

## · 中药药理与质量 ·

## 铁皮石斛多糖对糖尿病大鼠脂代谢异常的改善作用及机制

寇战利<sup>1</sup>, 陈社论<sup>1</sup>, 刘冰林<sup>1</sup>, 张效科<sup>2</sup>, 李聪<sup>1</sup>, 郭杰<sup>1</sup>

(1. 咸阳市第一人民医院中医科, 陕西咸阳 712000; 2. 陕西中医药大学附属医院内分泌科, 陕西咸阳 712083)

**摘要:**【目的】观察铁皮石斛多糖对糖尿病大鼠脂代谢异常的改善作用及机制。【方法】将90只大鼠随机选取75只建立糖尿病模型, 其余15只设为正常组。将造模成功的68只大鼠随机分为模型组, 铁皮石斛多糖低、高剂量组和二甲双胍组, 每组17只。铁皮石斛多糖低、高剂量组分别灌胃铁皮石斛多糖100、200 mg/kg, 二甲双胍组灌胃盐酸二甲双胍150 mg/kg, 正常组和模型组灌胃等体积生理盐水, 每日1次, 干预30 d。干预结束后, 测定空腹血糖(FBG)、胰岛素(FINS)水平, 血清甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平以及超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)水平, 采用苏木素-伊红(HE)染色法观察肝脏组织病理学表现, 采用蛋白免疫印迹(Western Blot)法检测肝脏组织胰岛素受体底物2(IRS2)、磷酸化IRS2(p-IRS2)、磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)、磷酸化PI3K(p-PI3K)、蛋白激酶B(AKT)、磷酸化AKT(p-AKT)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)蛋白相对表达水平。【结果】与正常组比较, 模型组, 铁皮石斛多糖低、高剂量组和二甲双胍组干预0、15、30 d FBG水平和FINS水平均升高( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 各治疗组干预15、30 d FBG水平和FINS水平均降低, 且铁皮石斛多糖高剂量组与二甲双胍组比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 随着干预时间增加, 模型组FBG水平持续上升, 各治疗组FBG水平持续下降( $P < 0.05$ )。与正常组比较, 模型组, 铁皮石斛多糖低、高剂量组和二甲双胍组血清TG、TC、LDL-C、MDA水平升高, HDL-C、SOD水平降低( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 各治疗组血清TG、TC、LDL-C、MDA水平降低, HDL-C、SOD水平升高( $P < 0.05$ ), 且铁皮石斛多糖高剂量组与二甲双胍组比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。模型组出现大量肝细胞水肿坏死现象, 组织结构紊乱, 排列不均, 而铁皮石斛多糖高剂量组和二甲双胍组肝组织病理变化得到明显改善。与正常组比较, 模型组, 铁皮石斛多糖低、高剂量组和二甲双胍组肝脏组织p-IRS2、p-PI3K、p-AKT、mTOR蛋白相对表达水平降低( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 各治疗组肝脏组织p-IRS2、p-PI3K、p-AKT、mTOR蛋白相对表达水平升高( $P < 0.05$ ), 且铁皮石斛多糖高剂量组与二甲双胍组比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。【结论】铁皮石斛多糖可改善糖尿病大鼠脂代谢异常, 可能是通过激活PI3K/AKT信号通路发挥作用。

**关键词:** 铁皮石斛多糖; 糖尿病; 脂代谢; 磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B信号通路; 大鼠

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2021)11-2462-07

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2021.11.028

## Ameliorative Effect and Mechanism of *Dendrobium Officinale* Polysaccharide on Abnormal Lipid Metabolism in Diabetic Rats

KOU Zhan-Li<sup>1</sup>, CHEN She-Lun<sup>1</sup>, LIU Bing-Lin<sup>1</sup>,  
ZHANG Xiao-Ke<sup>2</sup>, LI Cong<sup>1</sup>, GUO Jie<sup>1</sup>

(1. Dept. of Traditional Chinese Medicine, Xianyang First People's Hospital, Xianyang 712000 Shaanxi, China; 2. Dept. of Endocrinology, the Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712083 Shaanxi, China)

**Abstract: Objective** To observe the ameliorative effect and mechanism of *Dendrobium officinale* polysaccharide on abnormal lipid metabolism in diabetic rats. **Methods** Seventy-five of the 90 rats were randomly selected to establish the diabetes model, and the remaining 15 were set up as the normal group. The 68 successful modeling rats were randomly divided into model group, *Dendrobium officinale* polysaccharide low- and high- dose group and metformin group, 17 rats in each group. The *Dendrobium officinale* polysaccharide low- and high- dose groups were gavaged with *Dendrobium officinale* polysaccharide at 100 and 200 mg/kg, respectively, the metformin group

