

茯苓多糖对糖尿病小鼠糖脂代谢和氧化应激紊乱的影响

张淑静¹, 宁真真^{2*}

¹漯河医学高等专科学校, 漯河 462002; ²漯河市中医院, 漯河 462300

摘要: 研究茯苓多糖 (*Poria cocos polysaccharides*, PCP) 对 C57BL/6J 小鼠糖尿病模型中糖脂代谢和氧化应激的改善作用及其机制。通过喂食高脂肪食物结合链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ) 注射诱导 2 型糖尿病 (diabetes mellitus type 2, T2DM) 模型, 将小鼠随机分为正常对照组、糖尿病对照组、低剂量 PCP 组 (50 mg/kg)、高剂量 PCP 组 (100 mg/kg) 和罗格列酮组 (RSG)。各组小鼠接受相应处理, 连续灌胃 6 周后, 检测血糖、胰岛素、肝糖原、肌糖原、血脂、氧化应激指标等水平。蛋白质印迹分析葡萄糖转运蛋白 2 (glucose transporter 2, GLUT2)、磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT) 蛋白水平。通过尾静脉注射编码 GLUT2 shRNA 的腺病毒载体 (Ad-GLUT2 shRNA) 探究 GLUT2 在 PCP 调控糖脂代谢和氧化应激中的作用。结果显示, PCP 显著改善了小鼠的葡萄糖耐量和胰岛素耐量, 降低了空腹血糖和胰岛素水平, 并提高了肝糖原和肌糖原水平, 表明 PCP 具有抗高血糖作用。同时, PCP 显著降低了小鼠的体重、肝组织、附睾脂肪和皮下脂肪重量, 并改善了血脂水平, 包括降低总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglycerides, TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 和游离脂肪酸 (free fatty acids, FFA) 水平, 提高高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 水平。此外, PCP 还通过增强超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 活性, 减少活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 和丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 水平, 从而减轻氧化应激。蛋白质印迹分析显示, PCP 通过激活 GLUT2/PI3K/AKT 信号通路, 促进葡萄糖的摄取和利用, 调节糖脂代谢, 并增强抗氧化基因如核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, NRF2)、血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1) 和非竞争性氧化还原酶-1 (non-Q-dependent reductase-1, NQO-1) 的表达, 从而改善氧化应激状态。通过 GLUT2 敲低实验证实, PCP 通过调控 GLUT2 表达来影响糖脂代谢和氧化应激。综上所述, 茯苓多糖在糖尿病模型中表现出显著的抗高血糖、降脂和抗氧化作用, 为茯苓多糖作为糖尿病辅助治疗药物的开发提供了科学依据。

关键词: 茯苓多糖; 糖尿病; 糖脂代谢; 氧化应激紊乱; GLUT2/PI3K/AKT 信号通路

中图分类号: R965

文献标识码: A

Effect of *Poria cocos polysaccharides* on glucose and lipid

metabolism and oxidative stress disorders in diabetic mice

ZHANG Shu-jing¹, NING Zhen-zhen^{2*}

¹Luohe Medical College, Luohe 462002, China; ²Luohe Hospital of Traditional Chinese Medicine, Luohe 462300,

China

Abstract: This study aims to investigate the ameliorative effects and mechanisms of *Poria cocos* polysaccharide (PCP) on glucose and lipid metabolism, as well as oxidative stress, in a diabetic model of C57BL/6J mice. Type 2 diabetes mellitus (T2DM) was induced in the mice through a combination of a high-fat diet and streptozotocin (STZ) injection. The mice were then randomly divided into five groups: normal control, diabetic control, low-dose PCP group (50 mg/kg), high-dose PCP group (100 mg/kg), and rosiglitazone group. After receiving the corresponding treatments and being gavaged continuously for six weeks, the blood glucose, insulin, hepatic glycogen, muscular glycogen, blood lipids, and oxidative stress indicators were measured. Western blot analysis was conducted to assess the protein levels of glucose transporter 2 (GLUT2), phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), and protein kinase B (AKT). To investigate the role of GLUT2 in the regulation of glucose and lipid metabolism, as well as oxidative stress by PCP, the mice were injected with adenoviral vectors encoding GLUT2 shRNA (Ad-GLUT2 shRNA) via their tail veins. The results demonstrated that PCP significantly enhanced glucose tolerance and insulin sensitivity in the mice, resulting in decreased levels of fasting blood glucose and insulin. Additionally, it increased hepatic and muscle glycogen levels, indicating its anti-hyperglycemic effect. Simultaneously, PCP significantly reduced body weight, liver tissue weight, epididymal fat weight, and subcutaneous fat weight in the mice. Furthermore, it improved lipid profiles by lowering total cholesterol (TC), triglycerides (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and free fatty acid (FFA) levels, while elevating high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) levels. Furthermore, PCP alleviated oxidative stress by enhancing antioxidant enzyme activities, such as superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px), and reducing levels of reactive oxygen species (ROS) and malondialdehyde (MDA). Western blot analysis revealed that PCP promoted glucose uptake and utilization by activating GLUT2/PI3K/AKT signaling pathway, thereby regulating glucose and lipid metabolism. Furthermore, PCP augmented the expression of antioxidant genes, including NRF2, HO-1, and NQO-1, thereby further ameliorating oxidative stress conditions. GLUT2 knockdown experiments further substantiated that PCP's beneficial effects on glucose and lipid metabolism, as well as oxidative stress, are mediated through the modulation of GLUT2 expression. In summary, *Poria cocos* polysaccharide demonstrates notable anti-hyperglycemic, hypolipidemic, and antioxidant properties in diabetic

models, furnishing a scientific rationale for the potential development of PCP as an adjunctive therapeutic agent in the management of diabetes.

