

- [26] 张灏杨, 范德生. TGF- β 1/Smad3 信号通路参与肺纤维化的病理过程[J]. 解剖科学进展, 2024, 30(5): 464-466.
- [27] 王 岗, 岳仁宋, 杨启悦, 等. 基于 TGF- β 1/p-Smad3 信号通路探究补肺通痹汤抑制糖尿病相关性肺纤维化的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(10): 176-184.
- [28] Wu Z, Song B, Peng F, et al. Zangsiwei prevents particulate matter-induced lung inflammation and fibrosis by inhibiting the TGF- β /SMAD pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 337(Pt 1): 118752.
- [29] Du C, Ma C, Geng R, et al. Bruceine a inhibits TGF- β 1/Smad pathway in pulmonary fibrosis by blocking gal3/TGF- β 1 interaction[J]. *Phytomedicine*, 2025, 136: 156267.
- [30] Farouk H, Moustafa P E, Khattab M S, et al. Diacerein ameliorates amiodarone-induced pulmonary fibrosis via targeting the TGF β 1/ α -SMA/Smad3 pathway[J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2025, 398(4): 4111-4122.
- [31] Mao C, Du Y, Niu K, et al. Investigation of the mechanism of action of qingzaojufei decoction on idiopathic pulmonary fibrosis based on network pharmacology and experimental validation[J]. *Nat Prod Commun*, 2024, 19(3): 1934578X241242274.

基于 Bcl-2/Bax 通路探究芪地降糖汤对 2 型糖尿病大鼠胰岛细胞凋亡的影响

马雷雷^{1,2}, 赵英捷², 王祎彬³, 王静雅², 田春雨^{1,2}, 常 宏², 喇孝瑾², 张碧激^{1,2}, 孟 然⁴, 李继安^{1,2*}

(1. 华北理工大学公共卫生学院, 河北 唐山 063210; 2. 河北省中西医结合防治糖尿病及其并发症重点实验室, 华北理工大学中医学院, 河北 唐山 063210; 3. 迁安市中医医院, 河北 唐山 064400; 4. 河北省农林科学院滨海农业研究所, 河北 唐山 063200)

摘要: **目的** 探究芪地降糖汤对 2 型糖尿病 (T2DM) 大鼠胰岛细胞凋亡的作用。**方法** SD 大鼠随机分为对照组、模型组、二甲双胍组 (200 mg/kg) 和芪地降糖汤组 (7.3 g/kg), 采用链脲佐菌素 (STZ) 结合高脂高糖喂养诱导建立大鼠 T2DM 模型, 给药干预 8 周。给药结束后, 测定大鼠空腹血糖 (FBG)、餐后 2 小时血糖 (PG2h)、口服葡萄糖耐量实验的曲线下面积 (OGTT-AUC) 和体质量; 采用生化试剂盒检测大鼠血清中糖化血清蛋白 (GSP)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、丙二醛 (MDA) 水平和总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 活性; 采用 ELISA 试剂盒检测大鼠血清胰岛素 (INS)、C 肽 (C-P) 并计算胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR); HE 染色观察胰岛形态结构变化; TUNEL 染色观察胰岛细胞凋亡情况; 免疫荧光法检测胰岛 cleaved-Caspase-3 蛋白表达; Western blot 法检测胰腺组织 Bcl-2、Bax、cleaved-Caspase-3 和 Caspase-7 蛋白表达; RT-qPCR 法检测胰腺组织 Bcl-2、Bax 和 Caspase-3 mRNA 表达。**结果** 与模型组比较, 芪地降糖汤组 FBG、PG2h、OGTT-AUC、GSP、HbA1c、HOMA-IR 和 MDA 水平降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 体质量、C-P、INS 水平和 T-SOD 活性升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 胰岛形态结构和细胞凋亡程度得到改善; 胰腺组织 Bcl-2 蛋白表达升高 ($P < 0.05$), Bax、cleaved-Caspase-3 和 Caspase-7 蛋白表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), Bcl-2 mRNA 表达升高 ($P < 0.05$), Bax 和 Caspase-3 mRNA 表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** 芪地降糖汤可通过调节内源性细胞凋亡途径改善胰岛细胞损伤。

关键词: 芪地降糖汤; 2 型糖尿病 (T2DM); 胰岛细胞; 凋亡; 氧化应激; Bcl-2/Bax 通路; Caspase-3

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2025)12-3950-09

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.12.010

收稿日期: 2025-05-27

基金项目: 国家科学技术部对发展中国家科技援助项目 (KY201904005); 河北省自然科学基金资助项目 (H2023209038); 河北省重大科技支撑计划项目 (24297701Z)

作者简介: 马雷雷 (1990—), 男, 博士生, 研究方向为中医药防治代谢性疾病。Tel: (0315) 8805790, E-mail: mall@stu.ncst.edu.cn

* **通信作者:** 李继安 (1962—), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为中医药防治代谢性疾病。Tel: (0315) 8805790, E-mail: JianLi@ncst.edu.cn

Effects of Qidi Jiangtang Decoction on pancreatic islet cell apoptosis in a rat model of T2DM via Bcl-2/Bax pathway

MA Lei-lei^{1,2}, ZHAO Ying-jie², WANG Yi-bin³, WANG Jing-ya², TIAN Chun-yu^{1,2},
CHANG Hong², LA Xiao-jin², ZHANG Bi-wei^{1,2}, MENG Ran⁴, LI Ji-an^{1,2*}

(1. School of Public Health, North China University of Science and Technology, Tangshan 063210, China; 2. Hebei Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Diabetes and Its Complications, College of Traditional Chinese Medicine, North China University of Science and Technology, Tangshan 063210, China; 3. Qian'an Hospital of Traditional Chinese Medicine, Tangshan 064400, China; 4. Institute of Coastal Agriculture, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Tangshan 063200, China)

