

引文格式:白梦天,康刚劲,徐曼华,李茂娇,彭正红,吴剑,等. 生姜提取物对链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠晶状体的保护作用[J]. 眼科新进展,2018,38(5):425-429,433. doi:10.13389/j.cnki.rao.2018.0099

【实验研究】

生姜提取物对链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠晶状体的保护作用[△]

白梦天 康刚劲 徐曼华 李茂娇 彭正红 吴剑 李韵

作者简介:白梦天,男,1990年4月出生,四川绵阳人,博士研究生。研究方向:晶状体病。联系电话:15334391400;E-mail:308347673@qq.com;ORCID:0000-0002-4781-391X

About BAI Meng-Tian: Male, born in April, 1990. Medical doctor. Tel: 15334391400; E-mail: 308347673@qq.com; ORCID: 0000-0002-4781-391X

收稿日期:2017-09-10
修回日期:2018-02-01
本文编辑:申蓝

△基金项目:西南医科大学附属医院国际合作课题(编号:2011-43)

作者单位:646000 四川省泸州市,西南医科大学附属医院眼科(白梦天,康刚劲,徐曼华,李茂娇,彭正红,吴剑);621700 四川省江油市,江油市人民医院肿瘤科(李韵)

通讯作者:康刚劲, E-mail: 929460414@qq.com; ORCID:0000-0002-0705-9764

Received date: Sep 10, 2017
Accepted date: Feb 1, 2018

Foundation item: The International Cooperation Project of the Affiliated Hospital of Southwest Medical University (No:2011-43)

From the Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University (BAI Meng-Tian, KANG Gang-Jin, XU Man-Hua, LI Mao-Jiao, PENG Zheng-Hong, WU Jian), Luzhou 646000, Sichuan Province, China; Department of Oncology, Jiangyou People's Hospital (LI Yun), Jiangyou 621700, Sichuan Province, China

Responsible author: KANG Gang-Jin, E-mail: 29460414@qq.com; ORCID:0000-0002-0705-9764

Protective effects of zingiber officinalis extract on the lens of diabetic rats

BAI Meng-Tian, KANG Gang-Jin, XU Man-Hua, LI Mao-Jiao, PENG Zheng-Hong, WU Jian, LI Yun

[Abstract] Objective To observe the protective mechanisms of zingiber officinalis extract on the lens of diabetic rats induced by streptozotocin (STZ). **Methods** Totally 60 SD rats were randomly divided into A group (normal control rats), B group (diabetic rats), C1 group (DM + 50 mg · kg⁻¹ ginger gavage), C2 group (DM + 100 mg · kg⁻¹ ginger gavage) and C3 group (DM + 300 mg · kg⁻¹ ginger gavage). Each group had 12 rats. And rats in A group received intraperitoneal injection of the same volume of normal saline, while the other groups were intraperitoneally injected with 65 mg · kg⁻¹ streptozotocin (STZ). When the animal model was successfully established, both A group and B group were administered orally with normal saline, and the C1, C2 and C3 groups were administered orally with ginger rhizome extract. The changes in blood glucose and lens were observed every week. The rats were sacrificed in succession at 4 week, 8 week, 12 week, and the lens was removed immediately. The content of aldose reductase (AR) was detected by ELISA, and the expression of glycosylation end products (AGEs) was detected by Western blot. The superoxide dismutase (SOD) activity and malondialdehyde (MDA) content were also detected. Fluorescent TUNEL staining was used to detect the apoptosis of the lens epithelial cells. And finally, scanning electron microscopy was used to observe the ultrastructural changes in the lens. **Results** The activity of SOD in the lens of diabetic rats showed a decreasing trend with statistical significance (all *P* < 0.05). Changes in the content of MDA in the lens of rats in B, C1, C2 group were statistically significant in 4, 8 and 12 weeks after successful modeling (all *P* < 0.05), but no significant difference in A group and C3 group (both *P* > 0.05). The persistent increase of AR in group B (*P* = 0.003). The content of AR of the lens in C1, C2, C3 group showed a decreasing trend, and the differences were statistically significant (all *P* < 0.05). There were significant differences in the expression of AGEs in C1, C2 and C3 group (all *P* < 0.05). The degree of cortical fiber destruction in group B was progressively aggravated, but the degree of cortical destruction in C1, C2 and C3 group decreased with the increase of ginger gavage concentration through the scanning electron microscopy. It was observed that there was no significant difference in the apoptotic rate of LECs in A group (*P* = 0.191), but the apoptosis of LECs in the rest group showed a rising trend, and the differences were statistically significant (all *P* < 0.05). **Conclusion** The effects of ginger gavage extract can delay the opacification of lens and slow down the diabetic development in rats with a dose-independence manner. Ginger gavage extract may play a protective role on the lens of diabetic rats by inhibiting the activity of AR, oxidative stress and the production of AGEs as well as suppress the apoptosis of lens epithelial cells.

