

电针调控PI3K/AKT/FoxO1信号通路改善2型糖尿病大鼠肝脏糖异生的机制研究

阚文静¹, 袁爱红^{2,3,4}, 宋蝴蝶¹, 叶敏², 杨骏^{2,3,4}

(¹安徽中医药大学第一临床医学院, 合肥 230000; ²安徽中医药大学第一附属医院, 合肥 230000;

³新安医学教育部重点实验室, 合肥 230000; ⁴经脉脏腑相关安徽省重点实验室, 合肥 230000)

【摘要】目的:探讨电针干预对2型糖尿病(T2DM)模型大鼠肝脏组织磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(AKT)/叉头盒转录因子O1(FoxO1)信号通路及糖异生的调控作用,阐明其改善血糖水平的可能机制。**方法:**选取雄性SD大鼠,采用高脂饲料喂养联合链脲佐菌素腹腔注射建立T2DM模型,随机分为模型组、电针组、电针+LY294002组,每组10只;另取同龄SD大鼠10只作为对照组。电针组针刺“胃脘下俞”“足三里”“内庭”,取“足三里”“内庭”行电针干预,1次/d,15 min/次,6次/周,持续4周;电针+LY294002组在电针治疗基础上腹腔注射PI3K抑制剂LY294002(10 mg/kg),1次/d,干预周期同电针组。采用血糖仪检测大鼠随机血糖;电子天平称量体质量;HE染色观察肝脏组织病理变化;实时荧光定量PCR法检测肝脏PI3K、AKT、FoxO1、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(PEPCK)、葡萄糖-6-磷酸酶(G6Pase)mRNA表达水平;Western blot法检测PI3K、磷酸化(p)-PI3K、AKT、p-AKT、FoxO1、PEPCK、G6Pase蛋白表达水平。**结果:**治疗后,与对照组比较,模型组大鼠随机血糖值显著升高($P<0.01$),体质量明显下降($P<0.01$);肝脏组织损伤严重,肝细胞体积增大,可见大量脂肪空泡;肝脏组织PI3K、AKT mRNA表达水平及p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT蛋白表达比值降低($P<0.01$, $P<0.05$),FoxO1、PEPCK、G6Pase mRNA及蛋白表达水平升高($P<0.01$)。与模型组比较,电针组随机血糖值明显降低($P<0.01$),体质量升高($P<0.01$);肝脏病理损伤改善,肝细胞体积缩小,脂肪变性程度减轻;肝脏组织PI3K、AKT mRNA表达水平及p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT蛋白表达比值显著升高($P<0.01$),FoxO1、PEPCK、G6Pase mRNA及蛋白表达水平降低($P<0.01$)。与电针组比较,电针+LY294002组随机血糖值升高($P<0.01$),体质量降低($P<0.05$);肝脏组织损伤加重;肝脏组织PI3K、AKT mRNA表达水平及p-AKT/AKT蛋白表达比值降低($P<0.01$, $P<0.05$),FoxO1、PEPCK、G6Pase mRNA及蛋白表达水平升高($P<0.01$, $P<0.05$)。**结论:**电针“胃脘下俞”“足三里”“内庭”可显著降低T2DM大鼠血糖水平,提高体质量,改善肝脏损伤,其作用机制可能与激活肝脏PI3K/AKT/FoxO1信号通路,抑制下游糖异生关键酶PEPCK和G6Pase的表达,减少肝糖输出有关。

【关键词】 2型糖尿病;电针;PI3K/AKT/FoxO1信号通路;糖异生;肝糖输出

Mechanism of electroacupuncture regulating PI3K/AKT/FoxO1 signaling pathway to improve hepatic gluconeogenesis in type 2 diabetic rats

Kan Wenjing¹, Yuan Aihong^{2,3,4}, Song Hudie¹, Ye Min², Yang Jun^{2,3,4} (¹First Clinical Medical College, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230000, China; ²First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230000; ³Key Laboratory of Xin'an Medicine, Ministry of Education, Hefei 230000; ⁴Anhui Provincial Key Laboratory of Meridian-Viscera Correlation, Hefei 230000)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the regulatory effects of electroacupuncture (EA) intervention on the

【DOI】10.13702/j.1000-0607.20260219

引用格式: 阚文静, 袁爱红, 宋蝴蝶, 等. 电针调控PI3K/AKT/FoxO1信号通路改善2型糖尿病大鼠肝脏糖异生的机制研究[J]. 针刺研究, 2026, 51(9): 1189-1197.

项目来源: 国家自然科学基金项目(No.82575227); 第五批全国中医临床优秀人才研修项目(No.国中医药人教函[2022]1号); 第九批省“特支计划”卫生创新人才项目(No.皖组办字[2023]35号); 杨骏全国名中医传承工作室项目(No.皖中医药发展秘[2022]19号); 袁爱红安徽省名中医工作室项目(No.皖中医药发展秘[2023]23号); 安徽高校自然科学重大研究项目(No.2024AH040148)

