

# 虫草发酵菌丝体对胰岛素抵抗大鼠氧化应激的缓解作用

孙梦雪<sup>1</sup>, 韩 雪<sup>1</sup>, 杨玉辉<sup>1</sup>, 唐 雪<sup>1,2</sup>, 成向荣<sup>1,2</sup>, 施用晖<sup>1,2</sup>, 乐国伟<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> 江南大学食品学院; <sup>2</sup> 食品营养与功能食品工程技术研究中心, 无锡 214122

**摘要:** 探究虫草发酵菌丝体对胰岛素抵抗(IR)大鼠氧化应激的影响。采用低中高剂量虫草发酵菌丝体(剂量分别为1.65 g/kg 饲料, 3.30 g/kg 饲料和6.60 g/kg 饲料)分别干预IR大鼠。口服葡萄糖耐量实验观察不同剂量虫草发酵菌丝体的降糖效果, 同时观察血脂、氧化应激水平的变化情况。RT-PCR 法测肌肉、肝脏组织氧化应激相关基因Nrf2、HO-1 和 NQO1 mRNA 相对表达量, Western blot 法测其蛋白相对表达量。结果发现 CM 干预能够显著改善 IR 大鼠空腹血糖、血脂和机体氧化应激水平, 肌肉、肝脏组织 Nrf2、HO-1 和 NQO1 mRNA 相对表达量显著上升, 肝脏 Nrf2 和 NQO1 蛋白相对表达量显著上调, 并且具有剂量依赖性。说明 CM 具有缓解 IR 大鼠氧化应激的作用。

**关键词:** 虫草发酵菌丝体; 地塞米松; 胰岛素抵抗; 氧化应激

中图分类号: Q517 R151.3 Q593

文献标识码:A

文章编号: 1001-6880(2019)7-1278-07

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2019.7.023

## Cordyceps fermentation mycelium attenuates oxidative stress in rats with insulin resistance

SUN Meng-xue<sup>1</sup>, HAN Xue<sup>1</sup>, YANG Yu-hui<sup>1</sup>,  
TANG Xue<sup>1,2</sup>, CHENG Xiang-rong<sup>1,2</sup>, SHI Yong-hui<sup>1,2</sup>, LE Guo-wei<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> School of Food Science and Technology, Jiangnan University; <sup>2</sup> Center for Nutrition and Functional Engineering, Wuxi 214122, China

**Abstract:** To investigate the effect of Cordyceps fermentation mycelium (CM) on oxidative stress in insulin resistant (IR) rats. IR rats were respectively treated with low, medium and high dose of CM (1.65 g/kg feed, 3.30 g/kg feed and 6.60 g/kg feed). The oral glucose tolerance test was used to observe the hypoglycemic effect of different doses of CM, and the changes of blood lipid and oxidative stress were observed. The mRNA expressions of Nrf2, HO-1 and NQO1 in muscle and liver were assayed by RT-PCR, Western blot was used to detect the expressions of protein. It was found that CM can significantly improve fasting blood glucose, blood lipid and oxidative stress level in IR rats, and increase the mRNA expression of Nrf2, HO-1 and NQO1 in muscle and liver, and increase the expression of Nrf2 and NQO1 protein in liver, which is dose dependent. The results suggested that CM can alleviate oxidative stress in IR rats.

**Key words:** Cordyceps fermentation mycelium; dexamethasone; insulin resistance; oxidative stress

随着现代经济的快速发展, 人们的饮食结构和生活方式发生了巨大变化。高脂、高热能食物过量摄入, 体内脂肪不断的累积, 成为肥胖、糖尿病的重要发病因素。此外, 快速的生活节奏, 沉重的工作压力使机体长期处于精神高度紧崩状态, 导致糖皮质激素(GC)水平上升, 机体血糖和血压水平增高, 加重了患病的风险。

胰岛素抵抗(IR)是糖尿病、肥胖和高血压等慢性代谢疾病的典型特征<sup>[1]</sup>。地塞米松(DEX)是一种人工合成的糖皮质激素, 研究表明, 大鼠在长期高脂饮食、急性或慢性 DEX 暴露的情况下, 机体血脂代谢发生紊乱, 血糖及胰岛素水平升高, 产生 IR 和严重的氧化应激损伤<sup>[2-4]</sup>。因此, 研究如何缓解 IR 状态下机体的氧化应激反应具有重要的意义。

近年来, 虫草发酵菌丝体(CM)受到研究者的广泛关注。其主要化学成分及生物活性与天然虫草相似<sup>[5,6]</sup>, 具有降血糖、抗炎和抗氧化等多种功能<sup>[7-9]</sup>。目前关于 CM 体内抗氧化研究的报道较少, 因此, 本研究采用高脂饮食联合腹腔注射 DEX 诱导

