

[药 理]

知母多糖治疗糖尿病大鼠

刘 印¹, 陈兆杰^{2*}

(1. 长春医学高等专科学校, 吉林 长春 130031; 2. 吉林大学中日联谊医院内分泌代谢科, 吉林 长春 130051)

摘要: **目的** 探讨知母多糖对糖尿病大鼠的治疗作用及潜在作用机制。**方法** 腹腔注射 STZ (60 mg/kg) 法建立糖尿病大鼠模型, 60 只大鼠分为正常组、模型组、格列苯脲组 (25 mg/kg) 和知母多糖组 (50、100、200 mg/kg), 灌胃给药大鼠, 每天 1 次。28 d 后, 检测大鼠体质量、葡萄糖耐量、空腹血糖 (FBG)、空腹胰岛素 (FINS)、白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)、胰岛素受体底物 1 (IRS1)、磷酸化的胰岛素受体底物 1 (Phospho-IRS1) 及葡萄糖转运蛋白 4 (Glut4)。**结果** 知母多糖可以增加大鼠体质量, 并改善对葡萄糖的耐受能力; 降低 FBG 水平, 提高 FINS 水平; 也可以降低模型大鼠血清 IL-6、TNF- α 水平及肝组织 MDA 含量, 提高肝组织 CAT、SOD 活性。同时, 知母多糖还可以减少肝组织 Phospho-IRS1 表达, 增加 Glut4 表达。**结论** 知母多糖具有抗糖尿病作用, 其机理包括抗炎、抗氧化、减少 Phospho-IRS1 的表达及增加 Glut4 的表达。

关键词: 知母多糖; 糖尿病大鼠; 抗炎; 抗氧化; 胰岛素信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2017)09-1761-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.09.001

Polysaccharide from *Anemarrhena asphodeloides* treats diabetic rats

LIU Yin¹, CHEN Zhao-jie^{2*}

(1. Changchun Medical College, Changchun 130031, China; 2. Department of Endocrinology and Metabolism, China-Japan Union Hospital of Jilin University, Changchun 130051, China)

ABSTRACT: AIM To explore the therapeutic effects of polysaccharide from *Anemarrhena asphodeloides* Bunge (PAA) on diabetic rats and potential mechanism of action. **METHODS** The rat model for diabetes was established by intraperitoneal injection of STZ (60 mg/kg), and sixty rats were assigned to control-, model-, glibenclamide- (25 mg/kg) groups and three groups of PAA- (50, 100, 200 mg/kg). Drugs were intragastrically administered to rats once a day for 28 days. The rat body weight, glucose tolerance, fasting blood glucose (FBG), fasting insulin (FINS), IL-6, TNF- α , CAT, SOD, MDA, insulin receptor substrate (IRS1), Phospho-IRS1 and glucose transporter protein 4 (Glut4) were tested. **RESULTS** PAA could increase rat body weight and FINS level, reduce FBG level, and improve the glucose tolerance. The levels of IL-6 and TNF- α in serum, and MDA content in hepatic tissue were decreased, and the activities of CAT and SOD in hepatic tissue were increased. Meanwhile, PAA could also reduce the Phospho-IRS1 expression, and increase the Glut4 expression in hepatic tissue. **CONCLUSION** PAA has an anti-diabetic effect, whose mechanism is involved in anti-inflammatory, anti-oxidation, decreasing Phospho-IRS1 expression, and increasing Glut4 expression.

KEY WORDS: polysaccharide from *Anemarrhena asphodeloides* Bunge; diabetic rats; anti-inflammatory; anti-oxidation; insulin signal pathway

收稿日期: 2016-11-10

基金项目: 吉林省卫生科研计划课题 (2013Z035)

作者简介: 刘 印 (1980—), 女, 硕士, 副教授, 从事护理教育工作。Tel: 13596059442, E-mail: 758672541@qq.com

* 通信作者: 陈兆杰 (1963—), 女, 硕士, 教授, 硕士生导师, 从事糖尿病护理工作。Tel: 13504339909, E-mail: 1097147280@qq.com

