

文章编号 1006-8147(2023)01-0036-05

论 著

Axin1 调节骨骼肌 GLUT4 蛋白表达的作用研究

岳莹莹¹, 穆红¹, 牛文彦²

(1.天津市第一中心医院检验科, 天津 300192; 2.天津医科大学基础医学院免疫学系, 天津 300070)

摘要 目的:探讨体轴发育抑制因子(Axin1)调节骨骼肌葡萄糖转运蛋白4(GLUT4)蛋白表达的作用及其机制。方法:利用 RNAi 干扰的 Axin1 腺病毒(Ad-siAxin1)感染 C2C12 小鼠骨骼肌细胞敲低 Axin1, 荧光显微镜和 MTS 实验明确 Ad-siAxin1 最佳感染浓度和时间。分别用携带绿色荧光蛋白的腺病毒(Ad-GFP)、Ad-siAxin1、载体质粒(vector)和 Axin1 质粒转染 C2C12 小鼠骨骼肌细胞敲低或过表达 Axin1 蛋白, Western 印迹检测 Axin1、端锚聚合酶蛋白(TNKS)和 GLUT4 蛋白水平。结果:荧光显微镜和 MTS 实验结果显示,在 C2C12 小鼠骨骼肌细胞中 Ad-siAxin1 作用的最佳浓度和时间分别为 160 μ L 和 48 h。Western 印迹结果显示,与 Ad-GFP 组相比,Ad-siAxin1 组中 Axin1 蛋白降低($t=6.746, P<0.01$)。Ad-siAxin1 组 TNKS 蛋白水平降低($t=4.019, P<0.05$), GLUT4 蛋白水平下调($t=3.248, P<0.05$)。与 vector 组相比,转染 Axin1 质粒后, Axin1 蛋白水平上调($t=4.868, P<0.01$), TNKS 和 GLUT4 蛋白水平上调($t=4.897, 4.789$, 均 $P<0.01$)。结论:Axin1 可能通过上调 TNKS 蛋白表达,调节 GLUT4 蛋白水平。

关键词 Axin1; TNKS; GLUT4; 骨骼肌; 葡萄糖摄取

中图分类号 R392.1

文献标志码 A

Study the effect of Axin1 on regulating GLUT4 protein in skeletal muscle

YUE Ying-ying¹, MU Hong¹, NIU Wen-yan²

(1.Department of Clinical Laboratory, Tianjin First Central Hospital, Tianjin 300192, China; 2.Department of Immunology, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract **Objective:** To investigate the role and molecular mechanism of Axin formation inhibitor(Axin1) in regulating glucose transporter 4 (GLUT4) protein in skeletal muscle cells. **Methods:** C2C12 mouse skeletal muscle cells were infected with adenovirus expressing siAxin1 (Ad-siAxin1) to knock down Axin1. Fluorescence microscopy and MTS experiments were measured to clarify the optimal infection concentration and time of Ad-siAxin1. C2C12 cells were infected with Ad-GFP(adenovirus expressing green fluorescent protein) or Ad-siAxin1 to knock down Axin1, and transfected with vector plasmid or Axin1 plasmid to overexpress Axin1. The expression of Axin1, Tankyrase(TNKS) and GLUT4 proteins were detected by Western blotting. **Results:** The results of fluorescence microscopy and MTS experiments showed that the optimal concentration and time of Ad-siAxin1 in C2C12 skeletal muscle cells were 160 μ L and 48 h. Western blotting results showed that compared with the Ad-GFP group, Axin1 protein in Ad-siAxin1 group was decreased($t=6.746, P<0.01$). Ad-siAxin1 significantly decreased TNKS protein($t=4.019, P<0.05$), and down-regulated GLUT4 protein($t=3.248, P<0.05$). The expression of Axin1 protein was up-regulated after transfection with Axin1 plasmid($t=4.868, P<0.01$). The protein of TNKS and GLUT4 were significantly up-regulated($t=4.897, 4.789$, both $P<0.01$). **Conclusion:** Axin1 may regulate the level of GLUT4 protein through TNKS.