ABSTRACT: **AIM** To investigate the effects of Qidi Jiangtang Decoction on pancreatic islet cell apoptosis in a rat model of type 2 diabetes mellitus (T2DM). **METHODS** The SD rats were randomly assigned to the control group, the model group, the metformin group (200 mg/kg), and the Qidi Jiangtang Decoction group (7.3 g/kg). After establishing T2DM rat models via intraperitoneal streptozotocin (STZ) injection combined with a high-fat/high-sugar diet, the drug intervention was administered for 8 weeks. After the intervention period, the following parameters were assessed: fasting blood glucose (FBG), 2-hour postprandial blood glucose (PG2h), oral glucose tolerance test area under the curve (OGTT-AUC), and body weight. Biochemical kits were used to measure the levels of glycated serum protein (GSP), glycated hemoglobin (HbA1c), malondialdehyde (MDA), and the activity of total superoxide dismutase (T-SOD) in rat serum. Serum insulin (INS) and C-peptide (C-P) levels were quantified using ELISA kits, and insulin resistance was assessed via the homeostasis model assessment (HOMA-IR). Pancreatic islet morphology and structure were evaluated using hematoxylin and eosin (HE) staining, while TUNEL staining was employed to detect islet cell apoptosis. Immunofluorescence was used to detect the protein expression of cleaved Caspase-3 in islets. Western blot quantified the protein expressions of Bcl-2, Bax, cleaved Caspase-3 and Caspase-7 in pancreatic tissue. Additionally, RT-qPCR was used to analyze mRNA expressions of *Bcl-2*, *Bax*, and *Caspase-3* in pancreatic tissue. **RESULTS** Compared to the model group, the Qidi Jiangtang Decoction group exhibited significant metabolic improvements including reduced levels of FBG, PG2h, OGTT-AUC, GSP, HbA1c, HOMA-IR, and MDA ($P < 0.05$, $P < 0.01$); increased body weight, C-P, INS, and T-SOD ($P < 0.05$, $P < 0.01$); enhanced pancreatic function including improved pancreatic islet morphology and reduced apoptosis, upregulated Bcl-2 protein expression ($P < 0.05$); downregulated Bax, cleaved-Caspase-3 and Caspase-7 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); altered gene expression including increased *Bcl-2* mRNA ($P < 0.05$), and decreased *Bax* and *Caspase-3* mRNA ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **CONCLUSION** Qidi Jiangtang Decoction may mitigate pancreatic islet cell injury by regulating the intrinsic apoptosis pathway.

KEY WORDS: Qidi Jiangtang Decoction; T2DM; islet cell; apoptosis; oxidative stress; Bcl-2/Bax pathway; Caspase-3

糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 是一种以高血糖为特征的代谢性疾病, 全球 20~79 岁成年人中约有 5.89 亿患者, 预计到 2050 年将增至 8.53 亿。2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 占糖尿病的 90% 以上^[1-2]。其发病机制主要涉及胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞功能受损, 后者是 T2DM 进展的核心环节^[3-5]。胰岛 β 细胞数量逐渐减少、功能衰竭与细胞凋亡密切相关。因此, 保护胰岛细胞成为研究 T2DM 的重要突破点。

细胞凋亡主要通过死亡受体介导的外源性途

径、线粒体内源性途径和颗粒酶 B 途径发生^[6-7]。在 T2DM 中, 线粒体途径起关键作用: 促凋亡蛋白 (如 Bax) 与抗凋亡蛋白 (如 Bcl-2) 失衡导致线粒体膜通透性改变, 细胞色素 C 释放并激活 Caspase 级联反应, 最终引发细胞凋亡^[8-9]。胰岛 β 细胞对促凋亡刺激高度敏感, 因此该过程在 T2DM 发生发展中至关重要。氧化应激也是导致 β 细胞损伤的重要因素^[10-11]。活性氧 (ROS) 不仅直接破坏细胞结构, 还间接抑制胰岛素 (insulin, INS) 分泌功能, 造成血糖波动加剧, 加速 T2DM 的进展^[12-13]。

芪地降糖汤由黄芪、生地、葛根、丹参等多味药材组成，具有益气养阴、生津化痰、活血通络之效。研究表明，其有效成分如黄芪多糖、葛根素、小檗碱和梓醇等具有防治 T2DM 的潜力^[14-17]。本研究通过建立 T2DM 大鼠模型，探讨芪地降糖汤对胰岛细胞凋亡的影响，从而阐明其治疗 T2DM 的潜在机制。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 SD 雄性大鼠 40 只，6 周龄，体质量 (180±10) g，购自华阜康生物有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2020-0004]，饲养于华北理工大学实验动物中心 [实验动物使用许可证号 SYXK (冀) 2020-007]。本动物实验经华北理工大学实验动物伦理委员会审批通过 (伦理审批号 LAEC-NCST-202020230)，实验全程遵守 3R 原则。

1.2 药物与试剂 黄芪、生地、葛根、丹参、苍术、玄参、黄连、肉桂、厚朴、莱菔子 (批号分别为 C3012009004、201801054、20191707、20211602、C4222018002、20211805、202101270、201701054、201701224、20181701) 购自北京同仁堂股份有限公司。链脉佐菌素 (STZ, 批号 B91761) 购自美国 Sigma 公司；盐酸二甲双胍片 (批号 AAW6149) 购自中美上海施贵宝制药有限公司；糖化血清蛋白 (glycosylated serum protein, GSP)、糖化血红蛋白 (glycosylated hemoglobin, HbA1c)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、总超氧化物歧化酶 (total superoxide dismutase, T-SOD) 检测试剂盒 (批号 20210809、20210704、20210706、20210804) 购自南京建成生物工程研究所有限公司；C 肽 (C-peptide, C-P)、INS 检测试剂盒 (批号 202108、202107) 购自江苏酶联生物技术有限公司； β -actin、Bcl-2、Bax 和 Caspase-7 一抗 (货号 AC026、A2845、A12009、A1524) 购自武汉爱博泰克生物科技有限公司；cleaved-Caspase-3 一抗、辣根氧化酶标记的山羊抗兔 IgG (货号 AF7022、S0001) 购自美国 Affinity 公司；新型快速 SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒、彩色预染蛋白质中分子量标准 (货号 ZD304C、ZD113) 购自北京庄盟国际生物基因科技有限公司。

1.3 仪器 血糖仪 (三诺生物传感股份有限公司, 仪器编码 10H55IH1538); 低速冷冻离心机 (上海利鑫坚离心机有限公司, 型号 L-800R); 组织脱水机、切片机 (德国 Leica 公司, 型号