收稿日期: 2021-03-17

作者简介: 寇战利(1962-), 男, 副主任医师; E-mail: csb29\_6@163.com

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 81774304)

was gavaged with metformin hydrochloride at 150 mg/kg, while the normal group and model group were gavaged with equal volume of saline. The administration placed once a day for 30 days. At the end of the intervention, fasting blood glucose (FBG) and insulin (FINS) levels were measured, and serum triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) levels were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and hepatic histopathological manifestations were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining, and Western Blot was used to detect insulin receptor substrate 2 (IRS2), phosphorylated IRS2 (p-IRS2), phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), phosphorylated PI3K (p-PI3K), protein kinase B (AKT), phosphorylated AKT (p-AKT), mammalian target of rapamycin (mTOR) protein relative expression levels. **Results** Compared with the normal group, FBG level at 0, 15 and 30 days of intervention and FINS level in the model group, *Dendrobium officinale* polysaccharide low- and high- dose groups and metformin group were increased ( $P < 0.05$ ); Compared with the model group, FBG level at 15 and 30 days of intervention and FINS level were decreased in all treatment groups, and there was no significant difference between *Dendrobium officinale* polysaccharide high-dose group and metformin group ( $P > 0.05$ ). With the increase of intervention time, the level of FBG in the model group continued to increase, and the level of FBG in all the treatment groups continued to decrease ( $P < 0.05$ ). Compared with the normal group, the serum TG, TC, LDL-C and MDA levels in the model group, *Dendrobium officinale* polysaccharide low- and high- dose groups and metformin group were increased, while the levels of HDL-C and SOD were decreased ( $P < 0.05$ ); Compared with the model group, the serum levels of TG, TC, LDL-C and MDA in all the treatment groups were decreased, while the levels of HDL-C and SOD were increased ( $P < 0.05$ ), and there was no significant difference between *Dendrobium officinale* polysaccharide high-dose group and metformin group ( $P > 0.05$ ). The massive hepatocyte edema and necrosis with disorganized histological structure and uneven arrangement was showed in the model group, while the hepatic histopathological changes in the *Dendrobium officinale* polysaccharide high-dose group and metformin group were significantly improved. Compared with the normal group, the relative protein expression levels of p-IRS2, p-PI3K, p-AKT, mTOR in liver tissues of the model group, *Dendrobium officinale* polysaccharide low-dose, high-dose groups and metformin group were decreased ( $P < 0.05$ ); Compared with the model group, the relative protein expression levels of p-IRS2, p-PI3K, p-AKT, mTOR in liver tissues of all the treatment groups were increased ( $P < 0.05$ ), and there was no significant difference between *Dendrobium officinale* polysaccharide high-dose group and metformin group ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** *Dendrobium officinale* polysaccharide ameliorates abnormal lipid metabolism in diabetic rats, probably by activating the PI3K/AKT signaling pathway.

**Keywords:** *Dendrobium officinale* polysaccharide; diabetes; lipid metabolism; phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B (PI3K/AKT) signaling pathway; rats

随着人们生活方式和饮食方式的改变, 2型糖尿病的患病率不断上升。临床已成功研制出许多口服降糖药, 如磺酰脲类、噻唑烷二酮类等。虽然这些药物降糖疗效显著, 但存在低血糖、过敏反应、胃肠道反应、肝损伤、血液系统不良反应等副作用<sup>[1]</sup>。目前, 寻找疗效好、毒性低的天然抗糖尿病活性成分成为研究的热点。糖尿病属于中医学“消渴”的范畴, 基本病机以阴虚为本, 燥

热为标<sup>[2]</sup>。铁皮石斛是治疗“消渴”的常用中药, 具有生津益胃、滋阴清热的功效<sup>[3]</sup>。铁皮石斛多糖是铁皮石斛中发挥药理作用的主要活性成分<sup>[4]</sup>, 具有抗疲劳、抗氧化、抗癌、降血糖血脂、免疫调节及肝保护等作用<sup>[5-7]</sup>。有研究<sup>[8-9]</sup>表明, 铁皮石斛多糖可改善糖尿病小鼠血脂代谢紊乱, 修复胰岛细胞, 促进胰岛素分泌和肝糖原合成, 减轻肾损伤。然而, 铁皮石斛多糖降糖降脂作用的潜在机

