

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.36.004

人参皂甙 Rg3 对糖尿病肾病大鼠生化指标及病理的影响 *

王 娟¹ 崔春黎^{2△} 富 力^{3△} 鲁 歧³ 燕 秋⁴ 谢南姿¹

(1 上海市同济医院老年科 上海 200065; 2 上海市同济医院肾内科 上海 200065;

3 大连富生天然药物开发有限公司 辽宁 大连 116600; 4 大连医科大学基础医学院 辽宁 大连 116044)

摘要 目的:探讨人参皂甙 Rg3 对糖尿病肾病大鼠生化指标及病理改变的影响。**方法:**30 只 SD 雄性大鼠按随机数字表法分为正常对照组、模型对照组和人参皂甙 Rg3 组。采用链脲佐菌素建立糖尿病肾病大鼠模型。造模成功后, Rg3 治疗组每天以 Rg3 (0.5 mg/kg) 灌胃, 余予以等量蒸馏水灌胃。30 天后分别测 3 组大鼠血糖、24 小时尿蛋白、血肌酐, 并予以 HE 染色行肾组织活检。**结果:**与正常组比较, 模型对照组大鼠血糖、24 小时尿蛋白、血肌酐明显升高, 肾小球体积增大, 基底膜增厚、细膜基质增多, 肾小球内炎细胞浸润 ($P < 0.01$)。与模型对照组比较, 人参皂甙 Rg3 组血糖、24 小时尿蛋白、血肌酐明显降低, 肾小球基底膜增厚程度减轻, 细胞外基质堆积减少, 差异具有显著性 ($P < 0.05$)。**结论:**人参皂甙 Rg3 能显著降低糖尿病大鼠血糖、血肌酐、24 h 尿蛋白, 能改善其肾脏的病理损害。

关键词:人参皂甙 Rg3; 糖尿病肾病; 肾脏病理

中图分类号: R285.5; R587.2 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2014)36-7015-04

The Effect of Ginsenoside Rg3 on the Biochemical Indicators and Pathological of Diabetic Nephropathy Rats*

WANG Juan¹, CUI Chun-Li^{2△}, FU Li^{3△}, LU Qi³, YAN Qiu⁴, XIE Nan-zi¹

(1 Department of Geriatrics, Tongji Hospital of Shanghai, Shanghai, 200065, China; 2 Department of Nephrology, Tongji Hospital of Shanghai, 200065, China, 3 Dalian Fusheng Natural Pharmaceutical Development Co.Ltd, Dalian, Liaoning, 116600, China; 4 College of Basic Medical Sciences, Dalian Medical University, Dalian, Liaoning, 116044, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of the ginsenoside Rg3 on the biochemical indicators and pathological of diabetic nephropathy rats. **Methods:** Thirty Sprague-Dawley male rats were randomly divided into 3 groups: normal control group, model control group and Rg3 treated group. The diabetic nephropathy rat model was induced by injection of streptozotocin (STZ, 65 mg/kg) in abdominal cavity. After establishing the model, the Rg3 treated group was daily administrated with Rg3 (0.5 mg/kg) for 30 days, while the other two groups were given distilled water. The blood glucose, twenty-four hours urine protein and serum creatine were measured the day before the rats were killed when the 30 days of treatments had been completed. The renal pathological changes were evaluated by HE staining. **Results:** The blood glucose, twenty-four hours urine protein and serum creatine increased significantly in the rats of model control group. The volume of renal glomerulus enlarged. The basement membrane was thickened. The cell matrix was increased, as well as some inflammatory cells were accumulated in renal glomerulus ($P < 0.01$). Compared with that in the model control group, the level of blood glucose, twenty-four hours urine protein and serum creatine were deduced obviously in Rg3 treated group. The extent of the thickened basement membrane and the accumulation of extracellular matrix reduced ($P < 0.05$). **Conclusion:** The Rg3 can reduce the level of the blood glucose, twenty-four hours urine protein, serum creatine and the pathological damage of renal with diabetic nephropathy.

