

牡荆素对脂多糖诱导胰岛 INS-1 细胞损伤的保护作用与价值分析

张娅东 许鲁宁 钟新珠

福建医科大学附属三明第一医院内分泌科 福建三明 365000

【摘要】目的 探讨牡荆素对脂多糖 (LPS) 诱导的胰岛 INS-1 细胞损伤的保护作用及机制。**方法** 采用 CCK-8 法检测细胞活力, ELISA 法测定炎症因子 (TNF- α 、IL-1 β) 水平, 并通过分子对接分析牡荆素与 TLR4 蛋白的结合特性。实验设空白对照组、LPS 模型组 (1 $\mu\text{g/mL}$)、牡荆素低剂量组 (10 $\mu\text{mol/L}$) 和高剂量组 (50 $\mu\text{mol/L}$)。**结果** LPS 模型组细胞活力显著降低至 (62.74 \pm 5.83) % ($P<0.001$), 而牡荆素低、高剂量组分别恢复至 (76.89 \pm 6.42) % ($P<0.01$) 和 (89.65 \pm 7.15) % ($P<0.001$)。炎症因子检测显示, LPS 模型组 TNF- α 和 IL-1 β 分别升高至 (325.67 \pm 28.54) pg/mL 和 (198.43 \pm 22.17) pg/mL (均 $P<0.001$), 牡荆素干预后显著抑制其表达 (低剂量组: TNF- α (192.56 \pm 21.38) pg/mL 、IL-1 β (132.85 \pm 18.24) pg/mL ; 高剂量组: TNF- α (115.74 \pm 15.69) pg/mL 、IL-1 β (68.92 \pm 9.36) pg/mL , 均 $P<0.01$)。分子对接表明牡荆素与 TLR4 结合能 \leq -5.0 kcal/mol。**结论** 牡荆素可剂量依赖性地改善 LPS 诱导的细胞损伤, 抑制炎症因子释放, 其保护作用可能与 TLR4 结合有关。

【关键词】 牡荆素; 脂多糖; 胰岛 INS-1 细胞; 损伤保护作用

【中图分类号】 R587

【文献标识码】 A

【文章编号】 1672-0415 (2025) 07-006-02

【基金项目】 福建省自然科学基金项目: 项目编号: 2021J011392, 项目名称: 牡荆素对糖尿病大鼠胰岛 β 细胞损伤的保护作用及机制研究

糖尿病是一种多因素代谢性疾病, 其发病及病程进展与胰岛 β 细胞的功能逐渐衰退有关^[1]。越来越多的研究者认为慢性炎症是导致胰岛 β 细胞损伤的机制之一, 而脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 作为一种强有力的致炎因子, 能够通过激活 Toll 样受体 4 (Toll-like Receptor4, TLR4) 的信号通路而引起核因子 κ B (NF- κ B) 等炎症因子的连锁反应, 进而诱导胰岛 β 细胞产生氧化应激、炎症介质的过度表达和细胞的凋亡, 体外模拟糖尿病的炎症损伤状态^[2]。生物信息学及分子模拟技术的发展为研究天然活性成分与炎症靶点相互作用机制作为先导靶点进行药物开发提供新的思路。牡荆素作为一种天然的黄酮类活性成分, 其化学结构中含有多个酚羟基, 有理由相信它具有很好的抗氧化抗炎效果。现有研究已证实牡荆素可通过对炎症相关信号通路起着分子间的相互作用进行调控, 但在 LPS 诱导的胰岛 β 细胞损伤模型中其发挥保护作用是否存在分子机制尚不清楚^[3]。因此, 本研究拟运用分子对接预测牡荆素与 TLR4/NF- κ B 通路重要靶点的结合位点和在体外 LPS 诱导的胰岛 INS-1 细胞损伤模型中进行验证, 通过分子模拟与体外实验并举的思路探索牡荆素发挥细胞保护作用的分子机制, 为寻求以牡荆素为先导化合物应用于糖尿病的干预提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料综述