通信作者: 袁爱红, E-mail: yuanah2023@163.com

phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (AKT)/forkhead box transcription factor O1 (FoxO1) signaling pathway and gluconeogenic function in liver tissue of type 2 diabetes mellitus (T2DM) model rats, so as to elucidate the possible mechanisms underlying EA improvement of blood glucose levels. **Methods** Male SD rats were fed with a high-fat diet combined with intraperitoneal injection of streptozotocin to establish T2DM model. The rats were randomly divided into model, EA, and EA + LY294002 groups, with 10 rats in each group; another 10 age-matched SD rats were selected as the control group. Rats in the EA group received EA intervention at “Zusanli” (ST36) and “Neiting” (ST44) as well as acupuncture at “Weiwanshiu” (EX-B3), once daily for 15 min each time, 6 times a week, for 4 consecutive weeks. The EA + LY294002 group received intraperitoneal injection of the PI3K inhibitor LY294002 (10 mg/kg) in addition to the EA treatment once daily, with the same intervention period with the EA group. Random blood glucose was measured using a glucometer; body weight was measured with an electronic balance; HE staining was used to observe pathological changes in liver tissue; real-time quantitative PCR was used to detect the mRNA expression levels of PI3K, AKT, FoxO1, phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK), and glucose-6-phosphatase (G6Pase); Western blot was used to detect the protein expression levels of PI3K, p-PI3K, AKT, p-AKT, FoxO1, PEPCK, and G6Pase. **Results** After treatment, compared with the control group, the model group showed significantly elevated random blood glucose levels ($P < 0.01$), decreased body weight ($P < 0.01$), severe liver tissue damage with enlarged hepatocytes and numerous fatty vacuoles, decreased mRNA expression levels of PI3K and AKT and reduced p-PI3K/PI3K and p-AKT/AKT protein expression ratios ($P < 0.01$, $P < 0.05$), and increased mRNA and protein expression levels of FoxO1, PEPCK, and G6Pase ($P < 0.01$) in liver tissue. Compared with the model group, the EA group showed significantly decreased random blood glucose ($P < 0.01$), increased body weight ($P < 0.01$), improved liver pathological injury with reduced hepatocyte size and attenuated steatosis, significantly increased mRNA expression levels of PI3K and AKT and elevated p-PI3K/PI3K and p-AKT/AKT protein expression ratios ($P < 0.01$), and decreased mRNA and protein expression levels of FoxO1, PEPCK, and G6Pase ($P < 0.01$) in liver tissue. Compared with the EA group, the EA + LY294002 group showed elevated random blood glucose ($P < 0.01$), decreased body weight ($P < 0.05$), aggravated liver tissue injury, decreased mRNA expression levels of PI3K and AKT and reduced p-AKT/AKT protein expression ratio ($P < 0.01$, $P < 0.05$), and increased mRNA and protein expression levels of FoxO1, PEPCK, and G6Pase ($P < 0.01$, $P < 0.05$) in liver tissue. **Conclusion** EA at EX-B3, ST36, and ST44 can significantly reduce blood glucose levels, increase body weight, and improve liver injury in T2DM rats. The underlying mechanism may involve activation of the hepatic PI3K/AKT/FoxO1 signaling pathway, which suppresses the expression of the downstream gluconeogenic key enzymes PEPCK and G6Pase, thereby reducing hepatic glucose output.

[KEYWORDS] Type 2 diabetes mellitus; Electroacupuncture; PI3K/AKT/FoxO1 signaling pathway; Gluconeogenesis; Hepatic glucose output

糖尿病是一种常见的内分泌代谢性疾病,以慢性高血糖为主要特征^[1]。据国际糖尿病联盟统计,2017年全球约有4.63亿糖尿病患者,预测未来30年会增至6.93亿人,糖尿病将成为威胁人类健康的第3大慢性非传染性疾病^[2],其中2型糖尿病(T2DM)占比较高,超过90%^[3]。T2DM是一种由胰岛素抵抗(IR)和/或胰岛素分泌不足导致的,以长期血糖升高为主要表现的代谢性综合征^[4-5]。T2DM发病率较高,可引起多器官损伤和多种并发症,给患者、家庭及社会带来沉重的经济负担^[6-7]。因此,积极控制血糖水平,延缓T2DM进程至关重要。电针疗法将传统针刺与电刺激相结合,加强对特定穴位的刺激,调节气血经络,在防治T2DM及其并发症方面显示出独特优势^[8]。

糖异生是将一些非糖前体(如乳酸、丙三醇、生

糖氨基酸等)转变为葡萄糖的过程,是机体调节糖代谢、维持正常血糖水平的重要方式^[9]。研究^[10-11]表明,T2DM动物模型肝脏糖异生作用异常活跃,是导致内源性葡萄糖生成过度增加的主要原因,故有效抑制肝脏过度糖异生是防治T2DM的关键手段。磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(AKT)/叉头盒转录因子O1(FoxO1)信号通路是重要的胰岛素信号转导通路,可调节肝脏糖异生^[12]。临床研究^[13-14]表明,电针疗法具有确切的降糖疗效,可显著改善T2DM患者的空腹血糖及糖化血红蛋白水平。本团队前期研究显示,电针能够显著降低T2DM模型大鼠血糖水平^[15-17],但其改善血糖的具体机制尚待深入阐明。本实验拟在前期研究基础上,探讨电针通过PI3K/AKT/FoxO1信号通路调节糖异生、治疗T2DM的可能机制,为其临床应用及推广提供

科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

雄性 SPF 级 8 周龄 SD 大鼠 40 只, 体质量 230~250 g, 购自河南省实验动物中心, 生产许可证号: SCXK(豫)2019-0002。饲养条件: 温度(23±1)℃, 湿度(50±5)%, 明暗周期 12 h/12 h。适应性喂养 1 周后, 随机分为对照组、模型组、电针组和电针+LY294002 组, 每组 10 只。实验全程遵循科技部《关于善待实验动物的指导性意见》要求, 并经安徽中医药大学实验动物伦理委员会批准(批准号: AHUCM-rats-2023112)。

1.2 主要试剂与仪器

链脲佐菌素(STZ)、PI3K 抑制剂 LY294002(上海源叶), 异氟烷(深圳瑞沃德), PI3K 抗体、磷酸化(p)-PI3K 抗体(美国 Affinity), AKT 抗体、p-AKT 抗体(美国 CST), FoxO1 抗体、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(PEPCK)抗体(美国 Bioss), 葡萄糖-6-磷酸酶(G6Pase)抗体(英国 Abcam), 山羊抗兔 IgG、山羊抗小鼠 IgG、GAPDH 抗体(北京 Zsbio), 苏木精、伊红、中性树胶封片剂(北京索莱宝), Trizol(美国 Life Technologies), 反转录试剂盒(日本 TaKaRa), 荧光定量 PCR 预混试剂盒(苏州 novoprotein)。

华佗牌一次性使用无菌针灸针(0.20 mm×25 mm)、SDZ-II 型电子针疗仪(苏州医疗用品厂), 血糖仪、血糖试纸(长沙三诺生物), 电子天平(上海菁海), 电泳仪、转膜仪(上海天能), 高速冷冻离心机(安徽嘉文), 自动曝光仪(上海培清), 低速迷你离心机(海门其林贝尔), 荧光定量 PCR 仪(美国赛默飞世尔), 显微镜(日本尼康)。

