

木糖醇通过调节 PI3K /Akt /FoxO1 /NF- κ B 通路改善 2 型糖尿病小鼠肾损伤

张静霞¹, 林国文¹, 黄梓彤¹, 吴雨杭¹, 潘思¹, 张趁华²

摘要: **目的** 探究木糖醇改善 2 型糖尿病(T2DM)肾损伤的作用机制。**方法** 将小鼠随机分为正常对照组(NC 组)、糖尿病对照组(DC 组)、10%木糖醇组(DX10 组)、20%木糖醇组(DX20 组),每组 6 只。除 NC 组外,其余各组小鼠均用链脲佐菌素(40 mg/kg)构建 T2DM 模型。造模成功后,在正常饲料中加入不同比例的木糖醇连续喂养 8 周。通过试剂盒检测小鼠空腹血糖(FBG);采用 ELISA 法测定血清中白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)含量;比色法检测肾组织过氧化氢酶(CAT)、丙二醛(MDA)和总抗氧化能力(T-AOC);苏木精-伊红(H-E)染色观察肾组织的形态学变化;Western-blot 法检测小鼠肾组织 p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt、p-FoxO1、FoxO1、NF- κ B、ICAM-1、Bcl-2 和 Bax 蛋白的表达情况。**结果** (1)与 NC 组比较,DC 组 FBG 升高($P<0.01$),木糖醇干预后下降,且 DX20 组下降更显著($P<0.05$);(2)与 NC 组比较,DC 组 IL-6 和 TNF- α 分泌增加($P<0.0001$),木糖醇干预后均下降,且 DX20 组下降更显著($P<0.0001$);(3)与 NC 组比较,DC 组 CAT 和 T-AOC 活性下降、MDA 含量升高($P<0.01$),木糖醇干预后,CAT 和 T-AOC 活性升高而 MDA 含量降低($P<0.05$),且 DX20 组变化更显著($P<0.05$);(4)H-E 染色显示,木糖醇干预可改善小鼠糖尿病肾损伤,且 DX20 组效果更佳($P<0.05$);(5)Western-blot 检测显示,与 NC 组比较,DC 组小鼠肾组织中 p-PI3K、p-Akt、p-FoxO1 和 Bcl-2/Bax 均降低($P<0.0001$, $P<0.001$, $P<0.01$, $P<0.001$),NF- κ B 入核增多($P<0.0001$),ICAM-1 升高($P<0.01$);与 DC 组比较,木糖醇干预可逆转相关蛋白的变化,且 DX20 组变化更显著($P<0.05$)。**结论** 木糖醇可通过活化 PI3K/Akt/FoxO1 及抑制 NF- κ B 通路改善 T2DM 小鼠肾损伤。

关键词: 木糖醇; 2 型糖尿病; 肾损伤; PI3K/Akt/FoxO1/NF- κ B 通路; 炎症

文献标志码: A **文章编号:** 1672-4194(2024)03-0159-07

2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)是指由于胰岛素分泌不足或胰岛素抵抗引起血糖增高的一种慢性代谢疾病。糖尿病肾损伤是 T2DM 最常见的微血管并发症之一。长期高血糖可促使炎症因子释放,导致细胞损伤,诱发肾小管上皮细胞凋亡,引起肾脏血管病变,进而导致肾脏损伤^[1]。因此,实现葡萄糖稳态是治疗 T2DM 的关键因素之一。研究表明,PI3K/Akt 信号通路是胰岛素效应信号转导的主要途径,该通路载有胰岛素调控细胞代谢所必需的关键蛋白^[2-3]。胰岛素不足或胰岛素抵抗时,PI3K/Akt 通路无法被激活,导致其下游 FoxO1 调控的糖异生基因磷酸烯醇丙酮酸羧化激酶(phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK)和葡萄糖-6-磷酸酶(glucose-6-phosphatase, G-6-pase)等转录,从而使血糖升高^[4-6]。此外,氧自由基损伤也是 T2DM 发生的重要原因,其病理机制为高糖环

境导致线粒体呼吸链产生过量活性氧(reactive oxygen species, ROS),诱发脂质过氧化,进而加剧氧化应激。作为脂质过氧化反应的终产物,丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平与脂质过氧化程度呈显著正相关^[7];核因子- κ B(nuclear factor Kappa B, NF- κ B)的活化和炎症因子的过表达在 T2DM 的发生发展中的作用也尤为显著。研究表明,NF- κ B 过度活化会导致糖尿病并发症和胰岛素抵抗^[8]。细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)是参与介导炎症反应的关键因子,可介导白细胞黏附和迁移,从而促进炎症反应的发生发展^[9-10]。肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)是炎症反应的重要组成部分,而白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)可与其他促炎细胞因子协同作用,从而放大炎症网络^[11]。

尽管目前治疗 T2DM 的药物较多,但因药物的疗效有限且存在副作用,如能研发一种药食同源的功能药物进行辅助治疗,也是一种预防和缓解 T2DM 的可行性方法。近年研究证明,木糖醇具有稳定血糖、刺激胰岛素分泌等作用^[12-13],但对 T2DM 并发症的影响尚不清楚。本研究拟通过分析 PI3K/Akt/FoxO1/NF- κ B 通路与 T2DM 小鼠肾损伤的关