Key words: Ginsenoside Rg3; Diabetic nephropathy; Renal pathology

Chinese Library Classification(CLC): R285.5; R587.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)36-7015-04

前言

近 30 年来,糖尿病患病率显著增加,已成为一个增长中的全球危机,最新出版的《新英格兰医学杂志》发表了中华医学会中国糖尿病和代谢综合研究组关于我国糖尿病调查的结果,我

国已经取代印度,成为全球糖尿病第一大国^[1]。糖尿病肾病(Diabetic nephropathy, DN)是终末期肾病(end-stage renal disease, ESRD)最主要的原因,约占全部 ESRD 病例的 44%^[2],是糖尿病最严重的微血管并发症之一,也是糖尿病重要的死亡原因。早期病理学改变为肾脏体积增大,肾小球基底膜增厚和系

* 基金项目:辽宁省企业博士后项目 (106561)

作者简介:王娟(1981-),女,博士,医师,主要研究方向:肾脏病;电话:13701787075, E-mail: wangdanwj@126.com

△通讯作者:崔春黎,女, E-mail: cuichunli@springer.com.cn

富力,男, E-mail: 2729677386@qq.com

(收稿日期:2014-05-24 接受日期:2014-06-17)

膜基质增多,肾小管基底膜增厚和间质增多,晚期表现为肾小球硬化,肾小管萎缩和间质纤维化^[3]。人参被称为“百草之王”,是驰名中外的名贵药材。现代研究证明,人参皂甙是其活性成分^[4],其中人参皂甙 Rg3 被证明具有降血糖作用^[5],但具体的降血糖机制不清。故本实验将人参皂苷 Rg3 作用于 DN 大鼠,通过对其生化指标及病理变化的研究,来探讨人参皂苷 Rg3 治疗 DN 的可能机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物及试剂

30 只 SD 大鼠,雄性,平均体重 300 克,由中国科学院上海实验动物中心、国家啮齿类实验动物种子中心上海分中心、上海斯莱克实验动物有限责任公司提供。人参皂甙 Rg3 标准品由大连富生天然药物开发有限公司提供,链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)购自 Sigma 公司。

1.2 动物分组及模型的建立

30 只 SD 大鼠按随机数字表法分为 3 组:正常对照组、模型对照组、人参皂甙 Rg3 组,每组 10 只。正常对照组一直采用普通饲料喂养。模型对照组和人参皂甙 Rg3 组均采用高糖、高脂饮食,2 个月,20 只 SD 大鼠按 65 mg/kg 剂量腹腔内一次性注射 STZ 诱导 DN^[6],再连续喂养 2 周。检测大鼠空腹血糖大于 16.7 mmol/L、尿糖 3+、尿量增加大于 1 倍,持续 3 d 以上认为造模成功^[7],否则视为造模失败,予以剔除,并重新补充 SD 大鼠。

1.3 给药方法

造模成功后,人参皂甙 Rg3 组每天以人参皂甙 Rg3 灌胃(0.5 mg/kg),模型对照组、正常对照组仅予以等量蒸馏水灌胃,周期 30 天。

1.4 大鼠生化指标检测

给药 30 天后,分别测 3 组大鼠血糖,收集大鼠尿液检测尿 24 小时尿蛋白定量,并行一次性血肌酐测定。

1.5 肾脏组织病理学检查

收集大鼠血液、尿液标本结束后,3 组动物均处死,立即解剖获取肾组织,用 40 g/L 多聚甲醛固定,进行石蜡包埋、切片,按常规 HE 染色进行形态学观察。

1.6 统计学处理

采用 SPSS17.0 软件进行 t 检验和相关性分析,数据以均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,以 $P \leq 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 实验动物数量分析

纳入实验大鼠 30 只,其中模型对照组、人参皂甙 Rg3 组各死亡大鼠 1 只,予以剔除并及时补充。补充后的 30 只大鼠均成模,并且均进入最终的结果分析。

2.2 各组大鼠一般情况

与正常对照组比较,模型对照组大鼠精神不振,行动缓慢,皮毛松乱枯黄,多饮、多尿、多食、体质量减轻等“三多一少”糖尿病症状明显。但人参皂甙 Rg3 治疗组上述表现较模型对照组明显减轻。

2.3 各组大鼠血糖、24 小时尿蛋白及血肌酐结果

模型对照组、人参皂甙 Rg3 组血糖、24 小时尿蛋白及血肌酐水平较正常对照组均明显升高,差异具有显著性($P < 0.01$),但人参皂甙 Rg3 组经人参皂甙 Rg3 治疗后,上述指标水平较模型对照组均明显降低,差异具有显著性($P < 0.05$),但其水平仍高于正常对照组($P < 0.05$)(表 1)。