Key words Axin1; TNKS; GLUT4; skeletal muscle; glucose uptake

糖尿病是以高血糖为特征的慢性代谢性疾病。骨骼肌是人体最大的摄糖组织,摄取餐后 80% 的血糖。葡萄糖的摄取主要依赖于葡萄糖转运蛋白 4(glucose transport 4, GLUT4)转位,即 GLUT4 从胞内储存囊泡转位到细胞膜上,转运摄取葡萄糖进入细胞^[1-3]。

体轴发育抑制因子(Axin1)是一种多结构域的支架蛋白,与多种疾病的发生和发展有关,如细胞增殖、分化、凋亡和癌变等^[4-6]。最近研究发现,在脂

肪和骨骼肌细胞中, Axin1、AMP 依赖的蛋白激酶(AMPK)和肝脏激酶 B1(LKB1)三者形成复合物,参与 AMPK 激活,调节 GLUT4 转位摄取葡萄糖^[7-8]。端锚聚合酶(Tankyrase, TNKS)是聚 ADP-核糖聚合酶(PARP)家族成员,参与多种调控,包括端粒稳态、Wnt 信号通路、有丝分裂和胰岛素介导的葡萄糖摄取等^[9-11]。TNKS 通过与多种蛋白结合,发挥其 PARP 活性,进而调控疾病的发生、发展。研究发现, TNKS 主要位于高尔基体区域,与 GLUT4 储存囊泡共定位,参与胰岛素促进脂肪细胞 GLUT4 转位,摄取葡萄糖^[8, 12]。在葡萄糖摄取过程中, Axin1 和 TNKS 分别受到众多研究者的关注,但在骨骼肌细胞中 Axin1、

基金项目 国家自然科学基金面上项目(81870547)

作者简介 岳莹莹(1990-),女,博士,研究方向:糖尿病改善机制研究;通信作者:牛文彦, E-mail: wniu@tmu.edu.cn。

TNKS 和 GLUT4 之间的关系尚不清楚。因此,本研究在 C2C12 小鼠骨骼肌细胞中通过上调或者下调 Axin1 蛋白水平,检测 TNKS 和 GLUT4 的蛋白表达,探讨 Axin1 调节 GLUT4 蛋白的作用及其机制,为预防和治疗糖尿病提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料 C2C12 小鼠骨骼肌细胞株(ATCC 公司),HEK293 细胞由加拿大 Amira Klip 教授惠赠,RNAi 干扰的 Axin1 腺病毒(Ad-siAxin1)、Axin1 质粒及其载体质粒 vector 由厦门大学林圣彩院士惠赠。DMEM 高糖/低糖培养基、Opti-MEM 培养基、胎牛血清(FBS)、马血清(HS)、青链霉素混合液购自天津中奥天元科技有限公司(GIBCO)。蛋白 Marker、RIPA 裂解液、PVDF 膜、化学发光液试剂、BCA 蛋白检测试剂盒、蛋白酶抑制剂混合物(PIC)购自天津博诚科技有限公司(Millipore)。Lipofectamine™ 2000 购自天津博诚科技有限公司(Invitrogen)。MTS 试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司。Axin1、 β -actin 和 GLUT4 抗体购自天津博诚科技有限公司(CST),TNKS 抗体购自天津博诚科技有限公司(Santa cruz)。酶标仪(赛默飞),倒置荧光显微镜(奥林巴斯),曝光机(Tannon-5200)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 复苏 C2C12 小鼠骨骼肌细胞,用含 10%FBS 的 DMEM 培养基置于 37°C、5%CO₂ 培养箱中培养,生长至培养瓶 80%左右进行传代培养。取处于对数生长期的 C2C12 细胞接种于含 10%FBS 的 DMEM 培养基的细胞板中,待细胞密度达到 70%时,分别加入 0、40、80、160、320、750 μ L 的 Ad-siAxin1 腺病毒感染细胞,感染 12 h 后弃去培养基,加入 10%FBS 的 DMEM 继续培养 24、48、72 h 后,普通光学显微镜下观察细胞生长状态,并在荧光显微镜下观察绿色荧光蛋白表达情况,然后换含 5%HS 的 DMEM 培养基,隔天换液,诱导 6 d 左右使细胞融合分化为肌管。