收稿日期: 2018-03-20 接受日期: 2018-04-12

基金项目: “十二五”国家科技部支撑计划(2012BAD33B05); 江苏省普通高校学术学位研究生科研创新计划(KYLX16-0821)

\* 通信作者 Tel: 86-013861691856; E-mail: lgw@jiangnan.edu.cn

IR 模型,初步探究 CM 对 IR 大鼠氧化应激水平的影响,为 CM 的应用与推广提供一定的理论基础和数据支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

SPF 级雄性 Wistar 大鼠 40 只,4~6 周龄,130~150 g,斯莱克实验动物有限公司,SCXK(沪)2012-0002,地塞米松磷酸钠注射液(天津药业集团新郑股份有限公司),虫草发酵菌丝体(CM,市售),血糖试纸(强生稳豪)。

胰岛素 Elisa 试剂盒(嘉惠生物公司),甘油三酯(TG),总胆固醇(TC),低密度脂蛋白胆固醇(LDL),高密度脂蛋白胆固醇(HDL)(试剂盒均购自上海丰汇医学科技股份有限公司),羟基自由基(-OH)和超氧阴离子自由基测定( $O_2^-$ ),游离脂肪酸(FFA),丙二醛(MDA),总抗氧化能力(T-AOC),谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)(试剂盒均购自南京建成生物工程研究所),Trizol(捷瑞公司);dNTP、RNase Inhibitor、M-MLV 逆转录酶、QuantiTect SYBR Green PCR Kits、RIPA 裂解液、PVDF 膜(均购自美国 Thermo Fisher 公司); $\beta$ -actin、Nrf2、HO-1、NQO1 抗体(CST 公司),其余试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器

强生稳豪倍优血糖仪(强生医疗器材有限公司),台式高速冷冻离心机 5804R(Eppendorf 公司),-80 °C 超低温冰箱(Thermo Scientific 公司),酶标仪(美国 Bioteck 公司),PCR 扩增仪 ETC811(东胜兴业科学仪器有限公司),ABI 7900 HT FAST 荧光定量 PCR 仪(美国应用系统公司)。

### 1.3 胰岛素抵抗大鼠模型及分组

实验动物按体重随机分成 5 组,正常对照组(C 组),模型组(IR 组),CM 低剂量组(CM1 组,剂量为 1.65 g/kg 饲料),CM 中剂量组(CM2 组,剂量为 3.30 g/kg 饲料),CM 高剂量组(CM3 组,剂量为 6.60 g/kg 饲料)。IR 模型采用高脂饮食联合腹腔注射 DEX 诱导(高脂饲料喂养三周后,连续 4 周腹腔注射剂量为 0.80 mg/kg 体质量的 DEX)。CM 干预组分别饲喂添加低、中、高剂量 CM 的高脂饲料,腹腔注射等量 DEX;正常对照组饲喂正常饲料,腹腔注射等量生理盐水。饲料配方<sup>[10]</sup>见表 1,大鼠饲养于 SPF 级动物房,每组 2 笼,每笼 4 只,自由摄食和饮水,每周称重并记录,末次饲喂后,隔夜禁食不禁水 12 h,心脏取血,分离血浆,取出骨骼肌,肝脏组织,液氮处理后保存于-80 °C 冰箱。

表 1 饲料配方(%)

Table 1 Composition of experimental diets (%)

	C	IR	CM1	CM2	CM3
猪油 Lard	4	10	10	10	10
蔗糖 Sucrose	5	5	5	5	5
麦芽糊精 Maltodextrin	10	10	10	10	10
蛋黄粉 Custard powder	15	15	15	15	15
酪蛋白 Casein	5	5	5	5	5
胆固醇 Cholesterol	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
胆酸钠 Sodium cholate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
磷酸氢钙 CaHPO <sub>4</sub>	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
石粉 CaCO <sub>3</sub>	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
鼠维持料 Maintenance food	58.52	52.60	52.44	52.27	51.94
维生素 Vitamins	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
矿物质 Minerals	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
CM	0	0	0.165	0.33	0.66

### 1.4 测定指标及实验方法

#### 1.4.1 CM 体外抗氧化实验

将 CM 配制成料液比(g/mL)为 1:20,1:30,1:50,1:100,1:500,1:1 000 的溶液。以 VC 作为阳性对照,按照试剂盒的操作步骤测定 CM、VC 对羟基

