

引用:吴阳阳,吴晓明,陈海兰,邓舜.健脾消渴方通过miR-126/IL-17A通路对2型糖尿病大鼠胰岛素抵抗及肾损伤的影响[J].中医导报,2026,32(3):12-17.

健脾消渴方通过miR-126/IL-17A通路对2型糖尿病大鼠胰岛素抵抗及肾损伤的影响*

吴阳阳,吴晓明,陈海兰,邓舜
(海安市中医院,江苏 海安 226600)

[摘要] 目的:探讨基于微小RNA-126(miR-126)/白细胞介素-17A(IL-17A)通路探讨健脾消渴方(JPKK)对2型糖尿病(T2DM)大鼠胰岛素抵抗(IR)及肾损伤的影响。方法:选择10只大鼠作为Control组,其余大鼠构建T2DM大鼠模型。将建模成功的大鼠随机分为T2DM组、L-JPKK组(灌胃10 g/kg的JPKK)、H-JPKK组(灌胃20 g/kg的JPKK)、miR-126 antagomir(拮抗剂)组(灌胃20 g/kg的JPKK+尾静脉注射20 nmol/mL miR-126 antagomir),每组各10只,T2DM组和Control组灌胃和注射等量生理盐水,每天灌胃3次,注射1次,连续28 d。检测常规生化指标[血肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)]和胰岛素敏感性[空腹血糖(FBG)、空腹胰岛素(FINS)、胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)];qRT-PCR检测肾组织中miR-126 mRNA、IL-17A mRNA表达;HE染色观察肾损伤;TUNEL染色观察肾小管上皮细胞凋亡;酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒检测肾组织中白细胞介素-1 β (IL-1 β),肿瘤坏死因子- α (TNF- α)表达;采用蛋白质印迹(Western blotting)法检测大鼠肾组织中剪切型胱天蛋白酶-3(cleaved Caspase-3)、IL-17A蛋白表达。结果:Control组大鼠肾脏结构清晰;T2DM组大鼠肾组织增生明显,细胞外基质增多,存在明显的炎症细胞浸润;L-JPKK组、H-JPKK组大鼠上述病变均有不同程度的改善;miR-126 antagomir组大鼠病变程度进一步加重。T2DM组大鼠Scr、BUN、TG、TC、FBG、FINS、HOMA-IR、肾小管上皮细胞凋亡率高于Control组($P<0.05$),肾组织中IL-17A mRNA、IL-1 β 、TNF- α 、cleaved Caspase-3、IL-17A表达高于Control组($P<0.05$),miR-126 mRNA表达低于Control组($P<0.05$);L-JPKK组、H-JPKK组大鼠Scr、BUN、TG、TC、FBG、FINS、HOMA-IR、肾小管上皮细胞凋亡率低于T2DM组($P<0.05$),肾组织中IL-17A mRNA、IL-1 β 、TNF- α 、cleaved Caspase-3、IL-17A表达低于T2DM组($P<0.05$),miR-126 mRNA表达高于T2DM组($P<0.05$);miR-126 antagomir组大鼠Scr、BUN、TG、TC、FBG、FINS、HOMA-IR、肾小管上皮细胞凋亡率高于H-JPKK组($P<0.05$),肾组织中IL-17A mRNA、IL-1 β 、TNF- α 、cleaved Caspase-3、IL-17A表达高于H-JPKK组($P<0.05$),miR-126 mRNA表达低于H-JPKK组($P<0.05$)。结论:JPKK能够改善T2DM大鼠的IR,减轻肾脏损伤,其作用机制可能是调控miR-126/IL-17A通路。

[关键词] 2型糖尿病;健脾消渴方;胰岛素抵抗;肾损伤;微小RNA-126/白细胞介素-17A通路;大鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-951X(2026)03-0012-06

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2026.03.003

Effect of Jianpi Xiaoke Formula (健脾消渴方) on Insulin Resistance and Renal Injury in Type 2 Diabetic Rats by Regulating the miR-126/IL-17A Pathway

WU Yangyang, WU Xiaoming, CHEN Hailan, DENG Shun

(Haian Hospital of Traditional Chinese Medicine, Haian Jiangsu 226600, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effect of Jianpi Xiaoke Formula (JPKK) on insulin resistance (IR) and renal injury in rats with type 2 diabetes mellitus (T2DM) and to explore the role of the microRNA-126 (miR-126)/interleukin-17A (IL-17A) pathway in this process. Methods: Ten normal rats served as the Control group, and the remaining rats were used to establish the T2DM rat model. Successfully modeled rats were randomly divided into the T2DM group, L-JPKK group (10 g/kg JPKK by gavage), H-JPKK group (20 g/kg JPKK by gavage),

*基金项目:南通市自然科学基金项目(MSZ2023147)