1.3 造模方法

采用高糖高脂饲料喂养联合 STZ 腹腔注射法制备 T2DM 动物模型: 在适应性饲养 SD 大鼠 1 周后, 改用高糖高脂饲料(配方: 67.25% 普通饲料、20% 蔗糖、10% 猪油、2.5% 胆固醇和 0.25% 猪胆汁盐)继续喂养, 4 周后禁食不禁水 10~12 h, 连续 2 d 腹腔注射溶解在 0.1 mmol/L 枸橼酸缓冲液中的 STZ(25 mg/kg)。72 h 后尾尖静脉采血, 若随机血糖值≥16.7 mmol/L 并维持 5 d 以上则模型复制成功^[18]。对照组全程喂养普通饲料, 与造模大鼠同时点腹腔注射等体积枸橼酸缓冲液。

1.4 干预方法

电针组: 造模成功后, 开始电针干预。选取双

侧“胃脘下俞”“足三里”和“内庭”, 定位参照《实验动物常用穴位名称与定位 第 2 部分: 大鼠》^[19], “胃脘下俞”位于第 8 胸椎下两旁肋间, 背正中线旁开 6 mm。针刺前先予 4% 异氟烷诱导麻醉大鼠, 电针时以 2% 浓度维持麻醉。诱导麻醉后用自制鼠衣捆绑大鼠, 将其俯卧位固定于鼠板上, 针刺部位常规消毒。采用 0.20 mm×25 mm 不锈钢针灸针, “胃脘下俞”朝向大鼠脊柱方向斜刺 3~5 mm, “足三里”直刺 3~5 mm, “内庭”直刺 1~2 mm。仅一侧“足三里”“内庭”的针柄分别接电针仪正、负极(连续波、频率 10 Hz、电流约 1 mA, 以穴位局部肌肉轻微收缩为度), 每日 1 次, 每次刺激 15 min, 每周 6 次, 共干预 4 周。两侧穴位交替进行电针。

电针+LY294002 组: 在电针干预基础上, 腹腔注射溶于二甲基亚砜(DMSO)溶液中的 LY294002 (10 mg/kg)^[20-22], 电针组注射等体积的 1% DMSO 溶液, 每日 1 次, 干预周期同电针组。

对照组和模型组: 仅进行与上述相同的抓取固定及麻醉操作, 注射等体积的 1% DMSO 溶液, 不做其他处理。干预时间及周期同电针组。

干预期间所有大鼠均予以普通饲料喂养, 自由饮水进食。

1.5 观察指标及检测方法

血糖仪检测大鼠随机血糖: 分别于造模前、造模后、治疗后检测大鼠随机血糖。以 4% 异氟烷吸入短暂麻醉大鼠, 以免出现应激血糖。大鼠尾静脉采血后使用血糖仪检测并记录随机血糖水平。

电子天平称量大鼠体质量: 分别于造模前、造模后、治疗后使用电子天平称量各组大鼠的体质量并记录。

取材: 干预结束后, 大鼠禁食不禁水 10~12 h, 使用动物麻醉机对大鼠进行吸入麻醉。每组随机取 3 只大鼠使用 4% 多聚甲醛溶液(200~250 mL)进行心脏灌注, 迅速分离肝脏组织, 放入 4% 多聚甲醛中固定; 其余大鼠麻醉后取新鲜肝脏组织, 放进冻存管后于 -80℃ 冰箱储存, 以便后续实验使用。

HE 染色法观察大鼠肝脏病理形态: 取多聚甲醛中固定的肝脏组织依次梯度乙醇脱水和二甲苯透明, 浸蜡、包埋、切片(厚度为 5 μm), 然后脱蜡、梯度乙醇复水, 再进行苏木精和伊红染色, 显微镜下观察并拍照。

实时荧光定量 PCR 法检测大鼠肝脏 PI3K、AKT、FoxO1、PEPCK、G6Pase mRNA 表达: 随机称取各组 6 只大鼠新鲜肝脏组织 50 mg 左右, 研磨

匀浆, Trizol 法提取总 RNA, 反转录成 cDNA。以 cDNA 为模板进行扩增, 反应条件: 95 ℃ 预变性 1 min(1 个循环); 然后进行 40 个扩增循环: 95 ℃ 变性 20 s, 60 ℃ 退火及延伸 1 min。采用 2^{-ΔΔCt} 法对目的 mRNA 的表达进行分析。引物序列见表 1。

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequences

基因	序列(5'→3')	产物长度/bp
PI3K	上游 CGAAACAAAGCCGAGAACCT	123
	下游 GACGCAATGTTTGA CTTCGC	
AKT	上游 CAGGTTCA CCGAGTGACAAC	143
	下游 CTCCTTCA CCGAGTACACCT	
FoxO1	上游 AGCAAATCAAGTTATGGAGGAT	184
	下游 CTGGCATGACTGAGTTAGGG	
PEPCK	上游 GCAAACCAGCAAGCACAA	164
	下游 CGAAGTGGAACCAAACCC	
G6Pase	上游 CGTGTAATGAGTAGCCAGTT	200
	下游 CAGGGAAGCAGTGATGAG	
β-actin	上游 CCCATCTATGAGGGTTACGC	150
	下游 TTTAATGTCACGCACGATTTC	

注: PI3K 为磷脂酰肌醇 3-激酶, AKT 为蛋白激酶 B, FoxO1 为叉头盒转录因子 O1, PEPCK 为磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶, G6Pase 为葡萄糖-6-磷酸酶。

Western blot 法检测大鼠肝脏组织 PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT、FoxO1、PEPCK、G6Pase 蛋白表达: 随机选取每组 3 只大鼠冻存肝脏组织约 100 mg 研磨, 经 RIPA 裂解液处理, 离心后收集上清液, 采用 BCA 法检测蛋白浓度。经 SDS-PAGE 分离后转移至 PVDF 膜上, 后 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h, 加入一抗 (PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT、FoxO1、PEPCK、G6Pase 用 PBST 按 1:1 000 稀释, GAPDH 为 1:5 000) 孵育过夜, 次日漂洗后加入二抗孵育 (1:20 000 稀释)。洗去二抗后进行显影, Image J 软件分析条带灰度值。以目的蛋白条带灰度值与内参蛋白条带灰度值的比值作为目的蛋白的相对表达量。