1.2.2 腺病毒扩增和提取 复苏细胞,用含 10%FBS 的 DMEM 培养基培养 HEK293 细胞,生长至约 80%融合后传代。将细胞接种于含 10%FBS 的 DMEM 培养基的培养皿中,当细胞密度达到 70%时加入 Ad-siAxin1 腺病毒感染细胞 48~72 h。当 60%细胞出现变圆,漂浮病变现象时,用细胞刮收集细胞和上清液,液氮/37°C 快速冷冻,缓慢融解,重复 3 次,以 12 000 r/min 离心 5 min 沉淀细胞碎片,收集上清,分装后置于-80°C 保存。

1.2.3 MTS 实验 取生长状态良好的 C2C12 细胞,

胰酶消化后计数,以 2×10^4 个/孔的密度接种于 96 孔板中,待细胞贴壁后分别加入不同量的 Ad-siAxin1 腺病毒,感染 48 h 后加入 20 μ L MTS 于 37°C、5%CO₂ 的环境下孵育 1~4 h,酶标仪测定 490 nm 处各孔吸光度值。

1.2.4 细胞转染 取生长状态良好的 C2C12 细胞接种于细胞板中,使其在接种 12~18 h 后细胞密度为 50%。将 Axin1 质粒/载体质粒和 Lipofectamine™ 2000 试剂分别加入到相应量的 Opti-MEM 培养基中,混匀室温放置 5 min 后,将质粒和 Lipofectamine™ 2000 混匀,室温静置 20 min,加入到相应的细胞孔中,4~6 h 后换成 10% FBS 的 DMEM 细胞培养基。转染 60 h 后进行第二次转染,操作步骤同上,直至细胞融合成肌管。

1.2.5 Western 印迹 向处理后的细胞中加入含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液,冰上裂解 20 min 后,用细胞刮收集细胞及裂解液于 EP 管中,4°C、12 000 r/min 离心 20 min,取上清。BCA 法测定蛋白浓度,加入 5 \times Loading Buffer 后金属浴 100°C 煮沸 10 min。制备 7.5%聚丙烯酰胺凝胶,每孔上样 50 μ g 蛋白,恒压 100 V SDS-PAGE 电泳分离蛋白。然后 110 V 转膜 2 h,将蛋白转移至 PVDF 膜上。用含 5%BSA 的封闭液室温封闭 2 h,按照对应比例配制相应抗体 β -actin(1:5 000)、Axin1(1:1 000)、TNKS(1:1 000)、GLUT4(1:1 000)置于摇床上 4°C 过夜,次日 TBST 缓冲液洗膜,每次 10 min,重复 3 次。用 1%B SA 配制二抗(1:5 000)室温孵育 2 h,TBST 缓冲液洗膜,最后加入化学发光液利用曝光机进行曝光。

1.3 统计学处理 使用 GraphPad Prism 进行统计分析,正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较使用配对 t 检验,多组间比较使用单因素方差分析(ANOVA), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 感染不同浓度的 Ad-siAxin1 在不同时间的表达 在 C2C12 细胞中分别加入 40、80、160、320、750 μ L 携带有 GFP 标签的 Axin1 腺病毒(Ad-siAxin1)感染 48 h,荧光显微镜检测感染效率。结果如图 1A 所示,随着病毒量的增加,绿色荧光蛋白表达增多。然后在 C2C12 细胞中加入 80 μ L Ad-siAxin1,分别作用 0、24、48 和 72 h,结果如图 1B 所示,随着时间延长,绿色荧光蛋白表达增多,48 h 达高峰,72 h 后稍有减弱。

2.2 MTS 检测 Ad-siAxin1 对 C2C12 细胞活力的影响 结果如图 2 所示,Ad-siAxin1 腺病毒感染组的细胞活力分别是对照组的 92%、88%、89%、71%

($t=5.079, P<0.001$)和75%($t=10.34, P<0.001$), 细胞活力明显下降。因此确定 Ad-siAxin1 作用的最佳浓度和时间分别为 160 μL 和 48 h。