自由基(-OH)、超氧阴离子自由基( $O_2^-$ )和 DPPH 的清除作用。

#### 1.4.2 口服糖耐量实验

DEX 注射 4 周后,隔夜禁食不禁水 12 h,尾部采血测 0 min 血糖(FBG),0 min 胰岛素(FINS)。

50% 葡萄糖溶液灌胃后, 分别在 30, 60, 120 min 测血糖值, 计算血糖曲线下面积(AUC), 胰岛素抵抗指数(HOMA-IR), 胰岛素敏感指数(HOMA-IS)。

#### 1.4.3 血浆、肌肉、肝脏组织 ROS 测定

心脏取血后, 冰浴上取出肌肉和肝脏组织, 利用 MP1-B 型多参数化学发光测试仪测定全血、肌肉和肝脏 ROS 水平, 实验结果以发光峰积分值(RLUs)表示<sup>[11]</sup>。

#### 1.4.4 血脂的测定

心脏取血后, 4 ℃, 3 000 rpm, 离心 10 min, 取上层血浆, 参照试剂盒说明书测定血浆中 TG、TC、LDL、HDL、FFA。

#### 1.4.5 血浆、肌肉、肝脏氧化应激指标的测定

10% 的肌肉、肝脏组织匀浆液, 4 ℃, 3 000 rpm, 离心 10 min, 取上清液, 参照试剂盒说明书测定血浆、肌肉和肝脏组织中丙二醛 MDA、T-AOC 和 GSH-Px。

#### 1.4.6 实时荧光定量 PCR

采用 Trizol 试剂提取肌肉、肝脏总 RNA, 依据试剂盒说明书进行反转录。以  $\beta$ -actin 为内标, 测定 Nrf2、HO-1、NQO1 mRNA 的表达量, 依据  $C_t$  值通过  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算, 进行相对定量。引物序列如表 2 所示, 各基因序列由上海捷瑞生物工程公司合成。

表 2 引物序列

Table 2 Sequence of the primers used in Real-Time PCR

基因 Gene	上游引物 Forward primer(5'-3')	下游引物 Reverse primer(5'-3')
$\beta$ -actin	CAACCTTCTTGAGCTCCTCCGT	AGGTCAGGATGCCTCTTGCTC
Nrf2	TTCCTCTGCTGCCATTAGTCAGTC	GCTCTTCCATTCCGAGTCACTG
HO-1	CAGAAGGGTCAGGTGTCCAG	GAAGGCCATGTCCTGCTCTA
NQO1	ACATCACAGGGGAGCCGAAGGACT	GGCACCCCCAACCAATAACATG

#### 1.4.7 Western blot 法测定 Nrf2、HO-1、NQO1 蛋白表达

RIPA 裂解液处理肌肉、肝脏组织提取总蛋白, BCA 测定蛋白浓度, 将各组蛋白稀释成统一浓度后, 进行电泳、印迹、抗体孵育, ECL 化学发光液进行显色, 用凝胶成像系统进行扫描和拍照, 分析目标条带的灰度值。

#### 1.5 数据分析

采用 SPSS 20.0 统计学软件进行数据分析, 满

足方差齐性的结果用 Duncan 检验进行多重比较, 方差不齐时采用 Tamhane 检验。结果以均值  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。当  $P < 0.05$  时认为差异具有统计学意义。

#### 2 结果与分析

##### 2.1 体外实验对 CM 清除自由基作用研究

由图 1 可知, CM 具有明显的清除-OH、DPPH、 $O_2^-$  的作用, 而且其清除能力随浓度的增加而逐渐增强, 其中 CM 对超氧阴离子的清除作用最强。

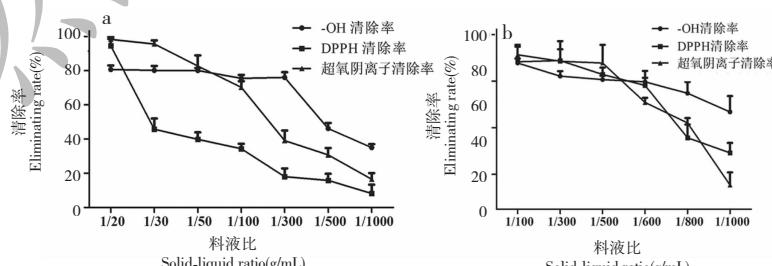


图 1 CM(a) 和 VC(b) 对-OH、DPPH、 $O_2^-$  的清除作用( $n = 8$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

Fig. 1 Eliminating effect of CM (a) and VC (b) on -OH, DPPH,  $O_2^-$  ( $n = 8$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