Key words: *Poria cocos* polysaccharide; diabetes mellitus; glycolipid metabolism; oxidative stress disorder; GLUT2/PI3K/AKT signaling pathway

糖尿病是一种慢性代谢性疾病,其主要特征是血糖水平的异常升高。糖尿病患者常常伴有糖脂代谢紊乱^[1,2]。过多的葡萄糖是肾衰竭、心血管疾病和糖尿病性肝病等慢性疾病的主要风险因素,还可以通过多种途径引起氧化应激,产生过多的活性氧自由基,损害细胞内的蛋白质、脂质和核酸^[3]。

一些重要的胰岛素信号通路,包括蛋白激酶 B (protein Kinase B, AKT)、葡萄糖转运蛋白 2 (glucose transporter 2, GLUT2) 和磷脂酰肌醇-3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K), 已被认为是调节胰岛素抵抗和葡萄糖代谢的潜在靶点^[4]。研究显示, 多糖能通过调节糖尿病小鼠体内的 GLUT2/PI3K/AKT 信号通路调控糖脂代谢紊乱^[5], 而且 PI3K/AKT 通路对于氧化应激的调控存在交互影响, 可以通过多种途径调控氧化应激相关的酶活性、促进抗氧化防御体系的活性^[6]。

茯苓, 学名 *Poria cocos*, 是一种真菌, 也被称为茯神、茯神皮等, 主要部分为真菌的子实体, 通常呈菌状的块状物。茯苓主要含有多糖类、三萜醇、酚酸等多种成分^[7], 其中多糖类物质可能是其生物活性的一部分^[8]。部分研究表明, 茯苓多糖 (*Poria cocos* polysaccharides, PCP) 具有一定的降血糖效应, 可以通过促进胰岛素的敏感性、增加胰岛素的分泌, 或影响糖代谢途径等方式, 维持血糖水平的稳定^[9]。在本研究中, 采用 C57BL/6J 小鼠建立糖尿病模型, 分析 PCP 对糖脂代谢和氧化应激的改善作用。通过研究肝脏中参与 GLUT2/PI3K/AKT 信号通路途径的关键蛋白的表达, 阐明茯苓多糖在糖尿病模型中抗高血糖活性的机制。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

90 只 SPF 级 5~6 周龄 C57BL/6J 小鼠, 雄性, 体重 (16~20 g), 购自中国科学院上海动物实验中心, 动物合格证号 SCXK (沪) 2017-0005。饲养在规定的条件下 (12 h 暗/光循环; 相对湿度: 45~50%; 室温: 25±1 °C)。所有动物都可以自由取水和随意取食。本研究动物实验均经漯河医学高等专科学校动物实验伦理委员会批准 (伦理编号: 20220006)。

茯苓多糖 (批号: 230312, 南京景竹生物科技有限公司); 双吡啶甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 蛋白测定试剂盒、十二烷基硫酸钠 (sodium dodecyl sulfate, SDS) (批号分别为:

220123、220912, 苏州新赛美生物科技有限公司); 兔抗人 p-PI3K、p-AKT、PI3K、AKT、GLUT2、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 抗体、辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 标记的羊抗兔 IgG 二抗 (批号分别为: SAB5500162、WH0000207M3、SAB55001654、SAB4503853、SAB5701026、SAB2108668、AP106P, 美国 Sigma 公司); 葡萄糖、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglycerides, TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、游离脂肪酸 (free fatty acids, FFA)、高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)、活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 和丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 试剂盒 (批号分别为: 220412、230122、220322、230112、220424、220712、220923、230122、220827、220712, 南京建成生物工程研究所); 氧化物酶体增植物激活受体 α (peroxisome proliferator activated receptors, PPAR α)、低密度脂蛋白受体 (low-density lipoprotein receptor, LDLR)、乙酰辅酶 A 羧化酶 (acetyl CoA carboxylase, ACC)、固醇调节元件结合蛋白-1 (sterol regulatory element binding protein-1, SREBP-1)、核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, NRF2)、血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1) 和醌氧化还原酶-1 (quinone oxidoreductase -1, NQO-1) 引物序列 (上海生工生物工程技术有限公司); BeyoRT™ III cDNA 第一链合成试剂盒 (批号: 220123, 上海碧云天生物技术有限公司); 腺病毒包装短发夹 RNA (adenoviral scrambled small hairpin RNA, Ad-Scr shRNA); 编码 GLUT2 shRNA 的腺病毒载体 (Ad-GLUT2 shRNA) (上海吉满生物科技有限公司)。

1.2 实验仪器

ELx800 全自动酶标仪 (美国 BioTek 公司); BIO-RAD Ge1Doc 伯乐凝胶成像系统 (美国 BIO-RAD 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物建模、分组和治疗

适应 7 d 后, 小鼠喂食高脂肪食物 (脂肪: 碳水化合物: 蛋白质 = 58: 25.6: 16.4), 持续 4 周后, 禁食 12 h 后注射 STZ (30 mg/kg) 诱导 T2DM, 3 d 后测定空腹血糖水平, 随机空腹血糖值高于 11.1 mmol/L 的小鼠被视为糖尿病模型建立。随机分为糖尿病对照组 (diabetes control group, DC)、低剂量 PCP 组 (PCP in low dose group, LPCP, 50 mg/kg)、高剂量 PCP 组 (PCP in high dose group, HPCP, 100 mg/kg) 和罗格列酮组 (rosiglitazone group, RSG)。每组 10 只, 喂养高脂肪食物。另设正常对照组 (normal control group, NC), 喂

食标准饮食（脂肪：碳水化合物：蛋白质=5：53：23），喂养 4 周后，腹腔注射等体积柠檬酸钠。RSG 组小鼠每天灌胃罗格列酮（10 mg/kg 体重）。LPCP 组和 HPCP 组小鼠分别以每天 50 mg/kg 体重和 100 mg/kg 体重的剂量灌胃 PCP。同时，DC 组、NC 组小鼠每天灌胃等量生理盐水，连续灌胃 6 周。记录小鼠的体重和摄食量。

1.3.2 样品收集及生化指标检测

治疗 6 周后，进行口服葡萄糖耐量试验（oral glucose tolerance test, OGTT）和胰岛素耐量试验（insulin tolerance test, ITT）^[10,11]。所有动物禁食过夜。对于 OGTT，小鼠灌胃葡萄糖（2 g/kg 体重）。对于 ITT，小鼠腹腔注射胰岛素（2 U/kg 体重）。在 0、30、60、90 和 120 min 检测尾静脉血糖水平。