制尚不清楚。基于此,本研究建立糖尿病大鼠模型,观察铁皮石斛多糖对脂代谢异常的改善作用,并探讨其可能的作用机制,以期为临床应用铁皮石斛多糖治疗糖尿病提供新的依据,现将研究结果报道如下。

## 1 材料与方 法

**1.1 实验动物** 90只雄性SPF级6周龄SD大鼠,体质量180~200 g,由上海南方模式生物科技股份有限公司提供,动物生产许可证号:SCXK(沪)2019-0002。饲养于陕西中医药大学实验动物中心,保持温度23~25℃,湿度60%~65%,昼夜12 h交替环境中,适应性饲养7 d。

**1.2 药物、试剂与仪器** 铁皮石斛多糖(北京索莱宝科技有限公司,纯度 $\geq 85\%$ ,批号:180316);盐酸二甲双胍肠溶片(河北医科大学制药厂,国药准字H20083575)。链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)(美国Sigma公司);柠檬酸(天津永大化学试剂有限公司);兔抗大鼠胰岛素受体底物2(IRS2)、磷酸化IRS2(p-IRS2)、磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)、磷酸化PI3K(p-PI3K)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)单克隆抗体和蛋白激酶B(AKT)、磷酸化AKT(p-AKT)多克隆抗体、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白(IgG)抗体(北京全式金生物技术有限公司);甘油三酯(TG)、空腹胰岛素(FINS)酶联免疫吸附分析(ELISA)试剂盒,总胆固醇(TC)检测试剂盒(南京建成生物工程研究所);超氧化物歧化酶(SOD)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、丙二醛(MDA)检测试剂盒(上海晶抗生物公司);高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)检测试剂盒(武汉博士康生物工程有限公司)。Multiskan FC全自动酶标仪(美国Thermo公司)。

**1.3 建模与分组** 随机选取75只大鼠建立糖尿病大鼠模型,剩余15只为正常组。造模方法参照文献[10]:建模大鼠用高糖高脂饲料(质量分数配比:10.0%猪油、20.0%蔗糖、2.5%胆固醇、1.0%胆酸盐、66.5%常规饲料)喂养,正常组大鼠用常规饲料喂养。喂养1个月后,禁食不禁水12 h,建模大鼠给予腹腔注射10 g/L STZ溶液(由0.1 mmol/L柠檬酸缓冲液冰浴配制,现配现用)30 mg/kg,正常组腹腔注射等体积的0.1 mmol/L柠檬酸缓冲液。注射后3 h禁食,给予大鼠30 g/L葡萄糖溶液预防

低血糖。3 d后,所有大鼠禁食12 h,尾静脉采血测空腹血糖(FBG),若 $FBG \geq 16.7$  mmol/L,且维持1周以上,则判断造模成功<sup>[11]</sup>。将造模成功的68只大鼠随机分为模型组,铁皮石斛多糖低、高剂量组和二甲双胍组,每组17只。

**1.4 干预方法** 造模成功24 h后,依照药理实验中动物与人体间的等效剂量换算,参照芦春斌等<sup>[12]</sup>的大鼠给药剂量,铁皮石斛多糖低、高剂量组分别灌胃铁皮石斛多糖100、200 mg/kg,二甲双胍组灌胃盐酸二甲双胍150 mg/kg,正常组和模型组灌胃等体积的生理盐水。每日1次,共干预30 d。

## 1.5 观察指标与方法

**1.5.1 血FBG、FINS检测** 尾静脉取血,应用血糖仪测定各组大鼠药物干预0、15、30 d FBG水平。于药物干预30 d,按照FINS ELISA试剂盒说明书加样,应用酶标仪检测450 nm波长处的吸光度(OD)值,绘制标准曲线,计算FINS的浓度。

**1.5.2 血清TG、TC、LDL-C、HDL-C水平检测** 末次药物干预结束后,各组随机选取7只大鼠,断头取血,以3 500 r/min,离心半径8 cm,离心10 min,得到上清液,-20℃保存备用。取出-20℃保存备用的上清液,分别按照TG、TC、LDL-C、HDL-C试剂盒说明书,应用酶标仪检测大鼠血清TG、TC、LDL-C、HDL-C在500 nm、510 nm、546 nm、546 nm波长处的OD值。各生化指标水平=(样本OD值-空白孔OD值)/(校准品OD值-空白孔OD值) $\times$ 校准品浓度。