#### 2.2 CM 对 IR 大鼠体重的影响

由图 2 可知, 各组大鼠初始体重无显著性差异

( $P > 0.05$ ), 高脂喂养 3 周后, IR 组和 CM 干预组大鼠体重显著高于 C 组( $P < 0.01$ ); 腹腔注射 DEX 4

周后,与 C 组相比,IR 组大鼠体重显著下降( $P < 0.01$ );与 IR 组相比,CM1、CM2 和 CM3 组体重增加

( $P > 0.05$ )。

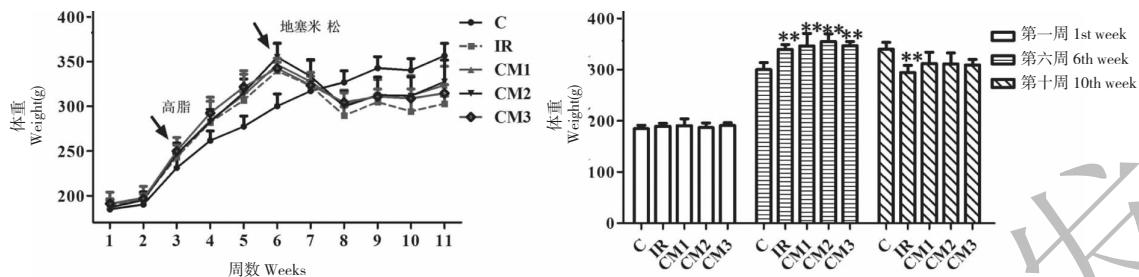


图 2 CM 对 IR 大鼠体重的影响 ( $n = 8, \bar{x} \pm s$ )

Fig. 2 Effect of CM on body weight in IR rats ( $n = 8, \bar{x} \pm s$ )

注:与正常组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ;与 IR 组比较, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$

Note: Compare with control rats, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ; Compare with IR rats, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$

### 2.3 CM 对 IR 大鼠血糖、AUC、HOMA-IR、HOMA-IS 的影响

由图 3 和表 3 可知,与 C 组相比,IR 组血糖水平、AUC、FINS、HOMA-IR 显著上升( $P < 0.01$ ),HOMA-IS 显著下降( $P < 0.01$ );与 IR 组相比,CM3 组 0

min、120 min 血糖及 AUC 显著下降( $P < 0.01, P < 0.05$ ),CM1、CM2、CM3 组 0 min 胰岛素、HOMA-IR 均显著下降( $P < 0.01$ ),HOMA-IS 显著上升( $P < 0.01$ )。

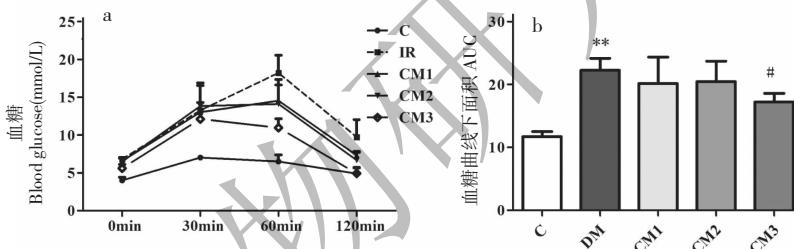


图 3 CM 对 IR 大鼠血糖水平(a)和葡萄糖曲线下面积(b)的影响 ( $n = 8, \bar{x} \pm s$ )

Fig. 3 Effect of CM on blood glucose (a) and AUC (b) in IR rats ( $n = 8, \bar{x} \pm s$ )

表 3 CM 对 IR 大鼠血糖 FINS、HOMA-IR 和 HOMA-IS 的影响 ( $n = 8, \bar{x} \pm s$ )

Table 3 Effect of CM on insulin level, HOMA-IR and HOMA-IS in IR rats ( $n = 8, \bar{x} \pm s$ )

血糖 Blood glucose	C	IR	CM1	CM2	CM3
0min (mmol/L)	4.00 ± 0.42	6.80 ± 0.25 **	6.57 ± 0.38	6.48 ± 0.57	5.60 ± 0.51 ##
120min (mmol/L)	4.90 ± 0.76	9.74 ± 2.30 **	7.31 ± 0.53	6.68 ± 1.05	4.92 ± 0.82 ##
FINS (mIU/L)	13.95 ± 1.56	28.44 ± 1.62 **	13.27 ± 0.86 ##	16.20 ± 1.70 ##	13.04 ± 1.83 ##
HOMA-IR	2.70 ± 0.14	8.70 ± 0.45 **	3.98 ± 0.22 ##	4.53 ± 0.60 ##	3.22 ± 0.24 ##
HOMA-IS	4.09 ± 0.12	-5.23 ± 0.05 **	-4.43 ± 0.08 ##	-4.56 ± 0.16 ##	-4.23 ± 0.17 ##

