

辣木叶多糖对STZ诱导糖尿病小鼠的降糖效果及其机制

张世奇, 王睿, 李成良, 李佳倩, 陶虹利, 邓雨洁, 张卫国

Hypoglycemic Effect of *Moringa oleifera* Leaf Polysaccharide on STZ-induced Diabetic Mice and Its Mechanism

ZHANG Shiqi, WANG Rui, LI Chengliang, LI Jiaqian, TAO Hongli, DENG Yujie, and ZHANG Weiguo

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024040369>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

贻贝多糖对胰岛素抵抗HepG2细胞糖代谢的影响

Effects of Mussel Polysaccharides on Glucose Metabolism in Insulin-resistant HepG2 Cells

食品工业科技. 2023, 44(15): 385-391 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022080122>

蓝莓花青素对2型糖尿病小鼠糖脂代谢的调节作用

Regulation Effects of Blueberry Anthocyanins on Glucose-Lipid Metabolism in Type 2 Diabetic Mice

食品工业科技. 2022, 43(9): 381-388 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021090155>

虾青素酯对高脂高糖饮食致小鼠胰岛素抵抗的影响

Effect of Astaxanthin Esters on Insulin Resistance in Mice Fed with High-fat and High-sucrose Diet

食品工业科技. 2019, 40(23): 290-295 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.23.047>

不同配比红花籽、亚麻籽油对Ⅱ型糖尿病小鼠血糖的影响

Effects of Different Proportions of Safflower Seed and Flaxseed Oil on Blood Glucose in Type II Diabetic Mice

食品工业科技. 2020, 41(7): 314-319 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.07.052>

直穗小檗果粉对STZ诱导的Ⅰ型糖尿病大鼠糖脂代谢的调节作用

Effect of *Berberis dasystachya* Maxim. Fruit Powder on Glucose and Lipid Metabolisms in STZ-Induced Type I Diabetic Rats

食品工业科技. 2020, 41(4): 298-306 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.04.051>

桑枝低聚糖对高脂饮食/链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠的降血糖活性

Hypoglycemic Activity of *Ramulus mori* Oligosaccharides on High-fat Diet/Streptozotocin-Induced Diabetic Mice

食品工业科技. 2023, 44(4): 419-427 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022050315>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

张世奇, 王睿, 李成良, 等. 辣木叶多糖对 STZ 诱导糖尿病小鼠的降糖效果及其机制 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(19): 357–365.
doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024040369

ZHANG Shiqi, WANG Rui, LI Chengliang, et al. Hypoglycemic Effect of *Moringa oleifera* Leaf Polysaccharide on STZ-induced Diabetic Mice and Its Mechanism[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(19): 357–365. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024040369

· 营养与保健 ·

辣木叶多糖对 STZ 诱导糖尿病小鼠的 降糖效果及其机制

张世奇¹, 王睿^{2,3}, 李成良³, 李佳倩³, 陶虹利³, 邓雨洁³, 张卫国^{1,*}

(1. 岭南师范学院食品科学与工程学院, 广东湛江 524048;

2. 重庆第二师范学院儿童营养与健康发展协同创新中心, 重庆 400067;

3. 重庆第二师范学院生物与化学工程学院, 重庆 400067)

摘要: 为探讨辣木叶多糖 (*Moringa oleifera* leaf polysaccharide, MOLP) 对糖尿病小鼠的降糖效果及其机制, 通过建立链脲佐菌素 (Streptozotocin, STZ) 诱导糖尿病小鼠模型, 将实验小鼠设为正常空白组、模型组、MOLP 低剂量组 (100 mg/kg·bw)、中剂量组 (200 mg/kg·bw)、高剂量组 (400 mg/kg·bw) 和阳性药物组 (盐酸二甲双胍 200 mg/kg·bw), 每组 8 只, 灌胃 28 d, 测定空腹血糖、血清糖化蛋白、血清胰岛素、肝/肌糖原等生化指标, 对肝脏和胰腺中糖代谢关键基因 (肝 X 受体 (Liver X Receptor, *LXR*)、胰腺十二指肠同源异形盒 1 (Pancreatic duodenal homeobox-1, *PDX-1*)、葡萄糖激酶 (Glucoskinase, *GK*)、磷酸烯醇丙酮酸羧激酶 (Phosphoenolpyruvate carboxykinase, *PEPCK*)、葡萄糖 6 磷酸酶 (Glucose-6-phosphatase, *G6Pase*)、葡萄糖转运载体 2 (Glucose transporter type 2, *GLUT2*)、胰岛素受体底物 1/2 (Insulin receptor 1/2, *IRS1/2*)) 进行测定, 并对各组小鼠肝脏和胰腺组织进行 HE 染色, 观察其组织形态。结果表明: MOLP 降糖效果显著, 且呈现一定的量效反应关系, MOLP 高剂量组 (400 mg/kg·bw) 的血糖降低水平最为接近阳性药物组, 其相关机制为表达显著上调的 *LXR* 和 *PDX-1* 通过调控其下游基因 *PEPCK*、*G6Pase*、*GK*、*GLUT2* 和 *IRS1/2* mRNA 表达, 从而改善糖尿病小鼠的糖代谢紊乱, 使其损伤的肝脏组织和胰腺组织得到有效改善, 血清胰岛素和肝糖原含量增加, 最终达到降血糖作用。

关键词: 辣木叶多糖, STZ 诱导小鼠, 降血糖, 糖代谢, 胰岛素

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)19-0357-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024040369



本文网刊:

Hypoglycemic Effect of *Moringa oleifera* Leaf Polysaccharide on STZ-induced Diabetic Mice and Its Mechanism

ZHANG Shiqi¹, WANG Rui^{2,3}, LI Chengliang³, LI Jiaqian³, TAO Hongli³, DENG Yujie³, ZHANG Weiguo^{1,*}

(1. College of Laboratory of Food Science and Engineering, Lingnan Normal University,

Zhanjiang 524048, China;

2. Collaborative Innovation Center for Child Nutrition and Health Development, Chongqing University of Education,

Chongqing 400067, China;

3. School of Biological & Chemical Engineering, Chongqing University of Education, Chongqing 400067, China)

Abstract: To explore the hypoglycemic effect of *Moringa oleifera* leaf polysaccharide (MOLP) on diabetic mice and its corresponding mechanism, a streptozotocin (STZ)-induced diabetic mouse was modeled. The mice were then divided into

收稿日期: 2024-04-24

基金项目: 广东省基础与应用基础研究基金自然科学基金项目 (2022A1515010360); 2021 年度湛江市海洋青年人才创新项目 (2021E05022); 岭南师范学院校级人才专项 (ZL1817)。

作者简介: 张世奇 (1983-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品化学与营养学, E-mail: qiqiqi249@163.com。

* 通信作者: 张卫国 (1976-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品营养学, E-mail: sgxyzgw@126.com。

groups exposed to low (100 mg/kg·bw), medium (200 mg/kg·bw), and high dosage (400 mg/kg·bw) of MOLP, with a normal blank group, model group and a positive drug group (hydrochloric acid dimethylbiguanide, 200 mg/kg·bw). Eight mice in each group were gavaged for 28 d. Fasting blood glucose, serum glycated protein, serum insulin, hepatic/myocardial glycogen and other biochemical indexes were determined. Additionally, the key genes of glucose metabolism, including liver X receptor (*LXR*), pancreatic-duodenal homeobox-1 (*PDX-1*), glucokinase (*GK*), phosphoenolpyruvate carboxykinase (*PEPCK*), glucose 6-phosphatase (*G6Pase*), glucose transporter type 2 (*GLUT2*) and insulin receptor substrate 1/2 (*IRS1/2*) were measured in the liver and the pancreas. Furthermore, the mice's liver and pancreas tissues in each group were stained with HE to observe their histomorphology. The results showed that MOLP exhibited a significant hypoglycemic effect and a dose-response relationship. The level of blood glucose reduction in the MOLP high-dose group (400 mg/kg·bw) was closest to that of the positive drug group. The underlying mechanism was that the significantly upregulated expression of *LXR* and *PDX-1* ameliorated the glucose metabolism disorders in diabetic mice by regulating the expression of their downstream genes including *PEPCK*, *G6Pase*, *GK*, *GLUT2* and *IRS1/2* mRNA. This regulation facilitated the improvement of the damaged liver and pancreatic tissues, increased serum insulin and hepatic glycogen content and ultimately resulted in a hypoglycemic effect.