通信作者:邓舜,男,主任中医师,研究方向为中医治疗糖尿病、糖尿病肾病

and miR-126 antagomir group (20 g/kg JPXK by gavage+20 nmol/mL miR-126 antagomir by tail vein injection), with 10 rats in each group. Rats in the T2DM group and the Control group were given equal volumes of normal saline by gavage (three times daily) and by injection (once daily) for 28 consecutive days. Routine biochemical indicators [serum creatinine (Scr), blood urea nitrogen (BUN), triglyceride (TG), total cholesterol (TC)] and insulin sensitivity indicators [fasting blood glucose (FBG), fasting insulin (FINS), homeostatic model assessment for insulin resistance (HOMA-IR)] were measured. qRT-PCR was used to detect the expression of miR-126 mRNA and IL-17A mRNA in renal tissue. HE staining was used to observe renal injury. TUNEL staining was used to observe apoptosis of renal tubular epithelial cells. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits were used to detect the levels of interleukin-1 β (IL-1 β) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in renal tissue. Western blotting was used to detect the expression of cleaved Caspase-3 and IL-17A proteins in rat renal tissue. Results: The renal structure was clear in the Control group. The T2DM group showed marked renal tissue proliferation, increased extracellular matrix, and obvious inflammatory cell infiltration. These lesions were ameliorated to varying degrees in the L-JPXK and H-JPXK groups, while they were further aggravated in the miR-126 antagomir group. Compared with the Control group, the T2DM group exhibited significantly higher levels of Scr, BUN, TG, TC, FBG, FINS, HOMA-IR, renal tubular epithelial cell apoptosis rate, as well as higher expression of IL-17A mRNA, IL-1 β , TNF- α , cleaved Caspase-3, and IL-17A in renal tissue ($P<0.05$), while miR-126 mRNA expression was significantly lower ($P<0.05$). Compared with the T2DM group, the L-JPXK and H-JPXK groups showed significantly lower levels of Scr, BUN, TG, TC, FBG, FINS, HOMA-IR, renal tubular epithelial cell apoptosis rate, and lower expression of IL-17A mRNA, IL-1 β , TNF- α , cleaved Caspase-3, and IL-17A in renal tissue ($P<0.05$), while miR-126 mRNA expression was significantly higher ($P<0.05$). Compared with the H-JPXK group, the miR-126 antagomir group showed significantly higher levels of Scr, BUN, TG, TC, FBG, FINS, HOMA-IR, renal tubular epithelial cell apoptosis rate, and higher expression of IL-17A mRNA, IL-1 β , TNF- α , cleaved Caspase-3, and IL-17A in renal tissue ($P<0.05$), while miR-126 mRNA expression was significantly lower ($P<0.05$). Conclusion: Jianpi Xiaoke Formula can ameliorate IR and alleviate renal injury in T2DM rats, and its mechanism may be related to the regulation of the miR-126/IL-17A pathway.

[Keywords] type 2 diabetes mellitus; Jianpi Xiaoke Formula; insulin resistance; renal injury; microRNA-126/interleukin-17A pathway; rats

2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)是一种普遍存在的慢性代谢性疾病,患T2DM的主要因素包括不健康的习惯(如久坐不动的生活方式、吸烟、超重和肥胖、不健康的饮食习惯),以及遗传和代谢因素的相互作用。T2DM的发病率和死亡率不断上升,对全球健康构成重大威胁^[1]。胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)是T2DM的重要病理生理过程和危险因素,与患者肾功能不全密切相关^[2]。肾脏是维持全身葡萄糖稳态的重要器官,在糖尿病患者中,IR和葡萄糖稳态异常严重损害肾脏,这也是糖尿病患者维持高血糖的原因之一^[3]。因此,探讨T2DM大鼠IR及肾损伤的分子机制,寻找相关靶点的新药物,对提高T2DM的治疗效果至关重要。微小RNA(microRNAs, miRNAs)是一类非编码单链RNA分子,其通过调控靶基因的转录后沉默,在生理和病理途径中发挥重要作用。多项研究表明,已确定miRNA在T2DM及相关代谢性疾病(如肥胖和IR)中发挥重要作用^[4]。相关研究^[5]显示,循环miRNA-126(miR-126)在T2DM的整个病理生理过程中下调,miR-126在内皮细胞的健康中起着至关重要的作用,缺失miR-126的小鼠会出现严重的血管渗漏、功能障碍、出血等。白细胞介素-17(interleukin-17, IL-17)是一个细胞因子家族,由6个结构相关的亚型组成,即IL-17A~F。IL-17A被认为是该家族中