TP1020、RM2245); 生物组织包埋机 (上海精学科学仪器有限公司, 型号 JK-FEC-6L); ChemiDoc™ XRS+ System (美国 Bio-Rad 公司, 型号 721BR08455); 酶标仪 (瑞士 Tecan 公司, 型号 M200PRO); 正置显微镜 (日本 Olympus 公司, 型号 DP80)。

2 方法

2.1 药物制备 芪地降糖汤中按 15 : 10 : 6 : 6 : 6 : 6 : 10 : 6 : 6 : 10 比例称取黄芪、生地、葛根、丹参、苍术、玄参、黄连、肉桂、厚朴、莱菔子, 加 10 倍量 90% 乙醇浸泡, 50 ℃ 超声提取 2 次, 每次 1 h; 超声提取结束后, 所有药渣加水常规煎煮 2 次, 每次 1.5 h。将乙醇超声提取的滤液和水煎液混合, 浓缩制成质量浓度为 0.9 g/mL 的混悬液。

2.2 模型建立 大鼠适应饲养 1 周后, 随机选择 8 只喂食维持饲料作为对照组, 其余 32 只喂食高脂饲料 (蛋白质 20%、碳水化合物 35%、脂肪 45%) 30 d 后, 腹腔注射 30 mg/kg STZ 以建立 T2DM 大鼠模型, 72 h 后, 检测大鼠空腹血糖 (fasting blood glucose, FBG) ≥ 11.1 mmol/L, 餐后血糖 (postprandial blood glucose, PBG) ≥ 16.7 mmol/L, 视为造模成功^[18-19]。

2.3 给药 造模后有 3 只大鼠未成模, 2 只大鼠因血糖过高被剔除。将剩余 27 只大鼠随机分为模型组、二甲双胍组和芪地降糖汤组, 每组 9 只, 在给药过程中模型组、二甲双胍组和芪地降糖汤组各死亡 1 只, 最终纳入统计的大鼠每组 8 只。对照组和模型组灌胃给予 0.9% 氯化钠溶液 (4 mL/只), 二甲双胍组灌胃给予 200 mg/kg 二甲双胍溶液 (二甲双胍片混悬于纯水中), 芪地降糖汤组灌胃给予 7.3 g/kg 芪地降糖汤混悬液 (前期预实验探究得出该剂量效果最佳)。给药 56 d 后收集大鼠血液和胰腺组织进行分析。

2.4 血糖及血清生化检测 大鼠尾尖采集血液, 用血糖试纸检测 FBG、餐后 2 h 血糖 (2-hour postprandial blood glucose, PG2h) 值, 进行口服葡萄糖耐量试验并计算口服葡萄糖耐量试验的曲线下面积 (area under the curve of oral glucose tolerance test, OGTT-AUC)。取腹主动脉血, 于 1 000 r/min 条件下离心 10 min, 按试剂盒说明书检测血清中 HbA1c、MDA、GSP、INS、C-P 水平和 T-SOD 活性, 计算 HOMA-IR。

2.5 HE 染色观察胰岛结构 切取适当大小的胰腺组织, 置于包埋槽内并于多聚甲醛中固定, 用流

水冲洗过夜，将组织脱水、包埋、切片，脱蜡至水，苏木精染色，水洗，盐酸分化，返蓝，伊红染色，脱水封片，于显微镜下观察，采集图像，观察胰岛结构。

2.6 TUNEL 染色检测胰腺组织凋亡情况 取胰腺组织石蜡切片，脱蜡至水后加蛋白酶 K 孵育，PBS 洗涤后按照 TUNEL 试剂盒说明书进行染色，PBS 洗涤后用抗荧光淬灭封片。于荧光显微镜下观察，采集图像，通过 Image J 软件分析并计算绿色荧光凋亡细胞数量。

2.7 免疫荧光法检测胰腺组织 cleaved-Caspase-3 表达 取胰腺组织石蜡切片，经脱蜡、EDTA 高压抗原修复后，加入 cleaved-Caspase-3 抗体 (1 : 200) 4 °C 孵育过夜，加荧光二抗 37 °C 孵育 30 min，滴加 DAPI 染核，用奥林巴斯 DP80 进行拍照，通过 Image J 软件分析并计算蛋白荧光表达。

2.8 Western blot 法检测胰腺组织 Bcl-2、Bax、Caspase-7、cleaved-Caspase-3 蛋白表达 取 50 mg 胰腺组织，加入裂解液和蛋白酶抑制剂进行匀浆，离心后取上清液，即为总蛋白。BCA 试剂盒测定蛋白浓度，制备各组蛋白样本，蛋白上样，通过 SDS-PAGE 凝胶电泳，电转到 PVDF 膜，封闭后加一抗 Bcl-2 (1 : 1 000)、Bax (1 : 1 000)、Caspase-7 (1 : 1 000)、cleaved-Caspase-3 (1 : 700) 和 β -actin (1 : 80 000) 抗体 4 °C 孵育过夜，次日加二抗 (山羊抗兔，1 : 10 000) 孵育 2 h，ECL 法显影。最后通过 Image Lab 软件分析蛋白条带灰度值。

2.9 RT-qPCR 法检测胰腺组织 Bcl-2、Bax、Caspase-3 mRNA 表达 采用 TRIzol 法提取胰腺组织总 RNA，将其反转录为 cDNA，通过 PCR 扩增反应检测胰腺组织凋亡相关因子 (Bcl-2、Bax、Caspase-3) 表达。反应条件为 95 °C 预变性 30 s，95 °C 变性 5 s，60 °C 退火 30 s，72 °C 延伸 20 s，共 45 个循环。使用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算 mRNA 相对表达。引物购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司，序列见表 1。

2.10 统计学分析 通过 SPSS 22.0 软件进行处理，计量资料以平均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析，若方差齐采用 LSD 检验方法，若方差不齐则采用 Tamhane's 检验方法，多组间不同时间点的比较采用重复测量方差分析，球形假设通过 Mauchly's 检验评估，若不足，采用 Greenhouse-Geisser 校正。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