1.6 统计学方法

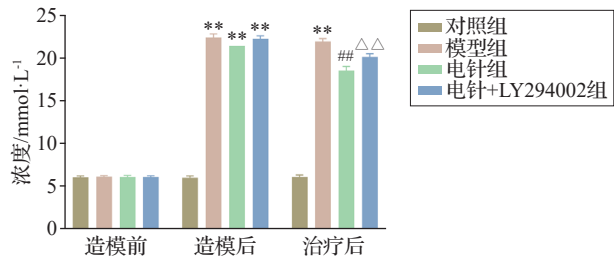
使用软件 SPSS26.0 进行统计学处理, 用 GraphPad Prism 9.0 绘制图片。计量资料符合正态分布的用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 检验(方差齐时)或 Dunnett's *t*3 检验(方差不齐时)。以 $P \leq 0.05$

为差异有统计学意义的标准。

2 结果

2.1 各组大鼠随机血糖水平比较

造模前, 各组大鼠随机血糖水平比较, 差异无统计学意义。造模后, 与对照组比较, 模型组、电针组、电针+LY294002 组随机血糖值显著升高($P < 0.01$)。治疗后, 与模型组比较, 电针组随机血糖值明显降低($P < 0.01$); 与电针组比较, 电针+LY294002 组随机血糖升高($P < 0.01$)。见图 1。



注: 与同时时间点对照组比较, ** $P < 0.01$; 与同时时间点模型组比较, ## $P < 0.01$; 与同时时间点电针组比较, $\Delta P < 0.01$ 。

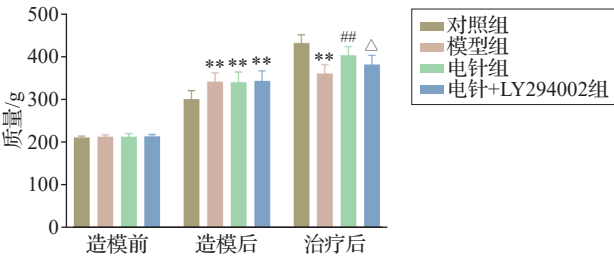
图 1 各组大鼠不同时间点随机血糖比较($\bar{x} \pm s$, 10 只鼠/组)
Fig. 1 Comparison of random blood glucose levels of rats in the 4 groups at different time points ($\bar{x} \pm s$, 10 rats/group)

2.2 各组大鼠体质量比较

造模前, 各组大鼠体质量比较, 差异无统计学意义。造模后, 与对照组比较, 模型组、电针组、电针+LY294002 组大鼠体质量显著升高($P < 0.01$)。治疗后, 与模型组比较, 电针组大鼠体质量升高($P < 0.01$); 与电针组比较, 电针+LY294002 组大鼠体质量降低($P < 0.05$)。见图 2。

2.3 各组大鼠肝脏组织形态比较

光镜下可见对照组大鼠肝脏组织结构完整, 细

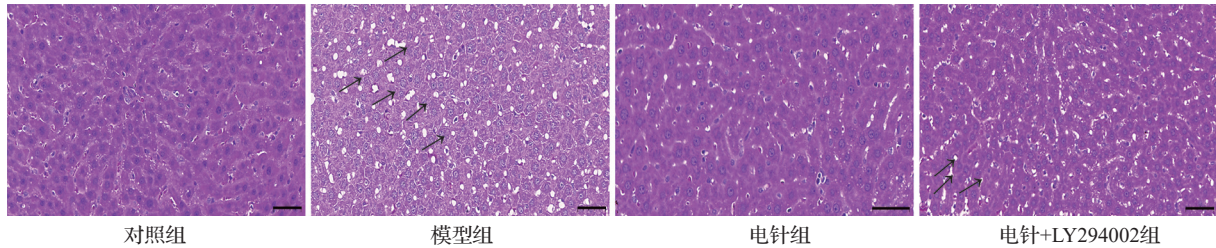


注: 与同时时间点对照组比较, ** $P < 0.01$; 与同时时间点模型组比较, ## $P < 0.01$; 与同时时间点电针组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

图 2 各组大鼠不同时间点体质量比较($\bar{x} \pm s$, 10 只鼠/组)
Fig. 2 Comparison of body weight of rats in the 4 groups at different time points ($\bar{x} \pm s$, 10 rats/group)

胞排列规整,细胞核大小形态正常;模型组肝细胞排列紊乱,细胞体积明显增大,细胞质内大量脂肪堆积而形成空泡;与模型组比较,电针组大鼠的肝脏损害显著改善,脂肪变性程度明显降低,脂滴大

小、数量均减少;与电针组比较,电针+LY294002组病理表现为一定程度的损伤,肝细胞体积增大,细胞形态及肝脏结构紊乱。见图3。



注:黑色箭头示肝细胞内脂肪空泡(或脂滴)。标尺=50 μm。

图3 各组大鼠肝脏组织形态比较(HE染色)

Fig. 3 Comparison of liver tissue morphology of rats in the 4 groups (HE staining)

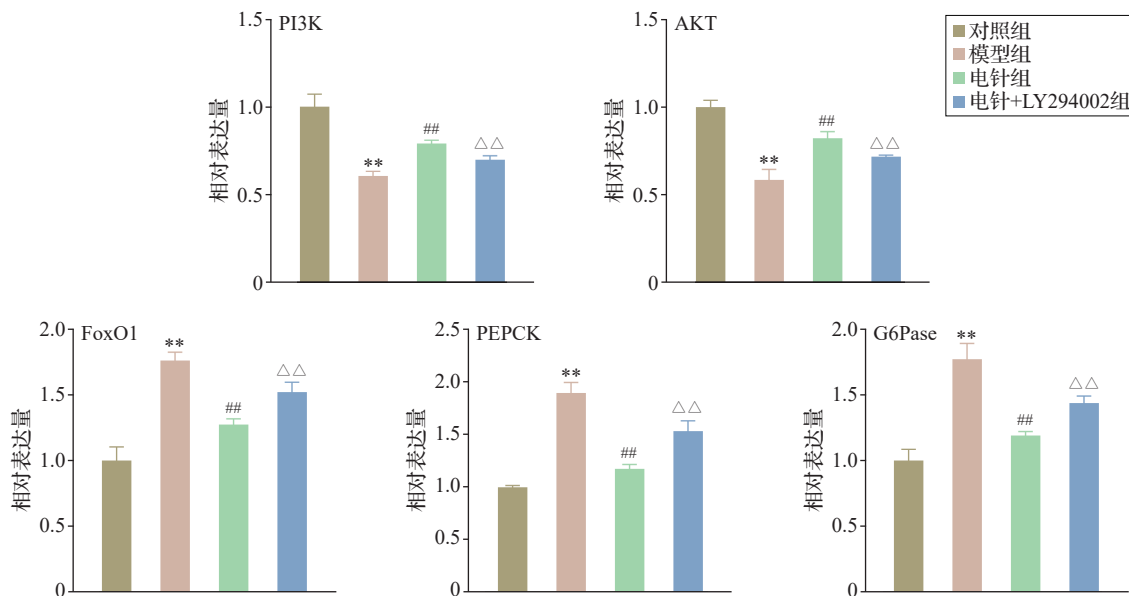
2.4 各组大鼠肝脏PI3K/AKT/FoxO1信号通路、糖异生相关基因表达水平比较