最重要的成员,其上调与各种自身免疫性疾病和慢性炎症性疾病(如T2DM)有关。IL-17A具有很强的促炎活性,可以诱导各种促炎细胞因子、基质金属蛋白酶和趋化因子的产生^[6]。相关研究^[7]显示,miR-126-5p通过靶向IL-17A调控缺氧条件下心肌细胞的增殖和凋亡,在急性心肌梗死疾病中发挥重要作用。健脾消渴方(Jianpi Xiaoke Formula, JPXK)作为一种中药化合物,对糖尿病具有显著的治疗效果。有研究^[8]报道,JPXK可以增加糖尿病大鼠的空腹胰岛素(fasting insulin, FINS),降低IR,并增强胰岛细胞功能。然而,目前JPXK调节miR-126/IL-17A通路对T2DM大鼠IR和肾损伤的影响,尚不清晰。因此,本研究基于miR-126/IL-17A通路探讨JPXK对T2DM大鼠IR及肾损伤的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物 6~8周龄成年雄性SD大鼠50只,体质量180~200 g,购自江苏艾菱菲生物科技有限公司,动物生产许可证号:SCXK(苏)2023-0020,动物质量合格证号:A20230517。动物饲养于江苏艾菱菲生物科技有限公司动物中心,动物使用许可证号:SYXK(苏)2023-0091。在标准条件下(12 h/12 h明暗循环,温度22℃,湿度55%)适应1周,并自由地获得标准鼠粮和水。所有涉及的动物程序均经江苏艾菱菲生物科技有限

公司动物伦理委员会批准(批件号:2024-1006)。

1.2 主要试剂与仪器 JPXK由黄芪30 g,天花粉、生地黄、川牛膝各15 g,黄连9 g,佩兰12 g组成,购于海安市中医院中药房。经海安市中医院何春慧副主任药师鉴定中药饮片为正品。miR-126 antagomir(拮抗剂)(美国Med Chem Express公司,批号:231106-02);苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(上海泽叶生物科技有限公司,批号:ZY240118);第一链cDNA合成试剂盒(含双链DNA酶)(北京百瑞极生物科技有限公司,批号:BN230925-03);2×SYBR Green qPCR Master Mix试剂盒(北京达科为生物技术有限公司,批号:DKW240210);TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(北京伊塔生物科技有限公司,批号:YT231208-01);白细胞介素-1β(interleukin-1β,IL-1β)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor -α,TNF-α)、FINS酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,货号:E-EL-R0012、E-HSEL-R0001、E-EL-R2466);β-actin、剪切型胱天蛋白酶-3(cleaved Caspase-3)、IL-17A、辣根过氧化物酶(HRP)(英国Abcam公司,货号:ab6276、ab32042、ab318150、ab205718)。倒置显微镜(上海成贯仪器有限公司,型号:Ts2R);qRT-PCR仪(上海恪敏生物科技有限公司,型号:ABI Prism 7700)。

1.3 实验方法

1.3.1 T2DM动物建模、分组和给药 选择10只大鼠,给予正常饮食,作为Control组,剩余大鼠给予高脂饮食(HFD,蛋白质20%,碳水化合物35%,脂肪45%),饲养28 d。然后,HFD大鼠腹腔注射链脲佐菌素(30 mg/kg),Control组大鼠腹腔注射柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液,72 h后,空腹血糖(FBG)≥11.1 mmol/L或随机血糖≥16.7 mmol/L的大鼠视为糖尿病模型大鼠^[9]。

将建模成功的大鼠随机分为T2DM组、L-JPXK组(灌胃10 g/kg的JPXK^[10])、H-JPXK组(灌胃20 g/kg的JPXK^[10])、miR-126 antagomir组(灌胃20 g/kg的JPXK+尾静脉注射20 nmol/mL miR-126 antagomir^[11]),每组各10只,T2DM组和Control组灌胃和注射等量生理盐水,每天灌胃3次,注射1次,连续28 d。

1.3.2 常规生化指标检测 采集各组大鼠尾静脉血,采用生化检测仪检测血清中肌酐(serum creatinine,Scr)、尿素氮(blood urea nitrogen,BUN)、甘油三酯(triglyceride,TG)、总胆固醇(total cholesterol,TC)含量。

1.3.3 胰岛素敏感性检测 使用血糖测定仪检测血清中空腹血糖(fasting blood glucose,FBG),采用胰岛素ELISA试剂盒检测大鼠空腹血清FINS,并计算胰岛素抵抗指数(insulin resistance index,HOMA-IR)。HOMA-IR=FBG×FINS/22.5。

1.3.4 qRT-PCR检测miR-126、IL-17A mRNA表达水平 腹腔注射3%戊巴比妥钠溶液麻醉处死大鼠,采集T2DM肾组织,一部分用于组织学检测,一部分用于基因和蛋白表达检测。采用Trizol试剂提取大鼠肾组织总RNA,使用第一链cDNA合成试剂盒合成cDNA,使用2×SYBR Green qPCR Master Mix试剂盒在ABI Prism 7700系统,miR-423-5p以U6作为内参,IL-17A以GAPDH作为内参,采用以下循环条件:94℃预变性3 min,62℃退火10 s,在72℃下延伸10 s,循环30次,进行qRT-PCR检测。据 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算大鼠肾组织中miR-126 mRNA、