**1.5.3 血清SOD、MDA水平检测** 取保存在-20℃的上清液,按照SOD试剂盒说明书加样,采用黄嘌呤氧化酶法测定SOD水平,应用酶标仪测出550 nm波长处的OD值。SOD样品比活力(U/mL)=(对照管OD值-测定管OD值)/对照管OD值 $\div 50\% \times$ 反应体系稀释倍数 $\times$ 样本测试前稀释倍数。

取保存在-20℃的上清液,按照MDA试剂盒说明书加样,采用硫代巴比妥酸法测定MDA水平( $\mu\text{mol/L}$ ),应用酶标仪测出532 nm处的OD值。MDA含量( $\text{nmol}\cdot\text{mL}^{-1}$ )=(测定OD值-对照OD值)/(标准OD值-空白OD值) $\times$ 标准品浓度( $10 \text{ nmol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) $\times$ 样本测试前稀释倍数。

**1.5.4 苏木素-伊红(HE)染色法观察肝脏组织病理学变化** 将剩余大鼠全部处死,快速从腹腔分离出肝脏组织,用生理盐水清洗后,左侧肝脏

组织用 40 g/L 多聚甲醛溶液固定 24 h, 于 4 ℃ 冰箱保存。右侧肝脏组织置于 -80 ℃ 冰箱中保存。将肝脏组织从固定液中取出, 梯度乙醇脱水, 二甲苯处理, 石蜡包埋, 切片 (4 μm), HE 染色, 脱水透明, 中性树脂胶封片, 光学显微镜下观察并拍照。

**1.5.5 蛋白免疫印迹 (Western Blot) 法检测肝脏组织 IRS2、p-IRS2、PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT、mTOR 蛋白相对表达水平** 取 -80 ℃ 保存的肝脏组织 100 mg, 研磨, 加入蛋白提取液冰上裂解, 离心, 取上清, 二喹啉甲酸 (BCA) 法进行蛋白定量; 加入十二烷基硫酸钠 (SDS) 上样缓冲液, 100 ℃ 水浴使蛋白变性, 进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE), 转膜; 50 g/L 脱脂牛奶室温封闭 2 h; 洗膜后分别加入 1:1 000 稀释的 IRS2、p-IRS2、PI3K、p-PI3K、mTOR 单克隆一抗和 AKT、p-AKT 多克隆一抗, 4 ℃ 孵育过夜; 洗膜后加入 1:4 000 稀释辣根过氧化物酶标记的二抗, 室温孵育 1 h; 洗膜后加入电化学发光液 (ECL) 显影。采用 ImageJ 软件分析图像, 以 β-actin 为内参, IRS2、p-IRS2、PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT、mTOR 蛋白相对表达量用目的蛋白条带灰度值与 β-actin 蛋白条带灰

度值的比值表示。

**1.6 统计方法** 采用 SPSS 25.0 统计软件进行数据分析, 计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD-*t* 检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组大鼠血 FBG、FINS 水平比较** FBG、FINS 水平组间比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与正常组比较, 模型组, 铁皮石斛多糖低、高剂量组和二甲双胍组干预 0、15、30 d FBG 水平和 FINS 水平均升高 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 铁皮石斛多糖低、高剂量组和二甲双胍组干预 0 d FBG 水平差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 干预 15、30 d FBG 水平和 FINS 水平均降低 ( $P < 0.05$ ); 铁皮石斛多糖高剂量组干预 15、30 d FBG 水平和 FINS 水平与二甲双胍组比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。随着干预时间 0、15、30 d 增加, 模型组 FBG 水平持续上升, 铁皮石斛多糖低、高剂量组和二甲双胍组 FBG 水平持续下降 ( $P < 0.05$ )。具体结果见表 1。

表 1 各组大鼠 FBG、FINS 水平比较

Table 1 Comparison of FBG and FINS levels of rats in various groups

( $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数(只)	FBG(mmol·L <sup>-1</sup> )			FINS(μU·mL <sup>-1</sup> )
		干预 0 d	干预 15 d	干预 30 d	
正常组	15	5.30 ± 1.67	5.20 ± 1.60	5.50 ± 1.31	5.13 ± 0.73
模型组	17	18.80 ± 1.91 <sup>①</sup>	21.40 ± 2.01 <sup>①④</sup>	23.50 ± 1.91 <sup>①④⑤</sup>	12.31 ± 1.14 <sup>①</sup>
铁皮石斛多糖低剂量组	17	18.90 ± 1.90 <sup>①</sup>	16.70 ± 1.71 <sup>①②③④</sup>	14.30 ± 1.56 <sup>①②③④⑤</sup>	7.26 ± 0.86 <sup>①②③</sup>
铁皮石斛多糖高剂量组	17	18.80 ± 1.89 <sup>①</sup>	15.50 ± 1.61 <sup>①②④</sup>	12.40 ± 1.41 <sup>①②④⑤</sup>	6.02 ± 0.78 <sup>①②</sup>
二甲双胍组	17	18.60 ± 1.91 <sup>①</sup>	15.10 ± 1.62 <sup>①②④</sup>	12.10 ± 1.61 <sup>①②④⑤</sup>	5.88 ± 0.75 <sup>①②</sup>
F 值		191.394	275.488	467.760	288.911
P 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