表 1 各组糖尿病肾病大鼠生化指标水平
Table 1 The biochemical indicators level of rats with DN

Group	Blood Glucose(mmol/L)	24 h Urine Protein (mg)	Serum Creatinine(μ mol/L)
Normal control group	5.16 $\pm$ 0.64	2.25 $\pm$ 0.15	45.31 $\pm$ 3.47
Model control group	26.53 $\pm$ 0.85*	14.03 $\pm$ 0.76*	96.21 $\pm$ 3.52*
Rg3 treated group	21.07 $\pm$ 0.98*#★	5.26 $\pm$ 0.49*#★	65.42 $\pm$ 5.23*#★

*:与正常对照组比较, $P < 0.01$;#:与模型对照组比较, $P < 0.05$,★:与正常对照组比较, $P < 0.05$ 。

*: Compared with the normal group, $P < 0.01$; #: Compared with the model group, $P < 0.05$, ★: Compared with the normal group, $P < 0.05$.

2.4 各组大鼠肾脏病理改变

正常对照组大鼠肾组织镜下未观察到明显肾小球、肾小管、肾间质病理学改变。模型对照组大鼠肾组织较正常对照组:肾小球体积明显增大,基底膜增厚、细膜基质增多,肾小球内可见散在炎细胞浸润;肾小管上皮细胞胞浆疏松,轻度水肿。经人参皂甙 Rg3 治疗后,其肾脏病理损伤较模型对照组明显减轻,肾小球体积较模型对照组小,部分基底膜增厚,系膜基质稍增多,肾小球内炎细胞浸润较模型对照组减少,肾小管、肾间质但未见明显病理改变,但与正常对照组比较,仍然存在病理损伤(图 1)。

3 讨论

近 30 年来,糖尿病患病率显著增加,已成为一个增长中的全球危机。最新出版的《新英格兰医学杂志》发表了中华医学会中国糖尿病和代谢综合研究组关于我国糖尿病调查的结果:我国 20 岁以上的成年人糖尿病患病率达 9.7%,中国成人糖尿病患者总数达 9240 万,糖尿病前期患病率达 15.5%,处于糖尿病前期者约 1.5 亿人^[8],我国已经取代印度,成为全球糖尿病第一大国^[9]。糖尿病肾病是终末期肾病(end-stage renal disease, ESRD)最主要的原因^[10],约占全部 ESRD 病例的 44%^[11],严重影响患者的生存质量,对个人、家庭及社会造成了严重影响。因此寻找药物预防和干预 DN 的发生发展已经成为当前临床医师所面临的重要课题。

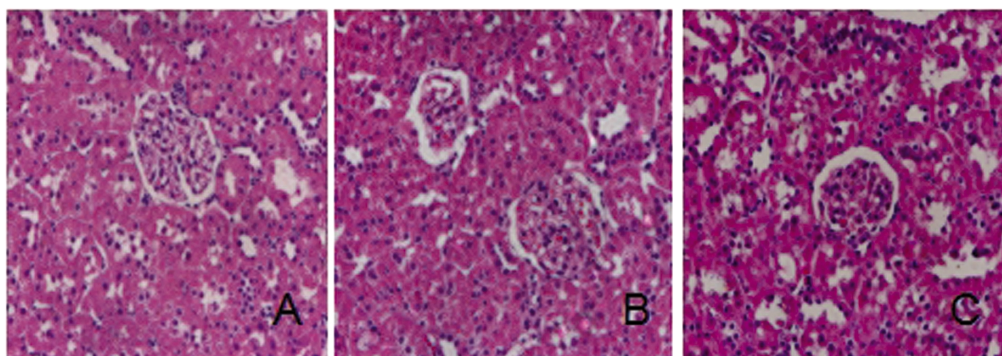


图 1 各组大鼠肾脏病理改变(HE×400):A:正常对照组;B:模型对照组;C:人参皂甙 Rg3 组

Fig. 1 The pathological changes of rats in each group: A. normal control group, B. model control group, C. Rg3 treated group