2.3 检测 Axin1 敲降效率 确定好最佳浓度和时间后, 在 C2C12 骨骼肌细胞中分别感染 Ad-GFP 和 Ad-siAxin1 48 h。结果如图 3A 和 3B 所示, 绿色荧光蛋白表达 80% 左右, Western 印迹结果显示, 与

Ad-GFP 组相比, Axin1 蛋白表达水平显著降低 ($t=6.746, P<0.01$)。

2.4 敲低 Axin1 对 TNKS 和 GLUT4 蛋白的影响 在 C2C12 细胞中感染 Ad-siAxin1, Western 印迹检测 TNKS 和 GLUT4 蛋白水平。结果如图 4 所示, 与 Ad-GFP 组相比, Ad-siAxin1 组 TNKS 和 GLUT4 蛋白表达水平均降低($t=4.019, 3.248$, 均 $P<0.05$)。

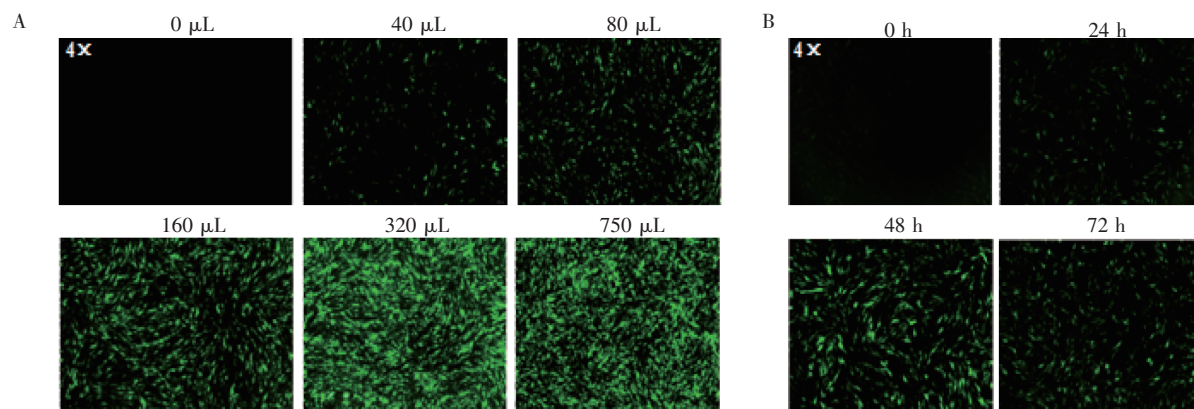
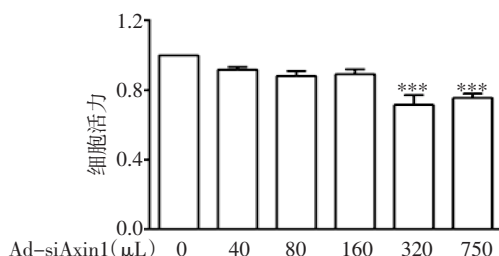


图1 不同浓度和时间的 Ad-siAxin1 感染C2C12 细胞后绿色荧光蛋白的表达

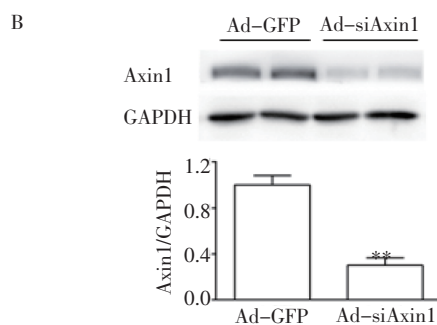
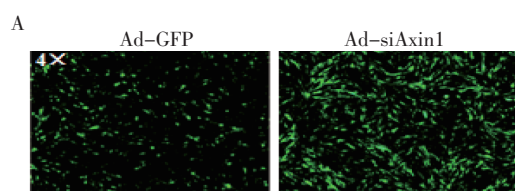
Fig 1 The expression of green fluorescent protein in C2C12 cells infected with Ad-siAxin1 at different concentrations and times



