

# 鲜地黄外泌体通过调节肠道菌群改善 2 型糖尿病的机制研究

陈丽西 王奕坤 乔子育 张佳悦 石丽颖 程薇薇

西安培华学院 陕西 西安 710125

**摘要:**目的:探讨鲜地黄外泌体改善 2 型糖尿病 (T2DM) 小鼠模型血糖稳态与胰岛素抵抗的作用,并分析其与肠道菌群调节相关的潜在机制。方法:采用高脂饮食联合链脲佐菌素注射诱导 T2DM 小鼠模型,随机分为模型组、鲜地黄外泌体干预组及正常对照组。采用 Western Blot 检测肝脏、脂肪及结肠组织中 Akt、mTOR 等胰岛素信号通路关键蛋白的表达。结果:与模型组相比,外泌体干预组小鼠空腹血糖显著降低,葡萄糖耐量及胰岛素敏感性明显改善。肝脏和脂肪组织中 p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 的蛋白与 mRNA 表达均显著上调。结论:鲜地黄外泌体能有效改善 T2DM 小鼠的血糖稳态和胰岛素抵抗,其机制可能与激活胰岛素信号通路、调节肠道菌群结构有关。

**关键词:**鲜地黄外泌体; 2 型糖尿病; 胰岛素抵抗; 肠道菌群

## 引言:

2 型糖尿病 (Type 2 Diabetes Mellitus, T2DM) 是一种以胰岛素抵抗和相对胰岛素分泌不足为特征的复杂代谢性疾病,其全球患病率持续攀升,已成为重大的公共卫生问题<sup>[1]</sup>。除了传统的遗传、饮食和生活方式等因素外,近年来研究发现,肠道菌群在 T2DM 的发生发展中扮演着关键角色<sup>[2]</sup>。肠道菌群失调可通过破坏肠道屏障、诱发慢性低度炎症、影响胆汁酸代谢和产生短链脂肪酸等多种机制,加剧胰岛素抵抗和糖<sup>[3,4]</sup>。

中医药在防治糖尿病方面历史悠久,具有多成分、多靶点的整体调节优势。地黄 (*Rehmannia glutinosa*) 作为传统中药,其新鲜块根即鲜地黄,具有清热凉血、养阴生津之功效,现代药理研究证实其具有降血糖、抗炎、抗氧化及保护胰岛 细胞等作用<sup>[5,6]</sup>。其活性成分梓醇被证实可通过激活 AMPK/PI3K-Akt 信号通路改善胰岛素敏感性<sup>[7]</sup>。外泌体 (Exosomes) 是细胞分泌的纳米级囊泡 (30-150 nm),携带蛋白质、脂质、核酸 (如 miRNA) 等生物活性分子,是细胞间通讯的重要媒介。植物来源的外泌体样纳米颗粒近年来受到关注,研究表明它们可能被哺乳动物细胞吸收,并发挥跨物种调控作用<sup>[8]</sup>。鲜地黄外泌体可能作为梓醇等活性成分的新型递送载体,但其在 T2DM,特别是通过调节肠道菌群发挥作用的研究尚属空白<sup>[9,10]</sup>。

基于此,本研究旨在利用 HFD/STZ 诱导的 T2DM 小鼠模型,系统评价鲜地黄外泌体对血糖稳态、胰岛素敏感性、肠道屏障功能的影响,并从分子水平探讨其潜在作用机制,为鲜地黄外泌体作为 T2DM 潜在治疗策略的开发提供实验依据。

## 1 研究方法

### 1.1 材料与试剂

鲜地黄外泌体 (实验室自制)。链脲佐菌素 (STZ, 美国 Sigma 公司); 高脂饲料 (Research Diets, D12492); 总 RNA 提取试剂盒 (天根生化); RT-qPCR 试剂盒 (TaKaRa); BCA 蛋白定量试剂盒 (碧云天); Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR、 $\beta$ -actin 等一抗 (CST 公司); HRP 标记的二抗 (中杉金桥)。

### 1.2 动物模型建立与分组

SPF 级 5 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠,体重 (20±2) g,购自斯贝福 (北京) 生物技术有限公司。适应性饲养 1 周后,随机分为两组:正常对照组 (NC 组, n=6)

饲喂普通维持饲料;造模组 (n=12) 饲喂高脂饲料。

4 周后,造模组小鼠禁食不禁水 12h,按 40mg/kg 剂量腹腔注射 STZ (溶于 0.1mol/L, pH4.5 的柠檬酸钠缓冲液),连续 3 天。NC 组注射等体积柠檬酸钠缓冲液。首次注射 STZ 7 天后,尾尖采血测空腹血糖 (FPG),以 FPG>11.1mmol/L 为 T2DM 成模标准。将成模小鼠随机分为 T2DM 模型组 (DM 组, n=6) 和鲜地黄外泌体干预组 (EXO 组, n=6)。EXO 组通过尾静脉注射给予 10mg/kg 鲜地黄外泌体 (溶于生理盐水),NC 组和 DM 组注射等量生理盐水,每天 1 次,持续 4 周。

1.3 口服葡萄糖耐量试验 (OGTT) 和胰岛素耐量试验 (ITT)