收稿日期: 2024-04-23

资助项目: 福建省自然科学基金项目(2022J05259, 2020J05212)

作者单位: 1. 莆田学院 基础医学院,福建省肿瘤转化医学重点实验室,莆田 351100;

2. 莆田学院 机电与信息工程学院,莆田 351100

作者简介: 张静霞,女,实验师,理学硕士。Email: zhangjingxia0635@126.com

系,探讨木糖醇对糖尿病肾损伤的作用及相关机制,旨在为 T2DM 的治疗和药物研发提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 选取 7 周龄、SPF 级的雄性 ICR 小鼠 28 只[SCXK(沪)2019-0002,上海斯莱克实验动物有限责任公司],饲养于实验动物中心 SPF 级动物房,适应性饲养 1 周后进行实验。本实验经莆田学院动物实验伦理委员会批准(2022-001)。

1.1.2 药物及试剂 链脲佐菌素(HY-13753,美国 Med Chem Express 公司);木糖醇(X100092,上海阿拉丁生物科技股份有限公司);葡萄糖检测试剂盒(R21933,上海源叶生物科技有限公司);过氧化氢酶(catalase, CAT)活性检测试剂盒(BC4780)、MDA 含量检测试剂盒(BC0020)、总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)检测试剂盒(BC1310)、Mouse IL-6 ELISA KIT(SEKM-0007)、Mouse TNF- α ELISA KIT(SEKM-0034)(北京索莱宝科技有限公司);Histone-H3 抗体(AH433)(上海碧云天生物技术有限公司);苏木精-伊红(hematoxylin and eosin, H-E)染色试剂盒(AR1180,武汉博生德生物公司);p-PI3K(Tyr467)(ab278545)、PI3K(ab74136)、p-Akt(Ser473)(ab38449)、Akt 抗体(ab18785)(英国 Abcam 公司);p-FoxO1(Ser319)抗体(bs-20095R,北京博奥森生物技术公司);FoxO1 抗体(C29H4,美国 Cell Signaling Technology 公司);ICAM-1 抗体(E-AB-70046,武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司); β -actin(66009-1-Ig)、NF- κ B(p65)抗体(10745-1-AP)(美国 Proteintech 公司)。

1.1.3 仪器 多功能酶标仪(MultiSKanFC,美国 Thermo Fisher scientific 公司);凝胶成像系统(JS-M6P,上海培清公司);电泳设备(PoweracBasic,美国 Bio-Rad 公司);冷冻离心机(Allegra 64R,美国贝克曼公司);石蜡切片机(RM2235,德国徕卡仪器公司)。

1.2 方法

1.2.1 分组与建模 28 只小鼠随机抽取 6 只作为正常对照组(NC 组),另 22 只腹腔注射链脲佐菌素(40 mg/kg),每隔 24 h 注射 1 次,共注射 5 次,注射前均禁食 12 h,期间给予高脂饲料喂养,末次注射后恢复正常饲料喂养。NC 组给予正常饲料,同时注射等体积柠檬酸钠缓冲液。末次注射 72 h 后,尾

静脉采血测空腹血糖(fasting blood glucose, FBG),如 ≥ 11.1 mmol/L 为造模成功。筛选 18 只成模小鼠,随机分为糖尿病对照组(DC 组)、10%木糖醇组(DX10 组)和 20%木糖醇组(DX20 组),每组 6 只。NC 组和 DC 组给予正常饲料喂养;DX10 组和 DX20 组在正常饲料中分别加入相应比例的木糖醇,均匀混合后压制成含 10%和 20%木糖醇的饲料,连续喂养 8 周。

1.2.2 检测 FBG 造模后,于差异喂养前和差异喂养 8 周后尾静脉取血,通过葡萄糖检测试剂盒测定各组小鼠的 FBG 含量。

1.2.3 ELISA 法检测小鼠血清 IL-6 和 TNF- α 的含量 于差异喂养的第 8 周末,小鼠麻醉后,眼眶后静脉丛取血,室温静置 1 h 后,在 4℃条件下 $1\,000 \times g$ 离心 15 min。取上清液,参照试剂盒说明书检测各组小鼠血清 IL-6 和 TNF- α 的含量。

1.2.4 比色法检测肾脏组织 CAT、MDA 和 T-AOC 含量 麻醉小鼠灌流后,收集肾脏,称取组织,加入提取液,冰浴匀浆,在 4℃条件下 $12\,000 \times g$ 离心 15 min。取上清液,参照试剂盒说明书检测各组小鼠 CAT 和 T-AOC 活性以及 MDA 含量。

1.2.5 H-E 染色检测肾组织病理损伤 取新鲜小鼠肾组织,用 4%多聚甲醛固定,包埋后石蜡切片,将蜡块固定在切片机上,切片 4 μ m,烘干。脱蜡及水化,H-E 染色,封片烘干。倒置荧光显微镜下采集图片;每份组织取 6 张切片,每张切片观察 6 个非重叠视野。采用 Paller 法^[14]对肾小管损伤程度进行评分:每个视野随机选择 10 个病变肾小管,按 100 个肾小管记分。标准:肾小管明显扩张、细胞扁平为 1 分;刷状缘损伤为 1 分,脱落为 2 分;管型为 2 分;肾小管管腔内有脱落的坏死细胞(未形成管型或碎片)计 1 分。