Key words: *Moringa oleifera* leaf polysaccharide; STZ induced mice; lowering blood sugar; glucose metabolism; insulin

糖尿病是一种常见的慢性代谢性疾病,由胰腺分泌功能缺陷或胰岛素作用缺陷引起的,其主要特征是胰岛素分泌不足或细胞对胰岛素敏感性降低,导致血糖水平失控。根据糖尿病的病因和发病机制,可分为 1 型糖尿病、2 型糖尿病(Type 2 diabetics, T2DM)、妊娠糖尿病和其他特殊类型糖尿病^[1]。目前,糖尿病的治疗主要是通过药物、饮食和体育运动等综合措施,维持血糖在正常范围(或接近正常),从而改善血糖水平,起到预防糖尿病并发症的发生和发展的作用^[2]。近年来,糖尿病患病率持续上升,给患者和社会带来了沉重的负担,糖尿病的防治形势发生了很大变化。为了适应这一新的形势,优化糖尿病的治疗策略显得尤为重要,而在众多的糖尿病治疗策略中,如何开发降糖效果显著且副作用低的新型降糖药物成为一个热门话题。基于上述要求,具有显著降糖活性且易于被糖尿病患者接受的天然产物活性成分——辣木叶多糖(*Moringa oleifera* leaf polysaccharide, MOLP)逐渐走进大众的视线,成为众多医学研究者所关注的对象^[3]。

辣木(*Moringa oleifera*)为辣木科辣木属多年生植物,其根、茎、叶、种子等既可食用又极具药用价值。相关研究表明,辣木叶水提物(Extract of *Moringa oleifera* leaves, EMO)能够显著降低糖尿病大鼠血糖水平、修复损伤的肝脏和胰岛,在降糖方面具有显著活性^[4-8]。如 Carrie 等^[9]和 Toma 等^[10]通过动物实验发现,EMO 能够显著提高胰岛素敏感性,改善胰岛素抵抗,具有显著降糖作用。Woldekidan 等^[11]和 Al-malki 等^[12]研究结果也表明,口服 EMO(250 mg/kg 和 500 mg/kg)28 d 具有抗高血糖、增加血液中胰岛素水平,修复损伤的胰腺 β 细胞等作用。相关临床试验也表明 EMO 能够明显降低 2 型糖尿病患者的餐后血糖浓度以及糖化血红蛋白(Glycosylated hemoglobin, HbA1c)的水平,且无任何毒副作用^[13-14]。但 EMO 成分较为复杂,含有多糖、黄酮及蛋白等物质,究竟是何种活性成分具有降

糖作用,目前尚无定论。基于前期试验结果表明,EMO 中多糖为其主要成分(35.2%),黄酮(4.3%)及蛋白(5.1%)含量占比较少^[15-17],推测 MOLP 极有可能为 EMO 中的降糖活性成分,相关研究也证明 MOLP 具有较好的降糖效果,如汪芳等^[18]利用柱层析分离技术,从 MOLP 分离得到两个多糖组分 MOs-2-a、MOs-2-b,其结果表明 MOs-2-a、MOs-2-b 均能显著增加胰岛素抵抗,具有良好的降糖效果;李巧琳^[19]通过动物实验证明 MOLP 具有改善糖尿病大鼠葡萄糖耐受量、高胰岛素血症、保护并修复胰岛组织等作用。上述研究证实了 MOLP 显著的降糖活性,但其在胰腺以及肝脏的潜在降糖机制尚未涉及,仍需要进一步的深入研究。

综上,相关研究表明 MOLP 降糖效果显著,可通过多种途径改善糖尿病及其并发症,但其潜在降糖机制较少有研究涉及,在肝脏(胰岛素的主要靶器官之一)或胰腺(调控胰岛素分泌)内是否存在降糖信号通路,仍有待进一步的研究。基于此,本研究以 STZ 诱导糖尿病小鼠为模型,从糖代谢调控的角度入手(糖尿病是以糖代谢紊乱为主要特征的慢性代谢疾病),综合分析糖代谢相关的生化指标和分子生物学指标,探讨 MOLP 对 STZ 诱导的糖尿病小鼠的降糖效果及其作用机制,以期天然降糖药物的开发和辣木资源的高值化利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

SPF 级昆明(KM)小鼠 雄性,4 周龄,体质量(20 $\pm$ 2)g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,动物许可证号:SCXK(湘)2019-0004,饲养于重庆第二师范学院动物实验中心,此研究已获得重庆第二师范学院动物伦理委员会批准,批准号为:2023041101B,并严格遵循国家以及国际动物实验伦理原则;辣木叶 湛江佳池塘辣木种植基地;DEAE-52 南京都莱生物技术有限公司;基础饲料 重庆恩彼生物科技有限公司;柠檬酸钠缓冲液 上海阿拉丁生化科

技股份有限公司; 盐酸二甲双胍片 中美上海施贵宝制药有限公司; STZ 美国 Sigma 公司; 糖化血清蛋白(Glycosylated serum protein, GSP)试剂盒、血清胰岛索试剂盒、肝/肌糖原试剂盒 南京建成生物科技股份有限公司; cDNA 逆转录试剂、qPCR 预混液 翌圣生物科技(上海)股份有限公司。

RE-2000B 旋转蒸发仪 上海亚荣生化仪器厂; BS-100A 自动部分收集器 上海沪西分析仪器公司; AUY120 电子天平 日本岛津公司; AC85 可见分光光度计 上海元析仪器有限公司; DGJ-10C 真空冷冻干燥机 上海博登生物科技有限公司; 血糖仪与配套血糖试纸 美国罗氏公司; Varioskan Flash 多功能酶标仪、StepOnePlus 实时荧光定量 PCR 仪 赛默飞世尔科技(苏州)有限公司; iCEN-24R 台式高速冷冻离心机、Nano-300 微量分光光度计 杭州奥盛仪器有限公司; A200 梯度 PCR 扩增仪 杭州朗基科学仪器有限公司; BX43 正置显微镜 日本奥林巴斯仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 EMO 和 MOLP 的制备

1.2.1.1 EMO 的制备 参考孙劲毅等^[15-17]前期研究, 称取 10 g 辣木叶干粉, 按照料液比 1:25 加入去离子水, 65 ℃, 采用 105 W 超声提取 43 min, 离心 15 min(6000 r/min)后取上清液, 剩余固体残渣依照上述方法重复提取 1 次, 合并上清液, 将所得上清液旋转蒸发浓缩, 再经真空冷冻干燥后即得 EMO, 采用苯酚-硫酸法(参考 GB/T 15672-2009)、NaNO₂-Al(NO₃)₃ 比色法和凯氏定氮法(GB 5009.5-2016)测定 EMO 中所含多糖、黄酮和蛋白含量, 经测定 EMO 中含多糖 35.2%、黄酮 4.3% 和蛋白质 5.1%。