注: Ad-siAxin1: RNAi 干扰的 Axin1 腺病毒, *** $P<0.001$

图2 Ad-siAxin1 对 C2C12 细胞活力的影响

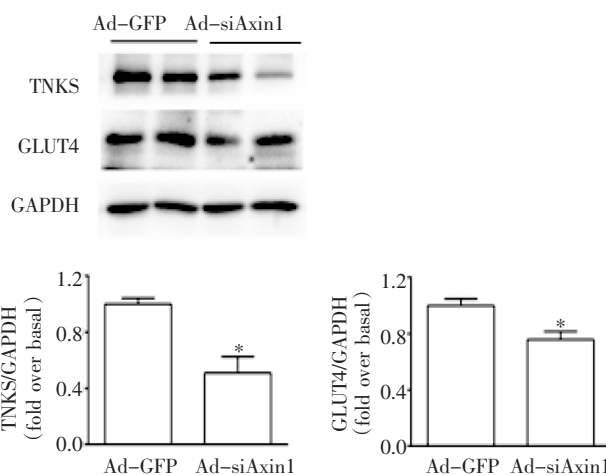
Fig 2 The effect of Ad-siAxin1 on the viability of C2C12 cells



注: Ad-GFP: 带有绿色荧光蛋白的腺病毒; Ad-siAxin1: RNAi 干扰的 Axin1 腺病毒; Axin1: 体轴发育抑制因子; GAPDH: 内参蛋白; ** $P<0.01$

图3 Western 印迹检测 Axin1 敲低效率

Fig 3 The knockdown efficiency of Axin1 detected by Western blotting

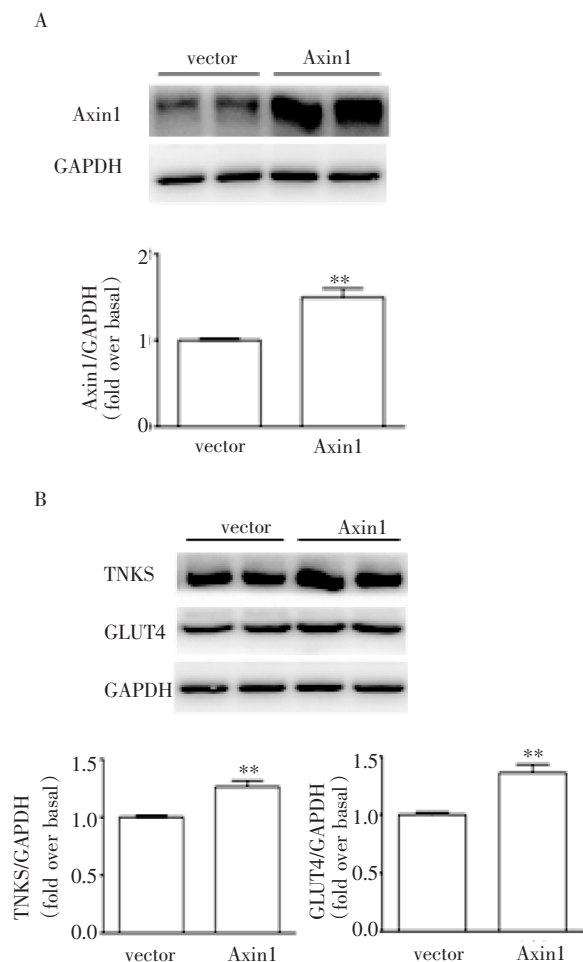


注: Ad-GFP: 带有绿色荧光蛋白的腺病毒; Ad-siAxin1: RNAi 干扰的 Axin1 腺病毒; TNKS: 端锚聚合酶蛋白; GLUT4: 葡萄糖转运蛋白 4; GAPDH: 内参蛋白; * $P<0.05$

图4 敲低 Axin1 对 TNKS 和 GLUT4 蛋白的影响

Fig 4 The effect of knock-down Axin1 on the expression of TNKS and GLUT4 proteins