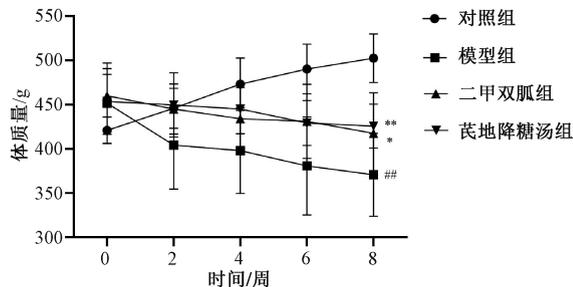
表 1 引物序列

Tab. 1 Primer sequences

基因	引物序列(5'→3')
Bcl-2	正向 CTGAACCGGCATCTGCACAC
	反向 TGAGCAGCGTCTCAGAGACA
Bax	正向 CGTCTCGGGGAGTCACG
	反向 AGCCATCCTCTCTGCTCGAT
Caspase-3	正向 ATGGAGAACAACAAAACCTCAGT
	反向 TTGCTCCCATGTATGGTCTTTAC
β -actin	正向 GATCAGCAACGAGGAGTACGA
	反向 GGTGTAACGCGAGCTCAGTAAC

3 结果

3.1 芪地降糖汤对 T2DM 大鼠体质量的影响 对照组大鼠精神状态良好，体质量逐渐增加；与对照组比较，模型组表现出典型的三多一少症状，且大鼠体质量下降 ($P < 0.01$)；与模型组比较，二甲双胍组和芪地降糖汤组大鼠体质量均增加 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，见图 1。

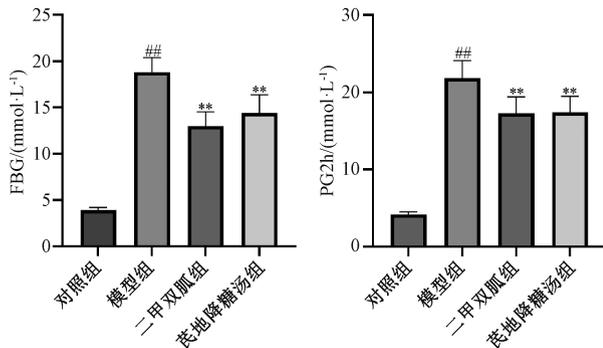


注：与对照组比较， $##P < 0.01$ ；与模型组比较， $*P < 0.05$ ， $**P < 0.01$ 。

图 1 各组大鼠体质量比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Fig. 1 Comparison of body weight of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

3.2 芪地降糖汤对 T2DM 大鼠 FBG 和 PG2h 水平的影响 与对照组比较，模型组大鼠 FBG 和 PG2h 水平升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，二甲双胍组和芪地降糖汤组大鼠 FBG 和 PG2h 水平均降低 ($P < 0.01$)，见图 2。



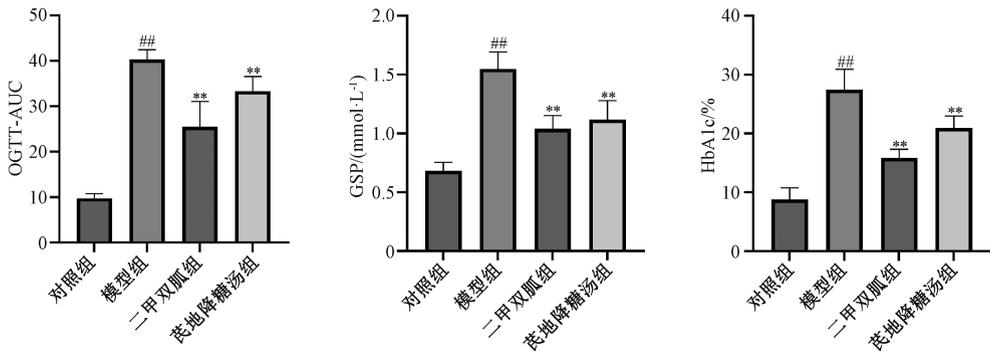
注：与对照组比较， $##P < 0.01$ ；与模型组比较， $**P < 0.01$ 。

图 2 各组大鼠 FBG 和 PG2h 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Fig. 2 Comparison of FBG and PG2h levels in rats of each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

3.3 芪地降糖汤对 T2DM 大鼠 OGTT-AUC、GSP 和 HbA1c 水平的影响 与对照组比较,模型组大鼠 OGTT-AUC、GSP 和 HbA1c 水平升高 ($P<0.01$);

与模型组比较,二甲双胍组和芪地降糖汤组大鼠 OGTT-AUC、GSP 和 HbA1c 水平均降低 ($P<0.01$), 见图 3。



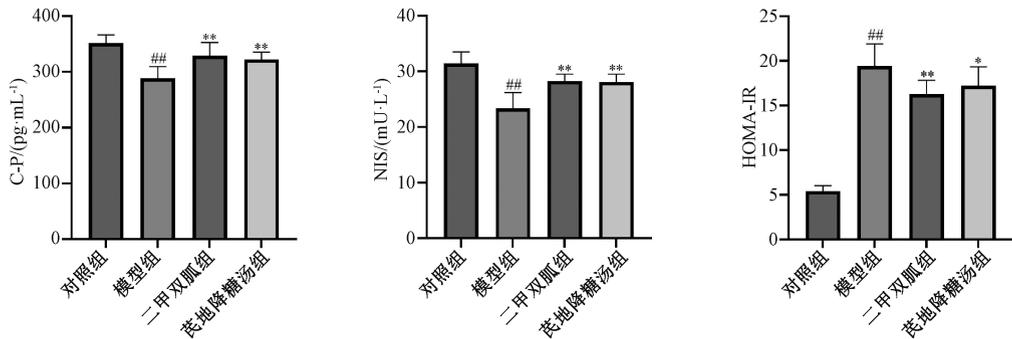
注: 与对照组比较, ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较, ^{**} $P<0.01$ 。

图 3 各组大鼠 OGTT-AUC、GSP 和 HbA1c 水平比较 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Fig. 3 Comparison of OGTT-AUC, GSP and HbA1c levels in rats of each group ($\bar{x}\pm s, n=8$)

3.4 芪地降糖汤对 T2DM 大鼠 C-P、INS 和 HOMA-IR 水平的影响 与对照组比较,模型组大鼠血清 INS 和 C-P 水平降低 ($P<0.01$), HOMA-IR 水平升高 ($P<0.01$); 与模型组比较,二甲双