①  $P < 0.05$ , 与正常组比较; ②  $P < 0.05$ , 与模型组比较; ③  $P < 0.05$ , 与二甲双胍组比较; ④  $P < 0.01$ , 与同组干预 0 d 比较; ⑤  $P < 0.05$ , 与同组干预 15 d 比较

**2.2 各组大鼠血清 TG、TC、LDL-C 和 HDL-C 水平比较** 血清 TG、TC、LDL-C 和 HDL-C 水平组间比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与正常组比较, 模型组, 铁皮石斛多糖低、高剂量组和二甲双胍组血清 TG、TC、LDL-C 水平升高, HDL-C 水平降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 铁皮石斛多糖低、高剂量组和二甲双胍组血清 TG、TC、LDL-C 水平降低, HDL-C 水平升高 ( $P < 0.05$ ); 铁

皮石斛多糖高剂量组血清 TG、TC、LDL-C 和 HDL-C 水平与二甲双胍组比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。具体结果见表 2。

**2.3 各组大鼠血清 SOD 活性、MDA 水平比较** 大鼠血清 SOD 活性、MDA 水平组间比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与正常组比较, 模型组, 铁皮石斛多糖低、高剂量组和二甲双胍组血清 SOD 活性降低, MDA 水平升高 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比

表2 各组大鼠血清TG、TC、LDL-C和HDL-C水平比较

Table 2 Comparison of serum TG, TC, LDL-C and HDL-C levels of rats in various groups ( $\bar{x} \pm s$ , mmol·L<sup>-1</sup>)

组别	鼠数(只)	TG	TC	LDL-C	HDL-C
正常组	7	0.67 ± 0.08	2.14 ± 0.31	0.59 ± 0.07	1.79 ± 0.18
模型组	7	1.52 ± 0.16 <sup>①</sup>	3.42 ± 0.35 <sup>①</sup>	1.35 ± 0.14 <sup>①</sup>	0.72 ± 0.08 <sup>①</sup>
铁皮石斛多糖低剂量组	7	1.32 ± 0.14 <sup>①②③</sup>	3.13 ± 0.32 <sup>①②③</sup>	1.12 ± 0.15 <sup>①②③</sup>	0.96 ± 0.10 <sup>①②③</sup>
铁皮石斛多糖高剂量组	7	1.02 ± 0.11 <sup>①②</sup>	2.78 ± 0.31 <sup>①②</sup>	0.83 ± 0.09 <sup>①②</sup>	1.29 ± 0.13 <sup>①②</sup>
二甲双胍组	7	0.98 ± 0.10 <sup>①②</sup>	2.73 ± 0.31 <sup>①②</sup>	0.84 ± 0.09 <sup>①②</sup>	1.31 ± 0.13 <sup>①②</sup>
F值		50.311	15.792	47.754	69.419
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

①P < 0.05, 与正常组比较; ②P < 0.05, 与模型组比较; ③P < 0.05, 与二甲双胍组比较

较, 铁皮石斛多糖低、高剂量组和二甲双胍组血清SOD活性升高, MDA水平降低( $P < 0.05$ ); 铁皮石斛多糖高剂量组SOD活性、MDA水平与二甲双胍组比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。具体结果见表3。

2.4 各组大鼠肝脏组织病理学表现比较 正常组肝细胞形态正常清晰, 排列规则有序, 组织结构完整。模型组出现大量肝细胞水肿坏死现象, 组织结构紊乱, 排列不均。铁皮石斛多糖低剂量组有少量肝细胞水肿坏死, 细胞排列紊乱, 病理表现较模型组改善。铁皮石斛多糖高剂量组和二甲双胍组肝细胞形态、排列及组织结构正常, 个别肝细胞水肿坏死, 病理表现较模型组明显改善。见图1。