知母始载于《神农本草经》，为百合科植物知母 (*Anemarrhena asphodeloides* Bunge) 的干燥根茎，性苦寒，具有止渴除烦、滋阴润燥、清热泻火等功效^[1]。现代药学研究表明，知母的主要活性成分包括甾体皂苷、木脂素类、双苯吡酮类、有机酸类、黄酮类、多糖类，涉及降糖、改善老年性痴呆、抗病毒、抗炎、抗癌、解热等功效^[2]。知母及其提取物在防治糖尿病方面的作用多见报道，具有较好效果^[3-4]。多糖为知母的有效成分之一，可使四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠的肝糖元及血糖含有量明显降低，但相关机制并未阐明^[5]。因此，本实验将在进一步明确知母多糖 (PAA) 抗糖尿病作用的基础上，探讨其与抗炎、抗氧化及胰岛素信号通路的相关性，初步阐明抗糖尿病作用机制，为进一步开发以知母多糖为主要成分的抗糖尿病药物奠定良好的基础。

1 材料与仪器

1.1 动物 清洁级 SD 大鼠，体质量 200 ~ 220 g，由吉林大学实验动物中心提供，许可证号 SCXK (吉) 2015-0012。

1.2 药物和试剂 知母多糖采用水提、醇沉法制备^[6]，总糖含有量为 85.2%；格列本脲 (批号 20150208)，为浙江南洋药业有限公司产品；链脲佐菌素 (STZ) (批号 20141108)，由美国 Sigma 公司提供；FBG (批号 1510317)、FINS (批号 150428)、IL-6 (批号 150831)、TNF- α (批号 150222) 检测试剂盒，购于四川迈克科技股份有限公司；过氧化氢酶 (CAT) (批号 20150520)、超氧化物歧化酶 (SOD) (批号 20150809)、丙二醛 (MDA) (批号 20150126) 检测试剂盒购于北京北方生物技术研究所；胰岛素受体底物 1 (insulin receptor substrate, IRS1)、Phospho-IRS1 (Ser³⁰⁷) 和葡萄糖转运蛋白 4 (glucose transporter protein 4, Glut4) 多克隆抗体为美国 Santa Cruze 公司产品。

1.3 仪器 TGL-16G-A 型低温高速离心机 (上海安亭科学仪器厂)；ND-1000 型紫外可见分光光度计 (美国基因有限公司)；GC-1200 γ 型放免计数器 (中国科技大学科技实业公司)；DT-2000 型电子天平 (常熟双杰测试仪器厂)；9602A 型酶标仪 (北京艾普生物设备有限公司)；通用型基础电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 糖尿病模型大鼠的建立 清洁级 SD 大鼠，

自由饮水及觅食，并饲养于 (22 \pm 1) $^{\circ}$ C、40% ~ 70% 相对湿度下；用 0.1 mol/L 的柠檬酸缓冲液 (pH 4.2) 配制 STZ 溶液，注射 12 h 前需禁食，注射剂量为 60 mg/kg，正常组注射相同体积的柠檬酸缓冲液。腹腔注射 STZ 72 h 后尾静脉取血，检测 FBG 水平，当 FBG \geq 11.1 mmol/L 时，认为模型建立成功。

2.2 分组及给药 将 FBG \geq 11.1 mmol/L 的大鼠随机分为模型组、格列本脲组 [25 mg/(kg \cdot d)] 和知母多糖低 [50 mg/(kg \cdot d)]、中 [100 mg/(kg \cdot d)]、高 [200 mg/(kg \cdot d)] 剂量组，每组 10 只。在成模第 2 天开始灌胃给药，正常组和模型组灌胃相同体积的生理盐水，每天给药 1 次，共给药 28 d。在给药期间需密切观察各组大鼠的一般状态，并详细记录体质量变化情况。

2.3 糖耐量试验及 FBG、FINS 水平检测 在给药 21 d 时，大鼠禁食 12 h，腹腔注射葡萄糖溶液 (2 g/kg)，分别在注射后 0、0.5、1、2 h 4 个时间点尾静脉取血，离心分离血清，按照试剂盒说明书中的检测步骤测定 FBG 水平。在给药 28 d 时，麻醉大鼠，腹主动脉取血，分离血清，分装于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱冻存备用。按照试剂盒说明书中的检测步骤，分别测定 FBG 及 FINS 水平。