1.2.6 Western-blot 检测相关蛋白表达 取新鲜肾组织,用 RIPA 裂解液提取蛋白,经 BCA 法测定蛋白浓度。蛋白变性后注入 SDS-PAGE 凝胶中电泳,随后转移至 PVDF 膜上。检测 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、FoxO1、p-FoxO1、NF- κ B、ICAM-1、Bcl-2 和 Bax 的表达水平,同时以 β -actin 和 Histone-H3 为内参。使用 ECL 显影,曝光成像,并用 Image J 软件进行定量分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 18.0 软件进行统计分析,采用 GraphPad Prism 9 软件作图。各指标均为定量或半定量数据,实验结果以 $\bar{X} \pm S$ 表示,采用

Student's *t*-test 和 one-way ANOVA 进行统计分析。双侧检验, $P<0.05$ 为差别有统计学意义。

2 结 果

2.1 木糖醇降低小鼠 FBG 水平 与喂养前比较, 差异性喂养 8 周后, 木糖醇干预组 FBG 水平下降。与 NC 组比较, DC 组 FBG 水平升高 ($P<0.01$); 与 DC 组比较, 木糖醇干预后, FBG 水平下降 (DX10 组: $P<0.05$; DX20 组: $P<0.001$), 与 DX10 组比较, DX20 组下降更明显, 差别有统计学意义 ($P<0.05$, 表 1)。

表 1 各组小鼠 FBG 结果

Tab. 1 FBG results of mice in each group

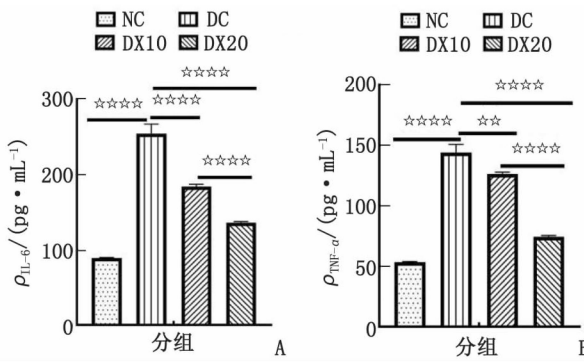
单位: mmol/L		
分组	差异性喂养前	差异性喂养 8 周后
NC 组	8.75±0.95	9.13±0.03
DC 组	21.38±1.58	23.31±1.91☆☆
DX10 组	21.37±1.87	18.43±1.57#
DX20 组	21.25±1.79	15.44±1.71###△

表中数据为 $\bar{X}\pm S$, $n=6$ 。FBG: 空腹血糖; NC 组: 正常对照组; DC 组: 糖尿病对照组; DX10 组: 10% 木糖醇组; DX20 组: 20% 木糖醇组。与 NC 组比较, ☆☆: $P<0.01$; 与 DC 组比较, #: $P<0.05$, ###: $P<0.001$; 与 DX10 组比较, △: $P<0.05$ 。

2.2 木糖醇降低小鼠血清中 IL-6 和 TNF-α 含量 与 NC 组比较, DC 组 IL-6 和 TNF-α 均升高 ($P<0.0001$), 木糖醇干预后, 二者均下降且差别有统计学意义 ($P<0.0001$, $P<0.01$, 图 1), 其中 DX20 组较 DX10 组下降更明显。

2.3 木糖醇降低小鼠肾组织 MDA 含量、升高 CAT 和 T-AOC 活性 与 NC 组比较, DC 组 CAT 和 T-AOC 活性下降、MDA 含量升高, 差别有统计学意义 ($P<0.01$); 与 DC 组比较, 木糖醇干预后, CAT 和 T-AOC 活性均升高、MDA 含量均降低, 差别有统计学意义 ($P<0.05$), 且 DX20 组变化较 DX10 组明显 ($P<0.05$, 表 2)。

2.4 木糖醇改善小鼠肾组织病理学损伤 H-E 染色显示, NC 组小鼠肾脏结构清晰, 肾小球和肾小管



$n=6$ 。IL-6: 白细胞介素-6; TNF-α: 肿瘤坏死因子-α。NC 组: 正常对照组; DC 组: 糖尿病对照组; DX10 组: 10% 木糖醇组; DX20 组: 20% 木糖醇组。A: IL-6 含量; B: TNF-α 含量。组间比较, ☆☆: $P<0.01$; ☆☆☆: $P<0.0001$ 。