表3 各组大鼠血清SOD活性、MDA水平比较

Table 3 Comparison of serum SOD activity and MDA level of rats in various groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数(只)	SOD(U·mL <sup>-1</sup> )	MDA(nmol·mL <sup>-1</sup> )
正常组	7	389.68 ± 40.23	1.58 ± 0.23
模型组	7	246.51 ± 28.56 <sup>①</sup>	3.76 ± 0.38 <sup>①</sup>
铁皮石斛多糖低剂量组	7	287.57 ± 32.36 <sup>①②③</sup>	3.22 ± 0.33 <sup>①②③</sup>
铁皮石斛多糖高剂量组	7	337.64 ± 34.51 <sup>①②</sup>	2.75 ± 0.28 <sup>①②</sup>
二甲双胍组	7	340.42 ± 35.29 <sup>①②</sup>	2.70 ± 0.28 <sup>①②</sup>
F值		17.796	49.115
P值		<0.001	<0.001

①P < 0.05, 与正常组比较; ②P < 0.05, 与模型组比较; ③P < 0.05, 与二甲双胍组比较

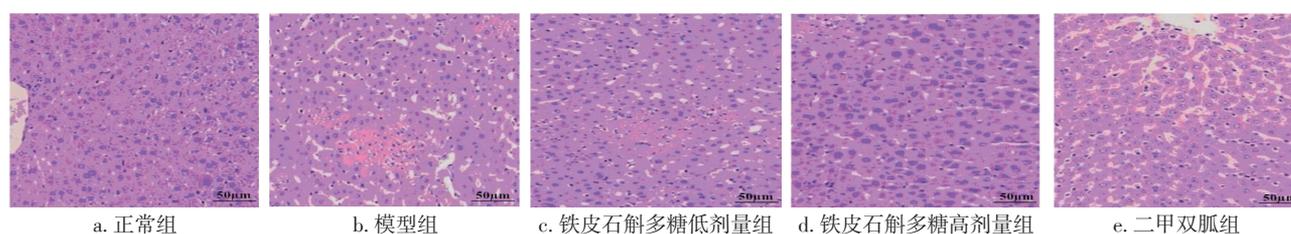


图1 各组大鼠肝脏组织病理表现比较(HE染色法, ×100)

Figure 1 Comparison of liver histopathologic manifestations of rats in various groups (by HE staining, ×100)

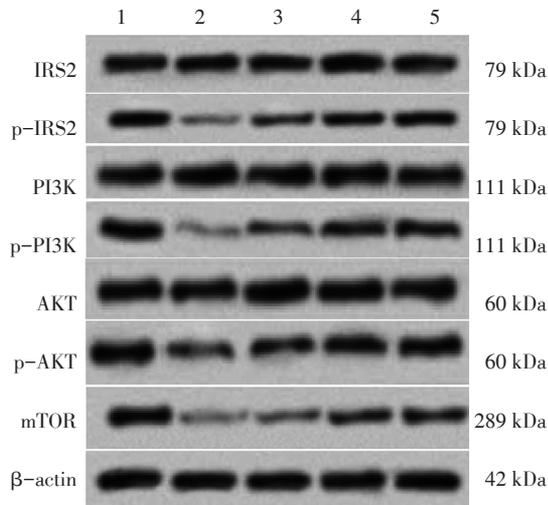
2.5 各组大鼠肝脏组织 IRS2、p-IRS2、PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT、mTOR 蛋白相对表达水平比较 p-IRS2、p-PI3K、p-AKT、mTOR 蛋白相对表达水平组间比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与正常组比较, 模型组, 铁皮石斛多糖低、高剂量组和二甲双胍组肝脏组织 p-IRS2、p-PI3K、p-AKT、mTOR 蛋白相对表达水平降低( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 铁皮石斛多糖低、高

剂量组和二甲双胍组肝脏组织 p-IRS2、p-PI3K、p-AKT、mTOR 蛋白相对表达水平升高( $P < 0.05$ ); 铁皮石斛多糖高剂量组肝脏组织 p-IRS2、p-PI3K、p-AKT、mTOR 蛋白相对表达水平与二甲双胍组比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。而 IRS2、PI3K、AKT 蛋白相对表达水平组间比较, 差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。具体结果见表4、图2。