2.4 血清 IL-6 和 TNF- α 水平检测 按照试剂盒说明书中的检测步骤，采用血清酶联免疫法测定模型大鼠血清 IL-6 和 TNF- α 水平。

2.5 肝组织 CAT、SOD 活性及 MDA 含有量检测 大鼠处死后，分离肝脏组织，用预冷至 0 $^{\circ}$ C 的生理盐水清洗表面。精密称取适量肝组织，加生理盐水制备 10% 的肝组织匀浆液，离心取上清液，分装于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱冻存备用。按照试剂盒说明书中的检测步骤，测定模型大鼠肝组织 CAT、SOD 活性及 MDA 含有量。

2.6 Western blot 法检测肝组织 IRS1、Phospho-IRS1 和 Glut4 表达 取“2.5”项下制备的肝组织匀浆液上清，酚试剂定量法测定总蛋白含有量；常规方法行 10% SDS-PAGE 电泳、转膜，ECL 发光法显影曝光。扫描 Western blot 条带，并进行光密度积分值分析，将 IRS1、Phospho-IRS1、Glut4 与 GAPDH 光密度积分值之比作为三者的相对含有量。

2.7 统计学分析 采用 SPSS 17.0 软件对所有数据进行分析，数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示，多组间比较采用 one-way ANOVA 法，两两比较采用 SNK- q 法。当 $P < 0.05$ 时，表明差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 知母多糖对模型大鼠的一般状态和体质量的影响 糖尿病模型大鼠毛竖无光泽,精神萎靡,同时表现出明显的多食、多饮、多尿及体质量降低的“三多一少”典型症状,与正常组比较,体质量明显降低 ($P < 0.05$)。灌胃给予格列苯脲和知母多糖后,模型大鼠精神状态得到明显改善,同时与模型组比较,各给药组大鼠体质量显著增加 ($P < 0.05$)。见表1。

3.2 知母多糖对模型大鼠糖耐量的影响 在注射葡萄糖0.5 h后,正常组、格列苯脲组及知母多糖各剂量组出现血糖峰值,而模型组在注射葡萄糖1 h后才出现。与模型组比较,知母多糖各剂量

表2 知母多糖对模型大鼠糖耐量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 2 Effect of PAA on glucose tolerance of model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	给药剂量/ (mg·kg ⁻¹)	空腹血糖/(mmol·L ⁻¹)			
		0 h	0.5 h	1 h	2 h
正常组	—	4.97 ± 0.93	12.45 ± 2.16	9.51 ± 2.33	5.64 ± 1.08
模型组	—	16.15 ± 2.39*	24.04 ± 4.58*	32.73 ± 5.25*	19.32 ± 2.35*
格列苯脲组	25	7.62 ± 0.82 [#]	15.85 ± 3.25 [#]	13.18 ± 2.75 [#]	9.67 ± 2.13 [#]
知母多糖低剂量组	50	14.13 ± 2.38 [#]	26.43 ± 3.19 [#]	19.01 ± 3.46 [#]	16.17 ± 1.33 [#]
知母多糖中剂量组	100	13.24 ± 1.04 [#]	22.82 ± 4.57 [#]	18.55 ± 3.87 [#]	14.23 ± 1.95 [#]
知母多糖高剂量组	200	11.86 ± 1.75 [#]	19.58 ± 2.63 [#]	15.81 ± 2.34 [#]	12.72 ± 2.51 [#]

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$

3.3 知母多糖对模型大鼠FBG及FINS水平的影响 与正常组比较,模型组大鼠FBG水平明显升高 ($P < 0.05$);给予大鼠低、中、高剂量的知母多糖后,与模型组比较,FBG水平明显降低 ($P < 0.05$)。与正常组比较,模型组大鼠FINS水平明显降低 ($P < 0.05$);与模型组比较,知母多糖各剂量组的FINS水平均有所提高,其中中、高剂量组差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表3。