图 1 木糖醇降低小鼠血清中 IL-6 和 TNF-α 的含量

Fig. 1 Xylitol reduces IL-6 and TNF-α in mice serum

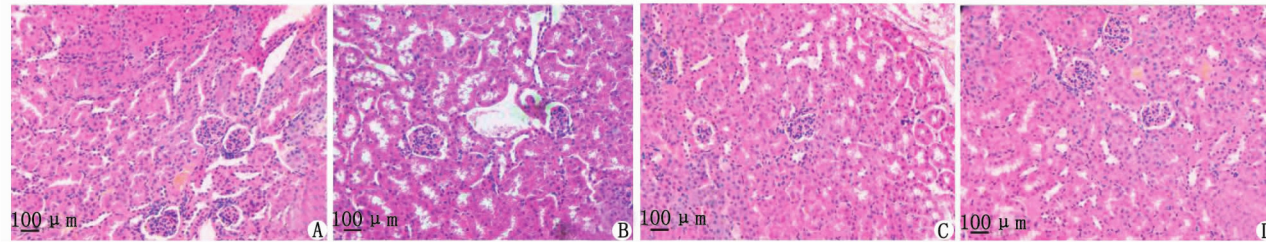
表 2 木糖醇对小鼠肾组织 CAT、MDA 和 T-AOC 的影响

Tab. 2 The effects of xylitol on the CAT, MDA and T-AOC in kidney of mice

分组	CAT/ (U · mL ⁻¹)	MDA/ (mmol · g ⁻¹)	T-AOC/ (μmol · g ⁻¹)
NC 组	59.46±4.42	12.10±4.49	7.02±0.59
DC 组	25.74±3.54☆☆	36.94±7.07☆☆	2.43±0.15☆☆
DX10 组	37.64±2.84#	27.53±1.45#	3.46±0.31#
DX20 组	44.79±3.03#△	19.66±1.13#△	4.55±0.66#△

表中数据为 $\bar{X}\pm S$, $n=6$ 。CAT: 过氧化氢酶; MDA: 丙二醛; T-AOC: 总抗氧化能力。NC 组: 正常对照组; DC 组: 糖尿病对照组; DX10 组: 10% 木糖醇组; DX20 组: 20% 木糖醇组。与 NC 组比较, ☆☆: $P<0.01$; 与 DC 组比较, #: $P<0.05$; 与 DX10 组比较, △: $P<0.05$ 。

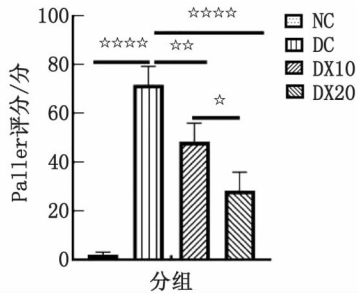
均未见病理改变; DC 组小鼠肾组织出现肾小球增大、系膜增生、呈分叶状改变, 肾小管扩张、细胞坏死等病理学改变; 木糖醇组小鼠上述病变均有不同程度改善, 部分肾小球增大、肾小管细胞坏死等均可见不同程度改善 (图 2)。Paller 法评分显示, DC 组肾损伤加重 ($P<0.0001$), DX10 组和 DX20 组肾损伤均较 DC 组减轻 ($P<0.01$, $P<0.0001$), 且 DX20 组减轻较 DX10 组明显 ($P<0.05$, 图 3)。



A: NC 组, 正常对照组; B: DC 组, 糖尿病对照组; C: DX10 组, 10% 木糖醇组; D: DX20 组, 20% 木糖醇组。

图 2 小鼠肾组织病理改变 (H-E 染色 ×200)

Fig. 2 Pathological changes in kidney of mice (H-E staining ×200)

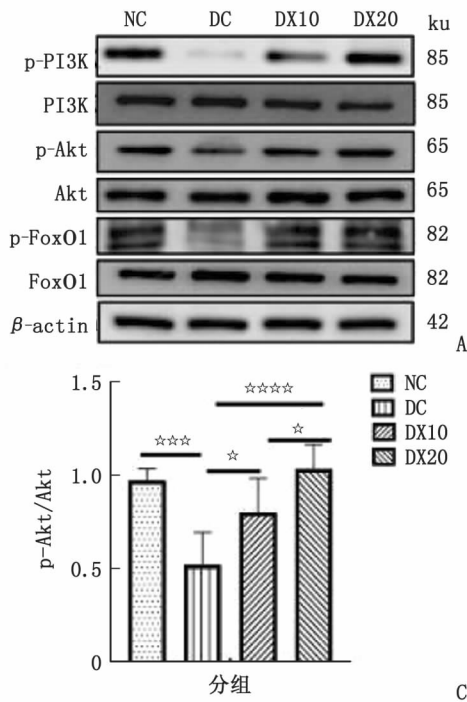


$n=6$ 。NC 组:正常对照组;DC 组:糖尿病对照组;DX10 组:10% 木糖醇组;DX20 组:20% 木糖醇组。组间比较, $\star: P<0.05$, $\star\star: P<0.01$, $\star\star\star: P<0.0001$ 。

图3 小鼠肾组织损伤 Paller 法评分

Fig. 3 Paller score for renal injury of mice

2.5 木糖醇影响小鼠肾组织 p-PI3K、p-Akt 和 p-FoxO1 蛋白表达 Western-blot 检测显示,各组



$n=6$ 。NC 组:正常对照组;DC 组:糖尿病对照组;DX10 组:10% 木糖醇组;DX20 组:20% 木糖醇组。A:Western-blot 检测小鼠肾组织相关蛋白的表达水平;B~D:相关蛋白相对表达量比较, $\star: P<0.05$, $\star\star: P<0.01$, $\star\star\star: P<0.001$, $\star\star\star\star: P<0.0001$ 。