人参被称为“百草之王”，是驰名中外的名贵药材，人参皂苷是其活性成分。人参皂苷基本分为人参二醇型皂苷(PDT)(包括人参皂甙 Rb1、Rb2、Rc、Rd、Rh2、Rg3、C2K、Ppd等)和人参三醇型皂苷(PTT)(包括人参皂甙 Rg1、Rg2、Re、F1、Rh1、Ppt等)^[12]。人参皂甙 Rg3 是从传统中药人参中提取出来的原人参二醇型皂苷单体，分子式为 $C_{42}H_{72}O_{13}$ ，相对分子质量为 784，是人参皂甙单体中重要的活性成分^[13]。本课题组前期实验及相关文献报道证实，人参皂甙 Rg3 可通过抑制 VEGF^[14]、bFGF 等基因的表达而抑制异常的新生血管形成，诱导肿瘤细胞凋亡^[15]、降低细胞增殖核抗原(PCNA)^[16]、金属蛋白酶(如 MMP2、MMP9)^[17]、增加抑癌基因 p16^[18]表达，降低癌细胞对细胞外间质和其基底膜的降解能力等，进而抑制肿瘤生长、转移，还能增强机体的免疫功能^[19]，但以上研究均是关于人参皂甙 Rg3 抗肿瘤的作用机制，关于对 DN 影响的研究甚少。因此，本实验将人参皂甙 Rg3 作用于 DN 大鼠模型，通过对其生化指标和肾脏病理学改变，来初步探讨其治疗 DN 的可能机制。

关于 DN 的大鼠模型，可以采用目前通用的方法，用 STZ 诱导^[20]，经 STZ 溶液一次性腹腔注射后，SD 大鼠出现明显的多饮、多尿、多食、消瘦等糖尿病症状，检测大鼠空腹血糖、尿糖、尿量，证明造模成功。本实验将人参皂甙 Rg3 作用于 DN 大鼠，其生化指标和肾脏病理学变化，与 DN 模型组大鼠比较，血糖、24 小时尿蛋白、血肌酐均较模型组降低，证明人参皂甙 Rg3 可降低 DN 大鼠尿蛋白，保护肾功能。在肾脏病理改变方面，文献报导^[21]，DN 的病理改变为细胞外基质(extracellularmatrix, ECM)在肾小球、肾小管积聚导致肾小球基底膜(glomerular basement membrane, GBM)增厚，系膜区扩张及肾间质纤维。本实验肾脏病理检查发现肾小球体积较模型组缩小，基底膜增厚、系膜基质增多程度较模型组减轻，肾小球内炎细胞浸润亦较模型对照组减少，表明肾脏病理损伤较模型组明显减轻，证明人参皂甙 Rg3 能改善 DN 的病理改变程度。由于实验时间有限，关于人参皂甙 Rg3 通过何种途径发挥作用治疗 DN，还需进一步研究。DN 是多种因素共同参与作用的结果，其确切机制比较复杂，它涉及多基因改变，其个别或少数基因的研究不能全面揭示其病理机制。

参考文献(References)

[1] Yang W, Lu J, Weng J, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China[J]. N Engl J Med 2010, 362: 1090-1101

[2] Toshio D, Akira M, Takeshi M, et al. The current clinical problems for early phase of nephropathy and approach for pathogenesis of diabetic nephropathy[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2008, 82 (suppl 1): 21-24

[3] 王环君, 王爱民, 雷闽湘, 等. 血糖波动与持续性高血糖对糖尿病大鼠肾脏病理改变及Ⅳ型胶原表达的影响 [J]. 中南大学学报 (医学版), 2013, 38(8): 818-823

Wang Huan-jun, Wang Ai-min, Lei Min-xiang, et al. Effect of blood glucose fluctuation and the sustained high blood glucose on renal pathological change and collagen IV expression in diabetic rats [J]. Journal of Central South University. Medical Science, 2013, 38(8): 818-823

[4] 储继红, 许美娟, 吴婷, 等. 人参皂甙 Rg3 药理学及药代动力学研究进展[J]. 中国药物与床, 2011, 11(2): 180-182

Chu Ji-hong, Xu Mei-juan, Wu Ting, et al. The Progress of Rg3's pharmacology and pharmacokinetics[J]. Chinese Remedies & Clinics. 2011, 11(2): 180-182

[5] Niu J, Pi ZF, Yue H, et al. Effect of 20 (S)-ginsenoside Rg3 on streptozotocin-induced experimental type 2 diabetic rats: a urinary metabolomics study by rapid-resolution liquid chromatography/mass spectrometry[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2012, 26(23): 2683-2689

