

分类号：  
学号：20222114174

密级：公开  
单位代码：10759

# 石河子大学 硕士学位论文



## 基于 FXR/TGR5 信号通路探讨蓝莓提取物对 肥胖状态下肝脏胰岛素抵抗的作用研究

学位申请人	邓璐
指导教师	马儒林 副教授 陈瑜 副主任医师
申请学位类别	专业硕士
专业名称	公共卫生
研究领域	营养与食品卫生学
所在学院	医学院

中国·新疆·石河子  
2025年5月

分类号：  
学号：20222114174

密级：公开  
单位代码：10759

# 石河子大学

## 硕士学位论文



### 基于 FXR/TGR5 信号通路探讨蓝莓提取物对 肥胖状态下肝脏胰岛素抵抗的作用研究

学位申请人	邓璐
指导教师	马儒林 副教授 陈瑜 副主任医师
申请学位类别	专业硕士
专业名称	公共卫生
研究领域	营养与食品卫生学
所在学院	医学院

中国·新疆·石河子  
2025年5月

**Exploring the effects of blueberry extract on hepatic insulin resistance  
in obese state based on the FXR/TGR5 signaling pathway**

A Dissertation Submitted to

**Shihezi University**

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

**Master of Public Health**

By

**Deng Lu**

**Nutrition and Food Hygiene**

Dissertation Supervisor: A Pro. Ma Rulin

A Chief physician. Chen Yu

May 2025

# 石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

## 学位论文独创性声明

本人所提交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：邓璐

时间：2025年5月21日

## 使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：邓璐

时间：2025年5月21日

导师签名：

马德林

时间：2025年5月21日

## 摘要

目的：本研究通过体内、外实验明确蓝莓提取物（Blueberry Extract, BE）对肥胖状态下肝脏胰岛素抵抗的作用并探讨 BE 对胆汁酸 FXR/TGR5 信号通路和胰岛素 IRS1/PI3K/AKT/GSK-3 $\beta$  信号通路的调控作用，为预防胰岛素抵抗（Insulin Resistance, IR）提供理论依据。

方法：体内实验：通过高脂饮食喂养构建肥胖小鼠 IR 模型。将 36 只成年雄性 C57BL-6J 小鼠随机分为六组：正常饮食组、正常饮食+BE 高剂量组、高脂饮食组、高脂饮食+BE 干预组（300、200、100 mg/kg），每组 6 只，持续灌胃 16 周。实验过程中监测体重与空腹血糖变化趋势，16 周末进行口服葡萄糖耐量试验。实验结束，摘眼球采血并获取脏器组织。对肝脏组织进行 HE、油红 O 和 PAS 染色。检测小鼠血清中的空腹血糖、空腹胰岛素、糖化血清蛋白、总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇和总胆汁酸水平。通过稳态模型评估法计算胰岛素抵抗指数。通过 Western Blot 法检测肝脏中 FXR、TGR5、IRS1、p-PI3K、p-AKT、GSK-3 $\beta$  的表达水平。

体外实验：棕榈酸诱导 BRL-3A 细胞构建 IR 模型。细胞分组为：对照组、棕榈酸组、棕榈酸+BE 干预组（160、80、40  $\mu$ g/mL）。CCK8 法检测细胞存活率。酶联免疫吸附实验检测细胞葡萄糖摄取量、糖原、总胆固醇、甘油三酯含量。Western Blot 法检测细胞中 FXR、TGR5、IRS1、p-PI3K、p-AKT、GSK-3 $\beta$  的表达水平。

结果：（1）体重和脏器系数：与正常饮食组相比，高脂饮食组小鼠的体重和脏器系数增加（ $P<0.05$ ）。与高脂饮食组相比，经 BE 干预的 IR 小鼠体重和脏器系数降低（ $P<0.05$ ）。

