

## • 临床研究 •

## 盐酸小檗碱对糖尿病患者血糖、胃肠激素及肠道菌群的影响

厦门大学附属福州第二医院内分泌科 (福州 350007) 熊红萍 徐 静 周 强 吴琦淇<sup>1</sup> 甘国翔<sup>2</sup> 陈忠山<sup>2</sup>

**【摘 要】 目的** 探讨盐酸小檗碱对 2 型糖尿病患者胃泌素、胰高血糖素及肠道菌群的影响。**方法** 选择我院单用胰岛素治疗的 2 型糖尿病患者 25 例为治疗组, 选取同期体检中心体检健康人群 10 例为对照组。治疗组根据血糖情况调整胰岛素剂量, 同时给予盐酸小檗碱每次 500 mg, tid, 连续 12 周。分别于 0、4、8、12 周检测血糖、胃泌素、胰高血糖素, 于 0、12 周采集清晨空腹粪便进行粪便菌群培养。**结果** 治疗组治疗前后胃泌素水平均明显高于对照组 ( $P < 0.01$ ); 治疗组治疗后胃泌素水平高于 0 周水平 ( $P < 0.01$ )。治疗组治疗前后胰高血糖素明显高于对照组 ( $P < 0.01$ ), 治疗前后差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。治疗组治疗前厚壁菌门高于治疗后及对照组水平 ( $P < 0.05$ ); 治疗组治疗前乳酸杆菌属、拟杆菌属明显低于治疗后水平 ( $P < 0.05$ ); 治疗组治疗前拟杆菌属、柔嫩梭菌属低于对照组水平 ( $P < 0.05$ )。**结论** 2 型糖尿病患者存在胃肠激素及肠道菌群失调, 盐酸小檗碱有助于改善糖尿病患者胃肠激素、肠道菌群失调现象。

**【关键词】** 糖尿病; 胃泌素; 胰高血糖素; 肠道菌群

**【中图分类号】** R587.1 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2019)01-0006-04

## Effect of berberine on blood glucose, gastrointestinal hormones and intestinal flora of diabetic patients

XIONG Hongping, XU Jing, ZHOU Qiang, WU Qiqi, GAN Guoxiang, CHEN Zhongshan. Department of Endocrinology, the Affiliated Fuzhou Municipal Second Hospital, Xiamen University, Fuzhou, Fujian 350007, China

**【Abstract】 Objective** To explore the effect of berberine on gastrin (GAS), glucagon (GLC) and intestinal flora of type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods** The T2DM patients with insulin were taken as the treatment group, while other ten healthy people were taken as the control group. The T2DM patients received adjustive insulin dose treatments according to the blood glucose condition with berberine (500 mg, tid) for twelve weeks. The level of their blood glucose, GAS, GLC were tested at 0, 4, 8, 12 week respectively. In addition, the faeces were collected to breed fecal flora at 0, 12 week. **Results** The GAS of treatment group was significantly higher than that of the control group ( $P < 0.01$ ), which was higher than that in 0 week ( $P < 0.01$ ). After treatment, the glucagon of treatment group was significantly higher than that of the control group ( $P < 0.01$ ). The firmicutes of treatment group declined ( $P < 0.05$ ), while the lactobacillus and bacteroides increased ( $P < 0.05$ ). The bacteroides and clostridium leptum of treatment group were lower than those of the control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The T2DM patients have gastrointestinal hormones and intestinal flora disorders, berberine has an effect on them.

**【Key words】** diabetes mellitus; gastrin; glucagon; enterobacteria

小檗碱是从中药黄连中分离出的一种异喹啉生物碱, 在传统中医药中被长期用于治疗由细菌感染引起的胃肠道疾病。近年来大量的研究显示小檗碱能提高胰岛素受体表达, 促进胰岛素的释放和分泌, 增加肝细胞对葡萄糖的消耗等, 具有良好的降糖作用, 且其副作用小。本文通过胰岛素联合小檗碱对  $\beta$  细胞功能较差的 2 型糖尿病患者进行为期 12 周临床治疗, 从肠道内分泌角度探讨小檗碱对糖尿病患者胃泌素、胰高血糖素及肠道菌群的影响。