实验结束时，所有动物禁食过夜并安乐死。收集肝组织、附睾脂肪、皮下脂肪并称重。肝组织-80 °C 保存，以便进一步分析。采集血样，3 000 r/min 离心 15 min 采集血清，测定生化指标，从而计算胰岛素抵抗指数（homeostasis model assessment-insulin resistance, HOMA-IR），计算公式为： $HOMA-IR = \text{空腹血糖 (mmol/L)} \times \text{空腹胰岛素 } (\mu\text{U/mL}) / 22.5$ 。血清及肝脏 TC、TG、LDL-C、HDL-C、FFA 根据测定试剂盒说明书进行测定。

1.3.3 实时定量聚合酶链反应

采用 Trizol 试剂提取总 RNA，BeyoRT™ III cDNA 第一链合成试剂盒将总 RNA 逆转录为 cDNA。然后，使用 SYBR Green 试剂进行实时定量 PCR 分析^[12]，引物序列均由上海生物工程技术有限公司提供，引物序列见表 1，2^{-ΔΔCt}法定量相对基因表达，结果以 GAPDH 为内参进行归一化处理。

表 1 引物序列

Table 1 Primers sequence

基因	引物序列 (5'→3')
Gene	Primer sequence (5'→3')
<i>ACC</i>	F: CTGGACACTGGACGGCTAG R: CACTCTCCAACAGGTACATG
<i>PPARα</i>	F: AACCCGACTAGTTCAGACTGGT R: TGGTAGCAAGAAGCAATCCGCG
<i>LDLR</i>	F: AGAGTTGAGTAGCGCTAAGCAT R: GCF CCTAAGTCGTTGCCTGA

<i>SREBP-1</i>	F: CCCGAATGCGCTCACAATG
	R: GCTTTGCTCACACTTCGTTTAGCA
<i>NRF2</i>	F: AGGATTCACATGGATTGAA
	R: GCCCATATCCTATCTGCCC
<i>HO-1</i>	F: ATTCTGGAGGCAGAGTATCAGCAG
	R: GACCTGGATCTAGTCGGCTCACG
<i>NQO-1</i>	F: TCCTGTCACTCTCCCTTTCTAAGG
	R: ACTCCTTGAGAGCACAAGTGCACG

1.3.4 蛋白质印迹分析

选择含有磷酸抑制剂和蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液提取总蛋白，裂解物在 1 000×g 下离心 15 min。收集上清液，BCA 蛋白测定试剂盒进行蛋白定量。然后，采用 10%的 SDS-聚丙烯酰胺分离 30 mg 的蛋白质样品，转移到 PVDF 膜上。采用 p-PI3K (1 : 2 500)、PI3K (1 : 2 500)、p-AKT (1 : 2 000)、AKT (1 : 2 000)、GLUT2 和 GAPDH 一抗孵育，4 °C 过夜。TBST 洗涤 3 次，将膜与二抗孵育 1h，使用 ImageJ 软件对印迹进行定量^[13]。

1.3.5 GLUT2 敲低对 PCP 调控 C57BL/6J 小鼠的调控糖脂代谢和氧化应激紊乱的影响

参照“1.3.1”建立动物模型，1 周后，随机分成 4 组，每组 10 只，包括 Ad-Scr shRNA 组、Ad-Scr shRNA + PCP 组、Ad-GLUT2 shRNA 组、Ad-GLUT2 shRNA + PCP 组。Ad-Scr shRNA 组、Ad-Scr shRNA + PCP 组小鼠尾静脉注射 Ad scramble shRNA，Ad-GLUT2 shRNA 组、Ad-GLUT2 shRNA + PCP 组小鼠尾静脉注射 Ad-GLUT2 shRNA，剂量均为 2.0×10^{10} PFU/mL，Ad-Scr shRNA + PCP 组、Ad-GLUT2 shRNA + PCP 组同时用 100 mg/kg 体重的剂量灌胃 PCP，1 次/d，2 周后，所有动物禁食过夜并安乐死，收集肝组织，Western blot 分析 LDLR、NRF2 蛋白水平。

1.3.6 统计学分析

采用 SPSS21.0 软件对实验数据进行统计分析。数据采用平均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间比较采用 LSD-*t* 检验， $P < 0.05$ 时认为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 PCP 改善 C57BL/6J 小鼠的葡萄糖耐量、胰岛素耐量

茯苓多糖作为一种天然提取物，在改善小鼠的葡萄糖耐量和胰岛素耐量方面表现出了显

著的效果^[14]。如图 1A 所示，口服葡萄糖 30 min 后，各组血糖水平均达到峰值，随后血糖水平逐渐下降。此外，在整个 OGTT 试验中，DC 组的血糖水平始终高于 NC 组，而 RSG 组或 HPCP 组的血糖水平低于 DC 组 ($P<0.01$)，表明茯苓多糖能够控制 C57BL/6J 小鼠的血糖接近正常水平，从而改善其葡萄糖耐量的异常。同样，如图 1B 所示，注射胰岛素 30 min 后，RSG 组或 HPCP 组的血糖水平低于 DC 组，表明茯苓多糖能够增强 C57BL/6J 小鼠对胰岛素的敏感性，从而改善其胰岛素耐量 ($P<0.05$)。

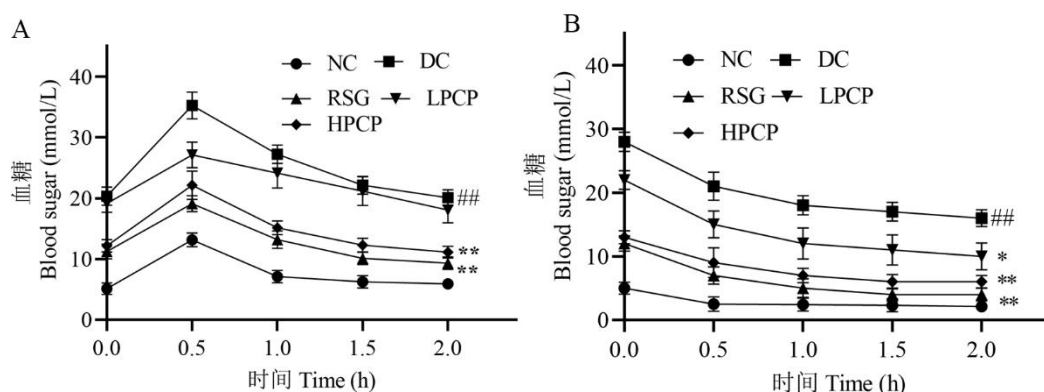


图 1 PCP 对 C57BL/6J 小鼠的葡萄糖耐量、胰岛素耐量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig.1 Effect of PCP on glucose tolerance and insulin tolerance in C57BL/6J mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

注：A：小鼠口服葡萄糖耐量；B：小鼠胰岛素耐量。与 NC 组比较，## $P<0.01$ ；与 DC 组比较，* $P<0.05$ ，

** $P<0.01$ 。Note: A: Oral glucose tolerance in mice; B: Insulin tolerance in mice. Compared with NC group,

$P<0.01$; Compared with DC group, ** $P<0.01$.