（2）脂代谢相关指标：体内实验结果显示，与正常饮食组相比，高脂饮食组小鼠的总胆固醇、甘油三酯、高、低密度脂蛋白胆固醇升高（ $P<0.05$ ）；与高脂饮食组相比，经 BE 干预的 IR 小鼠血脂水平降低（ $P<0.05$ ）。体外实验结果显示，BE 降低了 IR 细胞总胆固醇和甘油三酯含量（ $P<0.05$ ）。

（3）糖代谢相关指标：体内实验结果显示，与正常饮食组相比，高脂饮食组小鼠的空腹血糖、空腹胰岛素、糖化血清蛋白、胰岛素抵抗指数、总胆汁酸和葡萄糖耐量曲线下面积升高（ $P<0.05$ ）；与高脂饮食组相比，经 BE 干预的 IR 小鼠空腹血糖、空腹胰岛素、糖化血清蛋白、胰岛素抵抗指数、总胆汁酸和葡萄糖耐量曲线下面积降低（ $P<0.05$ ）。体外实验结果显示，BE 升高了 IR 细胞的葡萄糖摄取量和糖原含量（ $P<0.05$ ）。体内外实验结果均显示，经 BE 干预后，胆汁酸 FXR/TGR5 信号通路和胰岛素 IRS1/PI3K/AKT/GSK-3 $\beta$  信号通路的表达水平升高（ $P<0.05$ ）。

结论：（1）BE 可以改善 IR 小鼠的体重、脏器系数及血脂水平，减轻肝脏病理改变和脂肪蓄积。

（2）BE 可以促进细胞葡萄糖摄取和肝脏糖原合成，降低 IR 小鼠的血糖与总胆汁酸水平。

（3）BE 可以改善肥胖状态下的肝脏胰岛素抵抗，且这一作用可能与调控胆汁酸信号通路和胰岛素信号通路有关。

**关键词：**蓝莓提取物；胰岛素抵抗；FXR/TGR5 信号通路；IRS1/PI3K/AKT/GSK-3 $\beta$  信号通路

## Abstract

**Objective:** In this study, we clarified the effects of blueberry extract (BE) on hepatic insulin resistance in obese state and explored the regulatory effects of BE on bile acid FXR/TGR5 signaling pathway and insulin IRS1/PI3K/AKT/GSK-3 $\beta$  signaling pathway through in vivo and ex vivo experiments to provide a theoretical basis for preventing insulin resistance (Insulin Resistance, IR).

**Methods:** In vivo experiments: Construction of an insulin resistance model in obese mice by feeding a high-fat diet. 36 adult male C57BL-6J mice were randomly divided into six groups: normal diet group, normal diet + BE high-dose group, high-fat diet group, and high-fat diet + BE intervention group (300, 200, and 100 mg/kg), with 6 mice in each group, and continued gavage for 16 weeks. During the experiment, the body weight and fasting blood glucose trends were monitored, an oral glucose tolerance test was performed at the end of 16 weeks. Upon the conclusion of the experiment, the eyeballs were removed to obtain blood and organ tissues were obtained. HE, oil red O and PAS staining were performed on the liver tissues. Fasting blood glucose, fasting insulin, glycated serum proteins, total cholesterol, triglyceride, high-density lipoprotein cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol, and total bile acids levels were detected in the serum of the mice. Insulin resistance index was calculated by homeostasis model assessment method. The expression levels of FXR, TGR5, IRS1, p-PI3K, p-AKT, and GSK3 $\beta$  were detected in liver by Western Blot.

In vitro experiments: palmitic acid induced BRL-3A cells were constructed as an insulin resistance (IR) model. The cells were divided into five groups: control group, palmitic acid model group, BE intervention group (160, 80, 40  $\mu$ g/mL). cell viability was detected by CCK8 assay. Cell basal glucose uptake, glycogen, TC and TG contents were detected by ELISA. The expression levels of FXR, TGR5, IRS1, p-PI3K, p-AKT, GSK3 $\beta$  in cells were detected by Western Blot.

**Results:** (1) Body weight and organ index: the body weight and organ index of mice in the high-fat diet group increased compared with the normal diet group ( $P < 0.05$ ). Compared with the high-fat diet group, the body weight and organ index of IR mice with BE intervention decreased ( $P < 0.05$ ).