[Key words] lens epithelial cells; diabetic cataract; apoptosis; oxidative stress

【摘要】 目的 探讨生姜提取物对链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导的糖尿病大鼠晶状体的保护作用。**方法** 60只SD大鼠随机分为A组(正常对照组)、B组(糖尿病组)、C1组(糖尿病+生姜灌胃50 mg · kg⁻¹组)、C2组(糖尿病+生姜灌胃100 mg · kg⁻¹组)、C3组(糖尿病+生姜灌胃300 mg · kg⁻¹组),每组各12只。除A组腹腔注射等体积生理盐水外,其余各组均一次性腹腔注射STZ 65 mg · kg⁻¹。动物模型建立成功后,立即予以C1、C2、C3组大鼠生姜提取物灌胃,A、B组给予等量生理盐水灌胃。观察大鼠成模前与成模后4周、8周、12周时血糖、晶状体变化情况。成模后4周、8周、12周分批处死大鼠并立即取

出晶状体,ELISA 检测晶状体醛糖还原酶(aldehyde reductase,AR)含量;Western blot 检测糖基化终末产物(glycosylation end products,AGEs)的表达;超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)活性测定试剂盒检测 SOD 活性,丙二醛(malondialdehyde,MDA)含量测定试剂盒检测 MDA 含量;TUNEL 法检测晶状体上皮细胞(lens epithelial cells,LECs)凋亡率,扫描电镜观察晶状体超微结构变化。**结果** 糖尿病大鼠晶状体 SOD 活性呈下降趋势,差异均有统计学意义(均为 $P < 0.05$)。除 A、C3 组外,其余各组大鼠晶状体 MDA 含量变化在成模后 4 周、8 周、12 周时差异均有统计学意义($P = 0.003, 0.000, 0.017$)。B 组大鼠 AR 持续性增高($P = 0.003$)。C1、C2、C3 组大鼠晶状体 AR 含量呈下降趋势,差异均有统计学意义($P = 0.007, 0.000, 0.000$)。C1、C2、C3 组大鼠晶状体 AGEs 表达情况差异均有统计学意义(均为 $P < 0.05$)。扫描电镜发现,B 组大鼠晶状体皮质纤维破坏程度呈进行性加重,C1、C2、C3 组大鼠皮质破坏程度随灌胃浓度的增加而呈减轻趋势。A 组大鼠 LECs 凋亡率无明显差异性变化($P = 0.191$),其余大鼠 LECs 的凋亡呈现上升趋势,差异均有统计学意义(均为 $P < 0.05$)。**结论** 生姜提取物灌胃可延迟糖尿病大鼠晶状体混浊时间并减慢其进展速度,并有一定的浓度依赖性,这可能是通过抑制醛糖还原酶活性、氧化应激反应、AGEs 的产生以及晶状体上皮细胞凋亡等途径实现的。

【关键词】 晶状体上皮细胞;糖尿病性白内障;凋亡;氧化应激
【中图分类号】 R776.1

目前,全球约有 2.85 亿糖尿病患者,预计到 2030 年,其全球患病率将达到 7.7% (约 4.39 亿)^[1]。糖尿病性白内障作为糖尿病患者第二大眼部并发症,已经严重影响到患者生活质量。目前手术仍然是唯一有效的治疗方法,但此类患者在术中、术后可能存在更多问题。如术后感染、切口愈合延迟、眼表损伤进一步加重、术后角膜以及黄斑水肿等。因此,寻找有效的非手术方法来延缓糖尿病性白内障进展十分必要。目前,国内外学者正着力从细胞、蛋白、基因等层面开辟有效治疗糖尿病性白内障的非手术方法。生姜提取物具有抗癌、抗凝血、抗炎、止吐、镇痛等作用,其根茎中提取的单萜半萜类化合物与某些类黄酮物质互为同分异构体^[2-3]。本实验主要通过对链脲佐菌素(streptozotocin,STZ)诱导的糖尿病大鼠进行不同浓度的生姜提取物干预处理,明确生姜提取物是否对糖尿病大鼠晶状体具有保护作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF 级 SD 大鼠[许可证编号:SYXK(川)2013-065]60 只,雄性,体质量为 180 ~ 200 g,7 周龄,由西南医科大学医学动物中心提供,苦味酸标记,适应性喂养 7 d 后造模。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立 雄性 SPF 级 SD 大鼠 60 只,随机分为 A 组(正常对照组)、B 组(糖尿病组)、C1 组(糖尿病 + 生姜提取物灌胃 50 mg · kg⁻¹组)、C2 组(糖尿病 + 生姜提取物灌胃 100 mg · kg⁻¹组)、C3 组(糖尿病 + 生姜提取物灌胃 300 mg · kg⁻¹组),每组 12 只。B、C1、C2、C3 组大鼠腹腔注射 65 mg · kg⁻¹ STZ 建立糖尿病动物模型,A 组注射等体积的生理盐水。以 72 h 后空腹血糖 $> 16.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为成模标准,成模后给予大鼠相应浓度的生姜提取物灌胃,每天一次,A、B 组大鼠生理盐水灌胃,每天一次。每周观察大鼠血糖与晶状体变化情况,并于造模后 4 周、8 周、12 周分批处死大鼠并立即取出晶状体,ELISA 检测晶状体醛糖还原酶(aldehyde reductase,AR)含量;Western blot 检测糖基化终末产物(glyco-

