少胰岛素的分泌,提高胰岛素的敏感性(见表1、2)。

肥胖发生时,随着内脏脂肪的增多,除脂联素表达降低外,IL-6、TNF- α 、抵抗素、瘦素等的表达均明显升高,促使IR发生[7]。IL-6与TNF- α 等除直接影响胰岛素的活性外,还作用于肝细胞,使C-反应蛋白(CRP)合成显著增加。由表3见,SIF显著降低了IL-6与TNF- α 的含量,部分地解除了两者对胰岛素敏感的抑制作用,使胰岛素敏感性增加。虽然高SIF组TNF- α 的表观值高于中剂量组的,但是两组间并无统计学差异,说明该差异可能是偶然误差所致,并提示SIF对TNF- α 水平的影响曲线可能是非直线型的。SIF对CRP水平的作用,虽然具有随剂量增加而减少的趋势,但未达到具有统计学差异水平,考虑CRP是一种非特异性的炎症分子,它的水平受机体诸多方面的影响所致。这也可能是至目前尚未发现一种药物能有效降低CRP水平的重要原因[8]。

关于抵抗素的作用,虽然目前尚未取得一致意见,但更多的实验结果支持它具有抵抗胰岛素活性的作用。最近的报道还认为抵抗素是一种比CRP更为敏感的炎症标识分子[8]。表3结果显示,SIF可以降低抵抗素的血清含量,同时胰岛素的敏感性也得以提高(表2),这与抵抗素具有抵抗胰岛素活性的报道一致。另外,该

结果还提示, 作为炎症标识分子, 抵抗素的组织特异性明显高于CRP, 但对炎症的敏感性不如CRP。

脂联素是目前比较公认的一种内生性的胰岛素增敏剂, 几乎完全由脂肪细胞分泌, 其基因位于2型糖尿病和代谢综合症等疾病易感基因编码区3q27, 与胰岛素敏感性高度相关[9]。重组的脂联素应用于不同IR模型, 均能有效提高胰岛素的敏感性。但是随着机体脂肪组织的不断增多, 血浆脂联素浓度逐渐降低。降低肥胖患者体质量则可明显升高血浆脂联素水平, 胰岛素的敏感性也得以同时回复。低血浆脂联素水平是肥胖性IR相关疾病发生的重要原因。表3结果显示, 高SIF组可明显提高血浆脂联素的含量, 从而有效地增强了胰岛素的敏感性。

总之, 在本实验条件下, SIF可以有效减少IR大鼠脂肪沉积, 缓解低度炎症状态, 提高脂联素水平, 改善胰岛素敏感性。但是, SIF这些作用的具体机制还不清楚。

参考文献:

- [1]McPherson R, Jones PH. The metabolic syndrome and type 2 diabetes: role of the adipocyte[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2003, 14(6): 549-53.
- [2]Miner JL. The adipocyte as an endocrine cell[J]. *J Anim Sci*, 2004, 82(3): 935-41.
- [3]Rudin E, Barzilai N. Inflammatory peptides derived from adipose tissue[J]. *Immun Ageing*, 2005, 2(1): 1.
- [4]Glade MJ. Third international symposium on the role of soy in preventing and treating chronic disease, Washington, DC, October 31-November 1, 1999[J]. *Nutrition*, 2001, 17(1): 73-7.
- [5]Wellen KE, Hotamisligil GS. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue[J]. *J Clin invest*, 2003, 112(12): 1785-8.
- [6]Xu H, Barnes GT, Yang Q, et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance[J]. *J Clin Invest*, 2003, 112(12): 1821-30.
- [7]Zoico E, Di Francesco V, Mazzali G, et al. Adipocytokines, fat distribution, and insulin resistance in elderly men and women[J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2004, 59(9): M935-9.
- [8]Reilly MP, Lehrke M, Wolfe ML, et al. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans[J]. *Circulation*, 2005, 111(7):932-9.
- [9]Matsuzawa Y, Funahashi T, Kihara S, et al. Adiponectin and metabolic syndrome[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(1):29-33.