(2) Lipid metabolism-related indexes: In vivo experimental results showed that total cholesterol, triglyceride, high-density lipoprotein cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol of mice in the high-fat diet group were elevated compared with those in the normal diet group ( $P < 0.05$ ); and serum lipid levels of BE-intervened IR mice were lowered compared with those in the high-fat diet group ( $P < 0.05$ ). The results of in vitro experiments showed that BE decreased the total cholesterol, triglyceride levels of IR cells ( $P < 0.05$ ).

(3) Glucose metabolism-related indexes: The results of in vivo experiments showed that, in comparison to the normal diet group, the fasting blood glucose, fasting insulin, glycated serum proteins, Insulin resistance

index, total bile acids and area under the curve of glucose tolerance were elevated in mice in the high-fat diet group ( $P<0.05$ ); compared with those in the high-fat diet group, the fasting blood glucose, fasting insulin, glycosylated serum proteins, Insulin resistance index, total bile acids and the area under the curve of glucose tolerance were reduced in the mice intervened with BE ( $P<0.05$ ). decreased ( $P<0.05$ ). The results of in vitro experiments showed that basal glucose uptake and glycogen content of IR cells were elevated after BE treatment ( $P<0.05$ ). The results of both in vitro and in vivo experiments showed that After BE intervention, the expression levels of the bile acid FXR/TGR5 signaling pathway and the insulin IRS1/PI3K/AKT/GSK-3 $\beta$  signaling pathway were increased ( $P<0.05$ ).

Conclusions: (1) BE improves body weight, organ index, and lipid levels, and attenuates hepatic pathological changes and fat accumulation in IR mice.

(2) BE can promote cellular glucose uptake and hepatic glycogen synthesis, and reduce blood glucose and total bile acid levels in IR mice.

(3) BE can improve hepatic insulin resistance in obesity, and this effect may be related to the modulation of bile acid signaling pathway and insulin signaling pathway.

**Key words:** Blueberry Extract; Insulin Resistance; FXR/TGR5 Signaling Pathway; IRS1/PI3K/AKT/GSK-3 $\beta$  Signaling Pathway

# 目录

摘要.....	I
Abstract .....	II
英文缩略词.....	VI
1 引言.....	1
2 材料与方法.....	4
2.1 材料和试剂.....	4
2.2 主要实验仪器.....	5
2.3 体内实验方法.....	6
2.3.1 IR 小鼠模型的建立及动物处理.....	6
2.3.2 体重及脏器系数测定.....	6
2.3.3 李氏指数测定.....	7
2.3.4 空腹血糖测定.....	7
2.3.5 口服葡萄糖耐量试验.....	7
2.3.6 肝脏组织切片分析.....	7
2.3.7 血清生化指标检测.....	8
2.3.8 胰岛素抵抗指数计算.....	9
2.3.9 免疫印迹法检测肝脏组织蛋白表达.....	9
2.4 体外实验方法.....	10
2.4.1 棕榈酸、蓝莓提取物储备液配置.....	10
2.4.2 细胞培养及分组.....	11
2.4.3 细胞存活率的检测.....	11
2.4.4 细胞油红 O 染色.....	11
2.4.5 细胞基础葡萄糖消耗量的检测.....	12
2.4.6 细胞糖原含量的检测.....	12
2.4.7 细胞 TC、TG 含量的检测.....	12
2.4.8 免疫印迹法检测细胞蛋白表达.....	13
2.5 统计分析.....	13
2.6 技术路线图.....	14
3 结果.....	15
3.1 体内实验结果.....	15