1.2.1.2 MOLP 制备 参考 Sharma 等^[20]研究方法, 取适量 EMO, 添加纯水溶解, 采用 Sevag 法除蛋白(10 次)后装入透析袋(分子截留量 3500 Da)中, 于 4 ℃ 透析 24 h 后旋转蒸发浓缩(70 ℃), 再加入无水乙醇将体系乙醇体积分数调至 75%, 得到棕灰色絮状沉淀, 4 ℃ 冰箱静置过夜, 离心 15 min(6000 r/min)得到沉淀, 再将所得多糖沉淀溶解后使用 DEAE-52 柱层析法进行纯化, 将纯化后所得多糖液体集中收集, 再经旋转蒸发浓缩后真空冷冻干燥, 即可得到 MOLP(经苯酚硫酸法测定多糖纯度为 75.8%, 剩余成分为叶绿素、酚类物质、水溶性蛋白及少量杂质), 自封袋密封于 4 ℃ 冰箱中保存备用。

1.2.2 MOLP 和盐酸二甲双胍灌胃溶液配制 按照 0.20 mL/10 g 体质量灌胃给药, 精确称取适量 MOLP 和盐酸二甲双胍溶于蒸馏水中, 配制 80 mg/mL 的 MOLP 溶液, 将其存储于 4 ℃ 冰箱待用。

1.2.3 动物模型诱导与饲养 将 60 只昆明雄性小鼠适应性喂养 7 d, 随机选取 8 只为正常空白组(Normal), 剩余 52 只小鼠通过腹腔注射 STZ(55 mg/kg),

用浓度为 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液(pH4.2)溶解, 每天 1 次连续 5 d, 进行造模, 空白对照组注射等量的柠檬酸盐缓冲液, 5 d 后通过尾静脉采血检测其空腹血糖, 血糖值大于 11.1 mmol/L 时即视为造模成功^[21]。随机挑选 40 只造模成功的糖尿病小鼠并将其分为糖尿病模型组(Model)、盐酸二甲双胍阳性药物对照组(Metformin, MET)、MOLP 低、中、高剂量组(MOLP-L、MOLP-M 和 MOLP-H)。并于每天上午灌胃给药, 空白组(Control)与模型组用生理盐水灌胃, 参考陈瑞娇等^[22]的方法, MOLP 低、中、高剂量组灌胃剂量分别为 100、200 和 400 mg/kg·bw, 阳性对照组盐酸二甲双胍灌胃剂量为 200 mg/kg·bw, 上述各组均按 0.20 mL/10 g 体质量灌胃给药, 每日 1 次, 连续 28 d。期间小鼠自由饮水和摄食, 每 2 d 测定其体重和采食量。

1.2.4 样本的采集 将饲养 28 d 的小鼠颈椎脱臼处死, 并通过眼球取血, 将各组血液收集于含有抗凝剂(肝钠素)的采血管中, 在 1400 r/min, 4 ℃ 的条件下离心 15 min, 于-80 ℃ 的条件下贮存待用。采血完成后迅速将肝脏、胰腺和股四头肌(小鼠腿部肌肉)适量单独剥离, 于-80 ℃ 的条件下贮存, 将其用于肝/肌糖原含量测定和相关基因表达的测定。

1.2.5 生化指标测定

1.2.5.1 血糖测定 0 周、4 周时将小鼠禁食 12 h, 通过尾部取血并使用血糖仪测定血糖。

1.2.5.2 糖化血清蛋白测定 最后一次灌胃后, 小鼠禁食不禁水 12 h, 眼球取血, 离心 15 min(1400 r/min, 4 ℃)后所得血清参照试剂盒说明书方法测定糖化血清蛋白含量。

1.2.5.3 血清胰岛素含量测定 离心所得血清参照试剂盒说明书测定小鼠血清胰岛素水平。采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验(ELISA)法。样本、标准品、辣根过氧化物酶(HRP)标记的检测抗体依次加入预先包被胰岛素抗体的包被微孔中, 经过温育后洗涤。用底物四甲基联苯胺(TMB)显色, TMB 在 HRP 的催化作用下变为蓝色, 最终在酸的作用下变为黄色, 用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度, 计算样品浓度。

1.2.5.4 肝/肌糖原的测定 按试剂盒说明书, 精确称取肝脏或股四头肌 100 mg, 将样本与碱液按 1:3 加入试管为水解液, 沸水浴 20 min, 流水冷却, 将肌糖原水解液配制为 1% 的检测液, 同时肝糖原水解液配制为 5% 的检测液, 配制空白与标准, 混匀后, 沸水浴 5 min, 待其冷却后, 于波长 620 nm 比色, 计算糖原含量。

1.2.5.5 组织切片 取解剖后小鼠的肝脏和胰腺组织分别用多聚甲醛溶液固定后, 采用苏木精-伊红(Hematoxylin-Eosin, HE)染色法进行制片, 使用光学显微镜观察小鼠肝脏和胰腺组织的病理学变化, 详细

步骤参照 Chamberland 等^[23]的研究方法。

1.2.5.6 RNA 提取和荧光定量分析 从-80 ℃ 条件下冻存组织样本中分别取 50 mg 小鼠肝脏和胰腺组织,用无菌生理盐水洗净后,加入 200 μL TRIzol 试剂匀浆后加入 300 μL TRIzol 试剂提取组织中的 RNA,将提取到的 RNA 用超微量分光光度计检测其浓度和纯度。按照 cDNA 逆转录试剂说明书,将 RNA 转录成 cDNA,按 2 μL 模板(cDNA)、4 μL 引物、10 μL qPCR 预混液及 4 μL 无菌超纯水的比例加入八连管,将八连管在荧光 PCR 仪器内按 20 μL 反应体积进行 PCR 反应。PCR 扩增条件为:95 ℃ 预变性 5 min,95 ℃ 变性 10 s,60 ℃ 退火 20 s,72 ℃ 延伸 20 s,整个过程进行 40 次循环。扩增结束后,以内参基因 Beta-actin 为基准,通过公式 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算各目的基因 mRNA 相对表达量。所测基因分别为葡萄糖 6 磷酸酶(Glucose-6-phosphatase, *G6pase*)、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(Phosphoenolpyruvate carboxykinase, *PEPCK*)、肝脏 X 受体(Liver X receptor, *LXR*)、葡萄糖激酶(Glucokinase, *GK*)、胰腺十二指肠同源框 1(Pancreatic duodenal homeobox-1, *PDX-1*)、葡萄糖转运载体 2(Glucose transporter type 2, *GLUT2*)、胰岛素受体底物 1(Insulin receptor substrates 1, *IRS1*)和胰岛素受体底物 2(Insulin receptor substrates 2, *IRS2*)。上述基因引物由 Invitrogen 公司设计并合成,引物序列见表 1。

1.3 数据处理

实验数据经 Excel 初步统计后用 SPSS 26.0 统计学分析,实验数据以均数±标准差表示(n=8)。多组间采用 One way ANOVA 进行 Duncan 氏法比较,两两比较采用 LSD 检验, $P<0.05$ 表示存在显著性差异。