[6] 雷作焘, 罗仁, 董晓蕾, 等. STZ 诱导糖尿病肾病大鼠模型的建立[J]. 中国实验动物学报, 2005, 13(3): 163-166

Lei Zuo-xi, Luo Ren, Dong Xiao-lei, et al. Establishment of STZ-Induced Diabetic Nephropathic Rat Model [J]. Acta Laboratorium Animals, Scientia Sinica, 2005, 13(3): 163-166

[7] 郭啸华, 刘志红, 李恒, 等. 高糖高脂饮食诱导的 2 型糖尿病大鼠模型及其肾病特点[J]. 中国糖尿病杂志, 2002, 10(5): 290-294

Guo Xiao-hua, Liu Zhi-hong, Li Heng, et al. Type 2 diabetes mellitus induced by diets and its features of renal involvement in rat [J]. Chinese Journal of Diabetes, 2002, 10(5): 290-294

[8] Yang W, Lu J, Weng J, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China[J]. N Engl J Med 2010, 362: 1090-1101

[9] 成伟, 张鹏超, 王震, 等. 2 型糖尿病及其中西医结合治疗 [J]. 现代中西医结合杂志, 2012, 21(17): 1925-1927

Cheng Wei, Zhang Peng-chao, Wang Zhen, et al. Type-2 Diebetic Mellitus and the combined treatment of traditional chinese medicine and western medicine [J]. Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2012, 21(17): 1925-1927

- [10] 马小芬,谢席胜,左川,等.人参皂甙 Rg1 对糖尿病肾病大鼠肾脏保护作用的机制研究[J]. 生物医学工程学杂志, 2010, 27(2): 342-347
Ma Xiao-fen, Xie Xi-sheng, Zuo Chuan, et al. Effects of Ginsenoside Rg1 on Streptozocin-Induced Diabetic Nephropathy in Rats [J]. Journal of Biomedical Engineering, 2010, 27(2): 342-347
- [11] Toshio D, Akira M, Takeshi M, et al. The current clinical problems for early phase of nephropathy and approach for pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2008, 2 (suppl 1): 21-24
- [12] 陈曦, 陈鲁. 人参皂苷 Rg3 的抗肿瘤作用研究进展[J]. 中国当代医药, 2011, 18(36): 17-18
Chen Xi, Chen Lu. Advances in anti-tumor effects of Ginsenoside Rg3[J]. China Modern Medicine, 2011, 18(36): 17-18
- [13] 储继红, 许美娟, 吴婷, 等. 人参皂苷 Rg3 药理学及药代动力学研究进展[J]. 中国药物与临床, 2011, 11(2): 180-182
Chu Ji-hong, Xu Mei-juan, Wu Ting, et al. Progress of Rg3 in pharmacology and pharmacokinetics[J]. Chinese Remedies & Clinics, 2011, 11(2): 180-182
- [14] 辛颖, 姜新, 崔俊生, 等. 20(S)-人参皂苷 Rg3 对血管内皮细胞增殖和迁移的抑制作用[J]. 肿瘤防治研究, 2010, 37(12): 1352-1355
Xin Ying, Jiang Xin, Cui Jun-sheng, et al. Inhibitory Effect of 20(s)-Ginsenoside Rg3 on Proliferation and Migration of Vascular Endothelial Cells [J]. Cancer Research On Prevention and Treatment, 2010, 37(12): 1352-1355
- [15] 刘基巍, 赵翌, 富立, 等. 人参皂甙 Rg3 在小鼠肝癌淋巴结转移模型中诱导细胞凋亡的作用[J]. 中国肿瘤临床, 2004, 31(19): 1120-1122
Liu Ji-wei, Zhao Yi, Fu Li, et al. Role of Ginsenoside Rg3 in inducing Apoptosis of Tumor Cells in the Lymphatic Metastasis Mouse [J]. Chinese Journal of Clinical Oncology, 2004, 31(19): 1120-1122
- [16] 张丽娜, 谢席胜, 左川, 等. 人参皂甙 Rg1 对糖尿病肾病大鼠 TNF- α 、MCP-1 表达的影响 [J]. 四川大学学报 (医学版), 2009, 40(3): 466-471
Zhang Li-na, Xie Xi-sheng, Zuo Chuan, et al. Effect of Ginsenoside Rg1 on the Expression of TNF- α and MCP-1 in Rats with Diabetic Nephropathy [J]. Journal Sichuan University (Medical Science Edition), 2009, 40(3): 466-471
- [17] 姜新, 辛颖, 许天敏, 等. 人参皂苷 Rg3 对小鼠 B16 黑色素瘤细胞侵袭、转移及 MMP-9 表达的影响[J]. 肿瘤, 2011, 31(2): 117-121
Jiang Xin, Xin Ying, Xu Tian-min, et al. Effects of ginsenoside Rg3 on the invasion and metastasis of mouse melanoma cell line B16 as well as the expression of MMP-9[J]. Tumor, 2011, 31(2): 117-121
- [18] 刘基巍, 赵翌, 富力, 等. PCNA、P16、MMP9 在人参皂甙 Rg3 抗肝癌淋巴道转移中的表达及意义 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2004, 9(3): 225-228
Liu Ji-wei, Zhao Yi, Fu Li, et al. Expression and Significance of PCNA, P16 and MMP9 in the Lymphatic Metastasis Models with Ginsenoside Rg3[J]. Chinese Clinical Oncology, 2004, 9(3): 225-228
- [19] 张会来, 王华庆, 姚智, 等. 人参皂甙 Rg3 促进同系小鼠外周血干细胞移植后免疫恢复研究[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2005, 25(5): 431-434
Zhang Hui-lai, Wang Hua-qing, Yao Zhi, et al. Study on effect of ginsenoside Rg3 on immunological recovery after peripheral blood stem cell transplantation in animal experiments[J]. Chinese Journal of Radiological Medicine and Protection, 2005, 25(5): 431-434
- [20] 李伟, 张红, 殷松楼, 等. 不同剂量链脲佐菌素诱导 SD 大鼠糖尿病肾病模型的研究[J]. 徐州医学院学报, 2006, 26(1): 52-55
Li Wei, Zhang Hong, Yin Song-lou, et al. Optimal dosage of streptozotocin for inducing diabetic nephropathy in model rats [J]. ACTA Academiae Xuzhou, 2006, 26(1): 52-55
- [21] 张丽娜, 尤冠巧, 陶琳. 人参皂甙 Rg1 对糖尿病肾病大鼠 MMP-9 表达的影响[J]. 求医问药, 2012, 10(9): 447-449
Zhang Li-na, You Guan-qiao, Tao Lin. Effect of ginsenoside Rg1 on the expression of MMP-9 in rats with diabetic nephropathy [J]. Seek Medical And Ask The Medicine, 2012, 10(9): 447-449