与对照组比较,模型组大鼠肝脏组织中PI3K、AKT mRNA表达水平显著降低($P<0.01$),FoxO1、PEPCK、G6Pase mRNA的表达水平显著升高($P<0.01$);与模型组比较,电针组肝脏PI3K、AKT mRNA表达水平显著升高($P<0.01$),FoxO1、PEPCK、G6Pase mRNA表达水平显著降低($P<0.01$);与电针组比较,电针+LY294002组肝脏PI3K、AKT mRNA表达水平显著降低($P<0.01$),

FoxO1、PEPCK、G6Pase mRNA表达水平显著升高($P<0.01$)。见图4。

2.5 各组大鼠肝脏PI3K/AKT/FoxO1信号通路、糖异生相关蛋白表达水平比较

与对照组比较,模型组大鼠肝脏组织中p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT的蛋白表达比值降低($P<0.05$, $P<0.01$),FoxO1、PEPCK、G6Pase的蛋白表达显著升高($P<0.01$);与模型组比较,电针组肝脏p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT的蛋白表达比值升高($P<0.01$),FoxO1、PEPCK、G6Pase的蛋白表



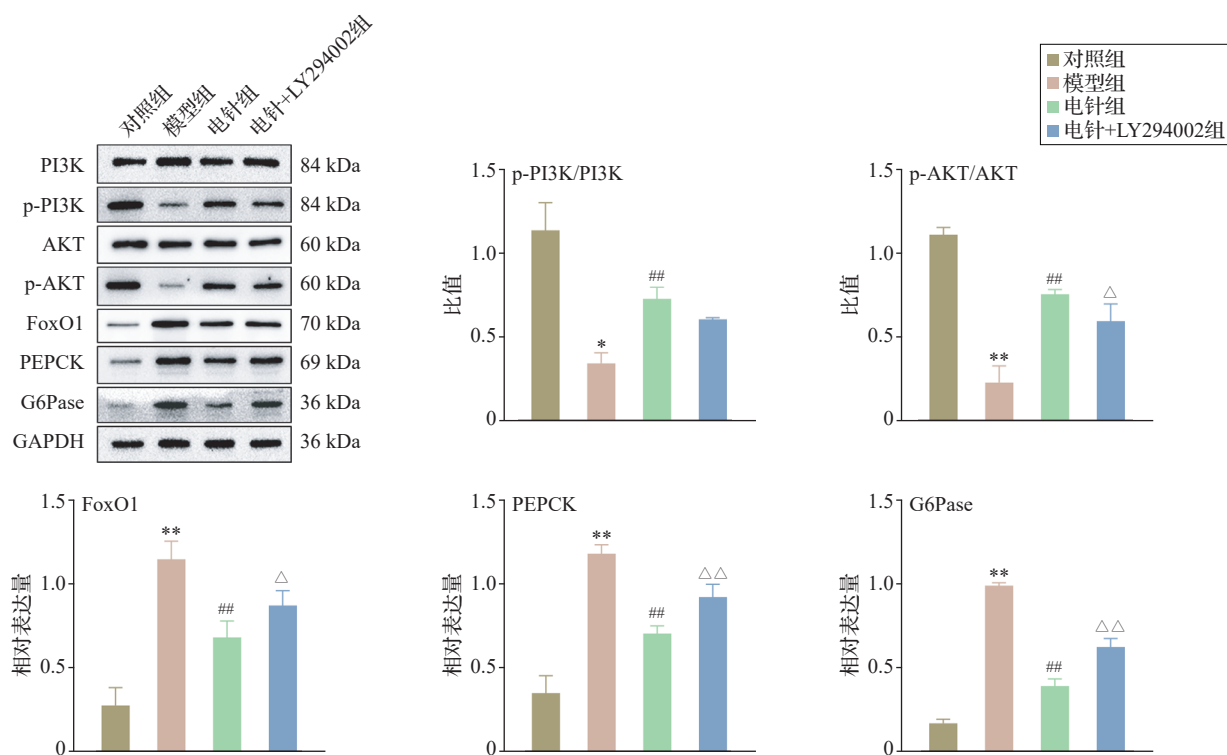
注:PI3K为磷脂酰肌醇3-激酶,AKT为蛋白激酶B,FoxO1为叉头盒转录因子O1,PEPCK为磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶,G6Pase为葡萄糖-6-磷酸酶。与对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$;与电针组比较,△△ $P<0.01$ 。

图4 各组大鼠肝脏组织PI3K、AKT、FoxO1、PEPCK、G6Pase mRNA表达水平比较($\bar{x}\pm s$,6只鼠/组)

Fig. 4 Comparison of PI3K, AKT, FoxO1, PEPCK and G6Pase mRNA expressions in liver tissue of rats in the 4 groups ($\bar{x}\pm s$, 6 rats/group)

达显著降低($P<0.01$);与电针组比较,电针+LY294002组肝脏p-AKT/AKT的蛋白表达比值降

低($P<0.05$),FoxO1、PEPCK、G6Pase的蛋白表达升高($P<0.05$, $P<0.01$)。见图5。



注:PI3K为磷脂酰肌醇3-激酶,p-PI3K为磷酸化磷脂酰肌醇3-激酶,AKT为蛋白激酶B,p-AKT为磷酸化蛋白激酶B,FoxO1为叉头盒转录因子O1,PEPCK为磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶,G6Pase为葡萄糖-6-磷酸酶。与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$;与电针组比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$ 。

图5 各组大鼠肝脏组织PI3K、AKT、FoxO1、PEPCK、G6Pase蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s$,3只鼠/组)

Fig. 5 Comparison of PI3K, AKT, FoxO1, PEPCK and G6Pase protein expression levels in liver tissue of rats in the 4 groups ($\bar{x}\pm s$, 3 rats/group)