2.2 PCP 对 C57BL/6J 小鼠的体重、组织重量和食物摄入量的影响

如图 2 所示，DC 组的体重、肝组织、皮下脂肪、附睾脂肪均高于 NC 组 ($P<0.01$)。与 DC 组相比，HPCP 组体重、附睾脂肪、皮下脂肪和肝组织重量显著降低 ($P<0.05$)。在图 2A 中，HPCP 组小鼠体重极显著低于 DC 组。而图 2B 中，HPCP 组小鼠附睾脂肪重量与 DC 组有显著差异。在图 2C 中，HPCP 组小鼠皮下脂肪重量显著低于 DC 组。同样，如图 2D 所示，HPCP 组小鼠肝脏重量极显著低于 DC 组，这些表明茯苓多糖能通过降低脂肪水平，对体重增长产生一定的抑制作用。在图 2E 中，与 NC 组相比，DC 组饮食摄取量显著增加 ($P<0.01$)，而 DC 组与 PCP 组间无明显差异。结果表明，在不改变小鼠的食物摄入的情况下，每天给药 PCP 可减少体重增加和脂肪积累。

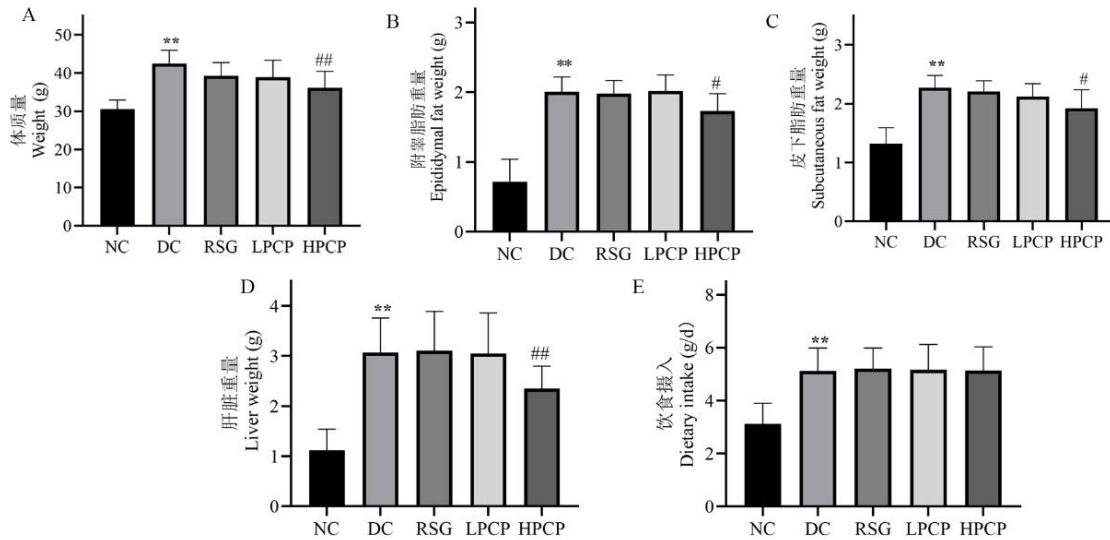


图 2 PCP 对 C57BL/6J 小鼠的体重、组织重量和食物摄入量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig.2 Effect of PCP on body weight, tissue weight and food intake in C57BL/6J mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

注: 与 NC 组比较, ** $P < 0.01$; 与 DC 组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, 下同。Note: Compared with NC group, ** $P < 0.01$;

Compared with DC group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, the same below.

2.3 PCP 对 C57BL/6J 小鼠的空腹血糖、胰岛素、肝糖原和肌糖原水平的改善

如图 3 所示, 与 NC 组相比, DC 组空腹血糖水平和胰岛素含量升高 ($P < 0.01$), 说明 DC 组胰岛素抵抗严重。给药 6 周后, HPCP 和 RSG 组小鼠血清葡萄糖水平、胰岛素水平和 HOMA-IR 指数均下降 ($P < 0.01$)。在图 3A 中, 相比 DC 组, HPCP 和 RSG 组小鼠空腹血糖含量极显著下调。同样, 如图 3B 所示, 胰岛素含量较 DC 组极显著降低。而且图 3C 也显示, HPCP 和 RSG 组小鼠 HOMA-IR 指数较 DC 组显著下调, 说明 PCP 可改善小鼠的胰岛素抵抗。此外, 如图 3D、图 3E 所示, DC 组肝糖原、肌糖原水平始终低于 NC 组, 而 RSG 组或 HPCP 组的肝糖原、肌糖原水平高于 DC 组, 说明 PCP 可能通过调节肝脏的糖代谢途径, 增加肝糖原的合成和储存, 从而提高小鼠的肝糖原水平。另外 PCP 可能作用于肌肉细胞的胰岛素受体和信号传导通路, 促进葡萄糖的摄取和利用, 进而增加肌糖原的合成和储存 [15]。