## 1 资料与方法

## 1.1 一般资料: 选择 2017 年 1—10 月就诊于我院

内分泌门诊及住院病区单用胰岛素治疗 2 型糖尿病患者 25 例, 其中男 12 例, 女 13 例, 平均年龄 ( $60.6 \pm 6.7$ ) 岁, 平均 BMI ( $25.6 \pm 3.9$ ) kg/m<sup>2</sup>, 平均腹围 ( $94.8 \pm 10.0$ ) cm, 平均病程 ( $10.9 \pm 4.7$ ) 年。选取体检中心体检人群 10 例为健康对照组, 其中男 5 例, 女 5 例, 平均年龄 ( $48.5 \pm 12.4$ ) 岁, 平均 BMI ( $24.7 \pm 6.0$ ) kg/m<sup>2</sup>, 平均腹围 ( $87.1 \pm 17.0$ ) cm。两组性别、年龄等一般资料比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 具有可比性。入选标准: 符合糖尿病患者符合 2013 版中国 2 型糖尿病防治指南<sup>[1]</sup>, 且谷氨酸脱羧酶抗体

基金项目: 福州市卫生计生系统科技计划项目 (2015-S-wt2); 福建省中青年骨干科技计划项目 (2015-ZQN-JC-37)

1 厦门大学; 2 福建中医药大学

(GADAb)、胰岛细胞自身抗体 (ICA) 均为阴性, 近 4 周末服用小檗碱、抗生素、微生态活菌制剂及乳果糖等药物, 入选患者依从性较好, 签署知情同意书, 能配合各项检查; 健康对照组人群经口服葡萄糖耐量试验 (OGTT) 证实血糖正常, 同意参加本实验, 签署知情同意书的健康体检者, 年龄  $\geq 20$  岁。排除标准: 1) 严重感染; 2) 严重肝肾疾患及心功能不全; 3) 1 型糖尿病及口服降糖药治疗的 2 型糖尿病患者; 4) 胃肠、胰腺疾病及胃肠手术史; 5) 酮症酸中毒及高渗性昏迷; 6) 甲状腺功能异常; 7) 孕妇及哺乳期妇女。

**1.2 方法:** 治疗组根据血糖情况调整胰岛素剂量, 同时给予盐酸小檗碱 (东北制药集团沈阳第一制药有限公司, 国药准字 H21022453) 每次 500 mg, tid, 连续 12 周。治疗组分别于 0、4、8、12 周清晨空腹分别采集静脉血标本, 测定血浆葡萄糖浓度、胃泌素、胰高血糖素, 于 75 g 口服葡萄糖耐量实验后 1 h 测定餐后 1 h 血糖。于 0、12 周嘱受试者将清晨空腹粪便排泄到粪便采集盒上, 用无菌采集勺取排泄出来的中后段粪便 1 g 于含有保存液的 TinyGene 粪便 DNA 保存管 (产品编号: CJ-01KA) 中, 通过上下震荡摇晃, 使样品完全浸入

保存液中, 拧紧管盖, 将保存管放到  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱进行冷冻存储。在采集完成后 10 d 内将采集到的所有样品送检至由维基生物科技 (上海) 有限公司采用 Realtime PCR 技术进行测定。通过荧光定量的方法对 16 S 基因进行定量。所用引物分别为 515 F/926 R。qPCR 反应在专用的 PCR 八连管 (Axygen, USA) 中进行,  $25\ \mu\text{L}$  体系。所有样品做 3 个重复, 使用 Takara 的 SRBR Premix Ex Taq™ 试剂盒。对照组只进行 0 周的静脉采血及粪便菌群培养。糖尿病组服药期间每周进行电话随访, 记录服药后情况及是否有不良反应。服药期间维持原生活习惯及饮食习惯。

**1.3 统计学分析:** 采用 SPSS 21.0 统计软件进行分析。计量资料以均数  $\pm$  标准差表示, 正态分布采用方差分析及  $t$  检验, 非正态分布采用非参数检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 血糖:** 治疗前两组空腹血糖 (FPG) 及餐后 1 h 血糖 (P1hBG) 比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 治疗组治疗后 4、8、12 周 FPG、P1hBG 比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 1。

表 1 治疗前后血糖变化 (mmol/L,  $\bar{x} \pm s$ )

项目	治疗组				对照组
	0 周	4 周	8 周	12 周	0 周
空腹血糖	10.15 $\pm$ 3.80 *	8.30 $\pm$ 3.82	8.44 $\pm$ 4.88	8.72 $\pm$ 4.24	5.53 $\pm$ 0.51
P1hBG	19.80 $\pm$ 5.16 *	16.45 $\pm$ 7.44	15.80 $\pm$ 8.18	16.34 $\pm$ 7.62	10.58 $\pm$ 1.69