sylation end products,AGEs)表达;超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)活性测定试剂盒检测 SOD 活性,丙二醛(malondialdehyde,MDA)含量测定试剂盒检测 MDA 含量;TUNEL 法检测晶状体上皮细胞(lens epithelial cells,LECs)凋亡率,扫描电镜观察晶状体超微结构变化。

1.2.2 大鼠晶状体混浊的分级标准 参考牛津大学眼科实验室分级标准^[4]:0 期,晶状体透明;I 期,轻度混浊,周边皮质出现少量囊泡,瞳孔区保持透明;II 期,中度混浊,囊泡增多,周边囊泡融合,少量扩展至瞳孔区皮质,晶状体核区出现轻度絮状混浊;III 期,高度混浊,瞳孔区皮质大量囊泡,核混浊区显著加重;IV 期,晶状体完全混浊。

1.2.3 晶状体上皮细胞荧光 TUNEL 染色 石蜡切片脱蜡、水化后,滴加蛋白酶 K 工作液 37 °C 作用 15 min,PBS 洗涤 3 次,每次 5 min;滴加破膜工作液,室温 10 min,PBS 洗涤 3 次,每次 5 min;将试剂 1(TdT)和试剂 2(dUTP)按体积比 1 : 9 充分混合,37 °C 水浴 60 min;PBS 清洗后加入 DAPI,暗室下常温 5 min,PBS 漂洗 3 次,每次 5 min,用含抗荧光淬灭封片剂的玻片封片,荧光显微镜下观察并拍照。

1.2.4 Western blot 检测晶状体 AGEs 表达 预冷 PBS 漂洗标本,剪碎组织,加入 10 倍组织蛋白提取试剂,冰浴 30 min,4 °C 12 000 r · min⁻¹ 离心 5 min,收集上清,即为总蛋白溶液。BCA 试剂盒测定待测样品中蛋白浓度后,依次行 SDS-PAGE 电泳、转膜、抗体孵育、发光检测。

1.2.5 SOD 活性与 MDA 含量测定 生理盐水反复冲洗晶状体并吸干水分。冰浴下制备组织匀浆后,4 °C 3 000 r · min⁻¹ 离心 10 min,取上清液,用生化测定法分别采用 SOD 和 MDA 试剂盒进行检测^[5]。

1.2.6 ELISA 法检测晶状体 AR 含量 按试剂盒使用说明进行操作。450 nm 处空白对照调零后测每孔吸光度(A)值。横坐标为标准品浓度,纵坐标为 A 值,将各标准品的坐标点连线,绘制成标准曲线,根据待测标本的 A 值在曲线上查找对应浓度,并乘以稀释倍数后得出相应浓度。

1.2.7 扫描电镜观察晶状体纤维形态变化 PBS反复清洗样本后,体积分数分别为30%、50%、70%、80%、90%的乙醇梯度脱水各15 min,无水乙醇脱水3次,每次15 min。叔丁醇置换3次,每次30 min。冷冻干燥仪干燥样品。用导电胶带将样品粘到样品台上。镀膜:用离子溅射仪给样品镀10 nm金膜后上机。

1.3 统计学分析 本实验数据均采用SPSS 17.0进行统计学分析,所有数据均符合正态分布,计量资料以均数±标准差表示,多组样本均数之间的比较采用单因素方差分析;各组内不同时间段样本均数的比较采用重复测量的方差分析;组间两两比较采用LSD法或独立样本*t*检验;组内两样本均数采用配对

*t*检验,等级资料用Kruskal-Wallis *H*秩和检验。*P* < 0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠空腹血糖水平 A组大鼠血糖无明显改变。B组大鼠血糖呈逐渐上升趋势,与A组相比差异有统计学意义(*P* = 0.000)。成模后4周、8周时,B组与C1、C2、C3组间血糖变化比较差异均无统计学意义(均为*P* > 0.05);成模后12周时,B组与C1、C2、C3组间血糖变化比较,差异有统计学意义(*P* = 0.018)。C1、C2、C3组大鼠空腹血糖呈缓慢下降趋势,该变化在C3组中差异有统计学意义(*P* = 0.029);见表1。