### 2.4 CM 对 IR 大鼠血脂的影响

由表 4 可知,与 C 组相比,IR 组血浆 TC、TG、LDL 和 FFA 含量显著增加( $P < 0.01$ ),HDL 含量显著降低( $P < 0.01$ );与 IR 组相比,CM1、CM2、CM3

组血浆 TG、LDL、FFA 含量显著降低( $P < 0.01$ ),HDL 含量显著增加( $P < 0.01$ )。

### 2.5 CM 对 IR 大鼠氧化还原状态的影响

由表 5 可知,与 C 组相比,IR 组血浆、肌肉和肝

脏组织 ROS、MDA 含量显著增加 ( $P < 0.01$ ) , T-

AOC、GSH-Px 酶活性显著降低 ( $P < 0.01$ ) ;与 IR 组

表 4 CM 对 IR 大鼠血脂的影响 ( $n = 8$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

Table 4 Effect of CM on lipid levels in IR rats ( $n = 8$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

指标 Indication (mmol/L)	C	IR	CM1	CM2	CM3
TC	$1.29 \pm 0.14$	$4.73 \pm 0.56^{**}$	$4.01 \pm 0.61$	$3.95 \pm 0.61$	$3.93 \pm 0.13$
TG	$0.94 \pm 0.17$	$1.66 \pm 0.11^{**}$	$1.54 \pm 0.22$	$1.13 \pm 0.19^{\# \#}$	$1.15 \pm 0.18^{\# \#}$
LDL	$2.93 \pm 0.18$	$4.57 \pm 0.49^{**}$	$3.74 \pm 0.35^{\# \#}$	$3.43 \pm 0.56^{\# \#}$	$1.46 \pm 0.23^{\# \#}$
HDL	$1.76 \pm 0.20$	$0.76 \pm 0.15^{**}$	$1.23 \pm 0.13^{\# \#}$	$1.29 \pm 0.09^{\# \#}$	$1.57 \pm 0.08^{\# \#}$
FFA	$0.83 \pm 0.08$	$1.32 \pm 0.06^{**}$	$1.10 \pm 0.07^{\# \#}$	$1.14 \pm 0.04^{\# \#}$	$0.93 \pm 0.11^{\# \#}$

相比, CM1、CM2、CM3 组血浆、肌肉和肝脏组织 ROS、MDA 含量显著降低 ( $P < 0.01$ ), T-AOC、GSH-

Px 酶活性显著升高 ( $P < 0.01$ ), 其中 CM3 组的效果最佳。

表 5 CM 对 IR 大鼠氧化还原状态的影响 ( $n = 8$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

Table 5 Effect of CM on redox indicator of in IR rats ( $n = 8$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

指标 Indication	C	IR	CM1	CM2	CM3
<b>血浆 Plasma</b>					
ROS	$8.86 \pm 1.20$	$30.16 \pm 5.74^{**}$	$14.43 \pm 2.66^{\# \#}$	$13.48 \pm 2.73^{\# \#}$	$11.12 \pm 2.31^{\# \#}$
MDA (nmol/L)	$4.25 \pm 0.56$	$12.7 \pm 0.61^{**}$	$6.17 \pm 0.82^{\# \#}$	$4.90 \pm 0.52^{\# \#}$	$2.54 \pm 0.20^{\# \#}$
T-AOC (U/mL)	$5.15 \pm 0.74$	$3.86 \pm 0.50^{**}$	$4.61 \pm 0.24$	$5.34 \pm 0.52^{\# \#}$	$6.90 \pm 0.29^{\# \#}$
GSH-Px (U/mL)	$52.64 \pm 8.21$	$25.68 \pm 4.34^{**}$	$32.69 \pm 5.52$	$38.85 \pm 5.86$	$49.69 \pm 7.82^{\# \#}$
<b>肌肉 Muscle</b>					
ROS	$59.51 \pm 7.19$	$236.7 \pm 38.61^{**}$	$139.85 \pm 26.41$	$141.61 \pm 8.37$	$89.39 \pm 15.55^{\#}$
MDA (nmol/L)	$2.94 \pm 0.40$	$13.69 \pm 1.37^{**}$	$7.55 \pm 0.68^{\# \#}$	$6.14 \pm 0.43^{\# \#}$	$4.74 \pm 0.43^{\# \#}$
T-AOC (U/mgprot)	$1.13 \pm 0.16$	$1.18 \pm 0.19$	$1.91 \pm 0.15^{\#}$	$1.97 \pm 0.28^{\# \#}$	$1.54 \pm 0.09$
GSHPx (U/mgprot)	$11.09 \pm 1.63$	$4.74 \pm 0.80^{**}$	$4.92 \pm 0.98$	$9.28 \pm 0.65^{\# \#}$	$10.04 \pm 1.44^{\# \#}$
<b>肝脏 Liver</b>					
ROS	$9.08 \pm 1.37$	$16.80 \pm 4.73^{**}$	$13.20 \pm 1.50$	$12.75 \pm 2.26^{\#}$	$12.17 \pm 1.17^{\#}$
MDA (nmol/L)	$1.99 \pm 0.24$	$4.23 \pm 0.60^{**}$	$2.19 \pm 0.46^{\# \#}$	$2.16 \pm 0.36^{\# \#}$	$1.95 \pm 0.22^{\# \#}$
T-AOC (U/mgprot)	$10.89 \pm 1.27$	$5.14 \pm 0.45^{**}$	$8.67 \pm 0.74^{\# \#}$	$9.77 \pm 0.44^{\# \#}$	$9.12 \pm 0.77^{\# \#}$
GSHPx (U/mgprot)	$5.46 \pm 0.66$	$2.87 \pm 0.47^{**}$	$3.03 \pm 0.49$	$3.07 \pm 0.44$	$3.78 \pm 0.55^{\#}$