注: 与对照组比较, \*  $P < 0.05$ 。

**2.2 胃泌素、胰高血糖素:** 治疗组治疗后与 0 周比较, 胃泌素水平升高 ( $P < 0.01$ ); 治疗组治疗前后胃泌素水平均明显高于对照组 ( $P < 0.01$ );

治疗组治疗前后胰高血糖素均明显高于对照组 ( $P < 0.01$ ), 治疗前后差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 2。

表 2 治疗前后胃泌素、胰高血糖素的变化 (mmol/L,  $\bar{x} \pm s$ )

项目	治疗组				对照组
	0 周	4 周	8 周	12 周	0 周
胃泌素	40.37 $\pm$ 19.65 *	44.94 $\pm$ 18.84 *	46.83 $\pm$ 17.91 *	52.82 $\pm$ 16.13 *	18.41 $\pm$ 3.33
胰高血糖素	173.78 $\pm$ 71.62 *	169.27 $\pm$ 78.0 *	160.07 $\pm$ 98.80 *	148.11 $\pm$ 70.05 *	146.11 $\pm$ 25.08

注: 与对照组比较, \*  $P < 0.01$ 。

**2.3 肠道菌群:** 治疗组治疗前厚壁菌门高于治疗后及对照组 ( $P < 0.05$ ); 治疗组治疗前乳酸杆菌属、拟杆菌属明显低于治疗后 ( $P < 0.05$ ); 治疗

组治疗前拟杆菌属、柔嫩梭菌属低于对照组 ( $P < 0.05$ )。治疗组治疗后大肠杆菌属明显高于对照组 ( $P < 0.01$ )。见表 3。

表 3 治疗前后肠道菌群的变化 (cp/μL,  $\bar{x} \pm s$ )

项目	治疗组		对照组
	0 周	12 周	0 周
大肠杆菌属	7.02E+06±1.35E+07	1.53E+07±2.64E+07	4.90E+06±8.94E+06
厚壁菌门	4.25E+08±1.19E+08	6.19E+07±4.84E+07	3.23E+08±1.55E+08
双歧杆菌	6.05E+06±9.64E+06	4.29E+06±6.76E+06	4.05E+06±7.57E+06
拟杆菌属	5.24E+06±4.95E+06	2.63E+07±3.94E+07	1.38E+08±1.38E+08
乳酸杆菌	4.47E+05±6.80E+05	2.97E+06±7.92E+06	4.49E+05±5.05E+05
柔嫩梭菌属	1.84E+07±3.53E+07	8.60E+07±1.65E+07	9.03E+07±3.99E+07

注: E 表示采用科学计数法。

### 3 讨论

胃泌素是与消化道运动功能有关的胃肠激素,是由 17 个氨基酸组成的多肽,主要由胃窦和十二指肠 G 细胞分泌释放,其生物学功能是调节胃酸分泌和刺激胃黏膜生长。Suarez 等<sup>[2]</sup>研究发现,无论在体内还是体外,通过表皮生长因子(EGF)和胃泌素联合治疗,增加了胰腺 β 细胞的数量,推测其通过胰腺外分泌管细胞诱导了 β 细胞再生。该研究还发现,胃泌素单独或结合 EGF 能增加胰腺和十二指肠同源表达因子-1 以及胰岛素和 C 肽的细胞角蛋白 19 阳性管细胞。以上研究表明内源性和外源性胃泌素均可刺激胰岛 β 细胞再生来增加胰岛素的分泌,但目前机制尚不明确。本次研究发现单用胰岛素的糖尿病患者尽管胰岛 β 细胞在一定程度上衰竭需要外源性注射胰岛素来补充,但其胃泌素均明显高于健康人群,推测其可能为自身胰岛素分泌不足,负反馈导致 G 细胞代偿性分泌更多的胃泌素来刺激胰岛素分泌。另外,研究发现治疗组服用小檗碱治疗 12 周后,胃泌素水平明显升高,提示小檗碱可能通过改善胃肠黏膜腺体功能增加了胃泌素的分泌。