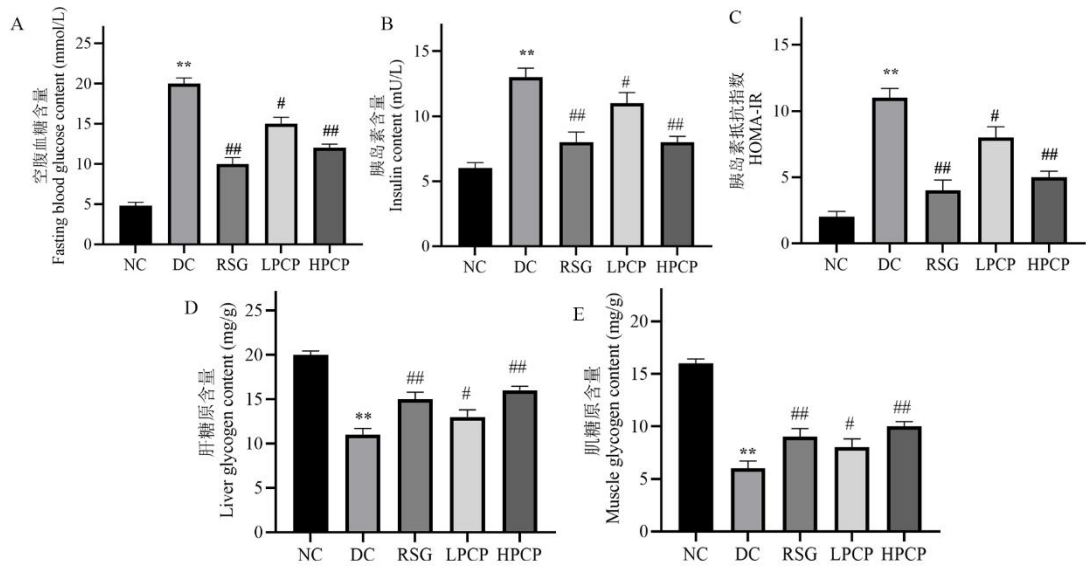


图 3 PCP 对 C57BL/6J 小鼠的空腹血糖、胰岛素、肝糖原和肌糖原水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig.3 Effects of PCP on fasting blood glucose, insulin, liver glycogen and muscle glycogen levels in C57BL/6J mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

2.4 PCP 对 C57BL/6J 小鼠的血脂水平的改善

如图 4 所示, 与 NC 组相比, DC 组血清 HDL-C 水平降低, TG、TC、LDL-C、FFA 水平升高 ($P < 0.01$)。给药 6 周后, 与 DC 组相比, RSG 组和 HPLP 组血清 HDL-C 水平升高, 血清 TG、TC、LDL-C 和 FFA 水平降低 ($P < 0.01$)。这些结果表明, PLP 治疗可以改善小鼠的高脂血症。

如图 5 所示, 与 NC 组相比, DC 组 *PPAR*、*LDLR* mRNA 表达水平下调, *ACC*、*SREBP-1* mRNA 表达水平上调 ($P < 0.01$)。与 DC 组相比, HPLP 组 *PPAR α* 和 *LDLR* mRNA 表达水平升高, *SREBP-1* 和 *ACC* mRNA 表达水平降低 ($P < 0.01$) , 说明 PCP 处理改善了小鼠肝脏脂质代谢相关基因表达水平。这一发现表明, PCP 通过精准地影响这些基因的转录活性, 可能促进了脂质代谢的平衡与优化, 其中 *PPAR α* 的激活可能增强了脂肪酸 β -氧化过程, *LDLR* 的上调有助于增加 LDL 的清除, 减少其在血液中的积累, 而 *ACC* 的下调和 *SREBP-1* 的调控则可能通过协同作用, 减少了脂肪酸的合成, 并调节了胆固醇的稳态^[16-18]。

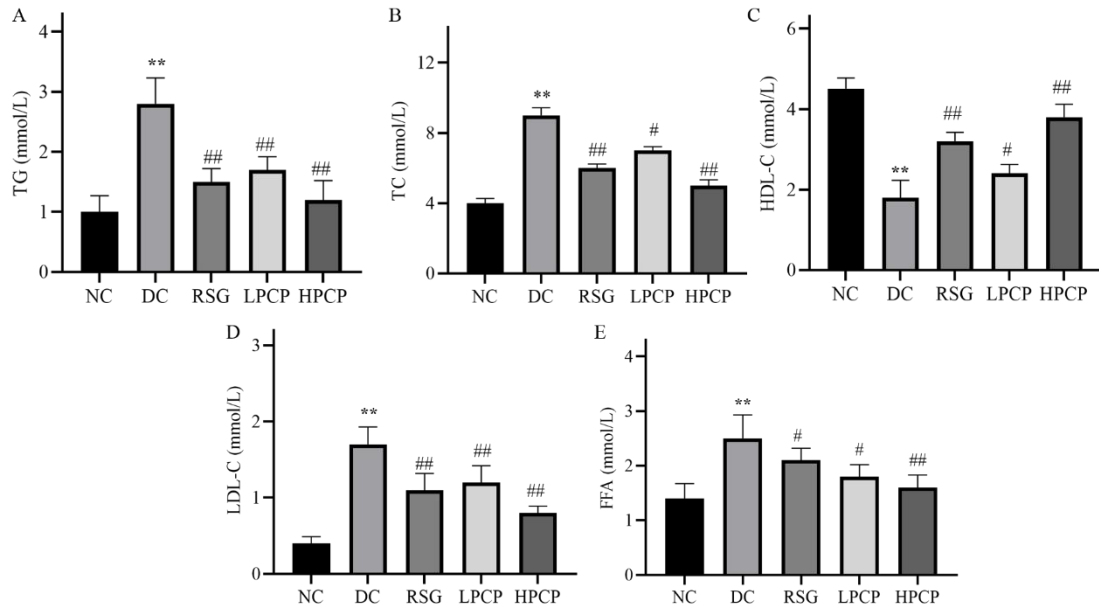


图 4 PCP 对小鼠的血脂水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig.4 Effect of PCP on blood lipid level in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