表3 知母多糖对模型大鼠FBG及FINS水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 3 Effects of PAA on FBG and FINS levels in model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	给药剂量/ (mg·kg ⁻¹)	FBG/ (mmol·L ⁻¹)	FINS/ (mU·L ⁻¹)
模型组	—	16.21 ± 2.77*	11.26 ± 1.52*
格列苯脲组	25	7.38 ± 1.36 [#]	17.14 ± 2.71 [#]
知母多糖低剂量组	50	13.95 ± 1.74 [#]	12.05 ± 1.89
知母多糖中剂量组	100	12.04 ± 1.35 [#]	12.66 ± 1.46 [#]
知母多糖高剂量组	200	10.17 ± 1.34 [#]	14.98 ± 1.85 [#]

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$

3.4 知母多糖对模型大鼠IL-6和TNF-α水平的影响 模型组大鼠的IL-6和TNF-α水平显著升高,

表1 知母多糖对模型大鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 1 Effect of PAA on body weight of model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	给药剂量/ (mg·kg ⁻¹)	初始体质量/ g	第28天体质量/ g
模型组	—	217.56 ± 20.12	153.41 ± 25.85*
格列苯脲组	25	221.14 ± 19.48	247.54 ± 30.05 [#]
知母多糖低剂量组	50	219.39 ± 18.13	193.35 ± 22.02 [#]
知母多糖中剂量组	100	214.25 ± 19.12	226.62 ± 26.51 [#]
知母多糖高剂量组	200	216.96 ± 21.50	241.28 ± 31.17 [#]

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$

组在注射葡萄糖后0.5、1、2 h 3个时间段均可以显著抑制血糖水平的升高 ($P < 0.05$)。见表2。

与正常组比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$);灌胃给予低、中、高剂量的知母多糖28 d后,与模型组比较,IL-6和TNF-α水平均显著降低 ($P < 0.05$)。见表4。

表4 知母多糖对模型大鼠IL-6和TNF-α水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 4 Effects of PAA on IL-6 and TNF-α levels in model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	给药剂量/ (mg·kg ⁻¹)	IL-6/ (pg·mL ⁻¹)	TNF-α/ (ng·mL ⁻¹)
模型组	—	102.32 ± 15.19*	2.64 ± 0.36*
格列苯脲组	25	77.45 ± 10.26 [#]	1.78 ± 0.25 [#]
知母多糖低剂量组	50	93.13 ± 13.62 [#]	2.26 ± 0.34 [#]
知母多糖中剂量组	100	84.26 ± 11.17 [#]	2.14 ± 0.28 [#]
知母多糖高剂量组	200	88.67 ± 12.91 [#]	1.83 ± 0.31 [#]

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$

3.5 知母多糖对模型大鼠CAT、SOD活性及MDA含有量的影响 与正常组比较,模型组大鼠肝组织中CAT和SOD活性明显降低,而MDA含有量明显升高,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$);当灌胃给予低、中、高剂量的知母多糖28 d后,与模型组比较,CAT和SOD活性明显升高,而MDA含

有量明显降低，差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表5。

3.6 知母多糖对模型大鼠 IRS1、Phospho-IRS1 和 Glut4 表达的影响 与正常组大鼠相比，模型组大鼠 IRS1 表达并没有显著变化 ($P > 0.05$)，Phospho-IRS1 表达显著增加，而 Glut4 显著降低，差异

具有统计学意义 ($P < 0.05$)；当灌胃给予低、中、高剂量的知母多糖 28 d 后，与模型组比较，IRS1 表达无显著变化 ($P > 0.05$)，Phospho-IRS1 显著降低，而 Glut4 显著增加，差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表6、图1。

表5 知母多糖对模型大鼠 CAT、SOD 活性及 MDA 含有量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 5 Effects of PAA on CAT, SOD activities and MDA content in model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	给药剂量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	CAT/ ($\text{U} \cdot \text{mg prot}^{-1}$)	SOD/ ($\text{U} \cdot \text{mg prot}^{-1}$)	MDA/ ($\text{nmol} \cdot \text{mg prot}^{-1}$)
正常组	—	27.25 ± 5.12	192.27 ± 23.22	14.14 ± 2.15
模型组	—	16.52 ± 3.65*	84.19 ± 16.63*	26.28 ± 4.44*
格列苯脲组	25	24.38 ± 4.19 [#]	157.23 ± 21.76 [#]	16.59 ± 3.26 [#]
知母多糖低剂量组	50	19.15 ± 3.66 [#]	125.18 ± 19.21 [#]	21.26 ± 3.17 [#]
知母多糖中剂量组	100	20.86 ± 4.94 [#]	152.52 ± 17.38 [#]	18.74 ± 3.62 [#]
知母多糖高剂量组	200	23.83 ± 4.18 [#]	171.25 ± 16.72 [#]	17.86 ± 3.47 [#]