3 讨论

T2DM属中医学“消渴”“消瘴”范畴,其核心病机为脾胃蕴热、气阴两虚。《灵枢·五变》言:“五脏皆柔弱者,善病消瘴”,提示消渴与多脏腑功能失调相关,其中脾胃和胰(胰为散膏,附属于脾)为关键病位。《素问·奇病论》云“此肥美之所发也,此人必数食甘美而多肥也,肥者令人内热,甘者令人中满,故其气上溢,转为消渴”,表明饮食不节、脾胃损伤是消渴发病的重要诱因。饮食不节、过食肥甘厚味,易致脾胃运化失常,积热内蕴,耗伤气阴;气阴两虚则无力濡养胰腺,导致胰失泌别清浊之能,精微物质输布失常,终致血糖紊乱。故针灸治疗T2DM当立其根本,以清泻胃热、益气养阴为准则。足三里为足阳明胃经合穴,“合治内腑”,既能清泻脾胃积热,又能补充气阴之虚,恢复脾胃运化枢纽功能;内庭为足阳明胃经荥穴,“荥主身热”,是清泻

阳明经实热、胃腑积热的特效穴,针对脾胃蕴热的核心病机,可直折热势,减少热邪对气阴的耗伤;胃脘下俞(别称:胰俞)为经外奇穴,是胰腺经气输注于背部的特定穴位,直接对应病位,可调节胰腺功能,促进精微输布,为调控血糖代谢的靶向穴位。3穴配伍,构成了一个立体的治疗网络:足三里健运中州以固其本,内庭清泻蕴热以治其标,胃脘下俞直达病所而调其用,共奏清泻胃热、益气养阴、调胰降糖之功。

T2DM是以IR和血糖稳态失衡为主要特征的一种最常见的糖尿病类型^[23]。肝脏作为机体血糖代谢的主要器官,其糖异生功能的稳态调控是维持血糖平衡的关键环节^[24]。电针疗法治疗T2DM疗效确切,可显著降低血糖水平,改善肝脏病理损伤,但具体作用机制尚不明确,可能与调控肝脏糖异生有关^[25]。糖异生是机体在空腹或饥饿状态下维持血糖

稳定的重要生理过程,受PEPCK、G6Pase等关键限速酶的严格调控^[26]。生理状态下,空腹时机体血糖值降低,糖异生途径激活,补充血糖以维持脑等重要器官的能量供应;进食后血糖升高,胰岛素分泌增加,糖异生途径被抑制,避免血糖过高。而在T2DM病理状态下,由于IR的存在,对肝脏糖异生的抑制作用显著减弱,同时胰高血糖素等升糖激素分泌相对增多,导致肝脏糖异生途径过度激活而出现血糖过高现象,还会加剧IR,形成“高血糖-IR”的恶性循环,进一步加重糖代谢紊乱。本研究结果显示,模型组大鼠肝脏中PEPCK、G6Pase的mRNA及蛋白表达水平均显著升高,与随机血糖水平升高相一致,证实了T2DM大鼠存在肝脏糖异生过度激活的病理状态。而电针干预后,这两种关键酶的表达显著下调,伴随血糖指标的改善,证明了抑制异常活跃的肝脏糖异生可能是电针发挥降糖作用的有效途径之一。

PI3K/AKT/FoxO1信号通路是介导胰岛素信号转导的经典通路之一,亦是调控肝脏糖异生的核心分子通路,其信号转导的正常与否直接决定了肝脏糖异生功能的稳态^[27]。PI3K是胰岛素信号转导的起始关键分子之一,在IR、细胞分化凋亡等过程中发挥重要作用。胰岛素与其受体结合后可激活PI3K,催化生成磷脂酰肌醇三磷酸(PIP3),作为第二信使在细胞膜上募集下游信号蛋白^[28]。AKT是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,也是PI3K下游的核心效应分子^[29]。PIP3可将AKT募集至细胞膜,促进其关键位点Thr308和Ser473的磷酸化而完全激活。活化后的AKT可通过磷酸化多种下游底物分子,参与代谢调节、细胞增殖分化等多种生理、病理过程。PI3K/AKT在肝脏糖异生中的核心作用即介导对转录因子FoxO1的磷酸化调控^[30]:活化的AKT直接磷酸化FoxO1的Thr24、Ser256和Ser319位点,磷酸化后的FoxO1与细胞质中的14-3-3蛋白结合,被滞留于细胞质中并加速泛素化降解,从而丧失对PEPCK、G6Pase等糖异生关键酶基因启动子的转录激活能力,最终抑制肝脏糖异生。反之,当PI3K/AKT信号转导受损时,FoxO1去磷酸化后重新入核,大量激活PEPCK和G6Pase的转录,驱动糖异生^[31-32]。为明确PI3K/AKT通路在电针治疗T2DM作用中的关键地位,本研究在电针干预基础上联合使用PI3K特异性抑制剂LY294002。LY294002是一种经典的PI3K竞争性抑制剂,可与PI3K的ATP结合位点结合,阻断PI3K的催化活

性,从而阻止PIP3的生成及下游AKT的磷酸化激活,已被广泛用于PI3K/AKT通路功能验证研究^[20-22]。本研究结果显示,模型组大鼠肝脏组织中PI3K/AKT磷酸化水平明显下调,同时FoxO1蛋白表达显著升高,表明糖尿病状态下肝脏存在明显的胰岛素信号转导障碍及FoxO1转录活性亢进。电针组大鼠肝脏组织中PI3K/AKT磷酸化水平明显升高,FoxO1蛋白表达显著降低,同时PEPCK、G6Pase的表达也随之下调,表明电针可能通过激活PI3K/AKT/FoxO1信号通路,进而抑制糖异生关键酶的转录与表达,实现对肝脏糖异生的抑制而改善T2DM大鼠的高血糖状态。而电针与PI3K抑制剂联合使用后,电针的作用被显著削弱,AKT的磷酸化水平明显降低,FoxO1、PEPCK、G6Pase的表达上调,明确了PI3K/AKT的激活位于电针作用机制的上游和核心位置,PI3K/AKT/FoxO1是电针抑制肝脏过度糖异生中至关重要的分子通路。