2 结果与分析

2.1 MOLP 对 STZ 诱导糖尿病小鼠 FBG 的影响

由表 2 所示,0 周时,与 Control 组相比,Model、MET、MOLP-L、MOLP-M 和 MOLP-H 各组血糖值显著增大($P<0.05$),均大于 11.1 mmol/L,表明建模成功;4 周后,与 Control 相比,Model 组血糖值显著升高($P<0.05$),表明小鼠糖尿病病情恶化,血糖未被有效控制而显著升高;与 Model 组相比,MET、MOLP-L、MOLP-M 和 MOLP-H 组 FBG 水平分别显著下降 39.8%、23.3%、26.9%、32.4%($P<0.05$)。由表 2 数据分析可知,MOLP 对糖尿病小鼠的空腹血糖调控显著,且呈一定的量效关系,MOLP-H 组的改善效果仅次于 MET 组。

2.2 MOLP 对 STZ 诱导糖尿病小鼠糖化血清蛋白的影响

糖化血清蛋白指血清蛋白与葡萄糖发生非酶化糖基化反应的产物,糖化血清蛋白水平升高反映近期血糖控制不佳,可作为评估糖尿病患者血糖控制情况的指标,有助于调整治疗方案^[24]。由图 1 所示,与 Control 组相比,Model 组小鼠的糖化血清蛋白含量显著上升 31.9%($P<0.05$)。与 Model 组相比,MET、MOLP-L、MOLP-M 和 MOLP-H 组糖化血清蛋白含量分别显著下降 17.3%、2.6%、8.1%、11.8%($P<0.05$)。由图 1 分析可知,MOLP-H 能够有效降低糖尿病小鼠的糖化血清蛋白水平,从而控制小鼠糖尿病的发展,其作用效果仅次于药物盐酸二甲双胍,此结果与表 2 结果互为佐证,验证了实验数据的可靠性。

2.3 MOLP 对 STZ 诱导糖尿病小鼠血清胰岛素的影

响 胰岛素是由胰岛 β 细胞分泌的一种蛋白质激

表 1 引物序列
Table 1 Primers sequence

基因	引物序列		引物长度(bp)
	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')	
<i>Beta-actin</i>	GGCTGTATTCCCTCCATCG	CCAGTTGGTAACAATGCCATGT	154
<i>G6Pase</i>	CTCTGGGTGGCAGTGGTCG	GCACGGAGCTGTGCTGTAGTA	115
<i>PEPCK</i>	TGACAGACTCGCCCTATGTG	CCCAGTTGTGACCAAAGGC	153
<i>LXR</i>	ACAGAGCTTCGTCCACAAAAG	GCGTGCTCCCTTGATGACA	165
<i>GK</i>	AAACACGTATGGAACAGGGTGC	CTTAGCCAGCGGATTACAGCA	171
<i>PDX-1</i>	CCCCAGTTTACAAGCTCGCT	CTCGGTTCCATTTCGGGAAAGG	177
<i>GLUT2</i>	TTCCAGTTCGGCTATGACATCG	CTGGTGTGACTGTAAGTGGGG	154
<i>IRS1</i>	TCTACACCCGAGACGAACACT	TGGGCCTTTGCCCGATTATG	103
<i>IRS2</i>	AACCTGAAACCTAAGGGACTGG	CGGCGAATGTTTCATAAGCTGC	140

表 2 MOLP 对 STZ 诱导糖尿病小鼠 FBG 的影响(mmol/L)
Table 2 Effect of MOLP on FBG in STZ-induced diabetic mice (mmol/L)

周数	Control	Model	MET	MOLP-L	MOLP-M	MOLP-H
0周	5.46±0.30 ^b	17.04±1.84 ^a	16.58±0.94 ^a	16.88±1.03 ^a	17.21±1.96 ^a	17.58±1.50 ^a
4周	6.35±0.73 ^c	20.26±2.30 ^a	12.20±1.52 ^d	15.54±1.62 ^b	14.80±1.09 ^{bc}	13.70±0.48 ^c

注:Control组为空白对照组,Model组为糖尿病模型组,MET为盐酸二甲双胍阳性药物对照组,MOLP-L、MOLP-M、MOLP-H为辣木叶多糖低、中、高三个剂量组;试验数据以平均值±标准差表示(n=8);不同字母表示组间存在显著性差异($P<0.05$),图1~图3,图6~图7同。

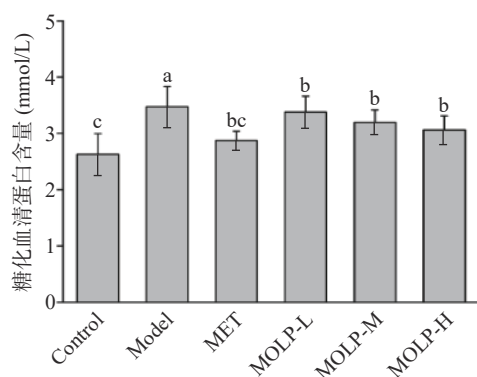


图 1 MOLP 对 STZ 诱导糖尿病小鼠糖化血清蛋白的影响
Fig.1 Effect of MOLP on glycosylated serum protein in STZ-induced diabetic mice

素,参与调节糖代谢,控制血糖平衡,主要用于治疗 STZ 诱导糖尿病^[25]。由图 2 所示,与 Control 组相比,Model 组血清胰岛素的含量显著降低($P<0.05$),表明糖尿病小鼠体内胰岛素分泌受到抑制,糖代谢紊乱,已无法调控体内血糖平衡;与 Model 组相比,MET、MOLP-M 和 MOLP-H 组糖尿病小鼠血清胰岛素含量分别显著上升了 52.8%、41.4%、49.0%($P<0.05$),MOLP-L 组仅上升了 8.5% 且无显著差异性($P>0.05$)。由图 2 数据分析可知,当 MOLP 的干预剂量达到 200 mg/kg·bw 时,便可显著上调糖尿病小鼠的血清胰岛素含量,当剂量为 400 mg/kg·bw 时,其效果与 MET 组更接近。

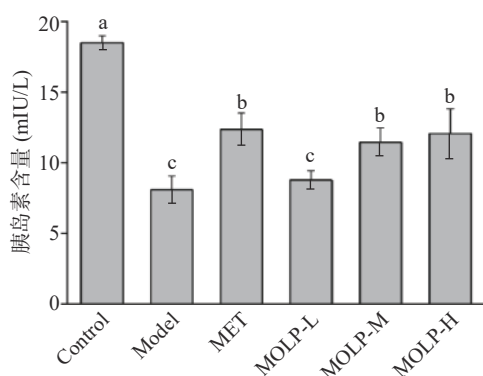


图 2 MOLP 对 STZ 诱导糖尿病小鼠血清胰岛素含量的影响
Fig.2 Effect of MOLP on serum insulin content in STZ-induced diabetic mice