表 4 各组大鼠肝脏组织 IRS2、p-IRS2、PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT、mTOR 蛋白相对表达水平比较  
Table 4 Comparison of relative protein expression levels of IRS2, p-IRS2, PI3K, p-PI3K, AKT, p-AKT, mTOR in liver tissues of rats in various groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数(只)	IRS2	p-IRS2	PI3K	p-PI3K	AKT	p-AKT	mTOR
正常组	8	1.01 ± 0.11	0.99 ± 0.11	1.22 ± 0.16	0.98 ± 0.10	1.41 ± 0.17	1.21 ± 0.17	1.01 ± 0.11
模型组	10	1.01 ± 0.11	0.39 ± 0.05 <sup>①</sup>	1.24 ± 0.15	0.38 ± 0.05 <sup>①</sup>	1.42 ± 0.16	0.61 ± 0.11 <sup>①</sup>	0.38 ± 0.05 <sup>①</sup>
铁皮石斛多糖低剂量组	10	1.02 ± 0.12	0.61 ± 0.07 <sup>①②③</sup>	1.21 ± 0.17	0.62 ± 0.07 <sup>①②③</sup>	1.40 ± 0.17	0.82 ± 0.12 <sup>①②③</sup>	0.60 ± 0.06 <sup>①②③</sup>
铁皮石斛多糖高剂量组	10	1.01 ± 0.11	0.82 ± 0.09 <sup>①②</sup>	1.22 ± 0.16	0.83 ± 0.09 <sup>①②</sup>	1.41 ± 0.16	0.99 ± 0.12 <sup>①②</sup>	0.84 ± 0.09 <sup>①②③</sup>
二甲双胍组	10	1.02 ± 0.12	0.83 ± 0.09 <sup>①②</sup>	1.23 ± 0.17	0.84 ± 0.09 <sup>①②</sup>	1.42 ± 0.18	1.01 ± 0.14 <sup>①②</sup>	0.85 ± 0.09 <sup>①②</sup>
F 值		0.022	72.865	0.049	78.485	0.025	26.819	86.060
P 值		0.999	< 0.001	0.995	< 0.001	0.999	< 0.001	< 0.001

①P < 0.05, 与正常组比较; ②P < 0.05, 与模型组比较; ③P < 0.05, 与二甲双胍组比较



1. 正常组; 2. 模型组; 3. 铁皮石斛多糖低剂量组; 4. 铁皮石斛多糖高剂量组; 5. 二甲双胍组

图 2 各组大鼠肝脏组织 IRS2、p-IRS2、PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT、mTOR 蛋白相对表达水平比较  
Figure 2 Comparison of relative protein expression levels of IRS2, p-IRS2, PI3K, p-PI3K, AKT, p-Akt and mTOR in liver tissues of rats in various groups

### 3 讨论

糖尿病发病机制复杂, 多数患者伴有血脂代谢异常, 胰岛素在调节血糖过程中发挥了重要的作用, 可通过调节 PI3K/AKT 信号通路, 参与葡萄糖转运和脂肪合成过程, 调节糖脂代谢<sup>[13]</sup>。PI3K/AKT 信号通路是胰岛素的下游分子通路, 与细胞生长、增殖、分化、凋亡、葡萄糖转运有关<sup>[14]</sup>。IRS2 是维持胰岛 β 细胞功能的重要信号蛋白, 胰岛素与胰岛素受体结合后, 使得 IRS2 酪氨

酸位点磷酸化, 磷酸化的 IRS2 酪氨酸残基与 PI3K 的调节亚基 p85 结合, 进而激活下游的 PI3K, 活化的 PI3K 将磷脂酰肌醇磷酸转化为磷脂酰肌醇二磷酸和磷脂酰肌醇三磷酸, 并作为其第二信使激活 AKT, 活化的 AKT 激活 mTOR 的表达, 抑制糖异生限速酶的表达, 减少糖异生, 降低血糖<sup>[15]</sup>。蔡羽<sup>[16]</sup>研究表明, 上调 PI3K/AKT 信号通路中 IRS2、PI3K、AKT、p-AKT 的表达, 可有效改善糖脂代谢, 减轻肝脏、胰腺和肾脏组织损伤, 减少氧化应激。陆梓华等<sup>[17]</sup>研究表明, 上调 IRS2、PI3K、AKT2 的表达与调节 2 型糖尿病大鼠糖脂代谢异常状态有关。另外, 有研究证实, 通过激活 PI3K/AKT 通路, 可减少肝脏细胞脂质新生, 缓解高脂血症模型大鼠肝脏脂质沉积<sup>[18]</sup>。