图4 木糖醇对 PI3K/Akt/FoxO1 通路蛋白表达水平的影响

Fig. 4 Effect of xylitol on the expression of PI3K/Akt /FoxO1 signaling pathway proteins

3 讨论

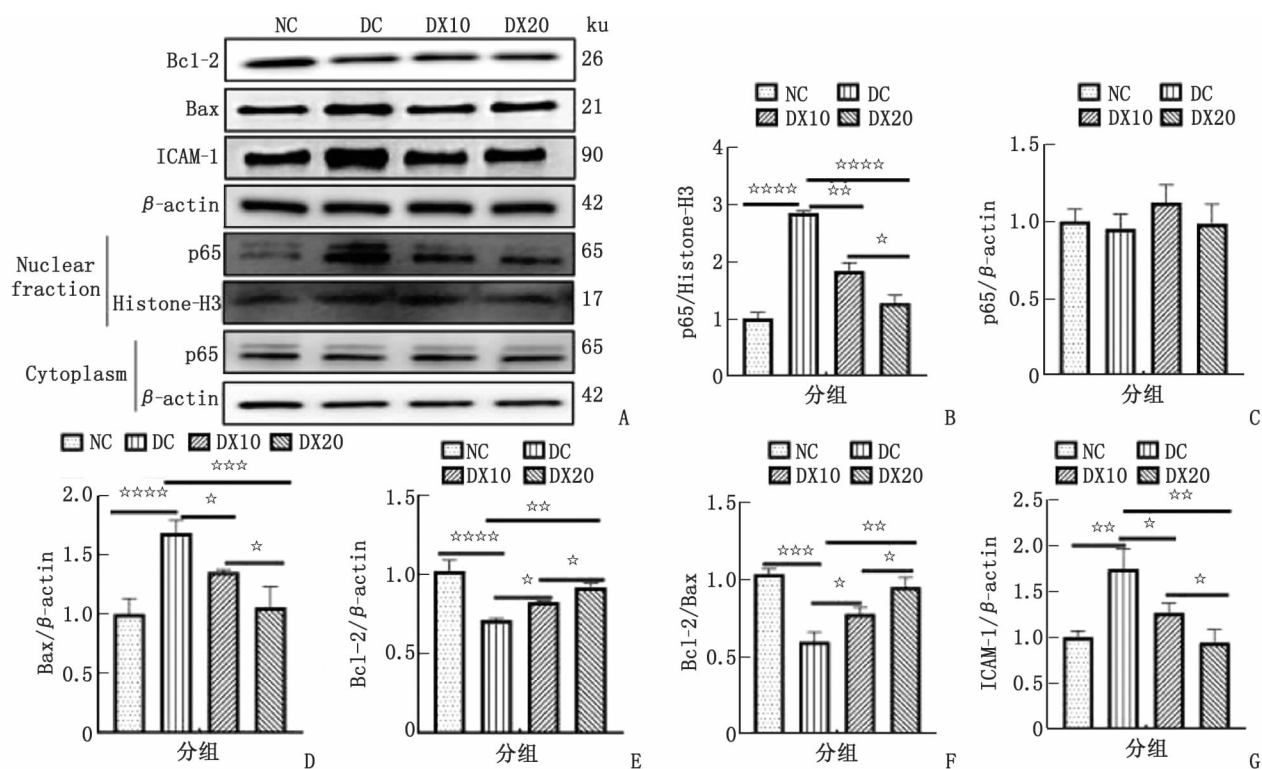
糖尿病肾损伤是 T2DM 患者常见的并发症之一,主要表现为肾小球和肾小管病变,最终可能导致肾衰竭。木糖醇因具有较低的能量值、血糖指数及胰岛素反应,已被作为糖替代品添加在糖尿病患者的食品中^[13]。目前关于木糖醇改善糖尿病肾损伤的机制研究仍较少^[15]。本研究通过采用 10% 和 20%

PI3K、Akt 和 FoxO1 表达无显著变化,对应的磷酸化蛋白变化较大。与 NC 组比较,DC 组小鼠肾组织 p-PI3K、p-Akt 和 p-FoxO1 表达降低,差别有统计学意义($P<0.0001$, $P<0.001$, $P<0.01$);木糖醇干预后,上述磷酸化蛋白表达水平较 DC 组升高,且 DX20 组较 DX10 组变化更明显($P<0.05$,图 4)。

2.6 木糖醇降低小鼠肾组织 NF- κ B 核易位及影响相关蛋白表达 各组小鼠肾组织中 NF- κ B 总蛋白变化不显著,但是入核蛋白存在差异。与 NC 组比较,DC 组 NF- κ B 入核增加($P<0.0001$),ICAM-1 和 Bax 增加($P<0.01$, $P<0.0001$),Bcl-2 和 Bcl-2/Bax 降低($P<0.0001$, $P<0.001$),差别有统计学意义;木糖醇干预后,相关蛋白的变化被逆转,且 DX20 组较 DX10 组变化更明显($P<0.05$,图 5)。