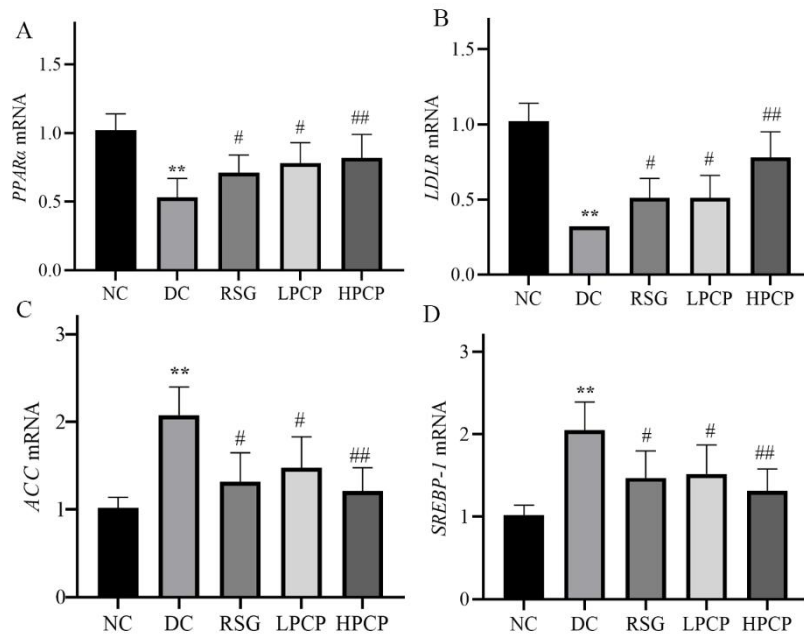


图 5 PCP 对小鼠肝脏脂质代谢相关基因表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig.5 Effect of PCP on the expression level of liver lipid metabolism related genes in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

2.5 PCP 对 C57BL/6J 小鼠的氧化应激水平的改善

如图 6 所示, 与 NC 组相比, DC 组血清 ROS、MDA 水平增加, SOD、GSH-Px 水平降低 ($P < 0.01$)。给药 6 周后, 与 DC 组相比, RSG 组和 HPLP 组血清 ROS、MDA 水平降低, 血清 SOD、GSH-Px 水平增加 ($P < 0.01$)。这些结果表明, PLP 治疗可以改善小鼠的氧化应激。

如图 7 所示, 与 NC 组相比, DC 组 NRF2、HO-1 以及 NQO-1 水平降低 ($P<0.01$)。给药 6 周后, 与 DC 组相比, RSG 组和 HPLP 组血清 NRF2、HO-1 和 NQO-1 水平增加 ($P<0.01$)。这一发现表明 PCP 在促进小鼠抗氧化防御系统活化方面的积极作用。NRF2 作为抗氧化反应的主要调节因子, 其激活促进了下游抗氧化酶如 HO-1 和 NQO-1 的转录表达。HO-1 通过分解血红素生成具有抗氧化、抗炎和细胞保护作用的产物, 而 NQO-1 则参与了醌类和其他亲电子化合物的解毒过程^[19]。因此, PCP 诱导的 NRF2、HO-1 和 NQO-1 水平上升, 可能有助于减轻小鼠体内由氧化应激引起的组织损伤。

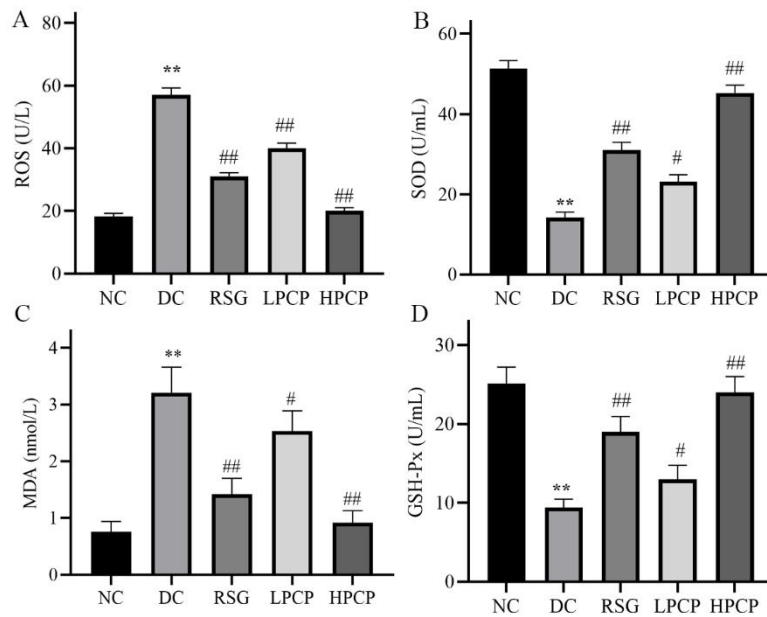


图 6 PCP 对小鼠的氧化应激水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig.6 Effects of PCP on oxidative stress in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

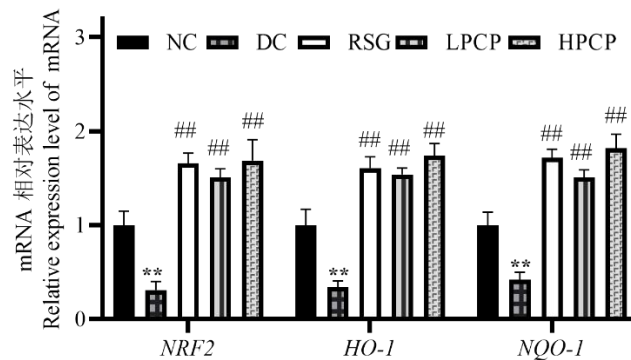


图 7 PCP 对小鼠肝脏氧化应激相关基因表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig.7 Effect of PCP on the expression of oxidative stress-related genes in liver of mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

2.6 PCP 对 C57BL/6J 小鼠的调控糖脂代谢和氧化应激紊乱的影响

如图 8 所示, 与 NC 组相比, DC 组 p-PI3K、p-AKT、GLUT2 水平降低 ($P<0.01$)。给药 6 周后, 与 DC 组相比, RSG 组和 HPLP 组 p-PI3K、p-AKT、GLUT2 水平增加 ($P<0.01$)。表明 PCP 在 C57BL/6J 小鼠模型中展现出对 GLUT2/PI3K/AKT 信号通路的精准调控作用, 这一调控机制深刻影响着小鼠的糖脂代谢平衡。PCP 通过激活或增强 GLUT2 的表达, 促进了细胞对葡萄糖的摄取和利用, 进而优化了糖代谢过程。同时, PI3K/AKT 信号通路的激活, 作为 PCP 调控的关键下游事件, 不仅强化了胰岛素信号传导, 还促进了细胞内代谢活动的调整, 有利于维持糖脂代谢稳态^[20]。