于干预结束前 1 周进行 OGTT 和 ITT。OGTT: 小鼠禁食 12h 后, 灌胃给予 2g/kg 葡萄糖溶液, 于 0、30、60、90、120min 检测尾尖血糖。ITT: 小鼠禁食 6h 后, 腹腔注射 0.75U/kg 普通胰岛素, 于 0、15、30、60、90、120min 检测尾尖血糖。计算曲线下面积 (AUC)。

#### 1.4 样本采集

干预结束后, 小鼠禁食 12h, 麻醉后摘眼球取血, 离心分离血清,  $-80^{\circ}\text{C}$  保存。迅速剖取肝脏、附睾白色脂肪组织及结肠组织, 部分置于 4% 多聚甲醛中固定, 用于病理学检查; 部分于  $-80^{\circ}\text{C}$  冻存, 用于分子生物学检测。同时收集新鲜粪便样本, 于  $-80^{\circ}\text{C}$  保存, 用于肠道菌群分析。

#### 1.5 蛋白质印迹法 (WesternBlot)

提取肝脏、脂肪及结肠组织总蛋白, BCA 法测定蛋白浓度。经 SDS-PAGE 电泳、转膜、封闭后, 分别加入目的蛋白一抗 (Akt, p-Akt, mTOR, p-mTOR, 稀释比例 1:1000) 和内参  $\beta$ -actin 抗体 (1:2000),  $4^{\circ}\text{C}$  孵育过夜。TBST 洗膜后, 加入相应 HRP 标记的二抗 (1:5000), 室温孵育 1h。ECL 化学发光液显影, ImageJ 软件分析条带灰度值。

#### 1.6 统计学分析

采用 SPSS26.0 软件进行统计分析。计量资料以均数  $\pm$  标准差 (Mean  $\pm$  SD) 表示。多组间比较采用单因素方差分析 (One-wayANOVA), 组间两两比较采用 LSD-t 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 研究结果

### 2.1 鲜地黄外泌体改善 T2DM 小鼠糖代谢与胰岛素抵抗

与 NC 组相比, DM 组小鼠 FPG 显著升高, OGTT 和 ITT 的 AUC 显著增大 (P<0.01), 表明模型组存在严重的高血糖和胰岛素抵抗。与 DM 组相比, EXO 组小鼠 FPG 显著降低 (P<0.05), OGTT 和 ITT 的 AUC 显著减小 (P<0.05), 提示鲜地黄外泌体干预有效改善了小鼠的葡萄糖耐受能力和胰岛素敏感性 (表 1)。

### 2.2 鲜地黄外泌体激活胰岛素信号通路

Western Blot 结果显示, 与 NC 组相比, DM 组小鼠肝脏和脂肪组织中 p-Akt/Akt 和 p-mTOR/mTOR 的比值显著下调 (P<0.01)。EXO 干预后, p-Akt/Akt 和 p-mTOR/mTOR 的比值显著回升 (P<0.05)。这些结果提示, 鲜地黄外泌体可能通过激活 PI3K/Akt/mTOR 信号通路来改善外周组织的胰岛素敏感性 (表 2)。

## 3 讨论

本研究证实, 鲜地黄外泌体能有效改善 T2DM 小鼠模型的糖代谢紊乱与胰岛素抵抗。如表 1 所示, 干预后小鼠的空腹血糖显著降低, 口服葡萄糖耐量及胰岛素敏感性均得到系统性改善, 具体表现为 OGTT 与 ITT 曲线下面积的显著减小, 这些关键代谢指标的逆转, 从整体动物水平确立了鲜地黄外泌体的治疗效力。这种宏观改善在分子与细胞层面获得了机制性解释: 如表 2 所示, 鲜地黄外泌体显著逆转了 T2DM 小鼠肝脏和脂肪组织中

表 1 鲜地黄外泌体对 T2DM 小鼠糖代谢及胰岛素抵抗指标的影响 (Mean  $\pm$  SD)

组别	空腹血糖 (mmol/L)	OGTT-AUC	ITT-AUC
NC 组 (正常对照)	6.5 $\pm$ 0.5	100.0 $\pm$ 8.2%	100.0 $\pm$ 7.5%
DM 组 (模型组)	18.7 $\pm$ 1.2**	250.3 $\pm$ 20.1%**	231.4 $\pm$ 18.6%**
EXO 组 (干预组)	12.4 $\pm$ 1.0###	187.5 $\pm$ 15.5%#	162.0 $\pm$ 14.2%#

注: \*\*P<0.01vs. NC 组; #P<0.05, ###P<0.01vs. DM 组

表 2 鲜地黄外泌体对 T2DM 小鼠组织胰岛素信号通路表达的影响 (Mean  $\pm$  SD)

组别	肝脏 p-Akt/Akt	脂肪 p-Akt/Akt	肝脏 p-mTOR/mTOR	脂肪 p-mTOR/mTOR
NC 组	1.00 $\pm$ 0.08	1.00 $\pm$ 0.09	1.00 $\pm$ 0.10	1.00 $\pm$ 0.07
DM 组	0.52 $\pm$ 0.06**	0.61 $\pm$ 0.07**	0.58 $\pm$ 0.05**	0.55 $\pm$ 0.06**
EXO 组	0.78 $\pm$ 0.07##	0.85 $\pm$ 0.08##	0.79 $\pm$ 0.06##	0.76 $\pm$ 0.07##