已有研究表明,针刺可通过调控PI3K/AKT/FoxO1通路抑制肝脏糖异生。刘霄潇等^[33]研究显示,电针“三阴交”“足三里”干预糖尿病肥胖大鼠,可激活骨骼肌PI3K/AKT/葡萄糖转运蛋白4(GLUT4)通路,显著改善糖脂代谢紊乱,减轻骨骼肌脂质异位堆积及炎症反应;董滢等^[34]报道,电针“足三里”“三阴交”“胃脘下俞”“脾俞”可显著降低Zucker糖尿病肥胖大鼠空腹血糖和胰岛素抵抗指数,上调肝脏AKT蛋白表达,下调FoxO1及PEPCK蛋白表达,提示电针改善肝脏胰岛素抵抗可能与调控AKT/FoxO1信号通路有关,该研究在动物品系(Zucker糖尿病肥胖大鼠)和效应验证(胰岛素抵抗指数)方面为本研究提供了有力佐证,但该研究未采用PI3K抑制剂进行反向验证,亦未检测G6Pase这一糖异生另一关键限速酶的表达。与上述研究相比,本研究的创新性体现在以下几个方面:其一,胃脘下俞为经外奇穴,是胰腺经气输注于背部的特定穴位,直接对应T2DM核心病位;足三里为足阳明胃经合穴,健运中州以固其本;内庭为足阳明胃经荥穴,清泻阳明蕴热以治其标。三穴配伍体现了“固本-清源-调枢”三位一体的治疗思路。其二,本研究首次从“肝脏PI3K/AKT/FoxO1信号通路→下游糖异生关键酶PEPCK/G6Pase→肝糖输出”这一完整的分子级联角度,揭示了电针改善T2DM高血糖状态的机制,而同类研究多聚焦于通路上游(PI3K/AKT磷酸化)或下游单一酶(PEPCK),对G6Pase的系统检测和通路完整性论

述尚不够充分。此外,本研究引入PI3K特异性抑制剂LY294002进行拮抗实验,从正反两个方向验证了PI3K/AKT/FoxO1通路在电针抑制肝脏糖异生中的作用,为电针治疗T2DM的分子机制提供了进一步的实验依据。

综上所述,电针可有效改善T2DM大鼠的高血糖状态和肝脏病理损伤,其机制可能与调控肝脏PI3K/AKT/FoxO1信号通路,进而抑制PEPCK、G6Pase等关键酶的表达,减少肝脏糖异生有关。然而,本研究仅在mRNA和蛋白表达层面证实了电针可激活PI3K/AKT/FoxO1通路并抑制糖异生关键酶的表达,未能进一步验证FoxO1的核转位状态变化(如免疫荧光共定位检测),也未采用基因敲除或过表达等手段来确证该通路的必要性。其次,电针刺激如何通过神经-内分泌网络将信号传递至肝脏,并精确启动PI3K/AKT/FoxO1级联反应的具体上游分子机制与关键作用靶点,仍有待阐明。未来需进一步开展更多的相关机制研究及临床转化研究,以完善电针治疗T2DM的理论体系并推动其临床应用。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] 宋硕宁, 赵维纲. 《2025 ADA糖尿病指南》解读[J]. 协和医学杂志, 2025, 16(6): 1465-1473.
Song S N, Zhao W G. Interpretation of the 2025 American diabetes association standards of care in diabetes (in Chinese) [J]. Medical Journal of Peking Union Medical College Hospital, 2025, 16(6): 1465-1473.
- [2] Cho N H, Shaw J E, Karuranga S, et al. IDF diabetes atlas: global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2018, 138: 271-281.
- [3] Zheng Y, Ley S H, Hu F B. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications [J]. Nat Rev Endocrinol, 2018, 14(2): 88-98.
- [4] American Diabetes Association. 2. classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes-2021 [J]. Diabetes Care, 2021, 44(Supplement_1): S15-S33.
- [5] Galicia-Garcia U, Benito-Vicente A, Jebbari S, et al. Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus[J]. IJMS, 2020, 21(17): 6275.
- [6] Harding J L, Pavkov M E, Magliano D J, et al. Global trends in diabetes complications: a review of current evidence [J]. Diabetologia, 2019, 62(1): 3-16.
- [7] Chapman D, Foxcroft R, Dale-Harris L, et al. Insights for care: the healthcare utilisation and cost impact of managing type 2 diabetes-associated microvascular complications [J]. Diabetes Ther, 2019, 10(2): 575-585.
- [8] Pan T, Li X F, Guo X L, et al. Electroacupuncture improves insulin resistance in type 2 diabetes mice by regulating intestinal flora and bile acid[J]. Diabetes Metab Syndr Obes, 2023, 16: 4025-4042.
- [9] 韩锦铂, 王一国. 肝脏糖异生的调控[J]. 中国细胞生物学学报, 2019, 41(7): 1213-1224.
Han J B, Wang Y G. Regulation of hepatic gluconeogenesis (in Chinese) [J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2019, 41(7): 1213-1224.
- [10] 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.
- [11] 林心君, 胡海霞, 何昱霖, 等. 石斛合剂基于PKB/FoxO1通路抑制糖尿病大鼠肝糖异生的机制研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2021, 41(8): 1166-1171.
Lin X J, Hu H X, He Y L, et al. Study on the mechanism of *Dendrobium* mixture in inhibiting hepatic gluconeogenesis in diabetic rats based on PKB/FoxO1 pathway (in Chinese) [J]. Journal of Traditional Chinese Medicine University of Hunan, 2021, 41(8): 1166-1171.
- [12] Petersen M C, Vatner D F, Shulman G I. Regulation of hepatic glucose metabolism in health and disease[J]. Nat Rev Endocrinol, 2017, 13(10): 572-587.
- [13] Han Y R, Lu Z Y, Chen S T, et al. Effect of electroacupuncture on glucose and lipid metabolism in type 2 diabetes: a protocol for systematic review and meta-analysis [J]. Medicine, 2021, 100(49): e27762.
- [14] Zhu Z Y, Yu H, Chen S, et al. Acupuncture therapy for type 2 diabetes mellitus: a systematic review and network meta-analysis[J]. Res Nurs Heal, 2026, 49(2): 180-192.
- [15] 袁爱红, 查必祥, 吴吉萍, 等. 针刺对糖尿病大鼠胰腺内质网应激PERK-CHOP途径与Bax/Bcl-2基因表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(3): 1291-1294.
Yuan A H, Zha B X, Wu J P, et al. Effects of acupuncture on pancreatic ERS PERK-CHOP pathway and Bax/Bcl-2 mRNA expressions in diabetic rats (in Chinese) [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2017, 32(3): 1291-1294.
- [16] 石菲菲, 查必祥, 袁爱红, 等. 电针对STZ-DM大鼠胰腺组织CHOP、PERK、ATF6、IREmRNA表达和蛋白含量的影响[J]. 中医药临床杂志, 2019, 31(1): 111-114.
Shi F F, Zha B X, Yuan A H, et al. Effect of electroacupuncture on STZ-DM rat pancreas tissue CHOP, PERK, ATF6, IREmRNA and protein level (in Chinese) [J]. Clinical Journal of Traditional Chinese Medicine, 2019, 31(1): 111-114.
- [17] 邵俊, 查必祥, 袁爱红, 等. 电针对糖尿病大鼠胰腺组织CHOP、Bax、Bcl-2蛋白表达及胰腺超微结构的影响[J]. 安徽中医药大学学报, 2015, 34(6): 50-54.
Shao J, Zha B X, Yuan A H, et al. Effects of electroacupuncture on protein expression of CHOP, Bax, and