本研究采用胰岛素瘤细胞系 INS-1 作为实验模型。细胞培养使用 RPMI-1640 培养基 (中国上海碧云天生物技术有限公司), 补充 10% 胎牛血清 (中国武汉普诺赛生命科技有限公司)、1% 青霉素-链霉素双抗溶液 (中国北京索莱宝科技有限公司), 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中常规传代培养。主要试剂包括: 牡荆素 (纯度 \geq 98%, 中国成都瑞芬思生物科技有限公司); 脂多糖 (LPS, 血清型 055:B5, 中国北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司); CCK-8 试剂盒 (中国南京诺唯赞生物科技股份有限公司); 炎症因子 ELISA 检测试剂盒 (中国上海优宁维生物科技股份有限公司)。

1.2 研究方法简析

实验设立四个组别: 空白对照组 (常规培养)、LPS 模型组 (1 $\mu\text{g/mL}$ LPS 处理 24h)、牡荆素低剂量组 (10 $\mu\text{mol/L}$

L 牡荆素预处理 2h 后加 LPS)、牡荆素高剂量组 (50 $\mu\text{mol/L}$ 牡荆素预处理 2h 后加 LPS)。采用分子对接技术分析牡荆素与 TLR4 蛋白 (PDB ID: 3FXI) 的结合特性, 使用 AutoDock Vina 1.2.0 软件计算结合能 (ΔG)。通过 CCK-8 法检测细胞活力, ELISA 法检测炎症因子表达水平。

1.3 观察指标界定

(1) 细胞活力: 采用 CCK-8 法检测。通过测定 450nm 波长处吸光度值计算细胞活力, 细胞活力 (%) = (实验组 OD 值 - 空白组 OD 值) / (对照组 OD 值 - 空白组 OD 值) \times 100%。(2) 炎症因子水平: 采用 ELISA 法检测细胞上清液中肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和白介素-1 β (IL-1 β) 浓度, 严格按照试剂盒说明书操作, 通过标准曲线计算浓度 (单位: pg/mL)。

1.4 统计学分析

以 SPSS25.0 统计学软件分析本研究的有关数据, 计量资料以 " $\bar{x} \pm s$ " 表示; 多组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA), 组间两两比较采用 LSD-t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。分子对接结果以结合能 (ΔG) \leq -5.0 kcal/mol 视为具有潜在结合活性。

2 结果

2.1 牡荆素对 LPS 诱导的细胞活力损伤的保护作用

如表 1 所示, LPS 模型组细胞活力显著降低至 (62.74 \pm 5.83) % ($P<0.001$ vs 对照组)。牡荆素干预可剂量依赖性提升细胞活力: 低剂量组为 (76.89 \pm 6.42) % ($P<0.01$ vs 模型组), 高剂量组恢复至 (89.65 \pm 7.15) % ($P<0.001$ vs 模型组), 接近对照组水平 ($P>0.05$)。

表 1: 各组细胞活力比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	细胞活力 (%)	与对照组比较	与模型组比较
空白对照组	100.00 \pm 0.00	-	-
LPS 模型组	62.74 \pm 5.83	$P<0.001$	-
牡荆素低剂量组	76.89 \pm 6.42	$P<0.001$	$P<0.01$
牡荆素高剂量组	89.65 \pm 7.15	$P>0.05$	$P<0.001$

2.2 牡荆素对炎症因子释放的抑制作用

LPS 刺激显著升高炎症因子水平 (表 2): TNF- α 达 (325.67 \pm 28.54) pg/mL ($P<0.001$), IL-1 β 达 (198.43 \pm 22.17 pg/mL) ($P<0.001$)。牡荆素干预显著抑制炎

症释放 TNF- α : 低剂量组(192.56 \pm 21.38)pg/mL(▲P<0.01), 高剂量组(115.74 \pm 15.69)pg/mL(▲P<0.001); IL-1 β : 低剂量组(132.85 \pm 18.24)pg/mL(▲P<0.01), 高剂量组(68.92 \pm 9.36)pg/mL(▲P<0.001)。