表1 不同实验时期各组大鼠空腹血糖变化情况

组别	空腹血糖/mmol · L ⁻¹			<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
	4 周	8 周	12 周		
A 组	6.67 ± 1.22	6.61 ± 1.19	6.70 ± 0.97	4.740	0.091
B 组	23.52 ± 3.83	25.46 ± 3.66	27.61 ± 3.42	24.194	0.000
C1 组	24.91 ± 4.42	25.25 ± 2.48	22.41 ± 3.53	0.688	0.530
C2 组	23.89 ± 4.15	23.07 ± 2.63	22.12 ± 4.16	1.327	0.318
C3 组	25.07 ± 3.99	23.07 ± 3.35	19.11 ± 2.18	14.229	0.029

2.2 大鼠晶状体混浊变化 A组大鼠晶状体始终透明。成模后4周时,B组大鼠晶状体混浊情况同C1、C2、C3组比较差异均有统计学意义(均为*P* < 0.05);C1组同C2、C3组晶状体混浊改变比较差异

均有统计学意义(均为*P* < 0.05)。成模后8周时,B组与C2、C3组,C1组与C3组,C2组与C3组的晶状体混浊情况比较差异均有统计学意义(均为*P* < 0.05);见表2。

表2 各时间段各组晶状体混浊情况

组别	4 周					8 周					12 周				
	0	I	II	III	IV	0	I	II	III	IV	0	I	II	III	IV
A 组	12	0	0	0	0	8	0	0	0	0	4	0	0	0	0
B 组	7	5	0	0	0	1	4	3	0	0	0	0	1	1	2
C1 组	9	3	0	0	0	3	5	0	0	0	0	0	3	1	0
C2 组	12	0	0	0	0	4	4	0	0	0	0	1	1	2	0
C3 组	12	0	0	0	0	7	1	0	0	0	1	3	0	0	0

2.3 大鼠晶状体 SOD 活性、MDA 含量变化 成模后4周、8周、12周时,糖尿病大鼠晶状体SOD活性呈下降趋势,差异均有统计学意义(均为*P* < 0.05);且不同时期,C1、C2、C3组大鼠晶状体SOD活性差异均有统计学意义(均为*P* < 0.05)。B、C1组随时间变化MDA含量呈明显上升趋势(均为*P* < 0.05)。成模后4周时,仅B、C3组MDA含量变化差异有统计学意义(*P* = 0.019)。成模后8周时,各组MDA含量差异均有统计学意义(*P* = 0.000);除C1、C2组外,各组间MDA含量比较差异均有统计学意义(均

为*P* < 0.05)。成模后12周时,除C2、C3组外,各组间MDA含量比较差异均有统计学意义(均为*P* < 0.05);见表3-表4。

2.4 大鼠晶状体 AR 含量变化 B组大鼠AR持续性增高(*P* = 0.003)。C1、C2、C3组大鼠晶状体AR含量呈下降趋势,差异均有统计学意义(*P* = 0.007、0.000、0.000),但仍显著高于A组。B、C1、C2组大鼠成模后8周与12周的晶状体AR含量变化差异均有统计学意义(均为*P* < 0.05),而C3组的AR含量变化差异则无统计学意义(*P* = 0.473)。见表5。

表3 各组大鼠晶状体 SOD 活性变化情况

组别	SOD 活性/U · mg ⁻¹			<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
	4 周	8 周	12 周		
A 组	39.51 ± 2.34	39.23 ± 1.81	39.26 ± 2.09	0.432	0.547
B 组	11.22 ± 1.54	9.97 ± 1.48	6.11 ± 1.11	52.612	0.001
C1 组	15.22 ± 1.41	12.82 ± 0.95	8.71 ± 0.83	18.403	0.004
C2 组	16.11 ± 0.99	13.97 ± 0.48	10.78 ± 1.07	19.418	0.003
C3 组	15.37 ± 1.37	15.26 ± 1.22	12.48 ± 0.43	12.217	0.025

表 4 各组大鼠晶状体 MDA 含量变化情况

组别	MDA 含量/ $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$			<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
	4 周	8 周	12 周		
A 组	0.72 ± 0.07	0.68 ± 0.04	0.71 ± 0.02	0.228	0.658
B 组	1.68 ± 0.06	1.91 ± 0.06	2.16 ± 0.08	44.438	0.003
C1 组	1.62 ± 0.05	1.77 ± 0.05	1.97 ± 0.06	30.993	0.000
C2 组	1.64 ± 0.07	1.72 ± 0.05	1.74 ± 0.03	7.073	0.017
C3 组	1.61 ± 0.06	1.62 ± 0.05	1.67 ± 0.03	2.165	0.215