胍组和芪地降糖汤组大鼠血清 INS 和 C-P 水平升高 ($P<0.01$), HOMA-IR 水平降低 ($P<0.05, P<0.01$), 表明芪地降糖汤减轻了 T2DM 大鼠胰岛 β 细胞功能的损伤, 见图 4。

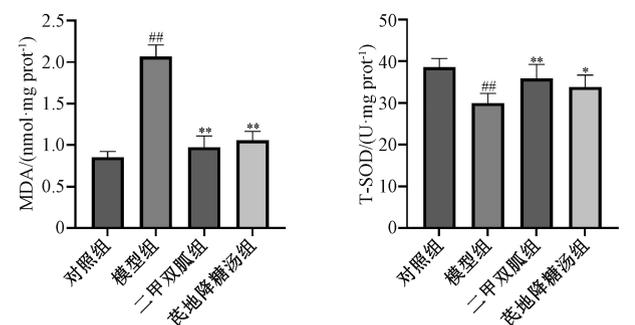


注: 与对照组比较, ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较, ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$ 。

图 4 各组大鼠血清 C-P、INS 和 HOMA-IR 水平比较 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Fig. 4 Comparison of serum C-P, INS and HOMA-IR levels in rats of each group ($\bar{x}\pm s, n=8$)

3.5 芪地降糖汤对 T2DM 大鼠血清 MDA 水平和 T-SOD 活性的影响 与对照组比较,模型组大鼠血清 MDA 水平升高 ($P<0.01$), T-SOD 活性降低 ($P<0.01$); 与模型组比较,二甲双胍组和芪地降糖汤组大鼠血清 MDA 水平降低 ($P<0.01$), T-SOD 活性升高 ($P<0.05, P<0.01$), 表明芪地降糖汤可以减轻 T2DM 大鼠氧化应激, 见图 5。



注: 与对照组比较, ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较, ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$ 。

图 5 各组大鼠血清 MDA 水平和 T-SOD 活性比较 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Fig. 5 Comparison of serum MDA level and T-SOD activity in rats of each group ($\bar{x}\pm s, n=8$)

3.6 芪地降糖汤对 T2DM 大鼠胰岛细胞结构的影响 正常组大鼠胰岛细胞呈椭圆形细胞团, 边界清楚, 胞浆丰富; 模型组大鼠胰岛形态不规则, 部分胰岛细胞萎缩, 核边缘化, 胞浆空泡化; 二甲双胍组和芪地降糖汤组大鼠胰岛细胞数量增加, 形态改善, 见图 6。

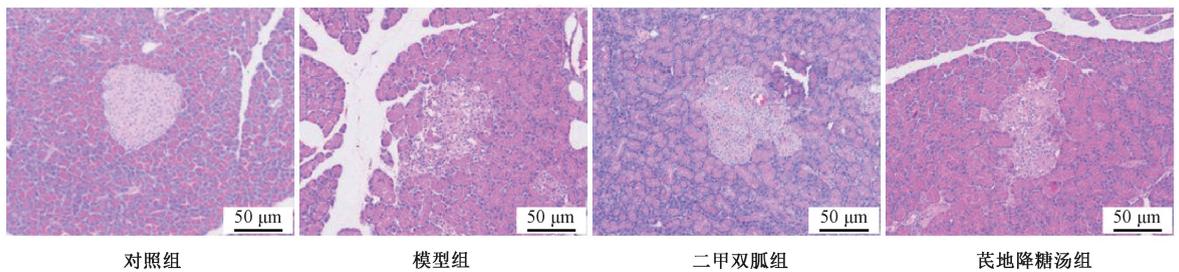
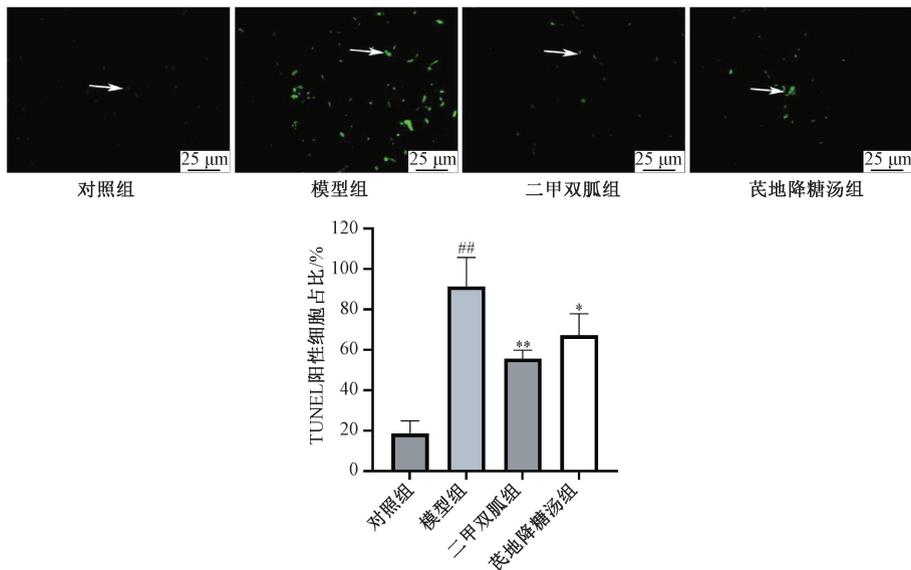


图6 各组大鼠胰腺组织 HE 染色 (×200)

Fig. 6 HE staining of pancreatic tissue of rats in each group (×200)

3.7 芪地降糖汤对 T2DM 大鼠胰岛细胞凋亡的影响 对照组胰岛细胞中少见凋亡细胞；与对照组比较，模型组大鼠凋亡胰岛细胞增多，TUNEL

阳性表达升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，二甲双胍组和芪地降糖汤组大鼠凋亡胰岛细胞数量减少 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，见图 7。