IL-17A mRNA表达水平。引物序列见表1。

表1 qRT-PCR 引物序列

目的基因	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')	产物长度
miR-126	GGAATGTAAGGAAGGTG	GAGCAGGCTGGAGAA	89 bp
IL-17	TCCCACGAAATCCAGGATGC	GGATGTTGAGTTGACCATCAC	75 bp
U6	CACAGCACACCAGAATCA	GCAGTCCTTGAATCCTTGT	83 bp
GAPDH	GAAGGTGAAGGTCGGAGTCA	AATGAAGGGTCCATTGATGG	109 bp

1.3.5 HE染色检测肾组织损伤 将4%多聚甲醛固定的肾组织,分别采用70%、80%、95%、100%乙醇各处理1 h,加入二甲苯处理30 min,石蜡包埋过夜,切成5 μm厚的切片,加入二甲苯处理10 min,100%、95%、80%、70%乙醇各处理2 min,加入苏木精染液处理5 min,伊红染液处理2 min,二甲苯处理2 min,中性树胶封片,在显微镜下观察。

1.3.6 TUNEL染色检测肾小管上皮细胞凋亡 二甲苯脱蜡肾组织切片,梯度乙醇脱水,加入蛋白酶K/10 mmol/L Tris溶液中于37℃下孵育15~30 min,加入3% H₂O₂孵育10 min,加入TUNEL反应液在37℃避光孵育60 min,加入DAPI孵育5 min,密封切片,在荧光显微镜下观察。

1.3.7 ELISA检测肾组织中IL-1β、TNF-α表达 去大鼠肾组织制成匀浆,以3 000 r/min(离心半径10 cm)离心15 min取上清液,使用相应IL-1β、TNF-α ELISA试剂盒,将IL-1β、TNF-α标准品和血清样本加入96孔板中孵育1 h,加入生物素化二抗孵育30 min,加入终止液终止后在酶标仪450 nm处测定吸光度,计算IL-1β、TNF-α表达。

1.3.8 蛋白质印迹(Western blotting)法检测肾组织中cleaved Caspase-3、IL-17A表达 冷冻肾脏样本在提取缓冲液中匀浆,在14 000×g下离心60 min,收集上清,用Bradford试剂测定蛋白质浓度,样品在-80℃保存待用,等量的蛋白质通过SDS-PAGE分离,用适当的β-actin(1:5 000)、cleaved Caspase-3(1:500)、IL-17A(1:1 000)一抗孵育膜,用二抗(1:1 000)处理1 h,使用ECL系统进行可视化,使用扫描仪和相关软件进行条带定量。

1.4 统计学方法 采用SPSS 26.0软件对数据进行数据分析,符合正态分布的计量资料以“均数±标准差”(x̄±s)表示,组间比较采用单因素方差分析,多重比较采用SNK-q检验。P<0.05表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 JPXK对大鼠生化指标的影响 T2DM组大鼠Scr、BUN、TG、TC水平高于Control组(P<0.05);L-JPXK、H-JPXK组大鼠Scr、BUN、TG、TC水平低于T2DM组(P<0.05);miR-126 antagomir组Scr、BUN、TG、TC水平高于H-JPXK组(P<0.05)。(见表2)

表2 JPXK对大鼠生化指标的影响(x̄±s,mmoL/L)

组别	n	Scr	BUN	TG	TC
Control组	10	32.57±9.27	4.31±1.19	0.85±0.19	1.74±0.52
T2DM组	10	120.48±12.59 ^a	18.28±2.37 ^a	1.76±0.32 ^a	6.03±1.05 ^a
L-JPXK组	10	93.16±10.34 ^b	12.19±2.03 ^b	1.33±0.24 ^b	4.31±0.76 ^b
H-JPXK组	10	43.68±10.31 ^{bc}	6.08±1.74	0.89±0.21	1.96±0.55
miR-126 antagomir组	10	108.42±11.65 ^d	16.97±2.25 ^d	1.64±0.27 ^d	5.27±0.98 ^d

注:与Control组比较,^aP<0.05;与T2DM组比较,^bP<0.05;与L-JPXK组比较,^cP<0.05;与H-JPXK组比较,^dP<0.05。

2.2 JPXK对大鼠胰岛素敏感性的影响 T2DM组大鼠FBG、FINS、HOMA-IR高于Control组 ($P<0.05$); L-JPXK、H-JPXK组大鼠FBG、FINS、HOMA-IR低于T2DM组 ($P<0.05$); miR-126 antagomir组大鼠FBG、FINS、HOMA-IR高于H-JPXK组 ($P<0.05$)。(见表3)