本研究结果显示, 经铁皮石斛多糖治疗后的糖尿病大鼠 FBG、FINS、TG、TC、LDL-C、MDA 水平降低, HDL-C、SOD 水平升高, 肝脏组织病理学变化得到改善, 且高剂量铁皮石斛多糖与盐酸二甲双胍疗效无明显差异, 提示铁皮石斛多糖可降低血糖, 改善脂代谢, 促进胰岛素正常分泌, 抑制氧化应激反应。另外, 本研究结果亦显示, 经铁皮石斛多糖治疗后的糖尿病大鼠肝脏组织 p-IRS2、p-PI3K、p-AKT、mTOR 蛋白表达上调, 表明脂代谢相关指标得到明显改善, 提示铁皮石斛多糖可能是通过激活 PI3K/AKT 信号通路, 改善脂代谢。

综上所述, 铁皮石斛多糖可改善糖尿病大鼠脂代谢异常, 其可能是通过激活 PI3K/AKT 信号通路发挥作用的。

## 参考文献:

- [1] PALUMBO C, NICOLACI N, LA MANNA A A, et al. Association between central diabetes insipidus and type 2 diabetes mellitus[J]. *Medicina (B Aires)*, 2018, 78(2): 127-130.
- [2] XIAO E, LUO L. Alternative therapies for diabetes: a comparison of western and traditional Chinese medicine (TCM) approaches[J]. *Curr Diabetes Rev*, 2018, 14(6): 487-496.
- [3] LIANG J, WU Y, YUAN H, et al. Dendrobium officinale polysaccharides attenuate learning and memory disabilities via anti-oxidant and anti-inflammatory actions[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 126: 414-426.
- [4] LIU Y, YANG L, ZHANG Y, et al. Dendrobium officinale polysaccharide ameliorates diabetic hepatic glucose metabolism via glucagon-mediated signaling pathways and modifying liver-glycogen structure[J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 248: 112308.
- [5] LI L, YAO H, LI X, et al. Destiny of dendrobium officinale polysaccharide after oral administration: indigestible and nonabsorbing, ends in modulating gut microbiota[J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(21): 5968-5977.
- [6] YU W, REN Z, ZHANG X, et al. Structural characterization of polysaccharides from Dendrobium officinale and their effects on apoptosis of HeLa cell line[J]. *Molecules*, 2018, 23(10): 2484.
- [7] YUAN Y, ZHANG J, LIU X, et al. Tissue-specific transcriptome for Dendrobium officinale reveals genes involved in flavonoid biosynthesis[J]. *Genomics*, 2020, 112(2): 1781-1794.
- [8] 樊溢. 铁皮石斛多糖体内外降糖降脂功能初探[D]. 太原: 山西大学, 2018: 25-29.
- [9] 王云威, 王景雪. 铁皮石斛多糖对2型糖尿病小鼠降糖降脂的作用[J]. *食品科学*, 2020, 41(21): 136-141.
- [10] YU S, CHENG Y, ZHANG L, et al. Treatment with adipose tissue-derived mesenchymal stem cells exerts anti-diabetic effects, improves long-term complications, and attenuates inflammation in type 2 diabetic rats[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 333.
- [11] 王梦, 张泽生, 刘暄, 等. D-松醇复配Mn<sup>2+</sup>对2型糖尿病大鼠的降血糖作用及其机制的研究[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(9): 308-313, 320.
- [12] 芦春斌, 张裕明, 朱倍倍, 等. 铁皮石斛多糖对顺铂引起的雄鼠生殖系统损伤的影响[J]. *中国药学杂志*, 2019, 54(1): 28-35.
- [13] 郭杨志, 杜娟, 姜敏. 白虎汤调节IRS-1/PI3K/Akt信号通路对2型糖尿病大鼠血糖, 血脂代谢及血管重构的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(1): 31-38.
- [14] ZHANG W, ZHOU Q, WEI Y, et al. The exosome-mediated PI3k/Akt/mTOR signaling pathway in cervical cancer[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2019, 12(7): 2474-2484.
- [15] 周琦, 朱向东, 仝小林, 等. 葛根芩连汤对2型糖尿病模型大鼠胰岛细胞IRS-2/PI3K-Akt通路的影响[J]. *中医杂志*, 2018, 59(11): 973-977.
- [16] 蔡羽. 桑瓜饮干预2型糖尿病大鼠的作用及其PI3K/Akt信号通路机制研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2018: 3-72.
- [17] 陆梓华, 吕雄, 曹明满, 等. 舒正颗粒对2型糖尿病大鼠糖脂代谢异常PI3K/AKT信号通路的影响[J]. *广州中医药大学学报*, 2020, 37(1): 128-134.
- [18] 金传阳. 麦粒灸通过PI3k/Akt信号通路下调SREBP1c改善高脂血症大鼠肝脏脂质代谢[D]. 南京: 南京中医药大学, 2019: 1-84.

【责任编辑: 侯丽颖】