注：与正常组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，[#] $P < 0.05$

表6 知母多糖对模型大鼠 IRS1、Phospho-IRS1、Glut4 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 6 Effects of PAA on IRS1, Phospho-IRS1 and Glut4 expressions in model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	给药剂量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	IRS1	Phospho-IRS1	Glut4
正常组	—	0.53 ± 0.14	0.38 ± 0.05	0.74 ± 0.11
模型组	—	0.58 ± 0.06	0.79 ± 0.10*	0.29 ± 0.04*
格列苯脲组	25	0.52 ± 0.08	0.46 ± 0.06 [#]	0.65 ± 0.06 [#]
知母多糖低剂量组	50	0.61 ± 0.12	0.57 ± 0.08 [#]	0.38 ± 0.05 [#]
知母多糖中剂量组	100	0.63 ± 0.09	0.51 ± 0.07 [#]	0.43 ± 0.05 [#]
知母多糖高剂量组	200	0.60 ± 0.11	0.54 ± 0.08 [#]	0.56 ± 0.09 [#]

注：与正常组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，[#] $P < 0.05$

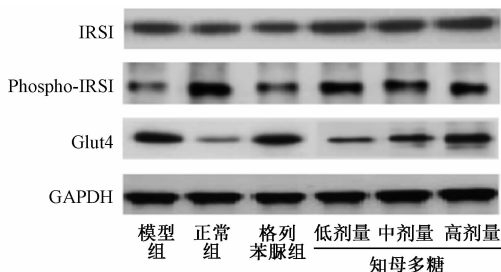


图1 知母多糖对模型大鼠 IRS1、Phospho-IRS1 和 Glut4 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 1 Effects of PAA on IRS1, Phospho-IRS1 and Glut4 expressions in model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

4 讨论

糖尿病对患者的生活质量有严重的影响，可以引起多种并发症，为终身性疾病^[7]。现有的治疗糖尿病药物常会出现低血糖、腹泻、肝脏损伤、乳酸中毒等严重的副作用，同时治疗效果也不能让人满意^[8]，故越来越多的学者把目光投向毒副作用较低的中藥，以期从中寻找具有抗糖尿病作用的活性成分^[9]。本研究以知母多糖为研究对象，模型大鼠灌胃给予低、中、高剂量该成分后，“三多一

少”的糖尿病典型症状得到显著改善，体质量明显增加。同时，知母多糖可以提高模型大鼠对葡萄糖的耐受能力，也可以降低 FBG 水平，增加 FINS 水平。以上结果表明，知母多糖具有一定的抗糖尿病作用。

目前为止，糖尿病的发病机制并没有阐述清楚，但炎症因子表达的增加与糖尿病的发生密切相关，研究表明，糖尿病发生时 IL-6 和 TNF- α 水平显著升高^[10]。在本实验中，给予知母多糖治疗后，大鼠血清 IL-6 和 TNF- α 水平显著降低，具有一定的抗炎作用。此外，多项研究结果也表明，氧化应激水平的升高在糖尿病的发展过程中扮演着重要角色^[11]。CAT 和 SOD 为体内重要的抗氧化酶，具有清除自由基、保护机体免受氧化损伤的作用；MDA 为脂质过氧化产物，可以反应机体内脂质受氧化损伤的程度，因此，CAT、SOD 活性及 MDA 含有量可以用来评价体内的氧化应激水平。给予模型大鼠知母多糖 28 d 后，肝组织中 CAT 和 SOD 活性显著升高，而 MDA 含有量显著降低，表明具有一定的抗氧化作用。