此外, PCP 还显示出对 C57BL/6J 小鼠体内氧化应激状态的有效调控。通过增强抗氧化酶的活性或上调抗氧化基因的表达, PCP 减轻了氧化应激对细胞和组织的损害, 保护了细胞膜的完整性, 并促进了细胞功能的恢复。这种对氧化应激的调控作用, 与 PCP 对 GLUT2/PI3K/AKT 信号通路的调节相辅相成, 共同构成了 PCP 改善 C57BL/6J 小鼠糖脂代谢和整体健康状况的分子机制。

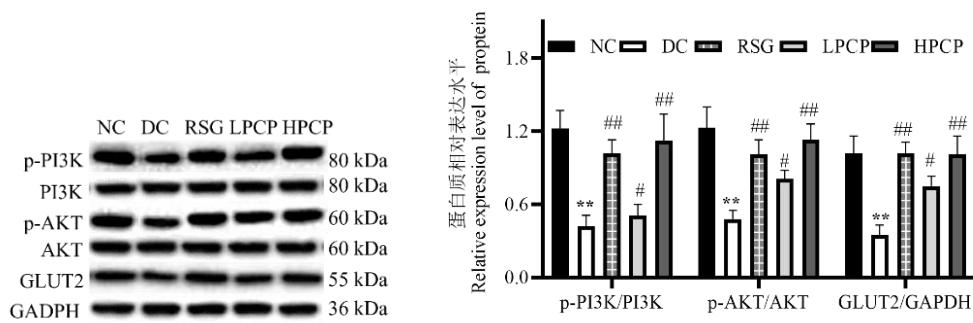


图 8 PCP 对 C57BL/6J 小鼠调控糖脂代谢和氧化应激紊乱的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig.8 Effects of PCP on regulation of glycolipid metabolism and oxidative stress disorder in C57BL/6J mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

2.7 GLUT2 敲低对 PCP 调控 C57BL/6J 小鼠的调控糖脂代谢和氧化应激紊乱的影响

与 Ad-Scr shRNA 组比较, Ad-Scr shRNA+PCP 组 LDLR、Nrf2 水平显著增加 ($P<0.01$), 提示 Ad-Scr shRNA 对 LDLR、Nrf2 水平并没有影响。与 Ad-Scr shRNA+ PCP 组比较, Ad-GLUT2 shRNA+ PCP 组 LDLR、Nrf2 水平显著下降, 说明 PCP 通过调控 GLUT2 表达影响糖脂代谢和氧化应激 (见图 9)。

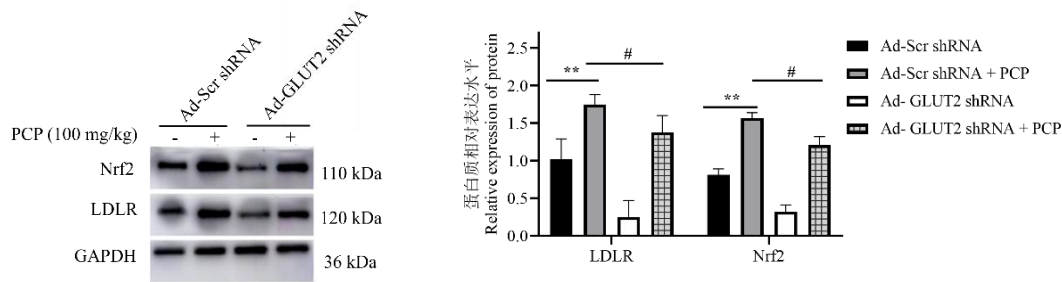


图 9 GLUT2 敲低对 PCP 调控 C57BL/6J 小鼠的调控糖脂代谢和氧化应激紊乱的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig.9 Effect of GLUT2 knockdown on regulation of glycolipid metabolism and oxidative stress disorder in

PCP-regulated C57BL/6J mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

3 讨论与结论

现代药理学研究表明, 茯苓多糖具有降血糖的生物活性^[21]。本研究中, 通过给 C57BL/6J 小鼠不同剂量的茯苓多糖, 发现其能有效降低小鼠的血糖水平, 且高剂量效果更佳, 接近罗格列酮的降糖效果。这一发现表明, 茯苓多糖对糖尿病小鼠的血糖控制具有积极作用。在口服糖耐量试验中, 给予茯苓多糖的小鼠在 30、60、90 和 120 min 时间段的血糖水平明显降低, 表明茯苓多糖能控制小鼠血糖接近正常水平。茯苓多糖不仅能降血糖, 还能降低血清中的胆固醇和甘油三酯水平, 这有助于改善糖尿病小鼠的脂代谢紊乱, 减少高脂血症的发生风险, 这可能与茯苓多糖激活 PPAR- γ 通路增加脂肪酸的 β -氧化有关。

茯苓多糖能增强糖尿病小鼠肾组织中 SOD、GSH-Px 和 CAT 等抗氧化酶的活性。这些抗氧化酶在清除自由基、保护细胞免受氧化损伤方面发挥重要作用^[22]。茯苓多糖还能降低糖尿病小鼠体内 MDA 等氧化应激产物的含量。MDA 是脂质过氧化的产物, 其含量降低表明茯苓多糖能有效减轻氧化应激对细胞的损害。通过上述机制, 茯苓多糖能够保护糖尿病小鼠的细胞免受氧化应激的损害, 从而维护细胞的正常功能和代谢活动。

茯苓多糖作为一种具有显著生物活性的天然多糖, 本研究证实能够影响并优化糖尿病小鼠体内的 GLUT2/PI3K/AKT 信号通路。茯苓多糖可能通过促进 GLUT2 的膜转位或表达上调, 增强细胞对葡萄糖的摄取和利用能力。茯苓多糖的干预进一步激活 PI3K 及其下游的 AKT 信号通路。这一通路的激活不仅增强了胰岛素信号的传导效率, 还促进了细胞内的代谢调控, 包括糖原合成、脂肪酸合成及糖异生等关键过程, 有助于恢复糖尿病小鼠的糖脂代谢平衡。值得注意的是, 茯苓多糖对 GLUT2/PI3K/AKT 信号通路的调控与其抗氧化作用之间存在潜在的交互关系。AKT 的激活不仅促进了糖脂代谢的改善, 还可能通过上调抗氧化基因的表达或增强抗氧化酶的活性来间接缓解氧化应激。通过 GLUT2 敲低实验发现, PCP 对糖尿病