(上接第 7036 页)

- [14] Kolz M, Johnson T, Sanna S, et al. Meta-analysis of 28 141 individuals identifies common variants within five new loci that influence uric acid concentrations[J]. PLoS Genet, 2009, 5(6): e1000504
- [15] Vitart V, Rudan I, Hayward C, et al. SLC2A9 is a newly identified urate transporter influencing serum urate concentration, urate excretion and gout[J]. Nat Genet, 2008, 40(4): 437-442
- [16] Urano W, Taniguchi A, Inoue E, et al. Effect of genetic polymorphisms on development of gout[J]. J Rheumatol, 2013, 40(8): 1374-1378
- [17] Doring A, Gieger C, Mehta D, et al. SLC2A9 influences uric acid concentration with pronounced sex-specific effect[J]. Nat Genet, 2008, 40: 430-436
- [18] Hollis-Moffatt JE, Gow PJ, Harrison AA, et al. The SLC2A9 nonsynonymous Hisvariant and gout; evidence for a population-specific effect on severity[J]. Arthritis Res Ther, 2011, 13(3): R85
- [19] Angelo L Gaffo, N Lawrence Edwards, Kenneth G Saag. Gout. Hyperuricemia and cardiovascular disease: how strong is the evidence for a causal link[J]. Arthritis Res Ther, 2009, 11(4): 240-240
- [20] Becker MA, MacDonald PA, Hunt BJ, et al. Diabetes and gout: efficacy and safety of febuxostat and allopurinol [J]. Diabetes Obes Metab, 2013, 15(11): 1049-1055
- [21] Dalbeth N, Merriman T. Crystal ball gazing: new therapeutic targets for hyperuricaemia and gout[J]. Rheumatology(Oxford), 2009, 48(3): 222-226