2.4 MOLP 对 STZ 诱导糖尿病小鼠肝/肌糖原的影响

糖原是动物体内葡萄糖的重要储存形式,糖原合成减少或者分解增加均能引起血糖水平的升高,其含量多少与糖尿病的发展密切相关^[26]。由图 3 所示,与 Control 组对比,Model 组肝糖原含量显著下降 27.4%($P<0.05$)。与 Model 组相比,MOLP-M、MOLP-H 和 MET 组均显著升高($P<0.05$),MOLP-L 无显著差异性($P>0.05$)。在肌糖原方面,与正常空白组对比,模型组显著下降 34.2%($P<0.05$)。与 Model 组相比,MET、MOLP-L、MOLP-M 和 MOLP-H 组肌糖原含量均有不同程度的显著升高($P<0.05$)。分析图 3 数据可知,MOLP 在中、高剂量时,能够显著提升糖尿病小鼠肝糖原含量,MOLP-H 组对肝糖原的改善效果最接近 MET 组;在肌糖原方面,MOLP 低、中、高剂量组均能显著提升糖尿病小鼠肌糖原含量,且在低剂量时(100 mg/kg·bw),其效果便优于 MET 组。

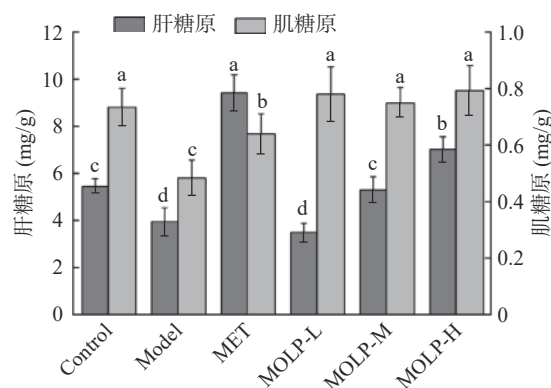
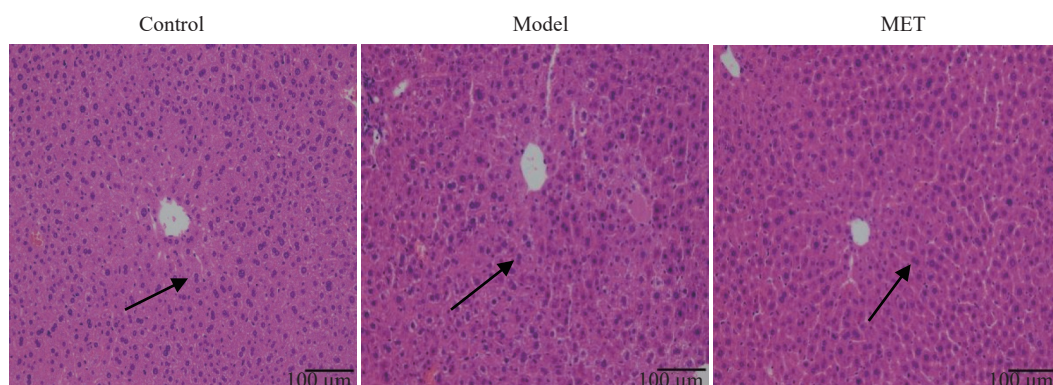


图 3 MOLP 对 STZ 诱导糖尿病小鼠肝/肌糖原的影响
Fig.3 Effect of MOLP on liver/muscle glycogen in STZ-induced diabetic mice

2.5 MOLP 对 STZ 诱导糖尿病小鼠肝脏组织形态的影响

由图 4 所示,Control 组小鼠肝脏细胞形态正常,核圆居中,或有双核,肝细胞排列紧密有序,无空泡现象,细胞间质清晰;Model 组可明显观察到小鼠肝细胞排列不规则,部分肝细胞形态异常,存在肝细胞肿胀、脂肪变性、细胞浆透明度增加和细胞间质增厚等



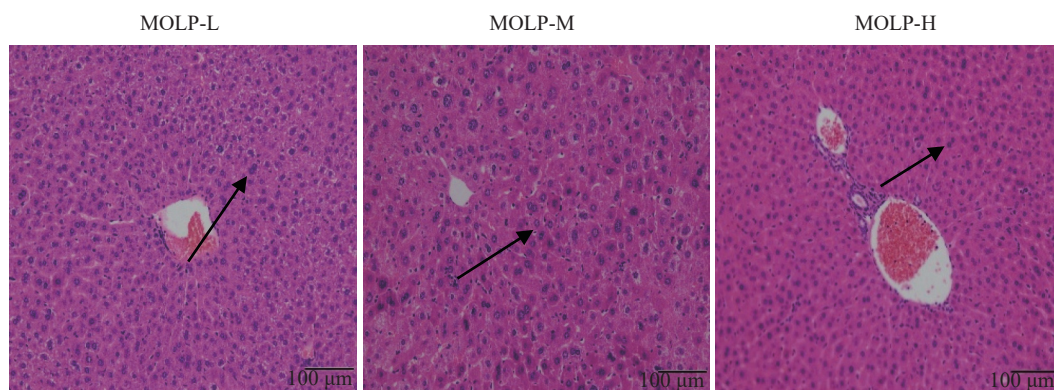


图 4 MOLP 对 STZ 诱导糖尿病小鼠肝脏组织形态的影响

Fig.4 Effect of MOLP on liver morphology in STZ-induced diabetic mice

注: 黑色箭头指向为肝脏细胞核(单核或双核), HE 染色并拍照, 比例尺为 100 μm 。

现象, 部分肝细胞出现炎症细胞浸润或纤维化改变问题; 通过灌胃小鼠盐酸二甲双胍以及低、中、高剂量的 MOLP 4 周后, MET 组和 MOLP-H 组的肝组织形态得到较好的恢复, 肝细胞肿胀、细胞浆透明度增加和细胞间质增厚等现象较少出现, 细胞形态正常, 上述三组肝组织情况相近, 说明 MOLP 对受损的肝组织具有一定的修复作用。

2.6 MOLP 对 STZ 诱导糖尿病小鼠胰腺组织形态的影响

由图 5 所示, Control 组小鼠胰腺组织结构排布规律, 大量形态正常的胰岛 β 细胞聚集在一起, 呈椭圆状分布在胰腺组织内部, 其细胞核分布均匀, 细胞

界限清晰; 与 Control 组相比, 由于 STZ 的作用, Model 组胰腺组织排布较为混乱, 大量的胰岛 β 细胞完整性被破坏, 数量减少, 所聚集的体积团也逐渐缩小, 细胞核仅有少许可见, 且分布混乱; 与 Model 组相比, MET 组、MOLP-L、MOLP-M 和 MOLP-H 组被损伤的胰腺组织均有不同程度的改善, 其中 MOLP-H 组有较为显著的改善, 胰腺组织细胞排布较为规律, 在其内部存在较多边界完整的胰岛 β 细胞, 其细胞核清晰可见且数量较多, 以近似椭圆状或不规则形态聚集在一起。上述结果表明, MOLP 对病变的胰腺组织及损伤的胰岛 β 细胞具有较好的修复作用。