表3 JPXK对大鼠胰岛素敏感性的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	FBG/(mmol/L)	FINS/(mIU/L)	HOMA-IR
Control组	10	4.87±1.09	2.03±0.54	0.44±0.10
T2DM组	10	17.26±1.85 ^a	5.79±0.96 ^a	4.45±0.48 ^a
L-JPXK组	10	12.34±1.27 ^b	4.03±0.79 ^b	2.21±0.25 ^b
H-JPXK组	10	7.05±1.03 ^{b,c}	2.21±0.67 ^{b,c}	0.69±0.13 ^{b,c}
miR-126 antagomir组	10	16.59±1.78 ^d	5.18±0.85 ^d	3.82±0.41 ^d

注:与Control组比较,^a $P<0.05$;与T2DM组比较,^b $P<0.05$;与L-JPXK组比较,^c $P<0.05$;与H-JPXK组比较,^d $P<0.05$ 。

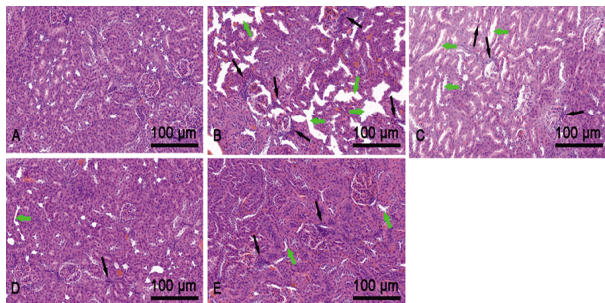
2.3 JPXK对大鼠肾组织中miR-126 mRNA、IL-17A mRNA表达的影响 T2DM组大鼠肾组织中IL-17A mRNA高于Control组,miR-126 mRNA低于Control组 ($P<0.05$); L-JPXK、H-JPXK组大鼠肾组织中IL-17A mRNA低于T2DM组,miR-126 mRNA高于T2DM组 ($P<0.05$); miR-126 antagomir组大鼠肾组织中IL-17A mRNA高于H-JPXK组,miR-126 mRNA低于H-JPXK组 ($P<0.05$)。(见表4)

表4 JPXK对大鼠肾组织中miR-126 mRNA、IL-17A mRNA表达的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	miR-126 mRNA	IL-17A mRNA
Control组	10	1.00±0.14	1.00±0.33
T2DM组	10	0.35±0.10 ^a	2.16±0.56 ^a
L-JPXK组	10	0.64±0.12 ^b	1.59±0.41 ^b
H-JPXK组	10	0.93±0.13 ^{b,c}	1.25±0.38 ^{b,c}
miR-126 antagomir组	10	0.48±0.11 ^d	1.87±0.49 ^d

注:与Control组比较,^a $P<0.05$;与T2DM组比较,^b $P<0.05$;与L-JPXK组比较,^c $P<0.05$;与H-JPXK组比较,^d $P<0.05$ 。

2.4 JPXK对大鼠肾组织损伤的影响 Control组大鼠肾脏结构清晰;T2DM组大鼠肾组织增生明显,细胞外基质增多,存在明显的炎症细胞浸润;L-JPXK、H-JPXK组大鼠上述病变均有不同程度的改善;miR-126 antagomir组大鼠病变程度进一步加重。(见图1)



注:A.Control组;B.T2DM组;C.L-JPXK组;D.H-JPXK组;E.miR-126 antagomir组。黑色箭头指示炎症细胞;绿色箭头指示组织增生。

图1 HE染色检测大鼠肾组织损伤 ($\times 200$)

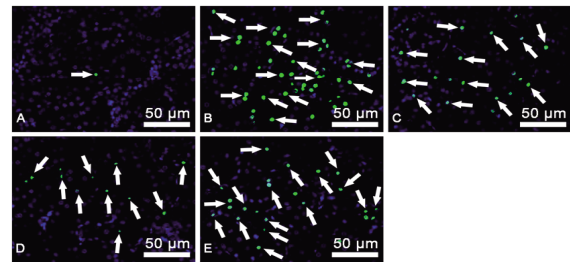
2.5 JPXK对大鼠肾小管上皮细胞凋亡的影响 T2DM组大鼠肾小管上皮细胞凋亡率高于Control组 ($P<0.05$); L-JPXK、

H-JPXK组大鼠肾小管上皮细胞凋亡率低于T2DM组 ($P<0.05$); miR-126 antagomir组大鼠肾小管上皮细胞凋亡率高于H-JPXK组 ($P<0.05$)。(见表5、见图2)

表5 JPXK对大鼠肾小管上皮细胞凋亡的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	凋亡率/%
Control组	10	0.72±0.21
T2DM组	10	42.85±4.39 ^a
L-JPXK组	10	27.34±2.85 ^b
H-JPXK组	10	11.36±1.19 ^{b,c}
miR-126 antagomir组	10	31.09±3.47 ^d

注:与Control组比较,^a $P<0.05$;与T2DM组比较,^b $P<0.05$;与L-JPXK组比较,^c $P<0.05$;与H-JPXK组比较,^d $P<0.05$ 。



注:A.Control组;B.T2DM组;C.L-JPXK组;D.H-JPXK组;E.miR-126 antagomir组。白色箭头指示细胞凋亡。

图2 TUNEL染色检测大鼠肾小管上皮细胞凋亡 ($\times 400$)