3.1.1 BE 对小鼠外观及肝脏的影响 .....	15
3.1.2 BE 对小鼠体重参数的影响 .....	15
3.1.3 BE 对小鼠脏器系数的影响 .....	16
3.1.4 BE 对小鼠空腹血糖的影响 .....	17
3.1.5 BE 对小鼠口服葡萄糖耐量的影响 .....	18
3.1.6 BE 对小鼠肝脏组织病理学的影响 .....	18
3.1.7 BE 对小鼠糖脂代谢指标的影响 .....	20
3.1.8 BE 对小鼠肝脏 FXR/TGR5 信号通路的影响 .....	23
3.1.9 BE 对小鼠肝脏胰岛素信号通路的影响 .....	24
3.2 体外实验结果 .....	25
3.2.1 IR 细胞模型的构建 .....	25
3.2.2 BE 的干预条件 .....	25
3.2.3 BE 对细胞油红 O 染色的影响 .....	26
3.2.4 BE 对细胞葡萄糖和糖原的影响 .....	27
3.2.5 BE 对细胞总胆固醇和甘油三酯的影响 .....	27
3.2.6 BE 对细胞 FXR/TGR5 信号通路的影响 .....	28
3.2.7 BE 对细胞胰岛素信号通路的影响 .....	29
4 讨论 .....	31
4.1 BE 对糖脂代谢指标的调节 .....	31
4.2 BE 促进肝脏糖原合成改善胰岛素抵抗 .....	33
4.3 BE 调节胆汁酸代谢改善胰岛素抵抗 .....	34
5 结论 .....	36
局限性及展望 .....	37
文献综述 .....	38
蓝莓提取物改善胰岛素抵抗的研究进展 .....	38
参考文献 .....	43
致谢 .....	53
作者简介 .....	54

## 英文缩略词

缩写	英文全称	中文全称
Acr-Bis	Acrylamide-bisacrylamide	丙烯酰胺
AKT	Protein kinase B	蛋白激酶 B
AP	Ammonium persulphate	过硫酸铵
AUC	Area under curve	曲面下面积
BE	Blueberry extract	蓝莓提取物
BSA	Albumin from bovine serum	牛血清白蛋白
CCK-8	Cell counting kit-8	细胞计数试剂
FBG	Fasting blood glucose	空腹血糖
FBS	Fetal bovine serum	胎牛血清
FINS	Fasting insulin	空腹胰岛素
FXR	Farnesoid x receptor	法尼醇 X 受体
GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	甘油醛-3-磷酸脱氢酶
GSK-3 $\beta$	glycogen synthase kinase-3 $\beta$	糖原合酶激酶-3 $\beta$
GSP	Glucosylated serum protein	糖化血清蛋白
HDL-C	High density lipoprotein cholesterol	高密度脂蛋白胆固醇
IR	Insulin resistance	胰岛素抵抗
IRS1	Insulin receptor substrate 1	胰岛素受体底物 1
LDL-C	Low-density lipoprotein cholesterol	低密度脂蛋白胆固醇
OGTT	Oral glucose tolerance test	口服葡萄糖耐量试验
PA	Palmitic acid	棕榈酸
PBS	Phosphate buffer saline	磷酸盐缓冲溶液
PI3K	Phosphatidylinositol 3-kinase	胞内磷脂酰肌醇激酶
PMSF	Phenylmethanesulfonyl fluoride	苯甲基磺酰氟
PVDF	Polyvinylidene fluoride	聚偏二氟乙烯
RIPA	Radio-immunoprecipitation assay	裂解液
RPMI1640	Roswell park memorial institute	RPMI1640 培养基
SDS	Sodium dodecyl sulfate	十二烷基硫酸钠
TBA	Total bile acids	总胆汁酸

## 续表英文缩略词

缩写	英文全称	中文全称
TBST	Tris buffered saline with tween	三羟甲基氨基甲烷缓冲盐水
TC	Total cholesterol	总胆固醇
TEMED	N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine	四甲基乙二胺
TG	Triglycerides	甘油三酯
TGR5	Takeda G protein-coupled receptor 5	G 蛋白偶联胆汁酸受体
Tris	Trometamol	三羟甲基氨基甲烷