2.5 过表达 Axin1 对 TNKS 和 GLUT4 蛋白的影响 在 C2C12 细胞中分别转染 Axin1 或载体质粒, 首先 Western 印迹验证 Axin1 质粒转染情况, 结果如图 5A 所示, 与 vector 组相比, Axin1 组 Axin1 表达水平显著上调($t=4.868, P<0.01$)。同时, Axin1 组 TNKS 和 GLUT4 蛋白水平均升高 ($t=4.897, 4.789$, 均 $P<0.01$), 见图 5B。



注:vector:载体质粒;Axin1:Axin1 质粒;Axin1:体轴发育抑制因子;TNKS:端锚聚合酶蛋白;GLUT4:葡萄糖转运蛋白4;GAPDH:内参蛋白;** $P<0.01$

图5 过表达 Axin1 对 TNKS 和 GLUT4 蛋白的影响

Fig 5 The effect of Axin1 overexpression on the expression of TNKS and GLUT4 proteins

3 讨论

世界卫生组织报道 2021 年全球 20~79 岁人群的糖尿病患者人数为 5.366 亿,预计 2045 年该人数将上升至 7.832 亿^[13],其中 90%糖尿病为 2 型糖尿病,主要表现为胰岛素抵抗、胰岛素调节葡萄糖代谢障碍。2 型糖尿病患者胰岛素敏感性受损, GLUT4 mRNA 和蛋白水平降低, GLUT4 转位受损,葡萄糖摄取降低,血糖升高^[14]。Axin1 是支架蛋白,参与多种信号转导途径。文献报道, Axin1 和丝裂原激活蛋白激酶/细胞外信号调控激酶 (MAPK/ERK) 激酶激酶 1/4 (MEKK1/4) 形成复合物,激活 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK),诱导细胞凋亡; Axin1 与苏氨酸-tRNA 合成酶 (ThrRS) 结合,破坏 Axin1 和 MEKK1/4 的结合,调节细胞增殖和分化; Axin1、糖原合成酶激酶 (GSK)3 β 和大肠息肉腺瘤 (APC) 形成复合物,调

节 β -连环蛋白 (β -catenin) 和 Wnt 信号通路,参与癌变^[4-6]。笔者前期发现,在骨骼肌细胞中 Axin1 参与运动/肌肉收缩,促进骨骼肌 GLUT4 转位摄取葡萄糖,敲降 Axin1 抑制骨骼肌葡萄糖摄取^[7]。TNKS 作为高尔基体的外周膜蛋白,参与携带 GLUT4 囊泡的胞吞、胞吐作用^[12],抑制 TNKS 会损害 GLUT4 储存囊泡转运摄取葡萄糖。在脂肪细胞中, Axin1 和 TNKS 形成复合物,参与 GLUT4 转位摄取葡萄糖^[8]。此外, TNKS 与 Axin1 相互作用,经由泛素-蛋白酶体途径促进 Axin1 的降解,进而激活 Wnt 通路^[15]。但是在骨骼肌细胞中 Axin1、TNKS 和 GLUT4 的关系目前尚不清楚。本研究通过在 C2C12 小鼠骨骼肌细胞中敲降或过表达 Axin1,发现 Axin1 影响 TNKS 蛋白表达。Ad-siAxin1 腺病毒感染 C2C12 细胞后下调 Axin1 蛋白 70% 左右, TNKS 蛋白水平降低,推测可能是当 Axin1 表达显著降低时,通过下调 TNKS,抑制 TNKS 对 Axin1 的泛素化降解。同样,过表达 Axin1 上调 TNKS 蛋白水平。在脂肪细胞中 TNKS 与 Axin1、KIF3A (驱动蛋白) 相互作用,与 GLUT4 形成共定位的复合物,抑制复合物中的任何成分都会抑制 GLUT4 转位摄取葡萄糖^[8]。在 L6 骨骼肌细胞中敲降 TNKS 或者抑制 TNKS 活性,通过下调特定 GLUT4 储存囊泡蛋白 (如 GLUT4、RAB10 和 VAMP8) 的表达,阻碍葡萄糖摄取^[16]。因此在 C2C12 细胞中 Axin1 可能通过 TNKS 影响骨骼肌中 GLUT4 蛋白表达,进而影响骨骼肌摄取葡萄糖。为验证此推测,笔者在骨骼肌 C2C12 细胞中分别敲降或过表达 Axin1,检测 GLUT4 蛋白表达,结果发现,随着 Axin1 蛋白水平的降低或升高, GLUT4 蛋白表达相应下调和升高,推测其机制可能是: (1) Axin1 和 TNKS 相互作用,与 GLUT4 形成共定位复合物,影响 GLUT4 蛋白表达,最终影响骨骼肌摄取葡萄糖。 (2) 在骨骼肌摄取葡萄糖过程中,为了维持 GLUT4 蛋白稳定,需要 TNKS 的 PARP 活性, Axin1 可能通过 TNKS 间接作用,抑制 GLUT4 蛋白泛素化降解,最终影响骨骼肌摄取葡萄糖。