胰岛 α 细胞分泌的胰高血糖素是胰岛素的主要拮抗激素,在低血糖时释放,通过增加肝糖原输出,在维持血糖的稳定。愈来愈多的研究表明,胰高血糖素的分泌异常也参与 2 型糖尿病的发病。Larsson 等<sup>[3]</sup>对绝经后的糖耐量异常(IGT)妇女进行口服葡萄糖耐量试验研究时发现,胰岛素敏感性同胰高血糖素的分泌呈反比关系。在糖耐量正常的肥胖者中,高胰岛素血症与高胰高血糖素血症同时存在,胰岛素水平的升高并不能抑制胰高血糖素的分泌,提示可能存在着 α 细胞的胰岛素抵抗。本次研究纳入单用胰岛素的 2 型糖尿病患者 β 细胞功能减退,并且存在胰岛素抵抗,研究中观察到治疗前后胰高血糖素均明显高于对照组,因此减少胰高

血糖素的分泌或阻断其作用可能成为治疗 2 型糖尿病的新方法。本研究中未观察到小檗碱对于 2 型糖尿病病人胰高血糖素的干预作用,可能与纳入治疗组样本量少,造成胰高血糖素数据离散程度高,影响了数据的真实客观性,结论有待后续进一步扩充样本量进行研究。

2 型糖尿病病因与发病机制至今尚未完全阐明,目前普遍认为 2 型糖尿病的发生与多种遗传和环境因素有关。其中作为人体内微环境,肠道菌群与 2 型糖尿病的发生发展密切相关。美国华盛顿大学的 Jeffrey Gordon 研究组通过比较饲喂高糖饮食的无菌小鼠和普通小鼠的体质量变化,发现具有正常菌群的普通小鼠其身体脂肪总量比无菌小鼠增加了 42%,食物消耗却减少了 29%,并出现胰岛素抵抗<sup>[4]</sup>,而无菌小鼠即便是饲喂高脂高糖饮食,仍能够抵抗肥胖和胰岛素抵抗的发生<sup>[5]</sup>,由此从调节能量代谢平衡的角度解释了肠道菌群参与 2 型糖尿病发生发展的机制。但是,目前研究绝大多数的研究还是局限在动物模型上,对于人群的研究,以及糖尿病患者与健康人群肠道菌群的差异中的影响报道较少。本次研究发现糖尿病患者柔嫩梭菌属及拟杆菌属明显低于健康人群,可能与糖尿病患者自身存在肠道内环境的改变(包括 pH 值、氧浓度、糖类构成比例等),进而造成对环境改变耐受性差的益生菌明显减少。拟杆菌属、柔嫩梭菌等益生菌的减少又进一步影响了对肠道致病菌的清除作用,导致肠道菌群失调。近年来研究表明小檗碱具有抗炎、抑制葡萄糖吸收、调节肠道菌群、保护肠黏膜屏障等作用<sup>[6]</sup>。本文亦观察到治疗组拟杆菌属、乳酸杆菌较治疗前增高,而糖尿病的优势菌属厚壁菌门较治疗前降低,提示小檗碱具有改善糖尿病患者肠道菌群失调的作用。

肠道微生态太过复杂且研究方法繁多,各项关于肠道菌群的研究结果不尽相同,本文虽然观察到

糖尿病患者存在胃肠激素和肠道菌群失调的现象,但对于小檗碱改善肠道菌群及胃肠激素失调是否为小檗碱对胃肠激素或肠道菌群的单相作用,或是小檗碱调节胃肠激素及肠道菌群两者之间的双向作用,仍有待进一步研究。另外,仍需要大规模临床研究,确定小檗碱用于治疗糖尿病的安全剂量、最适剂量和剂型,研究特征人群间的差异及个性化治疗方案,最终为糖尿病的防治提供新的思路与模式。

### 参考文献

- [1] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2013 年版) [J]. 中国糖尿病杂志, 2014, 22 (8): 2-42.
- [2] Suarez-Pinzon W L, Lakey J R T, Brand S J, et al. Combination therapy with epidermal growth factor and gastrin induces neogen-

esis of human islet {beta} -cells from pancreatic duct cells and an increase in functional {beta} -cell mass [J]. Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2005, 90 (6): 3401-3409.

- [3] Larsson H, Ahrén B. Islet dysfunction in insulin resistance involves impaired insulin secretion and increased glucagon secretion in postmenopausal women with impaired glucose tolerance [J]. Diabetes Care, 2000, 23 (5): 650-657.
- [4] Backhed F, Ding H, Wang T, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101 (44): 15718-15723.
- [5] Backhed F, Ding H, Wang T, et al. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104 (3): 979-984.
- [6] Chen C, Yu Z, Li Y, et al. Effects of berberine in the gastrointestinal tract — a review of actions and therapeutic implications [J]. American Journal of Chinese Medicine, 2014, 42 (5): 1053.