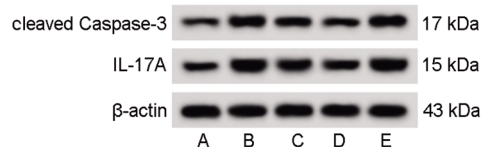
2.6 JPXK对大鼠肾组织中IL-1 β 、TNF- α 表达的影响 T2DM组大鼠肾组织中IL-1 β 、TNF- α 表达高于Control组 ($P<0.05$); L-JPXK、H-JPXK组大鼠肾组织中IL-1 β 、TNF- α 表达低于T2DM组 ($P<0.05$); miR-126 antagomir组大鼠肾组织中IL-1 β 、TNF- α 表达高于H-JPXK组 ($P<0.05$)。(见表6)

表6 JPXK对大鼠肾组织中IL-1 β 、TNF- α 表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, pg/mL)

组别	n	IL-1 β	TNF- α
Control组	10	29.57±3.05	8.09±2.15
T2DM组	10	84.36±8.79 ^a	49.28±6.74 ^a
L-JPXK组	10	57.18±7.05 ^b	27.54±4.18 ^b
H-JPXK组	10	32.25±6.03 ^{b,c}	11.25±3.08 ^{b,c}
miR-126 antagomir组	10	78.06±8.12 ^d	34.17±5.20 ^d

注:与Control组比较,^a $P<0.05$;与T2DM组比较,^b $P<0.05$;与L-JPXK组比较,^c $P<0.05$;与H-JPXK组比较,^d $P<0.05$ 。

2.7 JPXK对大鼠肾组织中cleaved Caspase-3、IL-17A蛋白表达的影响 T2DM组大鼠肾组织中cleaved Caspase-3、IL-17A蛋白表达高于Control组 ($P<0.05$); L-JPXK、H-JPXK组大鼠肾组织中cleaved Caspase-3、IL-17A蛋白表达低于T2DM组 ($P<0.05$); miR-126 antagomir组大鼠肾组织中cleaved Caspase-3、IL-17A蛋白表达高于H-JPXK组 ($P<0.05$)。(见图3、表7)



注:A.Control组;B.T2DM组;C.L-JPXK组;D.H-JPXK组;E.miR-126 antagomir组。

图3 Western blotting法检测大鼠肾组织中cleaved Caspase-3、IL-17A蛋白表达

表7 JPXK对T2DM大鼠肾组织中cleaved Caspase-3、IL-17A蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	cleaved Caspase-3	IL-17A
Control组	10	0.18±0.02	0.42±0.10
T2DM组	10	0.79±0.09 ^a	1.25±0.19 ^a
L-JPXK组	10	0.52±0.06 ^b	0.84±0.15 ^b
H-JPXK组	10	0.31±0.04 ^{b,c}	0.53±0.13
miR-126 antagomir组	10	0.67±0.08 ^d	1.07±0.17 ^d

注:与Control组比较,^a $P<0.05$;与T2DM组比较,^b $P<0.05$;与L-JPXK组比较,^c $P<0.05$;与H-JPXK组比较,^d $P<0.05$ 。

3 讨论

糖尿病是一种多种病因的异质性疾病,在中老年人群中更为常见,然而,由于营养过剩和缺乏锻炼,糖尿病的发病年龄往往更年轻。根据人体胰岛的功能,糖尿病一般分为1型糖尿病(T1DM)和T2DM,其中T2DM占多数,胰岛素抵抗是T2DM的一个重要特征^[12]。T2DM被认为是一种慢性炎症状态,其特征是巨噬细胞和其他先天免疫细胞产生的促炎细胞因子过度分泌,包括IL-1 β 和TNF- α ,使胰岛素敏感细胞和 β 细胞功能恶化。此外,过多的脂质积累(TG、TC等)与葡萄糖耐受不良有关,T2DM患者无法代谢血管中的葡萄糖,导致IR^[13]。T2DM中糖脂代谢紊乱和炎症反应会损害各种器官的血管,尤其是肾脏,且随着病情发展,肾血管的损伤会导致滤过减少和肾实质疾病的发生,从而降低肾小球滤过率,引起糖尿病肾病等相关并发症的发生。尽管T2DM的并发症广泛存在,但治疗方法不仅要能够控制血糖,还要能够有效地预防T2DM的并发症。目前,常规用于T2DM病的治疗方法非常有限,且对并发症的控制效果也不理想^[14]。因此,迫切需要探讨影响T2DM患者IR和肾损伤的分子机制,寻找相关的新药物,对T2DM的治疗具有重要意义。本研究构建T2DM大鼠模型,结果发现大鼠存在脂质积累、IR,以及肾组织病理损伤、炎症反应和肾小管上皮细胞凋亡,提示T2DM中紊乱的糖脂代谢导致T2DM大鼠的肾组织病理损伤。