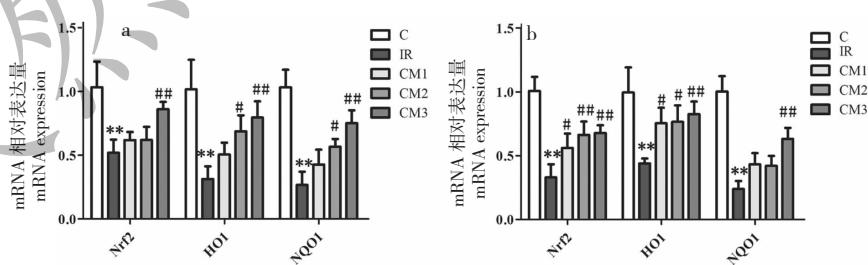


图 4 CM 对胰岛素抵抗大鼠肌肉 (a) 和肝脏 (b) 氧化应激相关基因表达水平的影响

Fig. 4 Effect of CM on the mRNA expression of oxidative stress related in IR rats muscle (a) and liver (b)

## 2.6 CM 对 IR 大鼠肌肉和肝脏组织中氧化应激相关基因表达水平的影响

由图 4 可知, 与 C 组相比, IR 组大鼠肌肉和肝

脏组织中 Nrf2、HO-1、NQO1 mRNA 的表达水平显著下调 ( $P < 0.01$ ); 与 IR 组相比, CM 干预后 IR 大鼠肌肉和肝脏组织中 Nrf2、HO-1、NQO1 mRNA 的表

达水平显著上调( $P < 0.05$ )，其中CM3组的效果最佳。

## 2.7 CM 对 IR 大鼠肌肉和肝脏组织中 Nrf2、HO-1、NQO1 蛋白表达水平的影响

由图5可知，与C组相比，IR组大鼠肌肉、肝脏

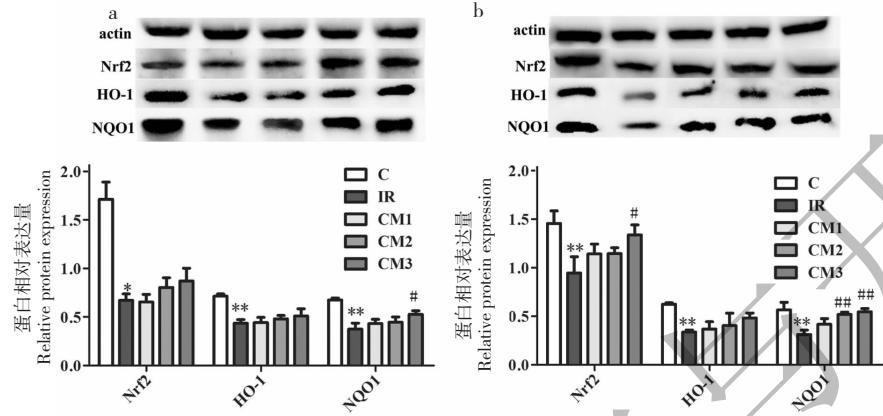


图5 CM 对 IR 大鼠肌肉(a)和肝脏(b)组织中 Nrf2、HO-1、NQO1 蛋白表达水平的影响

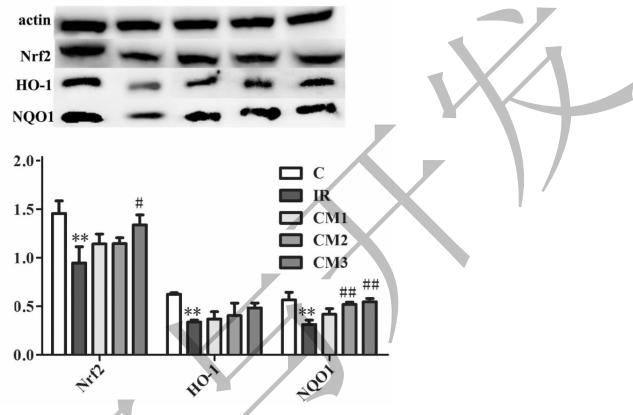
Fig. 5 Effect of CM on the expression of Nrf2、HO-1、NQO1 protein in IR rats muscle (a) and liver (b)