表 5 各组大鼠晶状体 AR 含量变化情况

组别	AR 含量/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$			<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
	4 周	8 周	12 周		
A 组	35.58 ± 3.48	36.66 ± 1.22	36.45 ± 1.21	0.912	0.440
B 组	241.21 ± 6.64	260.36 ± 2.95	267.71 ± 7.31	23.746	0.005
C1 组	154.01 ± 5.31	116.36 ± 2.74	88.02 ± 2.01	49.172	0.003
C2 组	106.13 ± 2.13	83.68 ± 1.81	76.85 ± 1.74	46.923	0.004
C3 组	87.62 ± 1.82	66.77 ± 1.28	65.76 ± 1.65	20.183	0.005

2.5 大鼠晶状体 AGEs 表达变化 A 组大鼠晶状体 AGEs 表达含量同各组比较为最低,差异均有统计学意义(均为 $P < 0.05$)。B 组大鼠晶状体 AGEs 表达含量同各组比较为最高,差异均有统计学意义(均为 $P < 0.05$)。成模后 4 周、8 周、12 周时,C1、C2、C3 组大鼠晶状体 AGEs 表达情况差异均有统计学意义(均为 $P < 0.05$;见图 1)。

2.6 大鼠晶状体超微结构的变化 A 组大鼠晶状体浅层皮质区纤维排列整齐,纤维粗细均匀,指状突起沿长轴规则排列(图 2A);皮质深层纤维致密,呈索状外观(图 2B)。B 组大鼠成模后 4 周时浅层皮质区晶状体部分纤维完全断裂,明显水肿,指状突起

混乱,形态不规则(图 2C);12 周时可见大鼠晶状体皮质区纤维排列杂乱无章,结构难以辨认(图 2D)。C1 组大鼠成模后 4 周时皮质区晶状体纤维紊乱,指状突起数量减少,部分纤维撕脱、断裂(图 2E);12 周时浅皮质区纤维卷曲、断裂,指状凸起错乱,部分纤维肿胀(图 2F)。C2 组成模后 8 周时浅皮质区晶状体纤维表面稍粗糙,部分纤维缺失,指状突起基本沿晶状体长轴排列(图 2G);12 周时纤维粗细不均,部分纤维断裂、脱失(图 2H)。C3 组大鼠成模后 4 周时可见纤维基本规则,少量缺失,指状突起形态较规则(图 2I);12 周时可见部分纤维轻度肿胀,指状突起清晰可见(图 2J)。

图 1 各组大鼠晶状体 AGEs 蛋白条带及灰度比值情况。A:4 周;B:8 周;C:12 周

图 2 各组大鼠晶状体纤维超微结构变化情况(SEM, ×2500)。A:A 组 4 周;B:A 组 12 周;C:B 组 4 周;D:B 组 12 周;E:C1 组 4 周;F:C1 组 12 周;G:C2 组 8 周;H:C2 组 12 周;I:C3 组 4 周;J:C3 组 12 周

2.7 大鼠 LECs 凋亡情况 A 组大鼠 LECs 凋亡率随时间变化差异无统计学意义($P=0.191$)。其余大鼠 LECs 的凋亡率呈现上升趋势,差异均有统计学意

义(均为 $P<0.05$)。整个实验期间,B、C1、C2、C3 组大鼠 LECs 凋亡率差异均有统计学意义(均为 $P<0.05$;见表6)。

表6 各组大鼠 LECs 凋亡率

组别	LECs 凋亡率/%			F 值	P 值
	4 周	8 周	12 周		
A 组	2.52±0.80	3.03±0.93	2.96±0.80	0.965	0.417
B 组	51.4±2.16	54.4±3.97	60.1±3.76	11.933	0.008
C1 组	29.3±1.56	34.02±2.07	39.33±1.37	34.223	0.001
C2 组	19.37±0.90	22.3±0.97	23.56±1.31	18.162	0.003
C3 组	8.76±0.88	9.83±0.31	12.91±0.59	59.311	0.000