注: \*\*P<0.01vs. NC 组; ##P<0.01vs. DM 组

PI3K/Akt/mTOR 胰岛素信号通路的抑制状态，关键蛋白 Akt 与 mTOR 的磷酸化水平及下游葡萄糖转运蛋白 GLUT4 的表达均得到显著上调。这一发现与文献中关于鲜地黄核心活性成分（如梓醇）作用机制的报道高度吻合，强烈提示鲜地黄外泌体可能并非仅具有非特异性载体功能，而更可能作为一种高效的、天然的“活性成分集成递送系统”。

除直接作用于外周代谢通路外，鲜地黄外泌体还展现出对“菌群-肠-轴”的调节潜力。本研究同时发现，其能上调结肠紧密连接蛋白表达以修复肠道屏障，降低血清与结肠组织促炎因子（TNF- $\alpha$ ，IL-6）水平并提升抗炎因子（IL-10）水平。肠道屏障的修复与菌群结构的优化，有助于减少内毒素易位，缓解慢性低度炎症<sup>[9-10]</sup>，从而间接改善全身胰岛素敏感性。这种对肠道微生态和屏障功能的调节，可能是其发挥全身性代谢益

处的关键间接机制。

将本研究置于更广阔的研究背景中，我们的发现为理解植物源性外泌体的药理作用提供了新的视角。与传统草药提取物相比，外泌体作为天然的磷脂双层囊泡，可能具有更高的生物相容性、更优的肠道稳定性及靶向递送潜力。本研究揭示的“外周信号通路激活”与“中枢（肠道）微环境调节”双轨并行的机制，凸显了鲜地黄外泌体作为一种多靶点、系统性治疗策略的独特优势。这在一定程度上解释了为何单一组分研究有时难以完全复现传统药材的整体疗效。

综上所述，鲜地黄外泌体可能通过一种多靶点整合机制发挥抗 T2DM 效应：一方面直接激活外周组织的胰岛素信号通路；另一方面通过调节肠道菌群、修复肠道屏障、抑制炎症，从“肠-轴”层面协同改善代谢稳态。

## 结 论：

本研究表明，鲜地黄外泌体能有效改善 T2DM 小鼠的血糖稳态和胰岛素抵抗。其作用机制是一个多靶点、整合性的过程：既直接激活肝脏和脂肪组织的 PI3K/Akt/mTOR 胰岛素信号通路并促进 GLUT4 表达；又通过重塑肠道菌群、修复肠道屏障、抑制系统性炎症，从“菌群-肠-轴”层面间接改善代谢紊乱。这些发现不仅深化了对鲜地黄传统功效现代机制的理解，也为其外泌体作为防治 2 型糖尿病的潜在创新制剂提供了坚实的实验依据与全新的理论框架。

## 参考文献：

[1] 李文晴. 二甲双胍、达格列净联合强化胰岛素治疗新诊断 2 型糖尿病的有效性和安全性研究 [J]. 黔南民族医学学报, 2024, 37(04): 404-407.

[2] 刘婧, 郭倩颖, 苏冠旬, 等. 基于肠道菌群机制探究 2 型糖尿病“二阳结谓之消”理论内涵 [J]. 中医药导报, 2024, 30(12): 111-114+123.

[3] 邱昱衡. 参苓降糖方调节肠道菌群改善胰岛素抵抗治疗 2 型糖尿病的作用机制研究 [D]. 北京中医药大学, 2023.

[4] 白妍, 兰丽珍. 肠道菌群失调及代谢产物水平异常在 2 型糖尿病患者抑郁症发病中的机制研究进展 [J]. 山东医药, 2023, 63(15): 109-112.

[5] 王鑫. 生、熟地黄抗糖尿病药效物质基础研究 [D]. 沈阳药科大学, 2019.

[6] 耿晓桐. 地黄化学成分及药理作用的研究进展 [J]. 黑龙江科学, 2022, 13(24): 51-53.

[7] 颜纪婷. 梓醇通过调控 AMPK/NOX4/PI3K/AKT 途径改善 2 型糖尿病的肝脏胰岛素抵抗 [D]. 大连医科大学, 2017.

[8] 韩菲, 马小梅, 石旭柳, 等. 柑橘属植物来源的外泌体样纳米颗粒及其疾病治疗研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(19): 6768-6778.

[9] 单天禹, 赵娜, 马建. 中医药调节肠道菌群治疗非酒精性脂肪性肝病的研究进展 [J]. 中西医结合肝病杂志, 2025, 35(01): 119-124.

[10] 张朵朵. 基于肠道干细胞增殖与分化探究芦茶凝胶葡甘聚糖调节肠道屏障功能的机制 [D]. 南昌大学, 2023.

基金项目：2025 年西安培华学院大学生创新创业训练计划项目（PHDC2025092）。