- Bcl-2 in pancreatic tissue and ultrastructure of pancreas in diabetic rats (in Chinese) [J]. Journal of Anhui University of Chinese Medicine, 2015, 34(6): 50-54.
- [18] Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, et al. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening [J]. Pharmacol Res, 2005, 52(4): 313-320.
- [19] 中国针灸学会. 实验动物常用穴位名称与定位 第2部分:大鼠 [J]. 针刺研究, 2021, 46(4): 351-352.
- China Association of Acupuncture-Moxibustion. Nomenclature and location of acupoints commonly used in laboratory animals. Part 2: rat (in Chinese) [J]. Acupuncture Research, 2021, 46(4): 351-352.
- [20] Tao J H, Cui Y H, Duan Y, et al. Puerarin attenuates locomotor and cognitive deficits as well as hippocampal neuronal injury through the PI3K/Akt1/GSK-3 β signaling pathway in an in vivo model of cerebral ischemia [J]. Oncotarget, 2017, 8(63): 106283-106295.
- [21] Zhang Z H, Du S, Chen X Z, et al. Ganglioside GM1 alleviates propofol-induced pyroptosis in the hippocampus of developing rats via the PI3K/AKT/NF- κ B signaling cascade [J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(23): 12662.
- [22] Xu J L, Li C Y, Fan R P, et al. BMAL1 ameliorates type 2 diabetes-induced cognitive impairment via AREG upregulation and PI3K/Akt/GSK-3 β pathway activation [J]. Cell Commun Signal, 2025, 23(1): 7.
- [23] Chen Y B, Jiang Q, Xing X W, et al. Clinical research progress on β -cell dysfunction in T2DM development in the Chinese population [J]. Rev Endocr Metab Disord, 2025, 26(1): 31-53.
- [24] Han H S, Kang G, Kim J S, et al. Regulation of glucose metabolism from a liver-centric perspective [J]. Exp Mol Med, 2016, 48(3): e218.
- [25] Duan H R, Song S S, Li R, et al. Strategy for treating MAFLD: Electroacupuncture alleviates hepatic steatosis and fibrosis by enhancing AMPK mediated glycolipid metabolism and autophagy in T2DM rats [J]. Diabetol Metab Syndr, 2024, 16(1): 218.
- [26] Bian X L, Jiang H F, Meng Y, et al. Regulation of gene expression by glycolytic and gluconeogenic enzymes [J]. Trends Cell Biol, 2022, 32(9): 786-799.
- [27] Hatting M, Tavares C D J, Sharabi K, et al. Insulin regulation of gluconeogenesis [J]. Ann N Y Acad Sci, 2018, 1411(1): 21-35.
- [28] Shepherd P R, Withers D J, Siddle K. Phosphoinositide 3-kinase: the key switch mechanism in insulin signalling [J]. Biochem J, 1998, 333(Pt 3): 471-490.
- [29] 迟毓婧, 李晶, 管又飞, 等. PI3K-Akt 信号传导通路对糖代谢的调控作用 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2010, 26(10): 879-885.
- Chi Y J, Li J, Guan Y F, et al. PI3K/Akt signaling axis in regulation of glucose homeostasis (in Chinese) [J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2010, 26(10): 879-885.
- [30] Liu Q, Zhang F G, Zhang W S, et al. Ginsenoside Rg1 inhibits glucagon-induced hepatic gluconeogenesis through Akt-FoxO1 interaction [J]. Theranostics, 2017, 7(16): 4001-4012.
- [31] Goedeke L, Perry R J, Shulman G I. Emerging pharmacological targets for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease, insulin resistance, and type 2 diabetes [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2019, 59: 65-87.
- [32] 祝红梅, 陈秋. 核转录因子 FoxO1 在肝糖脂代谢中的作用 [J]. 实用医学杂志, 2010, 26(24): 4609-4611.
- Zhu H M, Chen Q. The role of FoxO1 in hepatic glucose and lipid metabolism (in Chinese) [J]. The Journal of Practical Medicine, 2010, 26(24): 4609-4611.
- [33] 刘霄潇, 孙健, 张海华, 等. 电针通过 PI3K/Akt/GLUT4 通路改善糖尿病肥胖大鼠糖脂代谢紊乱 [J]. 针刺研究, 2025, 50(9): 1005-1012.
- Liu X X, Sun J, Zhang H H, et al. Electroacupuncture improves glucose and lipid metabolism disorders in diabetic obese rats via PI3K/Akt/GLUT4 pathway (in Chinese) [J]. Acupuncture Research, 2025, 50(9): 1005-1012.
- [34] 董滢, 李瑞, 郭卫星, 等. 电针对糖尿病肥胖大鼠肝脏 Akt/FoxO1 信号通路的影响 [J]. 中国针灸, 2023, 43(6): 679-683, 708.
- Dong Y, Li R, Guo W X, et al. Effect of electroacupuncture on liver Akt/FoxO1 signaling pathway in rats with diabetic fatty (in Chinese) [J]. Chinese Acupuncture & Moxibustion, 2023, 43(6): 679-683, 708.

收稿日期:2026-02-25 修回日期:2026-05-19

网络首发:2026-07-14

编辑:李天娇