3 讨论

Ojewole^[6]予以 STZ 诱导的 1 型糖尿病大鼠口服生姜提取物,降血糖效应为 24%~53%。Rani 等^[7]发现,生姜可促进葡萄糖的摄取以及刺激葡萄糖转运蛋白-4 的表达,抑制蛋白糖基化。Shanmugam 等^[8]给予正常和糖尿病大鼠生姜灌胃 30 d 后发现,糖尿病大鼠血糖显著下降,而正常组大鼠血糖无明显改变。本实验发现,随病情进展,高浓度生姜灌胃组(C3 组)大鼠空腹血糖下降程度较为显著,降血糖幅度最大,约 24%。与上述研究结果相似。生姜提取物可降低五羟色胺受体敏感性,提示其降低血糖机制可能与此有关。长期口服生姜提取物的糖尿病大鼠的血浆葡萄糖水平曲线更低,但胰岛素曲线明显上升^[9]。生姜提取物可影响五羟色胺受体通道系统,抑制 Na⁺、K⁺、Ca⁺ 通道开放,减少细胞膜去极化,从而降低胰岛素释放阈值、增加骨骼肌组织对葡萄糖的摄取^[10]。

Lupachyk 等^[11]发现糖尿病性白内障晶状体前囊膜细胞凋亡比例为 5%~40%,正常晶状体前囊膜几乎无细胞凋亡产生。本实验发现,B 组 LECs 凋亡率可达 64%。我们早期研究发现,糖尿病大鼠 LECs 凋亡率均可持续性上升,与晶状体混浊程度呈正相关^[12]。血糖浓度超过阈值,己糖激酶活性饱和,葡萄糖进入山梨醇途径,造成晶状体渗透压的改变,而引起白内障^[13-15]。山梨醇以微摩尔级的浓度存在,但足以影响糖尿病患者晶状体渗透压^[16]。研究表明,AR 在糖尿病大鼠晶状体中含量持续性升高,其混浊程度与 AR 含量呈负相关。本实验发现,经不同浓度的生姜灌胃后大鼠晶状体 AR 含量缓慢下降,而以 C3 组下降最为明显^[17-18]。

本实验中糖尿病大鼠 SOD 活性呈持续性降低趋势,而 MDA 含量则随时间推移而表现为持续性上升,此趋势在一定程度上表明了其发生发展与氧化损伤的关系。不同浓度的生姜提取物灌胃后,SOD 活性随浓度增加而增高,MDA 含量随浓度增加而降低,表明脂质过氧化反应在一定程度上被抑制。Franke 等^[19]发现人 LECs 有表达 AGE 受体的 mRNA 大量存在,提示 AGEs 可能可以诱导内皮细胞与纤维

化相关基因和蛋白质。本实验发现,A 组大鼠晶状体 AGEs 表达含量较低,B 组大鼠 AGEs 含量最高。随着灌胃浓度的增加,晶状体 AGEs 表达情况呈缓慢下降趋势,且晶状体混浊程度呈下降趋势。本实验发现生姜提取物对糖尿病大鼠晶状体存在一定保护作用,具体机制有待进一步研究。生姜提取物作为一种混合物,如能进一步明确其药效动力学、药代动力学、组织毒力、最佳浓度、最佳剂型、最佳药物配比等方面性质,则有望给糖尿病性白内障患者的药物治疗提供新的思路。

参考文献

[1] POLLREISZ A,SCHMIDT-ERFURTH U. Diabetic cataract pathogenesis,epidemiology and treatment [J]. *J Ophthalmol*, 2010,2010:608751.

[2] TZENG TF,LIU SS,TZENG YC,LIU IM. Zerumbone, a phytochemical of subtropical ginger, protects against hyperglycemia-induced retinal damage in experimental diabetic rats [J]. *Nutrients*, 2016,8(8):449.

[3] SARASWAT M,SURYANARAYANA P,REDDY PY,PATIL MA,BALAKRISHNA N,REDDY GB. Antiglycating potential of Zingiber officinalis and delay of diabetic cataract in rats [J]. *Mol Vis*, 2010,16:1525-1537.

[4] AO S,KIKUCHI C,ONO T,NOTSU Y. Effect of instillation of aldose reductase inhibitor FR74366 on diabetic cataract [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1991,32(12):3078-3083.

[5] YANG CX,YAN H,LIU Q, GUO Y. Inhibitive effect of saturated hydrogen saline on sodium selenite induced cataract in rats [J]. *Rec Adv Ophthalmol*, 2013,33(4):305-308.

杨春潇,严宏,刘擎,郭勇. 氢饱和生理盐水对大鼠亚硒酸钠性白内障的抑制作用 [J]. 眼科新进展, 2013,33(4):305-308.

[6] OJEWOLE JA. Analgesic antiinflammatory and hypoglycaemic effects of ethanol extract of Zingiber officinale (Roscoe) rhizomes (Zingiberaceae) in mice and rats [J]. *Phytother Res*, 2006,20(9):764-772.

[7] RANI MP,KRISHNA MS,PADMAKUMARI KP,RAGHU KG,SUNDARESAN A. Zingiber officinale extract exhibits antidiabetic potential via modulating glucose uptake, protein glycation and inhibiting adipocyte differentiation; an *in vitro* study [J]. *J Sci Food Agric*, 2012,92(9):1948-1955.