## 1 引言

肥胖是体内脂肪异常积累而引发的一种慢性疾病<sup>[1]</sup>。1970 年以来，全球成年人肥胖率增加了两倍不止<sup>[2]</sup>。目前，全球成人超重率为 39%，肥胖率为 13%，预测到 2030 年，全球肥胖成年人将超过 1 亿人<sup>[3]</sup>。据研究报告显示<sup>[4]</sup>，我国成年人超重率达 34.3%，肥胖率达 16.4%。综合肥胖的持续时间、超重程度和相关并发症等因素分析发现<sup>[5]</sup>，肥胖会导致人体预期寿命缩减约 5-20 年。据世界肥胖联合会预估，若不改进肥胖的预防措施和治疗手段，肥胖及超重问题将给全球带来高达 4.32 万亿美元的经济损失。肥胖状态下的胰岛素抵抗易引发人体多组织、多器官受损，进而诱发多种慢性非传染性疾病：如高脂血症、非酒精性脂肪肝和 2 型糖尿病等，给社会带来严重的健康负担<sup>[6]</sup>。改善机体胰岛素抵抗对于预防肥胖相关代谢疾病的发生发展具有重要意义。

肝脏是调控糖代谢的关键器官，也是胰岛素发挥生理效能的主要靶器官之一。内源性葡萄糖生成中，90%来自肝脏的葡萄糖合成过程，所以肝脏在维持机体葡萄糖稳态中起着重要作用<sup>[7]</sup>。禁食状态下，肝脏能够通过糖异生机制生成葡萄糖，餐后状态下，肝脏则通过提升糖原合成效率以及抑制肝葡萄糖输出速率处理肠内的葡萄糖负荷，说明肝脏可以通过摄取葡萄糖、合成肝糖原消耗血液中的葡萄糖，从而维持机体血糖稳态<sup>[8]</sup>。肝脏胰岛素抵抗是高脂饮食诱导肥胖相关代谢疾病的核心病理环节。在胰岛素抵抗状态下，肝脏中胰岛素信号传导通路的调控机制发生异常，下游关键的糖代谢关键酶功能失调，会导致肝脏的葡萄糖储存能力下降、释放到血液中的葡萄糖含量增加，促使血液中葡萄糖浓度升高，进而诱发高胰岛素血症。高胰岛素血症反过来加剧胰岛素抵抗程度，形成恶性循环。肝脏胰岛素抵抗是胰岛素介导的葡萄糖和脂质代谢作用发生异常引起的。胰岛素对肝脏功能的影响通过直接作用和间接作用双重机制完成。其直接作用表现为胰岛素与肝细胞膜上的胰岛素受体特异性结合后，进而激活其下游 PI3K/AKT 信号通路。肥胖状态下，肝脏胰岛素信号通路中相关蛋白的表达出现异常，引发胰岛素抵抗，最终致使肝脏葡萄糖输出能力代偿性增强<sup>[9]</sup>。其间接作用表现为胰岛素通过影响脂肪组织游离脂肪酸和炎症因子的分泌间接调节肝脏糖异生及糖原分解过程<sup>[10]</sup>。高脂饮食干预下，胰岛素对肝脏功能的间接调节作用出现异常。脂质代谢紊乱导致肝脏中甘油三酯和游离脂肪酸异常蓄积，通过上调乙酰辅酶 A 和丙酮酸羧化酶的表达活性，影响肝脏糖原合成过程，并且引发胰岛素受体底物磷酸化及其下游信号通路蛋白功能受损，最终导致肝脏糖代谢紊乱<sup>[11]</sup>。胰岛素可以通过调控胰岛素信号级联通路调节肝脏胰岛素抵抗，包括胰岛素受体（Insulin receptor, IR）、胰岛素受体底物