表2: 炎症因子水平变化 ($\bar{x}\pm s$, pg/mL, n=6)

组别	TNF- α	IL-1 β
空白对照组	45.32 \pm 6.28	31.75 \pm 5.14
LPS 模型组	325.67 \pm 28.54**	198.43 \pm 22.17**
牡荆素低剂量组	192.56 \pm 21.38 ▲▲	132.85 \pm 18.24 ▲▲
牡荆素高剂量组	115.74 \pm 15.69 ▲▲	68.92 \pm 9.36 ▲▲

注: **P<0.001 vs 对照组; ▲▲P<0.01 vs 模型组。

3 综合讨论

本研究通过建立脂多糖诱导的胰岛 INS-1 细胞损伤模型, 系统评价了牡荆素对细胞活力及炎症因子表达的影响。实验数据显示, 经 1 μ g/mL LPS 处理后, 细胞活力下降至 (62.74 \pm 5.83)%, 表明成功建立了炎症损伤模型。而不同浓度牡荆素预处理显示出显著的保护效应: 10 μ mol/L 剂量组使细胞活力恢复至 (76.89 \pm 6.42)%, 50 μ mol/L 剂量组进一步提升至 (89.65 \pm 7.15)%, 不仅呈现明确的剂量依赖性特征, 且高剂量组细胞活力与正常对照组无统计学差异。这一结果说明牡荆素能够有效维持细胞代谢活性, 对抗 LPS 引发的毒性作用。值得注意的是, 牡荆素在 10-50 μ mol/L 剂量范围内均未观察到细胞毒性反应, 表明其具有良好的生物安全性特征。

在炎症因子方面, LPS 刺激使 TNF- α 和 IL-1 β 释放量急剧升高, 分别达到 (325.67 \pm 28.54)pg/mL 和 (198.43 \pm 22.17)pg/mL, 证实炎症反应被成功激活。牡荆素干预后, 2 种重要的炎症因子水平平均大幅减少, 低剂量组 TNF- α 及 IL-1 β 分别下调至 (192.56 \pm 21.38)pg/mL 和 (132.85 \pm 18.24)pg/mL, 高剂量组处理进一步下调至 (115.74 \pm 15.69)pg/mL 和

(68.92 \pm 9.36)pg/mL。尤其值得注意的是, 高剂量牡荆素处理后 IL-1 β 水平接近于正常组 (31.75 \pm 5.14pg/mL), 这提示牡荆素能够深入炎症级联反应。这种剂量依赖性抑制提示牡荆素可能通过炎症相关信号转导的调节抑制炎症介质的产生和释放。

上述分子对接结果表明, 牡荆素与 TLR4 蛋白较好地结合在一起, 结合能 \leq -5.0kcal/mol, 可以揭示其抗炎活性的结构基础。牡荆素结构中含有较多酚羟基结构, 可能通过与其信号通路的下游关键靶蛋白相结合, 阻断 LPS 与靶蛋白结合, 从而阻断下游炎症信号的传导, 提示其从结构功能的角度回答了天然产物干预炎症信号传导活性机制问题, 为进一步天然分子设计合成抗炎药物提供新的构思。同时, 从药物研发的角度出发, 牡荆素是一种低毒性的天然活性分子, 明确的剂量-效应关系, 且具有明显的抗炎活性, 可以进行进一步开发作为糖尿病胰岛保护剂。

综上所述, 牡荆素能够显著改善 LPS 诱导的 INS-1 细胞活力下降, 抑制 TNF- α 和 IL-1 β 等炎症因子的释放, 且呈现剂量依赖性效应。结合分子对接结果, 推测其保护作用可能与调节炎症信号通路有关。本研究为探索牡荆素在糖尿病胰岛保护方面的应用提供了实验依据, 其独特的抗炎活性和良好的安全性特征, 为开发基于天然产物的胰岛保护策略提供了新的研究方向, 对改善糖尿病进程中 β 细胞功能损伤具有潜在应用价值。