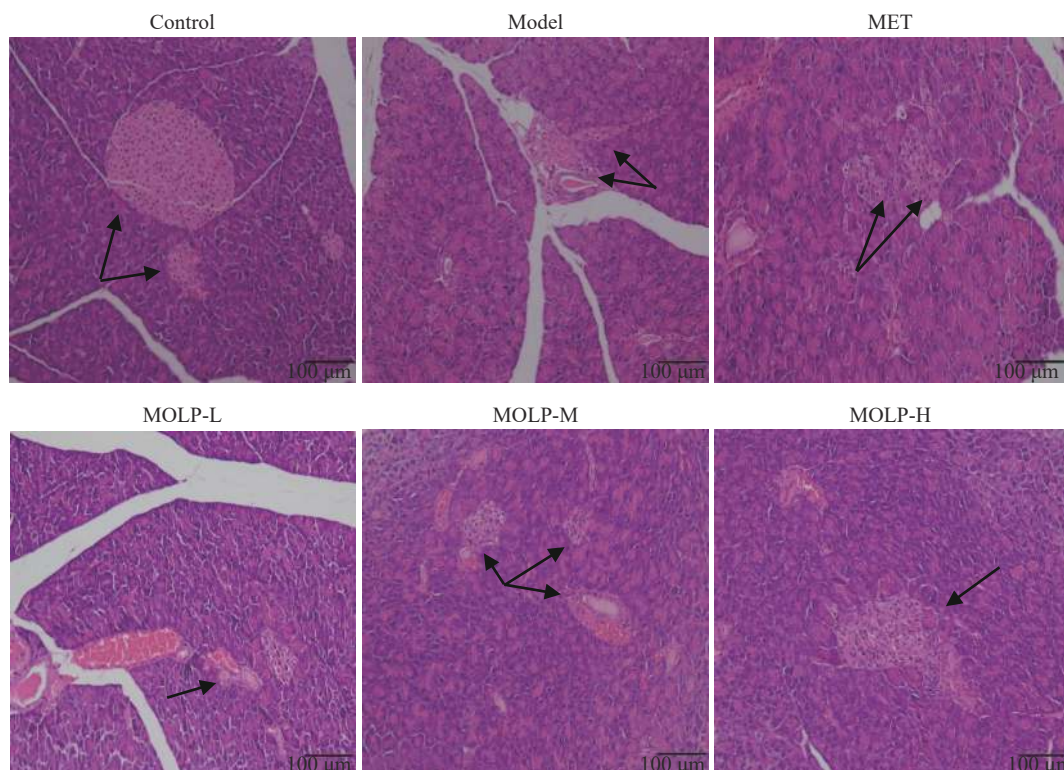


图 5 MOLP 对 STZ 诱导糖尿病小鼠胰腺组织形态的影响

Fig.5 Effect of MOLP on pancreatic morphology of STZ-induced diabetic mice

注: 黑色箭头指向为 β 细胞, HE 染色并拍照, 比例尺为 100 μm 。

2.7 MOLP 对 STZ 诱导糖尿病小鼠肝脏糖代谢相关基因表达的影响

如图 6 所示,与 Control 组相比,Model 组中 *G6Pase*、*PEPCK* mRNA 的相对表达量显著上调 ($P<0.05$), *GK*、*LXR* 和 *PDX-1* mRNA 的相对表达量显著下调 ($P<0.05$)。与 Model 组对比, MET 组、MOLP-L、MOLP-M 和 MOLP-H 组的 *G6Pase* 和 *PEPCK* mRNA 相对表达量显著下调 ($P<0.05$), 各组 *PEPCK* 和 *G6Pase* mRNA 的相对表达下调显著程度依次为 MET>MOLP-H>MOLP-M>MOLP-L, MOLP-H 组对二者基因表达的调控效果最接近 MET 组; 与 Model 组对比, MET、MOLP-L、MOLP-M 和 MOLP-H 组的 *LXR*、*GK* 和 *PDX-1* mRNA 相对表达均显著上调 ($P<0.05$), 各组 *GK*、*LXR* 和 *PDX-1* mRNA 的相对表达上调显著程度依次为 MET>MOLP-H>MOLP-M>MOLP-L, 以 MOLP-H 组上调最为显著 ($P<0.05$), 其中的 *GK* 和 *PDX-1* mRNA 相对表达上调程度与 MET 组最为接近。

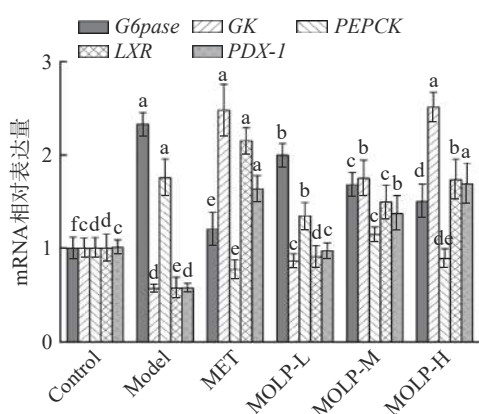


图 6 MOLP 对 STZ 诱导糖尿病小鼠肝脏糖代谢相关基因表达的影响

Fig.6 Effect of MOLP on expression of genes related to liver glucose metabolism in STZ-induced diabetic mice

注: *G6Pase* 为葡萄糖 6 磷酸酶; *PEPCK* 为磷酸烯醇丙酮酸羧激酶; *LXR* 为肝 X 受体; *PDX-1* 为胰腺十二指肠同源异形盒 1; *GK* 为葡萄糖激酶。

2.8 MOLP 对 STZ 诱导糖尿病小鼠胰腺糖代谢相关基因表达的影响

由图 7 所示,与 Control 组相比, Model 组中 *PDX-1*、*IRS1*、*IRS2* 和 *GLUT2* 基因表达均显著下调 ($P<0.05$); 与 Model 组相比, MET 组、MOLP-L、MOLP-M 和 MOLP-H 组的 *PDX-1*、*IRS1*、*IRS2* 和 *GLUT2* mRNA 相对表达量均显著上调 ($P<0.05$), 上调程度以 MOLP-H 组和 MET 组最为显著。其中, MOLP-H 组对 *IRS1*、*PDX-1* mRNA 相对表达上调程度与 MET 组相当, 对 *IRS2*、*GLUT2* mRNA 相对表达上调程度优于 MET 组。

3 讨论

众所周知,糖尿病是一类因胰岛素分泌不足、胰岛素作用低下或胰岛素抵抗所引起的糖代谢紊乱的

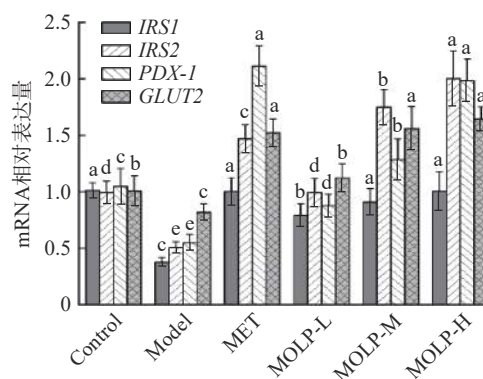


图 7 MOLP 对 STZ 诱导糖尿病小鼠胰腺糖代谢相关基因表达的影响

Fig.7 Effect of MOLP on expression of pancreatic glucose metabolism related genes in STZ-induced diabetic mice

注: *IRS1* 为胰岛素受体底物 1; *IRS2* 为胰岛素受体底物 2; *PDX-1* 为胰腺十二指肠同源异形盒 1; *GLUT2* 为葡萄糖转运蛋白 2。