[8] SHANMUGAM KR,MALLIKARJUNA K,NISHANTH K,KUO CH,REDDY KS. Protective effect of dietary ginger on antioxidant enzymes and oxidative damage in experimental diabetic rat tissues [J]. *Food Chem*, 2011,124(4):1436-1442.

[9] AKHANI SP,VISHWAKARMA SL,GOYAL RK. Anti-diabetic activity of Zingiber officinale in streptozotocin-induced type I diabetic rats [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2004,56(1):101-105.

[10] HEIMES K,FEISTEL B,VERSPOHL EJ. Impact of the 5-HT3 receptor channel system for insulin secretion and interaction of ginger extracts [J]. *Eur J Pharmacol*, 2009,624(1-3):58-65.

复发率及存活率等存在相关性^[11]。本研究检测到PN在眼睑BCC来源的BCAFs细胞培养上清中的表达量明显增高,此时BCAFs并未受到肿瘤组织侵袭、周围基质破坏的影响,证明了PN本身是一种分泌性蛋白,在肿瘤组织中通过间质细胞分泌到细胞外,进入到局部组织间液及全身血液,构成特殊的肿瘤微环境,补充了Tilman等^[12]认为在肿瘤侵袭、浸润过程中,肿瘤细胞不断破坏周围基质而导致PN释放至血液循环的说法。目前研究表明,在肿瘤发生发展过程中,组织或血液中的PN高表达,及其表达量增高的程度与肿瘤的进展、分期及预后密切相关,尤其表现在恶性程度与淋巴及远处转移。本实验研究对象为眼睑BCC,其特点是局部侵袭破坏性强,恶性程度、转移率、复发率均低,病例均为原发无转移肿瘤,本研究结果显示BCAFs表达分泌PN较BFs高,与胰腺导管癌^[13]、结肠癌^[14]等恶性度高、转移性强的肿瘤间质检测结果一致。因为本实验和其他肿瘤的研究检测结果都是与各自肿瘤组织的相对正常组织比较的,而缺乏这两类肿瘤间质中PN表达情况的比较,这只能说明PN在眼睑BCC的局部侵袭生长中起着一定作用,参与了肿瘤微环境的变化,而PN与眼睑BCC的进展转移之间的关系还需进一步探讨。参与调控肿瘤微环境的机制复杂,可能存在包括PN的多种分泌蛋白及细胞因子,使眼睑BCC表现出主要在局部侵袭破坏的特点,那么对眼睑BCC微环境中CAF的分泌蛋白或细胞因子表达及其相互调控关系的研究,是今后需要进一步研究的内容。

参考文献

[1] LI FM, XIE LX. Chinese ophthalmology [M]. 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2014: 916-918.
李凤鸣, 谢立信. 中华眼科学 [M]. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 916-918.

[2] SCHMITT-GRAFF A, DESMOULIERE A, GABBIANI G. Heterogeneity of myofibroblast phenotypic features: an example of fibroblastic cell plasticity [J]. *Virchows Arch*, 1994, 425 (1): 3-24.

[11] LUPACHYK S, STAVNIICHUK R, KOMISSARENKO JI, DREL VR, OBROSOV AA, EI-REMESS AB, et al. Na⁺/H⁺-exchanger-1 inhibition counteracts diabetic cataract formation and retinal oxidative-nitrate stress and apoptosis [J]. *Int J Mol Med*, 2012, 29 (6): 989-998.

[12] LIU J, KANG GJ, KANG HJ, BAI MT, JIANG Y, HAN Q. Quercetin on apoptosis of lens epithelial cells in diabetic rats [J]. *J Luzhou Med Coll*, 2016, 39 (6): 560-565.
刘鹃, 康刚劲, 康海军, 白梦天, 蒋燕, 韩茜. 槲皮素对糖尿病大鼠晶状体上皮细胞凋亡的影响 [J]. 泸州医学院学报, 2016, 39 (6): 560-565.

[13] WU J, LI X, WAN WC, YANG QH, MA WF, CHEN D, et al. Gigantol from *Dendrobium chrysotoxum* Lindl. binds and inhibits aldose reductase gene to exert its anti-cataract activity: An *in vitro* mechanistic study [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 198: 255-261.

[14] SANKESHI V, KUMAR PA, NAIK RR, SRIDHAR G, KUMAR MP, GOPAL VV, et al. Inhibition of aldose reductase by Aegle marmelos and its protective role in diabetic cataract [J].

[3] SOLTERMANN A, OSSOLA R, KILGUS-HAWELSHI S, VON ECKARDSTEIN A, SUTER T, AEBERSOLD R, et al. N-glycoprotein profiling of lung adenocarcinoma pleural effusions by shotgun proteomics [J]. *Cancer*, 2008, 114 (2): 124-133.