(Insulinreceptor substrate, IRS) 蛋白、磷脂酰肌醇-3 激酶 (Phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) 和蛋白激酶 B (Protein kinase B, AKT) 等关键蛋白<sup>[12]</sup>。胰岛素通过结合和激活靶细胞质膜上的胰岛素受体发挥其生理作用, 启动下游信号级联, 促使 IRS1 (Insulinreceptor substrate 1, IRS1) 的酪氨酸残基磷酸化进入激活状态。活化的 IRS1 蛋白可以进一步激活 PI3K/AKT 信号通路<sup>[13]</sup>。PI3K/AKT 信号通路作为胰岛素信号转导的核心节点, 是调节胰岛素敏感性的重要信号通路, 在调节糖脂代谢中起重要作用<sup>[14]</sup>。该信号通路可以调节葡萄糖摄取、细胞代谢和糖原合成, 并且能够控制胰岛素抵抗和高血糖状态<sup>[15]</sup>。进一步研究发现<sup>[16]</sup>, PI3K/AKT 信号通路可以激活下游 Akt Ser/Thr 激酶, 从而促进葡萄糖转运蛋白 4 (Glucose transporter 4, GLUT4) 从细胞质转移到细胞膜, 增强细胞葡萄糖吸收, 从而降低血糖水平。AKT 作为胰岛素信号转导的关键调控因子之一, 在胰岛素和胰岛素受体结合后, 经过其上游激酶介导的一系列磷酸化反应获得催化活性, 活化的 AKT 继续磷酸化大量底物, 以介导胰岛素对葡萄糖转运和脂质代谢的影响<sup>[17]</sup>。此外, PI3K/AKT 途径可以调控糖原合成的糖原合成酶激酶 3 $\beta$  (Glycogen synthase kinase 3 $\beta$ , GSK3 $\beta$ )。有研究显示<sup>[18]</sup>, 可以通过 PI3K/AKT/GSK-3 $\beta$  途径改善 2 型糖尿病小鼠的疾病进展, 增加糖原合成并维持血糖稳定。

胆汁酸作为胆固醇在肝脏中的代谢终产物, 不仅参与脂肪分解过程, 还可以通过乳化作用增强肠道中的脂质吸收<sup>[19]</sup>。肝细胞分泌的胆汁酸进入肠道后, 在肠道菌群的催化作用下, 转化生成结构多样的次级胆汁酸。值得注意的是, 95%的肠源性胆汁酸可以通过顶端钠依赖性胆汁酸转运体和回肠胆汁酸转运体实现重吸收, 并经门静脉回流至肝脏完成肠肝循环, 重吸收的胆汁酸作为信号分子通过与法尼醇 X 受体 (Farnesoid XReceptor, FXR) 和 G 蛋白偶联受体 5 (Takeda G protein-coupled receptor 5, TGR5) 结合, 作为激素调节葡萄糖和脂质的代谢<sup>[20]</sup>。1995 年, 研究人员在大鼠肝脏中首次发现一种新型核受体, 命名为 FXR (Farnesoid X receptor, FXR), 即法尼醇 X 受体, 并且胆汁酸被确定为 FXR 的内源性配体<sup>[21]</sup>。2006 年, 胆汁酸被确定为 TGR5 的内源性配体<sup>[22]</sup>。FXR 主要在肝、肠等组织部位表达。动物研究发现<sup>[23]</sup>, FXR 基因敲除小鼠模型呈现显著的肝脏脂肪蓄积和胰岛素抵抗。给与 FXR 高度特异性受体激动剂 GW4064 后, 2 型糖尿病的血糖血脂水平明显降低<sup>[24]</sup>。证实了 FXR 受体在维持葡萄糖稳态与脂代谢稳态中发挥了重要作用。研究表明<sup>[25]</sup>, FXR 可以通过调控胰岛素信号通路转导抑制肝脏糖酵解和脂肪生成, 减少餐后葡萄糖的利用, 改善胰岛素抵抗, 维持体内葡萄糖平衡。TGR5 主要在肠、肝和脂肪组织等表达, 在机体炎症免疫调节、能量代谢、脂质代谢及葡萄糖稳态中发挥着重要作用<sup>[26]</sup>。TGR5 可以通过激活 2 型碘甲状腺原氨酸脱碘酶促进甲状腺激素的释放, 进而促进能量消耗<sup>[22]</sup>。有研究发现<sup>[26]</sup>, 通过激活 TGR5 可以促进胰高血糖素样肽-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1) 的分泌, 并进一步刺激胰岛素分泌, 以改善葡萄糖代谢紊乱。此外, 激活 TGR5 可以促进胆汁酸的转运