疾病^[27]。本研究从糖代谢调控的角度入手,研究 MOLP 在肝脏以及胰腺中的降糖机制,其结果表明 MOLP 具有良好的抗糖尿病效果,主要体现在对 FBG、糖化血清蛋白、血清胰岛素和肝/肌糖原的调控方面。长期空腹血糖以及糖原的储存分解异常,均会加重胰岛素抵抗和 β 细胞功能损害^[28],一些能够促进糖原合成的药物则能起到降糖的效果^[29]。临床研究表明, T1D 和 T2D 患者体内均会出现不同程度糖原含量降低的现象^[30],相关动物实验也表明 STZ 诱导的 T1D 大鼠体内糖原合成酶活性降低^[31]。上述报道均说明糖尿病的发病与糖原的代谢关系密切,提高糖原合成及抑制糖原分解或许是防治糖尿病的重要手段,而本实验结果表明 MOLP 能够显著改善糖尿病小鼠的空腹血糖水平,促进其体内肝糖原和肌糖原的合成,尤其以提高肌糖原含量最为明显,低剂量的效果便可媲美盐酸二甲双胍,进一步验证了上述推论的可行性。此外, β 细胞受损或功能障碍均会导致不同程度和不同类型的糖尿病,其功能受损主要是指脂毒性和糖毒性,高浓度的游离脂肪酸(可通过神经酰胺导致一氧化氮合酶增加)以及患病机体长期的高血糖状态均会引发胰岛 β 细胞受损甚至凋亡的症状^[32-33],而在本研究当中,相关生化指标表明 MOLP 能够显著降低糖尿病小鼠的 FBG 水平,改善其机体的高血糖状态,并且观察胰腺组织切片发现(图 5), MOLP 对病变的胰腺组织及损伤的胰岛 β 细胞具有较好的修复作用。综合分析上述数据表明, MOLP 作用于糖尿病小鼠受损的胰腺以及肝脏组织,使紊乱的糖代谢以及异常的胰岛素分泌逐渐趋于正常,进而达到显著降低糖尿病小鼠空腹血糖的效果。

糖尿病往往会导致糖异生能力的异常增强。大量动物实验在 STZ 诱导的糖尿病大鼠中发现肝脏糖异生关键基因 *G6Pase* 和 *PEPCK* 异常上调表达^[34],临床实验也表明糖尿病患者空腹血糖水平的升高往

往与糖异生关键酶的异常表达相关^[35],在本研究中亦是如此,STZ 诱导的糖尿病小鼠肝脏关键基因 *G6Pase* 和 *PEPCK* mRNA 表达显著上调(图 6),经过 4 周 MOLP 干预治疗后,*G6Pase* 和 *PEPCK* mRNA 表达显著下调,糖尿病小鼠 FBG 水平也显著下降,效果仅次于盐酸二甲双胍,这是否暗示在肝脏中存在调控糖代谢(糖异生和糖原合成)的潜在机制。同时,在胰腺中,相关研究表明 *IRS1* 和 *IRS2* 作为胰岛 β 细胞的关键信号蛋白,并且能够通过 *PI3K* 和 *MAPK* 信号通路进行 β 细胞发育和有丝分裂,具有改善胰岛素分泌的功能^[36],结合本研究实验结果,可推断 MOLP 也能够作用于 *IRS1* 和 *IRS2*,使糖尿病小鼠血清胰岛素的含量增加,从而达到降低血糖的目的。

此外,相关研究利用辣椒素干预治疗 STZ 诱导糖尿病大鼠,其结果表明在胰腺中可能存在 *TRPV1*-(*PDX-1*)-(*IRS1/2*) 和 *TRPV1*-(*PDX1*)-(*GLUT2/GK*) 信号通路,辣椒素通过激活上述信号通路产生降糖效果^[37],而本研究中 MOLP 同样能够显著上调 *PDX-1* mRNA 表达,且 *GK*、*IRS1* 和 *IRS2* mRNA 表达显著上调,上述现象是否暗示在 STZ 诱导的糖尿病小鼠肝脏或胰腺内 MOLP 同样能够激活 (*PDX-1*)-(*GLUT2/GK*) 或 (*PDX-1*)-(*IRS1/2*) 相关信号通路,从而达到降糖作用,此推测虽然与已有报道^[37] 颇为相似,但具体作用机理的明确还有待深入研究。

4 结论

本研究结果表明了 MOLP 对 STZ 诱导糖尿病小鼠具有显著的降糖作用,高剂量的 MOLP 能够显著降低糖尿病小鼠的 FBG 水平、血清糖化蛋白含量,增加血清胰岛素和肝/肌糖原含量,其降糖作用主要通过以下两个途径实现:首先,MOLP 在肝脏内显著提高了 *LXR*、*PDX-1* 的 mRNA 表达,二者对其下游基因 *GK*、*G6Pase* 和 *PEPCK* 进行调控,致使糖尿病小鼠体内紊乱的糖代谢(糖异生和糖原合成)得到有效改善,受损的肝脏组织得到一定的修复,肝糖原的含量增加,血糖稳态得到调控;其次,MOLP 在胰腺内显著上调 *PDX-1* mRNA 表达,受 *PDX-1* 调控的下游因子 *IRS1/2* 显著上调,致使糖尿病小鼠血清胰岛素分泌量增多,受胰岛组织得到有效修复,最终两种途径协同,达到显著降糖的作用。综合本研究结果,MOLP 降糖效果显著,可为糖尿病的治疗提供新的天然药物资源,有望缓解糖尿病患者对传统药物的依赖,并为进一步揭示 MOLP 的降糖作用机制提供理论基础。但 (*PDX-1*)-(*GLUT2/GK*) 或 (*PDX-1*)-(*IRS1/2*) 信号通路是否为 MOLP 作用于 STZ 诱导糖尿病小鼠的关键降糖通路仍需深入研究,后续研究可进一步利用蛋白免疫印记、基因沉默以及免疫荧光染色等技术手段进行多方面验证,明确 MOLP 对糖尿病小鼠的具体降糖机制。

© The Author(s) 2024. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] AYIPO Y O, CHONG C F, ABDULAMEED H T, et al. Bioactive alkaloidal and phenolic phytochemicals as promising epidrugs for diabetes mellitus 2: A review of recent development[J]. *Fitoterapia*, 2024, 175: 105922–105922.
- [2] ENGLAND C Y, ANDREWS R C. James Lind alliance research priorities: Should diet and exercise be used as an alternative to drugs for the management of type 2 diabetes or alongside them?[J]. *Diabetic Medicine*, 2020, 37(4): 564–572.
- [3] 张世奇, 徐嘉洛, 杨晓东, 等. 辣木叶抗糖尿病效果及其作用机制研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2024, 50(3): 374–382.
- [4] ZHANG S Q, XU J L, YANG X D, et al. Research progress on antidiabetic effect and mechanism of *Moringa oleifera* leaves[J]. *Food and Fermentation Industry*, 2024, 50(3): 374–382.
- [5] ALNIDAWI A, ALI F, ABDELGAYED S, et al. *Moringa oleifera* leaves in broiler diets: Effect on chicken performance and health[J]. *Food Science and Quality Management*, 2016, 58: 40–48.
- [6] ONYENIBE N S, ISREAL F, BABATUNJI O. *Moringa oleifera* leaves modulate blood glucose concentration, lipid profile and carbohydrate metabolizing enzymes in streptozotocin diabetic rats[J]. *World Heart Journal*, 2018, 10(3): 213–222.
- [7] ABBAS M, MAHMOUD A H. Evaluation of antioxidant and antitumor activities of *Moringa* extract in mice[J]. *Egyptian Journal of Radiation Sciences and Applications*, 2022, 35(1): 29–37.
- [8] LANDAZURI A C, GUALLE A, CASTAÑEDA V, et al. *Moringa oleifera* Lam. leaf powder antioxidant activity and cytotoxicity in human primary fibroblasts[J]. *Natural Product Research*, 2021, 35(24): 6194–6199.
- [9] KUMARI R, SINGH A K, KUMAR R, et al. Phytochemical effect of fruit extract of *Moringa oleifera* on alloxan induced diabetic model in Swiss albino mice; Phytochemical effect of fruit extract of *Moringa oleifera* on alloxan induced diabetes[J]. *Journal of Applied and Natural Science*, 2021, 13(4): 1420–1429.
- [10] CARRIE W, PATRICIO R S, TUGBA BOYUNEGMEZ T, et al. Isothiocyanate-rich *Moringa oleifera* extract reduces weight gain, insulin resistance, and hepatic gluconeogenesis in mice[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2015, 59(6): 1013–1024.
- [11] TOMA A, MAKONNEN E, MEKONNEN Y, et al. Antidiabetic activities of aqueous ethanol and n-butanol fraction of *Moringa stenopetala* leaves in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 15(1): 242–248.
- [12] WOLDEKIDAN S, MULU A, ERGETIE W, et al. Evaluation of antihyperglycemic effect of extract of *Moringa stenopetala* (Baker f.) aqueous leaves on alloxan-induced diabetic rats[J]. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 2021: 185–192.
- [13] AL-MALKI A L, EL RABEY H A. The antidiabetic effect of low doses of *Moringa oleifera* Lam. seeds on streptozotocin induced diabetes and diabetic nephropathy in male rats[J]. *BioMed Research International*, 2015: 381040.
- [14] GHIRIDHARI V V A, MALHATI D, GEETHA K. Anti diabetic property of drumstick (*Moringa oleifera*) leaf tablets[J]. *International Journal of Health & Nutrition*, 2011, 2(1): 1–5.
- [15] SISSOKO L, DIARRA N, NIENTAO I, et al. *Moringa oleifera* leaf powder for type 2 diabetes: a pilot clinical trial[J].