小鼠的调控糖脂代谢和氧化应激紊乱的效果显著减弱,这进一步证实了 GLUT2 在 PCP 调控机制中的重要作用。

总之,茯苓多糖通过降血糖、调节血脂以及增强抗氧化酶活性等多种途径,有效缓解糖尿病小鼠的糖脂代谢和氧化应激紊乱。这些发现为茯苓多糖在糖尿病及其并发症的防治中提供了科学依据和潜在的应用前景。

参考文献

- 1 Champion ML,Battarbee AN,Biggio JR,et al.Postpartum glucose intolerance following early gestational diabetes mellitus[J].Am J Obstet Gynecol MFM,2022,4:100609.
- 2 Palacios T,Vitetta L,Coulson S,et al.The effect of a novel probiotic on metabolic biomarkers in adults with prediabetes and recently diagnosed type 2 diabetes mellitus: study protocol for a randomized controlled trial[J].Trials,2017,18:7.
- 3 Kazibwe R,Singleton M,Bancks MP,et al.Efficacy of aspirin for primary prevention among adults with high-risk type 2 diabetes in the ACCORD trial[J].Diabetes Obes Metab,2024,26:4011-4018.
- 4 Zhang H,Ding JR,Zhang XK.Exploration of the potential mechanism of mori cortex on treating diabetic peripheral neuropathy based on network pharmacology and molecular docking[J].Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2022,34:121-132.
- 5 Luo Y,Qin Y,Kong L,et al.Clinical and pathological characteristics of gestational diabetes mellitus with different insulin resistance[J].J Diabetes Complications,2024,8:108796.
- 6 Taheri R,Mokhtari Y,Yousefi AM,et al.The PI3K/Akt signaling axis and type 2 diabetes mellitus (T2DM):from mechanistic insights into possible therapeutic targets[J].Cell Biol Int,2024,48:1049-1068.
- 7 Di YM,Sun L,Lu C,et al.Benefits of herbal formulae containing *Poria cocos* (Fuling) for type 2 diabetes mellitus:a systematic review and meta-analysis[J].PLoS One,2022,17:e0278536.
- 8 Poon TY,Ong KL,Cheung BM.Review of the effects of the traditional Chinese medicine Rehmannia Six Formula on diabetes mellitus and its complications[J].J Diabetes,2011,3:184-200.
- 9 Deng LQ,Huang GL.Preparation,structure and application of polysaccharides from *Poria cocos*[J].RSC Adv,2024,14:31008-31020.
- 10 Ođlak SC,Yılmaz EZ,Budak MŞ.Abdominal subcutaneous fat thickness combined with a 50-g glucose challenge test at 24-28 weeks of pregnancy in predicting gestational diabetes mellitus[J].J Obstet Gynaecol,2024,44:2329880.
- 11 Han N,Chang XY,Yuan ZL,et al.Expression and correlation analysis of silent information regulator

- 1(SIRT1),sterol regulatory element-binding protein-1(SREBP1),and pyroptosis factor in gestational diabetes mellitus[J].J Matern Fetal Neonatal Med,2024,37:2311809.
- 12 Mohamed AA,Abdallah GM,Ibrahim IT,et al.Evaluation of miRNA-146a,miRNA-34a,and pro-inflammatory cytokines as a potential early indicators for type 1 diabetes mellitus[J].Noncoding RNA Res,2024,9:1249-1256.
- 13 Hu Z,Long Y,Li X,et al.Effects of asiaticoside on the model of gestational diabetes mellitus in HTR-8/svneo cells via PI3K/AKT pathway[J].J Obstet Gynaecol,2024,44:2350761.
- 14 Wang HJ,Shi SS,Wang SC.Can highly cited herbs in ancient traditional chinese medicine formulas and modern publications predict therapeutic targets for diabetes mellitus?[J].J Ethnopharmacol,2018,213:101-110.
- 15 Sato M,Tai T,Nunoura Y,et al.Dehydrotrametenolic acid induces preadipocyte differentiation and sensitizes animal models of noninsulin-dependent diabetes mellitus to insulin[J].Biol Pharm Bull,2002,25:81-86.
- 16 Bhushan R,Haque S,Gupta RK,et al.Genetic variants related to insulin metabolism are associated with gestational diabetes mellitus[J].Gene,2024,927:148704.
- 17 Thabet HK,Abusaif MS,Imran M,et al.Discovery of novel 6-(piperidin-1-ylsulfonyl)-2*H*-chromenes targeting α -glucosidase, α -amylase,and PPAR- γ :design,synthesis,virtual screening,and anti-diabetic activity for type 2 diabetes mellitus[J].Comput Biol Chem,2024,111:108097.
- 18 Mujalli A,Farrash WF,Obaid AA,et al.Improved glycaemic control and nephroprotective effects of empagliflozin and paricalcitol co-therapy in mice with type 2 diabetes mellitus[J].Int J Mol Sci,2023,24:17380.
- 19 Chen K,Ou BQ,Huang Q,et al.LncRNA NEAT1 aggravates human microvascular endothelial cell injury by inhibiting the Apelin/Nrf2/HO-1 signalling pathway in type 2 diabetes mellitus with obstructive sleep apnoea[J].Epigenetics,2024,19:2293409.
- 20 Huang X,Liu G,Guo J,Su Z.The PI3K/AKT pathway in obesity and type 2 diabetes[J].Int J Biol Sci,2018,14:1483-1496.
- 21 Peng ZX,Zhou ZS,Liu CY,et al.The effect of *Poria cocos* polysaccharide on wound healing in diabetic rats analyzed based on RNA-sequencing[J].Chin J Aesth Plast Surg(中国美容整形外科杂志),2024,35:425-430.
- 22 Li Q,Zhang B.Effect of pachyman on mitogen-activated protein kinase pathway and insulin resistance in type 2 diabetic rats[J].Anhui Med Pharm J(安徽医药),2022,26:2379-2382

收稿日期: 2024-08-15 接受日期: xxxx-xx-xx

基金项目: 河南省高等学校重点科研项目 (22B310006)

*通信作者 Tel: 0395-2964509; E-mail: cxshu77@163.com