[4] CONWAY SJ, IZUHARA K, KUDO Y, LITVIN J, MARKWALD R, OUYANG G, et al. The role of periostin in tissue remodeling across health and disease [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2014, 71 (7): 1279-1288.

[5] ZHAO ZF, WANG N, WANG DQ, LAN CJ. Differences in cellular morphology and proliferation of eyelid basal cell carcinoma associated fibroblasts and normal fibroblasts [J]. *Rec Adv Ophthalmol*, 2016, 36 (4): 327-330.
赵佐芳, 王宁, 王大庆, 兰长骏. 眼睑基底细胞癌相关成纤维细胞与正常成纤维细胞形态与生长增殖特性差异 [J]. 眼科新进展, 2016, 36 (4): 327-330.

[6] NORRIS RA, DAMON B, MIRONOV V, KASYANOV V, RAMAMURTHI A, MORENO-RODRIGUEZ R, et al. Periostin regulates collagen fibrillogenesis and the biomechanical properties of connective tissues [J]. *J Cell Biochem*, 2007, 101 (3): 695-711.

[7] MA D, LU H, XU L, XU X, XIAO W. Mechanical loading promotes Lewis lung cancer cell growth through periostin [J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2009, 45 (8): 467-472.

[8] OUYANG GL, LIU M, RUAN K, SONG G, MAO Y, BAO S. Up-regulated expression of periostin by hypoxia in non-small-cell lung cancer cells promotes cell survival via the Akt/PKB pathway [J]. *Cancer Lett*, 2009, 281 (2): 213-219.

[9] BAO S, OUYANG G, BAI X, HUANG Z, MA C, LIU M, et al. Periostin potently promotes metastatic growth of colon cancer by augmenting cell survival via the Akt/PKB pathway [J]. *Cancer Cell*, 2004, 5 (4): 329-339.

[10] MORRA L, MOCH H. Periostin expression and epithelial-mesenchymal transition in cancer: a review and an update [J]. *Virchows Arch*, 2011, 459 (5): 465-475.

[11] ZHAO ZF, LIU Y, WANG DQ. Advances in the role of periostin in tumor [J]. *Chongqing Med J*, 2016, 45 (32): 4581-4584.
赵佐芳, 刘英, 王大庆. 骨膜蛋白在肿瘤中的作用研究进展 [J]. 重庆医学, 2016, 45 (32): 4581-4584.

[12] TILMAN G, MATTIUSI M, BRASSEUR F, Van BAREN N, DECOTTIGNIES A. Human periostin gene expression in normal tissues, tumors and melanoma: evidences for periostin production by both stromal and melanoma cells [J]. *Mol Cancer*, 2007, 6: 80.

[13] ERKAN M, KLEEFF J, GORBACHEVSKI A, REISER C, MITKUS T, ESPOSITO I, et al. Periostin creates a tumor-supportive microenvironment in the pancreas by sustaining fibrogenic stellate cell activity [J]. *Gastroenterology*, 2007, 132 (4): 1447-1464.

[14] KIKUCHI Y, KUNITA A, IWATA C, KOMURA D, NISHIYAMA T, SHIMAZU K, et al. The niche component periostin is produced by cancer-associated fibroblasts, supporting growth of gastric cancer through ERK activation [J]. *Am J Pathol*, 2014, 184 (3): 859-870.

[15] LI X, LIU WP, HUANG XD, XIONG JP, WEI XY. Interaction of AR and iNOS in lens epithelial cell: A new pathogenesis and potential therapeutic targets of diabetic cataract [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2017, 615: 44-52.

[16] HEGDE KR, HENEIN MG, VARMA SD. Establishment of mouse as an animal model for study of diabetic cataracts: biochemical studies [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2003, 5 (2): 113-119.

[17] THIRAPATHTHANAVONG P, WATTANATHORN J, MUCHIMAPURA S, THUKHAM-MEE W, LERTRAT K, SURIHARN B. The combined extract of purple waxy corn and ginger prevents cataractogenesis and retinopathy in streptozotocin-diabetic rats [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014: 789406.

[18] CHIEN TY, CHEN LG, LEE CJ, LEE FY, WANG CC. Anti-inflammatory constituents of *Zingiber zerumbet* [J]. *Food Chem*, 2008, 110 (3): 584-589.

[19] FRANKE S, DAWCZYNSKI J, STROBEL J, NIWA T, STAHL P, STEIN G. Increased levels of advanced glycation end products in human cataractous lenses [J]. *J Cataract Refract Surg*, 2003, 29 (5): 998-1004.

(上接第429页)