IRS 蛋白家族是胰岛素信号通路中重要的节点蛋白,其中 IRS1 主要分布在肝脏、脂肪、骨骼肌等组织中,在胰岛素信号传导过程中起主要作用^[12],于丝氨酸 307 位置处发生磷酸化反应,在介导胰岛素负反馈调节方面起重要作用,从而影响下游信号传导分子^[13]。研究发现,2 型糖尿病大鼠 IRS1 (Ser³⁰⁷) 磷酸化水平显著提高,通过调节胰岛素靶组织中 IRS1 蛋白质丝氨酸磷酸化水平,可以起到改善胰岛素抵抗和抗糖尿病的作用^[14]。Glut4 为 IRS1 下游的信号传导分子之一,具有调节肝细胞对葡萄糖摄取能力的作用,同时也可以通过抑制烯醇式丙酮酸羧激酶的活性而减少糖异生,起到增加糖原合成和提高葡萄糖利用效率的作用^[15]。因此,本研究考察了知母多糖对模型大鼠肝脏中 IRS1、Phospho-IRS1 和 Glut4 表达的影响,发现当灌胃给予低、中、高剂量的知母多糖后,与模型组比较,Phospho-IRS1 表达显著降低,而 Glut4 显著增加。以上结果表明,知母多糖的抗糖尿病作用与减少胰岛素信号通路中 Phospho-IRS1 的表达及增加 Glut4 的表达有关。

总之,本研究结果进一步证实了知母多糖具有抗糖尿病作用,该作用与其抗炎、抗氧化、减少 Phospho-IRS1 的表达及增加 Glut4 的表达有关,但具体作用机理还有待深入研究。

参考文献:

[1] 徐爱娟,韩丽萍,蒋琳兰. 知母的研究进展[J]. 中药材, 2008, 31(4): 624-628.
[2] 王颖异,郭宝林,张立军. 知母化学成分的药理研究进展[J]. 科技导报, 2010, 28(12): 110-115.
[3] 钟艳梅,冯毅凡. 知母醇提物药效学研究[J]. 亚太传统医药, 2016, 12(16): 16-17.
[4] 黄芳,徐丽华,郭建明,等. 知母提取物的降血糖作用[J]. 中国生化药物杂志, 2005, 26(6): 332-335.

[5] 王靖辛,葛盛芳,陈琦,等. 知母多糖降血糖活性研究[J]. 中草药, 1996, 27(10): 605-606.
[6] 吕太勇,王述声,孟安华,等. 知母水溶性多糖的分离、纯化及初步研究[J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(22): 1751-1753.
[7] 佟双喜,郭蔚莹. 当归多糖对糖尿病大鼠肾组织抗氧化能力及 NOS、NO 水平的影响[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(24): 7001-7002.
[8] Srivali N, Thongprayoon C, Cheungpasitporn W, et al. Acute pancreatitis in the use of canagliflozin; A rare side-effect of the novel therapy for type 2 diabetes mellitus [J]. *J Basic Clin Pharm*, 2015, 6(3): 101-102.
[9] Collins M, McFarlane J R. An exploratory study into the effectiveness of a combination of traditional Chinese herbs in the management of type 2 diabetes [J]. *Diabetes Care*, 2006, 29(4): 945-946.
[10] Daniele G, Guardado Mendoza R, Winnier D, et al. The inflammatory status score including IL-6, TNF- α , osteopontin, fractalkine, MCP-1 and adiponectin underlies whole-body insulin resistance and hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus [J]. *Acta Diabetologica*, 2014, 51(1): 123-131.
[11] Lee H B, Yu M R, Yang Y Q. Reactive oxygen species-regulated signaling pathways in diabetic nephropathy [J]. *J Am Soc of Nephro*, 2003, 14(8): 241-245.
[12] Song J H, Padi S K, Luevano L A, et al. Insulin receptor substrate 1 is a substrate of the Pim protein kinases [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(15): 20152-20165.
[13] Copps K D, Hançer N J, Qiu W, et al. Serine 302 phosphorylation of mouse insulin receptor substrate 1 (IRS1) is dispensable for normal insulin signaling and feedback regulation by hepatic S6 kinase [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(16): 8602-8617.
[14] Hançer N J, Qiu W, Cherella C, et al. Insulin and metabolic stress stimulate multisite serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 and inhibit tyrosine phosphorylation [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(18): 12467-12484.
[15] 张苗,孙文,刘铜华,等. 山柰酚对 2 型糖尿病小鼠骨骼肌 PI3K-AKT-GLUT4 信号通路的影响 [J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2016, 18(7): 1139-1143.