两种比例的木糖醇干预 T2DM 小鼠,发现木糖醇可改善高糖导致的肾脏损伤,且 20% 木糖醇效果更好。研究提示,木糖醇可改善 T2DM 小鼠肾损伤,并具有剂量依赖性。

PI3K/Akt 信号通路是经典的促生存、抗凋亡的通路,在细胞存活、生长、代谢及葡萄糖代谢过程中起重要作用。研究显示,木糖醇降低血糖可能与该信号通路有关^[16]。FoxO1 被 Akt 磷酸化后,从胞



$n=3$ 。NF- κ B:核因子- κ B;ICAM-1:细胞间黏附分子-1。NC组:正常对照组;DC组:糖尿病对照组;DX10组:10%木糖醇组;DX20组:20%木糖醇组。A:Western-blot检测小鼠肾组织相关蛋白的表达水平;B~G:NF- κ B通路相关蛋白相对表达量比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$,**** $P<0.0001$ 。

图5 木糖醇影响 NF- κ B 通路相关蛋白表达

Fig. 5 Xylitol regulates the expression of proteins related to the NF- κ B signaling pathway

核易位至胞质,无法参与转录调控。但在 Akt 失活、MAPK 活化等情况下,FoxO1 会从胞质转移至胞核,结合 DNA 上相应序列的启动子区域,导致 FoxO1 调控的糖异生限速酶 PEPCK 和 G-6-pase 表达升高,从而升高血糖^[17]。木糖醇经扩散进入细胞内合成糖原、代谢产生能量,缓解糖代谢异常,同时还减少胰岛素的利用,进而增强 PI3K/Akt/FoxO1 信号通路中相关蛋白的磷酸化水平,抑制糖异生,改善小鼠胰岛素抵抗。同时木糖醇还可通过调节小鼠肠道菌群来改善胰岛素抵抗,从而降低血糖^[18]。因此,木糖醇在维持 T2DM 小鼠血糖稳态方面起重要作用^[19-21]。

高糖诱导细胞线粒体呼吸链产生过量 ROS 是引发 T2DM 并发症的启动因素和重要环节。ROS 会造成细胞质内 Ca^{2+} 大量释放,激活炎症小体的组装与活化,启动细胞炎症反应信号通路,最终导致细胞死亡^[22]。因此,降低 ROS 对于延缓糖尿病肾损伤至关重要。研究显示,木糖醇不但可增强肾脏抗氧化损伤能力、减少 ROS 产生^[13,23],而且可明显提高 T2DM 大鼠肝损伤后的抗氧化能力^[13]。本研究结果显示,木糖醇可明显改善 T2DM 小鼠 T-AOC 和 CAT 活性降低的现象,同时降低脂质代谢产物

MDA 含量,保护细胞免受自由基攻击,进而保护小鼠肾脏,提示木糖醇可通过减轻氧自由基损伤改善 T2DM 小鼠肾损伤。

研究表明,T2DM 诱导的氧化应激可激活 NF- κ B,ROS 和促炎细胞因子也可激活 NF- κ B^[24-25]。因此,T2DM 长期慢性低度炎症和氧化稳态失衡可能是激活 NF- κ B 的机制。NF- κ B 是许多促炎细胞因子转录所需的 DNA 结合蛋白,激活的 NF- κ B 以二聚体的形式入核,与促炎基因的启动子结合,增强炎症因子的表达,引发组织炎症损伤。因此,阻断 NF- κ B 的转录活性可能是治疗炎症性疾病的重要途径。研究证明,水杨酸可通过抑制 NF- κ B,明显改善 T2DM 患者的血糖水平和胰岛素敏感性^[26]。本研究显示,木糖醇可明显抑制 NF- κ B 入核,从而降低 T2DM 小鼠肾脏组织中 ICAM-1 和血清中 IL-6、TNF- α 的表达,进而降低对 NF- κ B 转录活性的刺激,形成正反馈机制,抑制炎症因子的表达。研究表明,在炎症反应中,Bcl-2 是抗凋亡蛋白,Bax 是促凋亡蛋白,可用 Bcl-2/Bax 评估细胞的凋亡情况,进而反映炎症情况^[27]。木糖醇干预组 Bcl-2 表达和 Bcl-2/Bax 比值升高,Bax 表达降低,说明木糖醇减轻了 T2DM 小鼠肾脏的炎症反应。本研究显示,木

糖醇可通过抑制 NF- κ B 活性,减少炎症反应,改善 T2DM 小鼠肾损伤。

综上所述,木糖醇通过调节 PI3K/Akt/FoxO1 信号通路来改善胰岛素抵抗,从而降低血糖;同时通过调节 NF- κ B 信号通路,改善氧化损伤,抑制炎症反应。木糖醇可有效改善 T2DM 小鼠肾脏病理损伤,有效抑制糖尿病引起的肾脏损伤,可作为糖尿病患者辅助治疗药物和能量补充剂,但木糖醇降低 NF- κ B 活化的具体机制仍需进一步研究。

参考文献:

- [1] ZHANG X Q,ZHANG J L,REN Y,et al. Unveiling the pathogenesis and therapeutic approaches for diabetic nephropathy: Insights from panvascular diseases[J]. Front Endocrinol, 2024,15:1368481.
- [2] WU F,SHAO Q Q,XIA Q S,et al. A bioinformatics and transcriptomics based investigation reveals an inhibitory role of Huanglian-Renshen-Decoction on hepatic glucose production of T2DM mice via PI3K/Akt/FoxO1 signaling pathway[J]. Phytomedicine,2021,83:153487.
- [3] HU W,LI M,SUN W Y,et al. Hirsutine ameliorates hepatic and cardiac insulin resistance in high-fat diet-induced Diabetic mice and *in vitro* models [J]. Pharmacol Res, 2022, 177: 105917.
- [4] 马可可,鞠莹辉,陈清青,等. 黄芪甲苷对 2 型糖尿病肾病大鼠肾组织 PI3K/Akt/FoxO1 信号调控的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(2):74-81.
- [5] ZENG X Y,WANG Y P,CANTLEY J,et al. Oleonic acid reduces hyperglycemia beyond treatment period with Akt/FoxO1-induced suppression of hepatic gluconeogenesis in type-2 diabetic mice[J]. PLoS One,2012,7(7):e42115.
- [6] MO F F,LIU H X,ZHANG Y,et al. Anti-diabetic effect of loganin by inhibiting FOXO1 nuclear translocation *via* PI3K/Akt signaling pathway in INS-1 cell[J]. Iran J Basic Med Sci, 2019,22(3):262-266.
- [7] SUN M Y,ZHAO X Y,LI X Y,et al. Aerobic exercise ameliorates liver injury in Db/Db mice by attenuating oxidative stress, apoptosis and inflammation through the Nrf2 and JAK2/STAT3 signalling pathways[J]. J Inflamm Res,2023, 16:4805-4819.
- [8] GUO T W,PAN Y,YANG L,et al. Flavonoid compound from Agrimonia pilosa Ledeb improves adipose insulin resistance by alleviating oxidative stress and inflammation[J]. BMC Complement Med,2023,23(1):322-333.
- [9] ALTAMIMI J Z,ALFARIS N A,ALSHAMMARI G M,et al. Protective effect of eriodictyol against hyperglycemia-induced diabetic nephropathy in rats entails antioxidant and anti-inflammatory effects mediated by activating Nrf2 [J]. Saudi Pharm J,2023,31(11):101817.
- [10] 何荃,王萌,魏萌,等. 冬凌草甲素抑制 NF- κ B p65 活化对糖尿病肾病幼龄大鼠肾损伤和免疫紊乱的影响[J]. 西部医学, 2019,31(11):1646-1650,1656.
- [11] YU S Y,CHENG Y,ZHANG L X,et al. Treatment with adipose tissue-derived mesenchymal stem cells exerts anti-diabetic effects, improves long-term complications, and attenuates inflammation in type 2 diabetic rats[J]. Stem Cell Res Ther, 2019,10(1):333-350.
- [12] MSOMI N Z,ERUKAINURE O L,SALAU V F,et al. Comparative effects of xylitol and erythritol on modulating blood glucose; inducing insulin secretion; reducing dyslipidemia and redox imbalance in a type 2 diabetes rat model[J]. Food Sci Hum Well,2023,12(6):2052-2060.
- [13] MSOMI N Z,ERUKAINURE O L,SALAU V F,et al. Xylitol improves antioxidant, purinergic and cholinergic dysfunction, and lipid metabolic homeostasis in hepatic injury in type 2 diabetic rats[J]. J Food Biochem,2022,46(4):e14040.
- [14] 董文斌,冉隆瑞,冯志强,等. 白细胞参与新生鼠窒息后肾损伤的作用及机制研究[J]. 中国危重病急救医学,2000, 12(4):208-210.
- [15] GASMI BENAHMED A,GASMI A,ARSHAD M,et al. Health benefits of xylitol[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2020,104(17):7225-7237.
- [16] YI E Y,KIM Y J. Xylitol inhibits *in vitro* and *in vivo* angiogenesis by suppressing the NF- κ B and Akt signaling pathways[J]. Int J Oncol,2013,43(1):315-320.
- [17] 杜国慧,刘博伟,尹福在,等. 利拉鲁肽对糖尿病小鼠肝糖异生关键酶 PEPCK 及 G-6-pase 的表达影响及机制探讨[J]. 中国比较医学杂志,2020,30(12):98-102.
- [18] KONG F H,KANG S M,ZHANG J,et al. Whey protein and xylitol complex alleviate type 2 diabetes in C57BL/6 mice by regulating the intestinal microbiota[J]. Food Res Int,2022, 157:111454.
- [19] 乔进,赵彦,陈霞,等. 基于 PI3K/Akt/FoxO1 通路探讨大黄酸对 2 型糖尿病大鼠肾损伤的作用[J]. 中成药,2023, 45(2):609-613.
- [20] AHMED E S,MOHAMED H E,FARRAG M A. Luteolin loaded on zinc oxide nanoparticles ameliorates non-alcoholic fatty liver disease associated with insulin resistance in diabetic rats via regulation of PI3K/AKT/FoxO1 pathway[J]. Int J Immunopathol Pharmacol,2022,36:3946320221137435.
- [21] CHEN D,CHEN X,HE C,et al. Sanhuang xieixin decoction synergizes insulin/PI3K-Akt/FoxO signaling pathway to inhibit hepatic glucose production and alleviate T2DM [J]. J Ethnopharmacol,2023,306:116162.
- [22] ZHANG S X,ZHANG S,ZHANG Y,et al. Activation of NRF2 by epiberberine improves oxidative stress and insulin resistance in T2DM mice and IR-HepG2 cells in an AMPK dependent manner[J]. J Ethnopharmacol,2024,327:117931.
- [23] KISHORE P,KEHLENBRINK S,HU M,et al. Xylitol prevents NEFA-induced insulin resistance in rats[J]. Diabetologia,2012,55(6):1808-1812.
- [24] HE F,HUANG Y R,SONG Z,et al. Mitophagy-mediated adipose inflammation contributes to type 2 diabetes with hepatic insulin resistance [J]. J Exp Med, 2021, 218 (3): e20201416.