参考文献

- [1] 赵一涵. 高牡荆素绿豆种质资源筛选及其在籽粒发育过程中代谢调控规律研究 [D]. 华南理工大学, 2023.
- [2] 张国文, 吴健妹, 倪孟婷. 基于多光谱技术和计算机模拟研究牡荆素抑制 α -淀粉酶的分子机制 [J]. 南昌大学学报 (理科版), 2022, 46(06):611-620.
- [3] 倪孟婷. 牡荆素对糖苷酶和蛋白质非酶糖基化的抑制作用 [D]. 南昌大学, 2021.

(上接第4页)

较多, 例如皮疹、肾损害等, 故整体疗效尚存在一定争议; 兰索拉唑能使甲氰咪胍的治疗缺陷得到有效弥补, 此药为苯并咪唑衍生物, 能在短时间内进入到胃粘膜细胞壁, 并于酸性环境中转化成活性代谢物质, 并于机体内质子泵有效结合, 在充分抑制质子泵活性的前提下, 阻止胃酸分泌, 进而使胃粘膜得到有效保护。王云成^[4]研究表明, 兰索拉唑生物利用度高, 且具有高效性, 能使酸分泌被快速抑制, 外加其结构中包含三氟乙氧基, 因此还具备理化稳定性, 用药后, 能抑制胃壁细胞内的氢钾 ATP 酶, 使胃酸分泌量减少, 还可长期抑制胃酸分泌, 延长其在体内的作用时间。

(上接第5页)

这会患者的生活质量受到一定的影响, 因此对此应该进行相关的重视。为患者选择采用介入治疗进行干预的时候, 为防止心血管病情发生, 本文研究通过氯吡格雷进行干预所取得的效果, 结果显示氯吡格雷所取得的效果典型。氯吡格雷属于临床上一种常见的对血小板聚集抑制的药物, 它能够通过与血小板表面的二磷酸腺苷进行竞争, 进而发挥出作用, 可有效实现血小板聚集的阻碍作用。而且通过氯吡格雷的应用还能对患者体内的磷酸二酯酶活性进行控制, 同时使机体凝血功能产生严重影响, 所以药物具有良好的特性。通过本文的结果也能够证明氯吡格雷的良好价值。

总之, 十二指肠溃疡患者临床治疗中采用兰索拉唑的整体疗效优于甲氰咪胍, 疗效可靠, 复发率低, 建议进一步普及。

参考文献

- [1] 蒋朝红, 杨燕, 徐霞. 泮托拉唑治疗十二指肠溃疡的临床疗效与护理观察 [J]. 中国农村卫生, 2023, 16(24):30+33.
- [2] 曾贵利, 李涛. 雷贝拉唑三联疗法治疗幽门螺杆菌相关十二指肠溃疡的临床疗效 [J]. 中外医疗, 2021, 40(08):147-149.
- [3] 陈松. 消化内科十二指肠溃疡临床治疗方法及效果分析 [J]. 中国现代药物应用, 2025, 19(02):22-24.
- [4] 王云成. 消化内科胃及十二指肠溃疡药物疗效分析 [J]. 中国民康医学, 2023, 35(15):36-37.

综上所述, 通过氯吡格雷防御冠心病介入治疗而导致的心血管病便可发挥较好的治疗作用, 能够降低心血管不良事件的发生率, 还能帮助患者改善血栓素 B2 水平和血小板聚集率, 具有推广应用的价值。

参考文献

- [1] 赵洲锋. 氯吡格雷防御冠心病介入治疗致心血管病变的临床研究 [J]. 中国医学工程, 2023, 31(12):61-64.
- [2] 石永光. 探讨氯吡格雷预防冠心病介入治疗心血管的临床疗效 [J]. 中国医药指南, 2022, 20(08):178.
- [3] 刘亮明. 氯吡格雷预防冠心病介入治疗心血管不良事件的疗效分析 [J]. 心血管病防治知识 (学术版), 2024(12):29-30.