注：与对照组比较， $\#\# P < 0.01$ ；与模型组比较， $* P < 0.05$, $** P < 0.01$ 。

图7 各组大鼠胰岛细胞凋亡情况比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

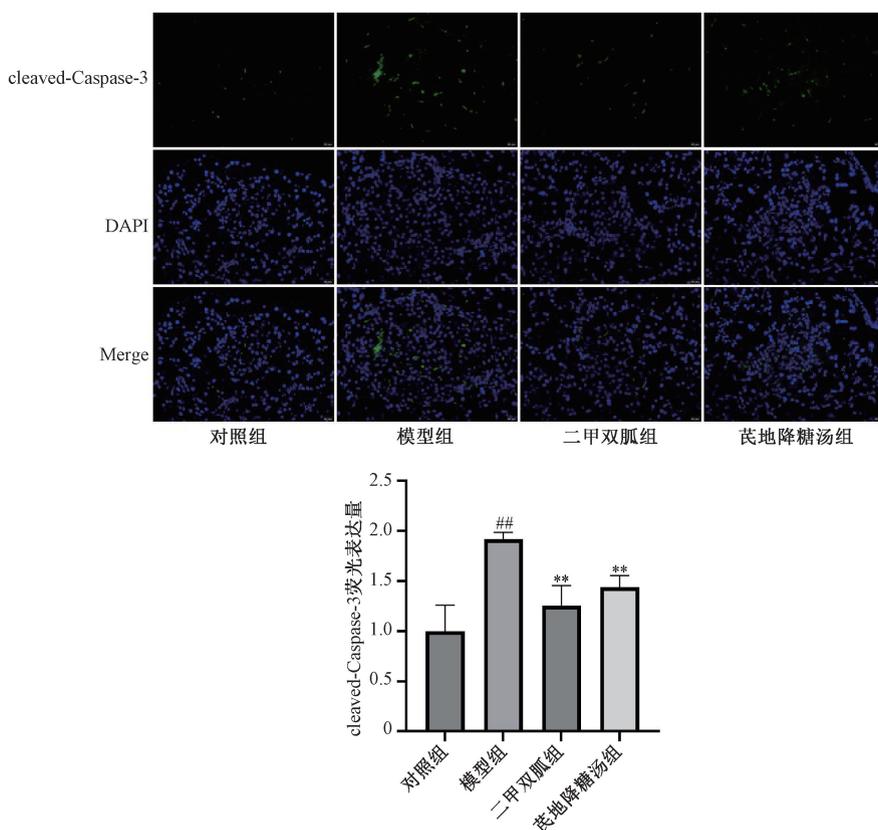
Fig. 7 Comparison of pancreatic islet cell apoptosis in rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

3.8 芪地降糖汤对 T2DM 大鼠胰腺组织 cleaved-Caspase-3 蛋白表达的影响 与对照组比较，模型组大鼠胰腺组织 cleaved-Caspase-3 阳性表达增加 ($P < 0.01$)；与模型组比较，二甲双胍组和芪地降糖汤组大鼠胰腺组织 cleaved-Caspase-3 阳性表达减少 ($P < 0.01$)，见图 8。

0.05)，Bax、cleaved-Caspase-3 和 Caspase-7 蛋白表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，表明芪地降糖汤可通过调节凋亡相关蛋白表达保护胰岛细胞，见图 9。

3.9 芪地降糖汤对 T2DM 大鼠胰腺组织 Bcl-2、Bax、cleaved-Caspase-3、Caspase-7 蛋白表达的影响 与对照组比较，模型组大鼠胰腺组织 Bcl-2 蛋白表达降低 ($P < 0.01$)，Bax、cleaved-Caspase-3 和 Caspase-7 蛋白表达升高 ($P < 0.01$)，表明内源性凋亡途径被激活；与模型组比较，二甲双胍组和芪地降糖汤组大鼠胰腺组织 Bcl-2 蛋白表达升高 ($P <$

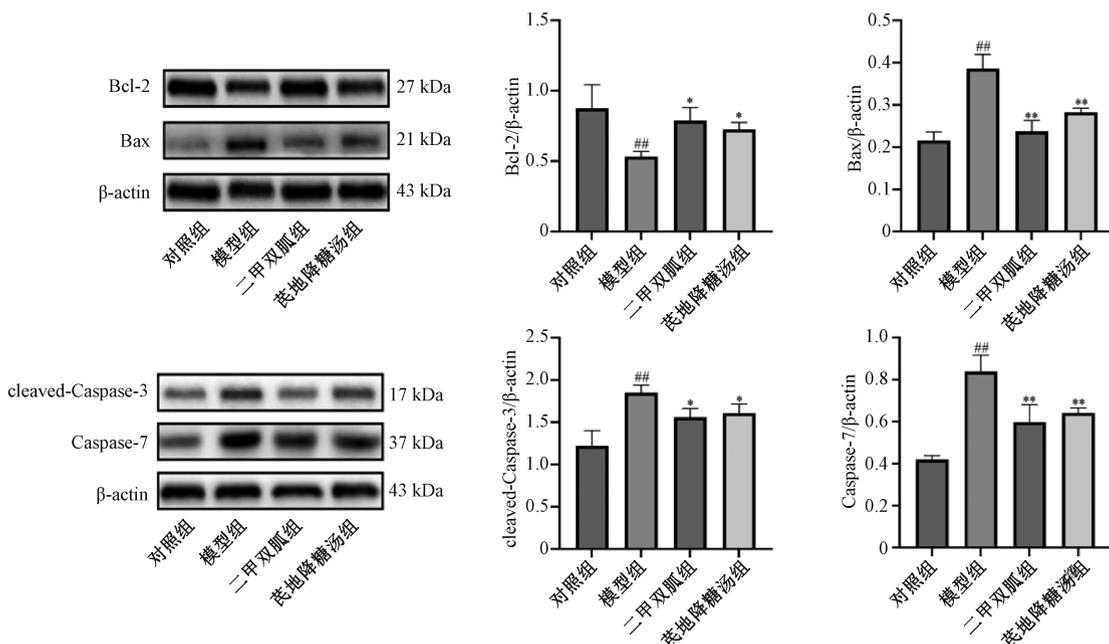
3.10 芪地降糖汤对 T2DM 大鼠胰腺组织 Bcl-2、Bax、Caspase-3 mRNA 表达的影响 与对照组比较，模型组大鼠胰腺组织 Bcl-2 mRNA 表达降低 ($P < 0.01$)，Bax、Caspase-3 mRNA 表达升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，二甲双胍组和芪地降糖汤组大鼠胰腺组织 Bcl-2 mRNA 表达升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，Bax、Caspase-3 mRNA 表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，见图 10。