## 3 讨论

本实验采用高脂饮食联合腹腔注射 DEX 来诱导大鼠 IR 模型，口服葡萄糖耐量实验结果显示，IR 组大鼠空腹血糖、空腹胰岛素、血糖曲线下面积以及胰岛素抵抗指数显著高于正常大鼠，胰岛素敏感指数显著下降，说明成功诱导了大鼠 IR 模型。

氧化应激在 IR 发生过程中扮演了重要角色<sup>[12,13]</sup>。本研究体外实验发现，CM 能够有效清除-OH、DPPH 和超氧阴离子自由基，说明 CM 具有良好的体外抗氧化活性。有研究表明，长期高脂饮食，大鼠血浆 TG、TC 和 FFA 含量显著增加，糖脂代谢紊乱，机体对胰岛素的敏感性下降<sup>[14]</sup>。机体在肥胖、高血糖、高血脂状态下，通过提高 ROS 的含量，降低机体抗氧化能力，产生氧化应激<sup>[15]</sup>。本研究体内实验发现，CM 干预能够显著降低高脂饮食 IR 大鼠血脂及血糖水平，其中 CM3 组的效果最佳；此外，CM 干预后 IR 大鼠体内 ROS 及 MDA 含量显著降低，抗氧化酶 T-AOC 和 GSH-Px(机体抗氧化系统中重要的酶)的活性显著提高；说明了 CM 具有显著改善 IR 大鼠血脂、血糖以及机体氧化应激的作用。Nrf2 通路是迄今为止发现最为重要的内源性抗氧化应激通路，其可上调抗氧化蛋白和Ⅱ相解毒酶 HO-1 和 NQO1 的表达，增强机体的抗氧化能力<sup>[16]</sup>。研究表明，机体产生 IR 时，Nrf2 表达量下调<sup>[17]</sup>，本实验结

组织中 Nrf2 蛋白相对表达量显著下降( $P < 0.05$ )；与 IR 组相比，CM3 组 IR 大鼠肝脏组织 Nrf2、NQO1 蛋白相对表达量显著上升( $P < 0.05$ )，肌肉组织中 CM3 组 NQO1 蛋白相对表达量显著上升( $P < 0.05$ )。



果发现，CM 干预后，肌肉和肝脏组织中 Nrf2、HO-1 和 NQO1 mRNA 的表达水平显著上调；肝脏组织 Nrf2、NQO1 蛋白的表达量也显著上调；表明 CM 可能是通过上调 IR 大鼠机体 Nrf2 基因和蛋白的表达，使其下游抗氧化基因表达增加，从而降低机体的氧化应激水平。

综上所述，CM 可能是通过激活 Nrf2 途径缓解机体的氧化应激反应，从而改善 IR 大鼠血糖、血脂水平，提高机体胰岛素的敏感性。

## 参考文献

- Guo Y, Xin N, Dai RJ. Research progress on the mechanism of natural flavonoids in treatment of type 2 diabetes mellitus [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2017, 29: 1805-1811.
- Bai J, Zhou QQ, Zhu LL, et al. Effects of resveratrol on redox state of adipose tissue and lipid of mice fed with high-fat diet [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2012, 24: 832-837.
- Williams DB, Wan Z, Frier BC, et al. Dietary supplementation with vitamin E and C attenuates dexamethasone-induced glucose intolerance in rats. [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2012, 302: R49.
- Weinstein SP, Paquin T, Pritsker A, et al. Glucocorticoid-induced insulin resistance: dexamethasone inhibits the activation of glucose transport in rat skeletal muscle by both insu-