- [25] RANNEH Y, AKIM A M, HAMID H A, et al. Stingless bee honey protects against lipopolysaccharide induced-chronic subclinical systemic inflammation and oxidative stress by modulating Nrf2, NF-kappaB and p38 MAPK [J]. *Nutr Metab (Lond)*, 2019, 16:15.
- [26] BAKO H Y, IBRAHIM M A, ISAH M S, et al. Inhibition of JAK-STAT and NF- κ B signalling systems could be a novel therapeutic target against insulin resistance and type 2 diabetes[J]. *Life Sci*, 2019, 239:117045.
- [27] LIU Z Y, XIANG H L, DENG Q, et al. Baicalin and baicalein attenuate hyperuricemic nephropathy via inhibiting PI3K/AKT/NF- κ B signalling pathway[J]. *Nephrology (Carlton)*, 2023, 28(6):315-327.

Xylitol Alleviates Renal Injury in Type 2 Diabetes Mellitus Mice by Modulating PI3K/Akt/FoxO1/NF- κ B Signaling Pathway

ZHANG Jingxia¹, LIN Guowen¹, HUANG Zitong¹, WU Yuhang¹, PAN Si¹, ZHANG Chenhua²

1. Key Laboratory of Translational Tumor Medicine in Fujian Province, School of Basic Medical Science, Putian University, Putian 351100, China;

2. School of Mechanical, Electrical & Information Engineering, Putian University, Putian 351100, China

ABSTRACT: **Objective** It is to investigate the mechanism of xylitol in ameliorating renal injury in mice with type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods** Mice were randomly divided into four groups: normal control group (NC), diabetes control group (DC), 10% xylitol group (DX10), and 20% xylitol group (DX20), with 6 mice in each group ($n=6$). To establish a mouse model of T2DM, all mice were administered 40 mg/kg streptozotocin, except for the NC group. After modeling, different ratios of xylitol was added to the normal feed and administered continuously for 8 weeks. Fasting blood glucose (FBG) levels were measured; serum levels of interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were determined by ELISA; renal tissues were colorimetrically assayed for catalase (CAT), malondialdehyde (MDA) and total antioxidant capacity (T-AOC); morphologic changes were observed by H-E staining; and Western-blot was used to detect the protein expressions of p-PI3K, PI3K, p-Akt, Akt, p-FoxO1, FoxO1, nuclear factor Kappa-B (NF- κ B), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), Bcl-2, and Bax in renal tissues. **Results** (1) Compared to the NC group, FBG levels were increased in the DC group ($P<0.01$) and decreased after xylitol intervention, and the decrease was more significant in the DX20 group than in the DX10 group ($P<0.05$); (2) Serum levels of IL-6 and TNF- α in DC group was higher than that in NC group ($P<0.0001$), and both were decreased after xylitol intervention, and the decrease was more significant in the DX20 group than in the DX10 ($P<0.0001$); (3) Compared to the NC group, CAT and T-AOC was decreased, and MDA was increased ($P<0.01$) in the DC group, and after xylitol intervention, CAT and T-AOC were increased, while MDA was decreased ($P<0.05$), and more significantly in the DX20 group than in the DX10 group ($P<0.05$); (4) H-E staining showed that xylitol intervention improved diabetic kidney injury, and the DX20 group was more effective than the DX10 group ($P<0.05$); (5) Western-blot showed that the expression of p-PI3K, p-Akt, p-FoxO1 and the ratio of Bcl-2/Bax decreased, compared with the NC group ($P<0.0001$, $P<0.001$, $P<0.01$, $P<0.001$), and NF- κ B nuclear translocation and ICAM-1 were increased in renal tissue of the DC group ($P<0.0001$, $P<0.01$). Compared with the DC group, the xylitol intervention reversed the changes of the relevant proteins, and it was more significant in the DX20 group than the DX10 group ($P<0.05$). **Conclusion** Xylitol ameliorates renal injury in T2DM mice through activating the PI3K/Akt/FoxO1 signaling pathway and inhibiting NF- κ B signaling pathway.

KEY WORDS: xylitol; type 2 diabetes mellitus; renal injury; PI3K/Akt/FoxO1/NF- κ B signaling pathway; inflammation

(编辑:何佳凤)