近年来,miRNAs作为理想的分子生物标志物在各种研究中备受关注,miRNA在各种组织和细胞类型中表达,并呈现组织特异性表达。研究^[15]表明,miRNA与T2DM的发生、病理、糖脂代谢稳态、并发症发生相关。相关研究显示,miR-126在血糖代谢调节和T2DM发展中发挥核心作用,通过靶向胰岛素受体底物调节葡萄糖稳态^[16]。XUE W L等^[16]发现,硫化氢通过上调miR-126来抑制高糖诱导的人脐静脉内皮细胞迁移功能障碍。HU F F等^[17]发现,在T2DM合并急性缺血性脑血管病患者中miR-126表达下调,可作为诊断T2DM发生急性缺血性脑血管疾病的血清标志物。本研究发现,miR-126在T2DM大鼠肾组织中显著低表达,提示miR-126表达不足可能是疾病进展的重要原因。IL-17A作为一种促炎细胞因子,是Th17细胞、 $\gamma\delta$ T细胞、自然杀伤细胞和巨噬细胞产生的主要效应细胞因子,已被证明参与慢性炎症性疾病,并通过IL-17受体驱动炎症反应在T2DM进展中发挥重要作用^[18]。HONG X等^[19]发现,在HFD的动物模型中,双酚A加剧体重增加和胰岛素抵抗,同时脂肪组织的炎症反应大大增强,包括IL-17A增加和巨噬细

胞向M1期极化,抑制IL-17A表现出逆转脂肪组织炎症反应,改善巨噬细胞极化稳态及胰岛素敏感性。TECHATANAWAT S等^[20]发现,伴牙周炎的T2DM患者的唾液和血清IL-17A高表达,且与FBG水平密切相关。本研究发现,IL-17A在T2DM大鼠肾组织中高表达,提示IL-17A高表达可能是T2DM进展的重要原因。相关研究^[21]显示,miR-126可以靶向负调控IL-17A。CHEN X J等^[21]发现,在高糖诱导的人视网膜内皮细胞中miR-126表达下调,IL-17A表达上调。miR-126的过表达促进了高糖诱导的人视网膜内皮细胞的增殖并抑制了凋亡,而IL-17A逆转了miR-126的作用。miR-126/IL-17A可作为预防糖尿病视网膜病变的新靶点。本研究发现miR-126和IL-17A在T2DM大鼠肾组织中表达趋势相反,提示miR-126/IL-17A信号通路在T2DM的疾病进展中发挥重要作用。

相关研究显示,JPXK是临床治疗T2DM的经验方,具备良好的降糖成效^[22]。王小芳等^[23]发现,JPXK可通过调节PERK-eIF2 α -CHOP通路改善内质网应激以调控胰岛素瘤细胞,为中医药防治T2DM提供更加充足的理论依据。黄延芹等^[24]发现,JPXK可以调控cTAGE5/TANGO1胞内转运,改善内质网应激保护胰岛 β 细胞。罗丹等^[25]发现,JPXK能通过调节代谢综合征患者“肠-胰轴”,改善胰岛 β 细胞的功能,纠正IR。本研究采用JPXK处理T2DM大鼠,结果发现JPXK可改善大鼠的IR,抑制炎症反应和细胞凋亡,改善大鼠的病理损伤,进一步使用miR-126抑制剂处理后可以逆转JPXK的作用效果,提示JPXK可以激活miR-126抑制IL-17A,改善T2DM大鼠的IR,抑制肾损伤。

综上所述,JPXK可以改善T2DM大鼠的IR,减轻肾损伤,其作用机制可能是通过调控miR-126/IL-17A通路达成的。然而,本研究局限于miR-126/IL-17A信号通路,后续会关注更多信号通路,深入研究。

参考文献

- [1] AKHLAQ S, KHALIQ S. Normoglycemia and type 2 diabetes: Exploring secreted frizzled-4, insulin resistance, and waist-height ratio[J]. J Pak Med Assoc, 2024, 74(7): 1338-1341.
- [2] ABDUL-GHANI M, MAFFEI P, DEFRONZO R A. Managing insulin resistance: The forgotten pathophysiological component of type 2 diabetes[J]. Lancet Diabetes Endocrinol, 2024, 12(9): 674-680.
- [3] GARCÍA-DÍEZ E, LÓPEZ-OLIVA M E, PÉREZ-JIMÉNEZ J, et al. Cocoa and carob supplementation, alone or in combination with metformin, protects against hepatorenal injury in Zucker diabetic fatty rats[J]. Nutrients, 2024, 16(18): 3087.
- [4] HE Y L, LI Y Q, ZHAI Z H, et al. Relationship of miRNA-126 and miRNA-122 expression with type 2 diabetes mellitus and related glucose metabolism parameters: A systematic review and meta-analysis[J]. Exp Ther Med, 2022, 24(5): 652.