注：与对照组比较，^{##} $P < 0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P < 0.01$ 。

图8 各组大鼠胰腺组织 cleaved-Caspase-3 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

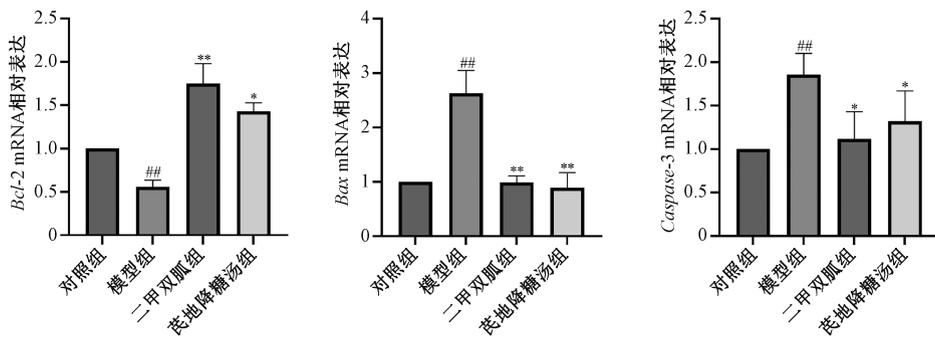
Fig. 8 Comparison of cleaved-Caspase-3 protein expression in pancreatic tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)



注：与对照组比较，^{##} $P < 0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P < 0.05$ ，^{**} $P < 0.01$ 。

图9 各组大鼠胰腺组织 Bcl-2、Bax、cleaved-Caspase-3、Caspase-7 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

Fig. 9 Comparison of protein expressions of Bcl-2, Bax, cleaved-Caspase-3 and Caspase-7 in pancreatic tissues of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)



注：与对照组比较，^{##} $P < 0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P < 0.05$ ，^{**} $P < 0.01$ 。

图 10 各组大鼠胰腺组织 *Bcl-2*、*Bax*、*Caspase-3* mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

Fig. 10 Comparison of mRNA expressions of *Bcl-2*, *Bax* and *Caspase-3* in pancreatic tissues of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

4 讨论

胰岛细胞功能受损和凋亡是 T2DM 发病的关键因素。本研究表明，芪地降糖汤能降低 T2DM 大鼠的 FBG、GSP 及其他相关指标，抑制胰岛细胞凋亡，可用于预防和治疗 DM。进一步研究表明，芪地降糖汤抑制胰岛细胞凋亡可能是通过调节内源性凋亡途径实现的。

血糖升高是诊断 T2DM 的主要依据，也是判断糖尿病病情和控制情况的主要指标。GSP 可与葡萄糖发生糖化反应，其生成量与血糖浓度和持续时间有关。因此，GSP 也常被用作 T2DM 患者的近期疾病监测指标^[20]。C-P 和 INS 是从胰岛素原分裂而成的等分子肽类。由于 C 肽不容易被肝脏降解，所以测量 C-P 可评估 INS 水平，准确反映胰岛 β 细胞的分泌功能^[21-22]。OGTT 也是评价胰岛功能的一个常用指标。本研究发现，模型组大鼠 FBG、PG2h、OGTT-AUC、GSP、HbA1c、HOMA-IR 水平升高，C-P、INS 水平降低，表明 T2DM 大鼠体内存在糖代谢紊乱、胰岛细胞功能受损；给予二甲双胍和芪地降糖汤干预可改善上述指标，表明芪地降糖汤能有效保护胰岛细胞功能，改善糖代谢异常。

高血糖是发生氧化应激的主要原因，葡萄糖毒性在胰岛功能障碍中起着关键作用^[23-24]。T2DM 大鼠的高血糖会诱导氧化应激，产生氧自由基，引发脂质过氧化，并可导致胰岛细胞功能受损^[25]。MDA 反映了机体脂质过氧化和自由基攻击的严重程度。SOD 反映了机体消除氧自由基的能力。本研究发现，模型组大鼠血清 MDA 水平升高，T-SOD 活性降低，表明大鼠体内存在氧化应激；而给予二甲双胍和芪地降糖汤干预均可改善高血糖引起的氧化应激。HE 染色显示，模型组大鼠的胰岛细胞受损，

部分胰岛细胞萎缩甚至空泡化；TUNEL 染色显示模型组凋亡的胰岛细胞数量增加。而芪地降糖汤干预可改善由氧化应激引起的胰岛细胞形态损伤。

在 T2DM 中，细胞凋亡导致胰岛细胞功能障碍，造成 INS 分泌不足。因此，抑制胰岛 β 细胞过度凋亡，维持胰岛细胞再生和细胞死亡的平衡，是治疗糖尿病的关键因素^[26-27]。在细胞稳态中，Bax 是 Bcl-2 家族中最重要的凋亡诱导基因。Bax 在凋亡信号诱导后很快迁移到线粒体，呈现高度分散的亚细胞定位。当细胞发生凋亡时，Bax 可以引起线粒体通透性改变，开放线粒体通透性转换孔道，形成 CytC-Apaf-1-Procaspase-9 “凋亡体”^[28-29]。启动了与 Caspase 相关的凋亡级联，同时抑制了 Bcl-2 的抗凋亡作用，从而导致细胞凋亡。内在凋亡途径进而激活下游的 Caspase-3 和 Caspase-7，它们是最关键的凋亡执行者，在细胞凋亡过程中发挥关键作用^[30-31]。本研究结果显示，模型组 Bcl-2 和 Bax 之间的平衡被打破，cleaved-Caspase-3 和 Caspase-7 表达增加，表明凋亡途径被激活；而芪地降糖汤的干预增加了 Bcl-2 表达，抑制了 Bax、cleaved-Caspase-3 和 Caspase-7 表达，表明其可通过调节线粒体凋亡途径抑制胰岛细胞的凋亡。

综上所述，芪地降糖汤能改善 T2DM 的糖代谢紊乱和氧化应激引起的胰岛细胞损伤，这可能与调节线粒体凋亡途径，抑制胰岛细胞凋亡有关。

参考文献：

[1] Sun H, Saeedi P, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2022, 183: 109119.
[2] Cho N H, Shaw J E, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas:

- Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2018, 138: 271-281.
- [3] Rutter G A, Georgiadou E, Martinez-Sanchez A, et al. Metabolic and functional specialisations of the pancreatic beta cell: gene disallowance, mitochondrial metabolism and intercellular connectivity[J]. *Diabetologia*, 2020, 63 (10): 1990-1998.
- [4] Costes S, Bertrand G, Ravier M A. Mechanisms of beta-cell apoptosis in type 2 diabetes-prone situations and potential protection by GLP-1-based therapies[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(10): 5303.
- [5] Murali K P, Sundhar M, Kunka M R. Dysfunctions, molecular mechanisms, and therapeutic strategies of pancreatic β -cells in diabetes[J]. *Apoptosis*, 2023, 28(7-8): 958-976.
- [6] 胡艳红, 张凡, 张楚焱, 等. 程序性细胞死亡形式研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2018, 20(12): 85-89.
- [7] D'Arcy M S. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy[J]. *Cell Biol Int*, 2019, 43(6): 582-592.
- [8] 胡军, 白秋方, 杨少娟, 等. 肥胖对胰岛 β 细胞凋亡的影响[J]. *华中科技大学学报 (医学版)*, 2017, 46(6): 652-655.
- [9] Hannah L G, Annabell S, Grant D, et al. Mitochondria and cell death[J]. *Nat Cell Biol*, 2024, 26(9): 1434-1446.
- [10] Darenskaya M A, Kolesnikova L I, Kolesnikov S I. Oxidative stress: pathogenetic role in diabetes mellitus and its complications and therapeutic approaches to correction[J]. *Bull Exp Biol Med*, 2021, 171(2): 179-189.
- [11] Santos J M D, Zhong Q, Benite-Ribeiro S A, et al. New insights into the role of oxidative stress in the development of diabetes mellitus and its complications[J]. *J Diabetes Res*, 2023, 2023: 9824864.
- [12] Zhang P J, Li T, Wu X Y, et al. Oxidative stress and diabetes: antioxidative strategies[J]. *Front Med*, 2020, 14 (5): 583-600.
- [13] Singh A, Kukreti R, Saso L, et al. Mechanistic insight into oxidative stress-triggered signaling pathways and type 2 diabetes[J]. *Molecules*, 2022, 27(3): 950.
- [14] Liu S Y, Wang L Y, Zhang Z H, et al. The potential of astragalus polysaccharide for treating diabetes and its action mechanism[J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1339406.
- [15] Bai Y L, Han L L, Qian J H, et al. Molecular mechanism of puerarin against diabetes and its complications[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 780419.
- [16] Chen Y, Li Q, Zhao S W, et al. Berberine protects mice against type 2 diabetes by promoting PPAR γ -FGF21-GLUT2-regulated insulin sensitivity and glucose/lipid homeostasis[J]. *Biochem Pharmacol*, 2023, 218: 115928.
- [17] Li Y, Chen Q, Sun H J, et al. The active ingredient catalpol in *Rehmannia glutinosa* reduces blood glucose in diabetic rats via the AMPK pathway[J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2024, 17: 1761-1767.
- [18] Zhang Q H, Huang Y Y, Li X J, et al. Tangduqing granules attenuate insulin resistance and abnormal lipid metabolism through the coordinated regulation of PPAR γ and DGAT2 in type 2 diabetic Rats[J]. *J Diabetes Res*, 2019, 2019: 7403978.
- [19] 黎娅, 范培云, 马晓雨, 等. 长期稳定的SD大鼠2型糖尿病模型制备方法[J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(3): 364-369.
- [20] 北京高血压防治协会, 北京糖尿病防治协会, 北京慢性病防治与健康教育研究会, 等. 基层心血管病综合管理实践指南 2020 [J]. *中国医学前沿杂志 (电子版)*, 2020, 12(8): 1-73.
- [21] 韩思雨, 易梦雅, 李警耀, 等. 胰岛 β 细胞功能障碍与 2 型糖尿病相关研究进展[J]. *承德医学院学报*, 2025, 42(3): 230-234.
- [22] 唐祝奇, 崔世维, 朱晓晖, 等. 空腹和餐后 2h C 肽在评估 2 型糖尿病胰岛 β 细胞功能中的作用[J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(12): 3251-3252.
- [23] Tian C Y, Chang H, La X J, et al. Wushenziye Formula inhibits pancreatic β cell apoptosis in type 2 diabetes mellitus via MEK-ERK-Caspase-3 signaling pathway[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018, 2018: 4084259.
- [24] Dalle S, Abderrahmani A, Renard E. Pharmacological inhibitors of β -cell dysfunction and death as therapeutics for diabetes[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14: 1076343.
- [25] Liu J Y, Zhang Y C, Xie R R, et al. Nifuroxazide improves insulin secretion and attenuates high glucose-induced inflammation and apoptosis in INS-1 cells[J]. *Eur J pharmacol*, 2021, 899: 174042.
- [26] Engin A B, Engin A. Protein kinases signaling in pancreatic beta-cells death and type 2 diabetes[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1275: 195-227.
- [27] Kannan P, Karthikeyan P, Subramaniam N, et al. Gymnemic acid protects murine pancreatic β -cells by moderating hyperglycemic stress-induced inflammation and apoptosis in type 1 diabetic rats[J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2022, 36(7): e23050.
- [28] Adams J M, Cory S. Bcl-2-regulated apoptosis: mechanism and therapeutic potential[J]. *Curr Opin Immunol*, 2007, 19(5): 488-496.
- [29] 蔡元钦, 向阳, 龙清华, 等. 茯苓散对阿尔茨海默病大鼠神经元细胞凋亡和 Bax/Bcl-2/Caspase3 信号通路的影响[J]. *中成药*, 2025, 47(4): 1122-1128.
- [30] Shota K, Kaori S, Yuji T. Loss of ADAR1 in human iPS cells promotes caspase3-mediated apoptotic cell death[J]. *Genes Cells*, 2015, 20(8): 675-680.
- [31] 黄玉洁, 阮园, 王佳颖. 长春胺衍生物 Vin24 通过 Bcl-2/Bax/Caspase3 通路改善糖尿病小鼠周围神经病变研究[J]. *南京中医药大学学报*, 2024, 40(11): 1189-1199.