African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 2020, 17(2): 29–36.

[15] 张世奇,刘颖柳,谭兆平. 响应面法优化辣木叶总黄酮提取工艺的研究[J]. *化学工程与技术*, 2021, 11(6): 364–376.

[ZHANG S Q, LIU Y L, TAN Z P. Optimization of extraction technology of total flavonoids from *Moringa oleifera* leaf by response surface methodology[J]. *Chemical Engineering and Technology*, 2021, 11(6): 364–376.]

[16] 张世奇,杨娟,惠永海,等. 响应面法优化超声波辅助提取辣木叶多糖工艺[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(16): 69–74.

[ZHANG S Q, YANG J, HUI Y H, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of polysaccharide from *Moringa oleifera* leaf by response surface methodology[J]. *Food Research and Development*, 2020, 41(16): 69–74.]

[17] 孙劲毅,卢彦轩,惠永海,等. 响应面优化泡沫法提取辣木叶蛋白工艺[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(12): 150–154. [SUN J Y, LU Y X, HUI Y H, et al. Optimization of foaming extraction of a *Moringa oleifera* leaf protein by response surface methodology[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(12): 150–154.]

[18] 汪芳,包伊凡,张羽,等. 辣木叶多糖的分离纯化及其体外降糖活性研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(7): 1592–1598.

[WANG F, BAO Y F, ZHANG Y, et al. Isolation and purification of polysaccharides from *Moringa oleifera* leaves and *in vitro* hypoglycemic activity[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2018, 9(7): 1592–1598.]

[19] 李巧琳. 辣木叶提取物的制备, 降血糖活性评价及降糖功效因子结构解析[D]. 广州: 华南理工大学, 2019: 28–48. [LI Q L. Preparation, evaluation of hypoglycemic activity and structure analysis of hypoglycemic effect factors of *Moringa oleifera* leaf extract[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019: 28–48.]

[20] SHARMA K, KUMAR M, WAGHMARE R, et al. *Moringa (Moringa oleifera Lam.)* polysaccharides: Extraction, characterization, bioactivities, and industrial application[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 209: 763–778.

[21] 郑淑娟,黄昆仑,全涛. 橄榄苦苷对高脂饮食联合链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠的降血糖作用研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(3): 44–49. [ZHENG S J, HUANG K L, TONG T. Hypoglycemic effect of oleuropein on diabetes mice induced by high-fat diet combined with streptozotocin[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2023, 14(3): 44–49.]

[22] 陈瑞娇,朱必凤,王玉珍,等. 辣木叶总黄酮的提取及其降血糖作用[J]. *食品与生物技术学报*, 2007, 26(4): 42–45. [CHEN R J, ZHU B F, WANG Y Z, et al. Extraction and hypoglycemic effect of the total flavonoid from leaves of *Moringa oleifera*[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2007, 26(4): 42–45.]

[23] CHAMBERLAND V, RIOUX P. Not only students can express alcohol dehydrogenase: goldfish can too![J]. *Advances in*

Physiology Education, 2010, 34(4): 222–227.

[24] QIU H Y, HOU N N, SHI J F, et al. Comprehensive overview of human serum albumin glycation in diabetes mellitus[J]. *World Journal of Diabetes*, 2021, 12(7): 1057.

[25] BONNEFOND A, ROBERT K. Achievements, prospects and challenges in precision care for monogenic insulin-deficient and insulin-resistant diabetes[J]. *Diabetologia*, 2022, 65(11): 1782–1795.

[26] GWYNETH S, MICHAEL T. The liver and glycogen: In sickness and in health[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(7): 6133.

[27] KTARI N, MNAFGUI K, NASRI R, et al. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of protein hydrolysates from zebra blenny (*Salaria basilisca*) in alloxan-induced diabetic rats[J]. *Food and Function*, 2013, 4(11): 1691–1699.

[28] JAISWAL D, RAI P K, KUMAR A, et al. Effect of *Moringa oleifera* Lam. leaves aqueous extract therapy on hyperglycemic rats[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2009, 123(3): 392–396.

[29] EDGERTON D S, LAUTZ M, SCOTT M, et al. Insulin's direct effects on the liver dominate the control of hepatic glucose production[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2006, 116(2): 521–527.

[30] BISCHOF M G, BERNROIDER E, KRSSAK M, et al. Hepatic glycogen metabolism in type 1 diabetes after long-term near normoglycemia[J]. *Diabetes*, 2002, 51(1): 49–54.

[31] HE J, KELLEY D E. Muscle glycogen content in type 2 diabetes mellitus[J]. *American Journal of Physiology Endocrinology & Metabolism*, 2004, 287(5): E1002–1007.

[32] SHEPHERD P, WITHERS D, SIDDLE K. Phosphoinositide 3-kinase: the key switch mechanism in insulin signaling[J]. *Biochemical Journal*, 1998, 333(3): 471–490.

[33] MORAN A, ZHANG H J, OLSON L K, et al. Differentiation of glucose toxicity from beta cell exhaustion during the evolution of defective insulin gene expression in the pancreatic islet cell line, HIT-T15[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 1997, 99(3): 534–539.

[34] ZHANG S Q, MA X H, ZHANG L, et al. Capsaicin reduces blood glucose by increasing insulin levels and glycogen content better than capsiate in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(11): 2323–2330.

[35] RAJNI S, SWASTI T. Renal gluconeogenesis in insulin resistance: A culprit for hyperglycemia in diabetes[J]. *World Journal of Diabetes*, 2021, 12(5): 556–558.

[36] HENNIGE A M, BURKS D J, OZCAN U, et al. Upregulation of insulin receptor substrate-2 in pancreatic beta cells prevents diabetes[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2003, 112(10): 1521–1532.

[37] ZHANG S Q, TANG L L, XU S F, et al. TRPV1 receptor-mediated hypoglycemic mechanism of capsaicin in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2021, 8: 1–15.