综上所述,本研究结果表明在 C2C12 骨骼肌细胞中 Axin1 通过上调 TNKS,进而调节 GLUT4 蛋白表达,影响骨骼肌葡萄糖摄取,其具体的分子机制有待进一步研究。Axin1、TNKS 和 GLUT4 存在一定关系,为研究骨骼肌葡萄糖摄取提供了新的思路。

参考文献:

- [1] RICHTER E A, HARGREAVES M. Exercise, GLUT4, and skeletal muscle glucose uptake [J]. *Physiol Rev*, 2013, 93(3):993-1017.
- [2] CHARRON M J, KATZ E B, ZIERATH J R. Metabolic and molec-

- ular consequences of modifying GLUT4 expression in skeletal muscle[J]. *Biochem Soc Trans*, 1997, 25(3):963-968.
- [3] JALDIN-FINCATI J R, PAVAROTTI M, FRENDI-CUMBO S, et al. Update on GLUT4 vesicle traffic: a cornerstone of insulin action[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2017, 28(8):597-611.
- [4] DAI C, REYES-ORDO EZ A, YOU J S, et al. A non-translational role of threonyl-tRNA synthetase in regulating JNK signaling during myogenic differentiation[J]. *FASEB J*, 2021, 35(10):e21948.
- [5] LUO W, NG W W, JIN L H, et al. Axin utilizes distinct regions for competitive MEKK1 and MEKK4 binding and JNK activation[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(39):37451-37458.
- [6] LUO W, LIN S C. Axin: a master scaffold for multiple signaling pathways[J]. *Neurosignals*, 2004, 13(3):99-113.
- [7] YUE Y, ZHANG C, ZHANG X, et al. An AMPK/Axin1-Rac1 signaling pathway mediates contraction-regulated glucose uptake in skeletal muscle cells[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2020, 318(3):E330-E342.
- [8] GUO H L, ZHANG C, LIU Q, et al. The Axin/TNKS complex interacts with KIF3A and is required for insulin-stimulated GLUT4 translocation[J]. *Cell Res*, 2012, 22(8):1246-1257.
- [9] MANGLANI K, DEY C S. Tankyrase inhibition augments neuronal insulin sensitivity and glucose uptake via AMPK-AS160 mediated pathway[J]. *Neurochem Int*, 2020, 141:1048-1054.
- [10] OUELAA-BENSLAMA R, EMAMI S. Pinworm and TNKS inhibitors, an eccentric duo to derail the oncogenic WNT pathway[J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2011, 35(8/9):534-538.
- [11] SMITH S, DE LANGE T. Cell cycle dependent localization of the telomeric PARP, tankyrase, to nuclear pore complexes and centrosomes[J]. *J Cell Sci*, 1999, 112 (Pt 21):3649-3656.
- [12] CHI N W, LODISH H F. Tankyrase is a golgi-associated mitogen-activated protein kinase substrate that interacts with IRAP in GLUT4 vesicles[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(49):38437-38444.
- [13] 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, 183:109-119.
- [14] ALAM F, ISLAM M A, KHALIL M I, et al. Metabolic control of type 2 diabetes by targeting the glut4 glucose transporter: intervention approaches[J]. *Curr Pharm Des*, 2016, 22(20):3034-3049.
- [15] CALLOW M G, TRAN H, PHU L, et al. Ubiquitin ligase RNF146 regulates tankyrase and Axin to promote Wnt signaling[J]. *PLoS One*, 2011, 6(7):e22595.
- [16] SU Z, DESHPANDE V, JAMES D E, et al. Tankyrase modulates insulin sensitivity in skeletal muscle cells by regulating the stability of GLUT4 vesicle proteins[J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(22):8578-8587.