- lin- and non-insulin-related stimuli [J]. *Diabetes*, 1995, 44: 441-445.
- 5 Zhang G, Huang Y, Bian Y, et al. Hypoglycemic activity of the fungi *Cordyceps militaris*, *Cordyceps sinensis*, *Tricholoma mongolicum*, and *Omphalia lapidescens* in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Appl Microbiol Biot*, 2006, 72:1152-1156.
- 6 Li SP, Zhang GH, Zeng Q, et al. Hypoglycemic activity of polysaccharide, with antioxidation, isolated from cultured *Cordyceps mycelia* [J]. *Phytomedicine*, 2006, 13:428-433.
- 7 Huang ZJ, Ji H, Li P, et al. Hypoglycemic effect and mechanism of polysaccharides from cultured mycelium of *cordyceps sinensis* [J]. *J Chin Pharm Univ (中国药科大学学报)*, 2002, 33:51-54.
- 8 Kuo MC, Chang CY, Cheng TL, et al. Immunomodulatory effect of exo-polysaccharides from submerged cultured *Cordyceps sinensis* : enhancement of cytokine synthesis, CD11b expression, and phagocytosis [J]. *Appl Microbiol Biot*, 2007, 75:769-775.
- 9 Ma L, Zhang S, Du M. Cordycepin from *Cordyceps militaris* prevents hyperglycemia in alloxan-induced diabetic mice. [J]. *Nutr Res*, 2015, 35:431.
- 10 Tian YJ, Sun J, Xie ZX, et al. Effect of  $\gamma$ -aminobutyric acid on bone performance in high-fat-diet-fed mice [J]. *Food Sci Biotechnol(食品与生物技术学报)*, 2015, 34:267-273.
- 11 Matarese LE. Indirect calorimetry: technical aspects [J]. *J Am Diet Assoc*, 1997, 97:154-160.
- 12 Styskal JL, Remmen HV, Richardson A, et al. Oxidative stress and diabetes; what can we learn about insulin resistance from antioxidant mutant mouse models? [J]. *Free Radical Bio Med*, 2012, 52:46-58.
- 13 Dokken BB, Saengsirisuwan V, Kim JS, et al. Oxidative stress-induced insulin resistance in rat skeletal muscle; role of glycogen synthase kinase-3. [J]. *AM J of Physiol-Endocrinol Metabolism*, 2008, 294:E615.
- 14 Niu W, Qu WJ, Wang YF, et al. Effect of total saponins from *Tribulus Terrestris* on insulin resistance and hyperlipidemia in obese rats [J]. *Acta Nutr Sin(营养学报)*, 2006, 28:170-173.
- 15 Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome [J]. *J Clin Invest*, 2004, 114:1752-1761.
- 16 Nguyen T, Nioi P, Pickett CB. The Nrf2-antioxidant response element signaling pathway and its activation by oxidative stress [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284:13291-5.
- 17 Ren L, Xu Y, Qin G, et al. Effects of water extracts of *Rehmannia glutinosa*on antioxidant system of Nrf2 in paraquat-induced insulin resistance diabetic rat model [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14:5847-5850.

(上接第 1219 页)

- 6 Watson AA, Fleet GWJ, Asano N, et al. Polyhydroxylated alkaloids-natural occurrence and therapeutic applications [J]. *Phytochemistry*, 2001, 56:265-295.
- 7 Fang L, Wang YL, Tang L. Review on screening methods for alpha-glucosidase inhibitors from natural resources [J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*, 2016, 28:313-321.
- 8 Yan RY, Wang HQ, Liu C, et al.  $\alpha$ -Glucosidase-inhibitory iminosugars from the leaves of *Suregada glomerulata* [J]. *Bioorg Med Chem*, 2013, 21:6796-6803.
- 9 Yan RY, Wang HQ, Kang J, et al. Pyrrolidine-type iminosugars from leaves of *Suregada glomerulata* [J]. *Carbohydr Res*, 2014, 384:9-12.
- 10 Yan RY, Wang HQ, Liu C, et al. Three new water-soluble alkaloids from the leaves of *Suregada glomerulata* ( Blume ) Baill [J]. *Fitoterapia*, 2011, 82:247-250.
- 11 Asano N, Kizu H, Oseki K, et al. N-alkylated nitrogen-in-the-ring sugars: conformational basis of inhibition of glycosidases and HIV-1 replication [J]. *J Med Chem*, 1995, 38: 2349-2356.
- 12 Yu L, Ikeda K, Kato A, et al.  $\alpha$ -1-C-Octyl-1-deoxynojirimycin as a pharmacological chaperone for Gaucher disease [J]. *Bioorg Med Chem*, 2006, 14:7736-7744.
- 13 Kajimoto T, Liu KKC, Pederson RL, et al. Enzyme-catalyzed aldol condensation for asymmetric synthesis of azasugars: synthesis, evaluation, and modeling of glycosidase inhibitors [J]. *J Am Chem Soc*, 1991, 113:6187-6196.
- 14 Jain RP, Williams RM. Asymmetric synthesis of (S)-(+)-carnitine and analogues [J]. *Tetrahedron*, 2001, 57: 6505-6509.