- [5] MA Y X, LIU H, WANG Y, et al. Roles of physical exercise-induced miR-126 in cardiovascular health of type 2 diabetes[J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2022, 14(1):169.
- [6] LIU F Q, HAN F, LIU X L, et al. Cross-sectional analysis of the involvement of interleukin-17A in diabetic retinopathy in elderly individuals with type 2 diabetes mellitus[J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2021, 14:4199-4207.
- [7] REN Y, BAO R Z, GUO Z J, et al. miR-126-5p regulates H9c2 cell proliferation and apoptosis under hypoxic conditions by targeting IL-17A [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 21(1):67.
- [8] 郝丛莉,肖艳,王迪,等.消渴健脾方通过调控PEDF激活PI3K/Akt及AMPK信号通路对2型糖尿病胰岛素抵抗的影响及可能机制[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2025, 27(1):22-27.
- [9] 陈嘉,张永斌,桑传兰,等.SD大鼠2型糖尿病模型的建立及相关指标的测定[J]. *动物医学进展*, 2012, 33(6):91-95.
- [10] 邓龙飞,顾晶晶,黄珍祯,等.健脾消渴方改善2型糖尿病大鼠药效学研究[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2024, 26(9):32-37.
- [11] 周华勇,赵玉萍,杨旭,等.右美托咪定调控miR-150-5p/P2X7受体轴减轻脑出血大鼠小胶质细胞活化[J]. *河北医学*, 2023, 29(2):200-207.
- [12] CHEN X T, YU H, LI Z, et al. Oxidative RNA damage in the pathogenesis and treatment of type 2 diabetes[J]. *Front Physiol*, 2022, 13:725919.
- [13] CHEN X T, SHI C Z, WANG Y, et al. The mechanisms of glycolipid metabolism disorder on vascular injury in type 2 diabetes[J]. *Front Physiol*, 2022, 13:952445.
- [14] 靳冉,岳枫,裴海鸾,等.基于网络药理学和动物实验探讨养血荣筋丸治疗糖尿病微血管病变的作用[J]. *中医药导报*, 2025, 31(3):37-44, 88.
- [15] YAZDANPANA H Z, KAZEMIPOUR N, KALANTAR S M, et al. Plasma miR-21 as a potential predictor in prediabetic individuals with a positive family history of type 2 diabetes mellitus[J]. *Physiol Rep*, 2022, 10(2):e15163.
- [16] XUE W L, CHEN R Q, ZHANG Q Q, et al. Hydrogen sulfide rescues high glucose-induced migration dysfunction in HUVECs by upregulating miR-126-3p [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2020, 318(5):C857-C869.
- [17] HU F F, LIU L, LIU Z J, et al. Meta-analysis of the characteristic expression of circulating microRNA in type 2 diabetes mellitus with acute ischemic cerebrovascular disease[J]. *Front Endocrinol*, 2023, 14:1129860.
- [18] DING W C, XIAO Z S, WEN C, et al. Correlation between salivary developmental endothelial locus-1, interleukin 17 expression level and severity of periodontal disease in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Am J Transl Res*, 2021, 13(10):11704-11710.
- [19] HONG X, ZHOU Y, ZHU Z Y, et al. Environmental endocrine disruptor Bisphenol A induces metabolic derailment and obesity via upregulating IL-17A in adipocytes[J]. *Environ Int*, 2023, 172:107759.
- [20] TECHATANAWAT S, SURARIT R, CHAIRATVIT K, et al. Salivary and serum interleukin-17A and interleukin-18 levels in patients with type 2 diabetes mellitus with and without periodontitis[J]. *PLoS One*, 2020, 15(2):e0228921.
- [21] CHEN X J, YU X Q, LI X X, et al. miR-126 targets IL-17A to enhance proliferation and inhibit apoptosis in high-glucose-induced human retinal endothelial cells[J]. *Biochem Cell Biol*, 2020, 98(2):277-283.
- [22] 邓龙飞,王骏,高柳,等.健脾消渴方干预2型糖尿病大鼠的生物学基础研究[J]. *现代中药研究与实践*, 2023, 37(5):27-33.
- [23] 王小芳,魏代浩,邓欢,等.基于内质网应激PERK-eIF2 α -CHOP通路探讨健脾消渴方对小鼠胰岛min6细胞的保护作用[J]. *中国老年学杂志*, 2024, 44(12):2911-2917.
- [24] 黄延芹,黄杰,安文蓉,等.基于cTAGE5/TANGO1胞内转运探究健脾消渴方改善内质网应激保护胰岛 β 细胞机制[J]. *中国老年学杂志*, 2023, 43(12):3051-3054.
- [25] 罗丹,黄杰,房国伟,等.基于“肠-胰轴”的健脾消渴方对代谢综合征患者胰岛 β 细胞功能的影响研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2022, 33(8):1118-1123.

(收稿日期:2025-03-13 编辑:刘国华)