(2022-06-14 收稿)

(上接第26页)

- 中医学报, 2013, 28(5):722-724.
- [6] 李宁. 基于 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术的参桂胶囊中主要化学成分研究[J]. *中草药*, 2019, 50(3):573-581.
- [7] ZHOU Y, ZHOU B, PACHE L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):1-10.
- [8] TONG X L, DONG L, CHEN L, et al. Treatment of diabetes using traditional Chinese medicine: past, present and future[J]. *Am J Chin Med*, 2012, 40(5):877-886.
- [9] 庄延双, 蔡宝昌, 张自力. 网络药理学在中药研究中的应用进展[J]. *南京中医药大学学报*, 2021, 37(1):156-160.
- [10] FINUCANE O M, LYONS C L, MURPHY A M, et al. Monounsaturated fatty acid-enriched high-fat diets impede adipose NLRP3 inflammasome-mediated IL-1 β secretion and insulin resistance despite obesity[J]. *Diabetes*, 2015, 64(6):2116-2128.
- [11] ZHU R, LIU H, LIU C, et al. Cinnamaldehyde in diabetes: a review of pharmacology, pharmacokinetics and safety[J]. *Pharmacol Res*, 2017, 122:78-89.
- [12] SALEM A M, RAGHEB A S, HEGAZY M G A, et al. Caffeic acid modulates miR-636 expression in diabetic nephropathy rats[J]. *Indian J Clin Biochem*, 2019, 34(3):296-303.
- [13] FAN W, HUANG Y, ZHENG H, et al. Ginsenosides for the treatment of metabolic syndrome and cardiovascular diseases: pharmacology and mechanisms[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 132:110915.
- [14] WANG C W, SU S C, HUANG S F, et al. An essential role of cAMP response element binding protein in ginsenoside Rg1-mediated inhibition of Na⁺/glucose cotransporter 1 gene expression[J]. *Mol Pharmacol*, 2015, 88(6):1072-1083.
- [15] ESSER N, LEGRAND-POELS S, PIETTE J, et al. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2014, 105(2):141-150.
- [16] 付林, 杨杨, 张同存. 2 型糖尿病免疫发病机制研究进展[J]. *中国糖尿病杂志*, 2021, 29(5):393-396.
- [17] ELLINGSGAARD H, HAUSELMANN I, SCHULER B, et al. Interleukin-6 enhances insulin secretion by increasing glucagon-like peptide-1 secretion from L cells and alpha cells[J]. *Nat Med*, 2011, 17(11):1481-1489.
- [18] HONTARIUK D O, FERFETSKA K V, KHRYSYCH T M, et al. Incides of C-reactive protein, tumor necrosis factor- α , adiponectin, leptin and resistin in the blood of patients suffering from chronic pancreatitis and type 2 diabetes mellitus[J]. *J Med Life*, 2020, 13(4):568-571.
- [19] HAN L, SHEN W J, BITTNER S, et al. PPARs: regulators of metabolism and as therapeutic targets in cardiovascular disease. Part II: PPAR-beta/delta and PPAR-gamma[J]. *Future Cardiol*, 2017, 13(3):279-296.
- [20] YAMAGISHI S. Role of advanced glycation end products (AGEs) and receptor for AGEs (RAGE) in vascular damage in diabetes[J]. *Exp Gerontol*, 2011, 46(4):217-224.
- [21] GONZALEZ F J, XIE C, JIANG C. The role of hypoxia-inducible factors in metabolic diseases[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 15(1):21-32.
- [22] HAMEED A, HAFIZUR R M, KHAN M I, et al. Coixol amplifies glucose-stimulated insulin secretion via cAMP mediated signaling pathway[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 858:172514.

(2022-05-27 收稿)