以调节代谢表型，进而改善葡萄糖代谢，促进脂肪分解和能量代谢<sup>[27]</sup>。有研究证实<sup>[28]</sup>，TGR5 激动剂可以显著降低肥胖小鼠的空腹血糖和糖化血红蛋白水平，改善小鼠的葡萄糖和胰岛素耐受，增强骨骼肌葡萄糖摄取。FXR/TGR5 可以作为维持能量代谢和葡萄糖稳态的靶点。

天然多酚类化合物具有多靶点调控的特性，一定程度上可以减少血糖波动并预防并发症。蓝莓提取物（Blueberry Extract, BE）是从蓝莓果实中提取的一种深紫红色粉末，味涩苦，以蓝莓原花青素的含量标注浓度。BE 富含花青素、多酚类化合物和膳食纤维等生物活性化学物，具有抗氧化活性、抗炎及代谢调节作用，可能通过多靶点机制改善胰岛素敏感性<sup>[29]</sup>。多项体外研究表明，BE 可以通过调控胰岛素信号通路相关蛋白的表达活性，促进外周组织的葡萄糖利用能力改善胰岛素抵抗。有研究发现<sup>[30]</sup>，BE 可以上调糖尿病小鼠的胰腺  $\beta$  细胞增殖相关基因胰腺发育相关基因神经元素 3 和肌腱膜纤维肉瘤癌基因同系物 A 的表达，并抑制凋亡基因 Forkhead 转录因子的表达，从而改善胰腺  $\beta$  细胞功能。动物实验中发现<sup>[31]</sup>，BE 干预能够降低高脂饮食诱导的胰岛素抵抗模型小鼠的空腹血糖和糖化血红蛋白水平，并发现其机制可能是通过抑制肝脏糖异生关键酶磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶（Phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK）和葡萄糖-6-磷酸酶（Glucose-6-phosphatase G-6-pase, G6Pase）的基因表达，进而调节血糖水平和胰岛素敏感性，改善胰岛素抵抗。此外，BE 能够降低肝脏脂质沉积，并增强肥胖小鼠的葡萄糖耐受性和胰岛素敏感性<sup>[32]</sup>。临床研究进一步证实<sup>[33]</sup>，蓝莓补充剂摄入对 2 型糖尿病患者的血糖控制具有积极作用，可以显著降低糖尿病人群的空腹血糖和糖化血红蛋白水平，并且可以调节餐后血糖波动。此外，一项人群随机对照试验发现<sup>[34]</sup>，日常饮食补充蓝莓的摄入能够增加肥胖、胰岛素抵抗人群的胰岛素敏感性，显著降低肝脏脂肪含量并改善胰岛素抵抗。蓝莓中的特征性成分如原花青素和绿原酸能够抑制肠道  $\alpha$ -淀粉酶和  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的活性，延缓肠道碳水化合物的消化吸收，从而控制餐后血糖波动。有研究进一步证实<sup>[35]</sup>，BE 对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制率可达 60% 以上，其效果与临床降糖药物阿卡波糖相当。蓝莓花青素还可以通过抑制二肽基肽酶-4 增强 GLP-1 活性，进而有效控制血糖，维持葡萄糖稳态<sup>[36]</sup>。体内外实验表明，BE 可以调节脂质代谢进而改善胰岛素抵抗。动物实验证实，与高脂饮食组小鼠相比，BE 干预组小鼠的食物摄入量和肝脏重量显著降低，血糖血脂水平有所改善<sup>[37]</sup>。有研究进一步证实<sup>[38]</sup>，BE 可以显著减少高脂饮食诱导的肥胖小鼠血清的甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇水平，并通过 PPAR- $\alpha$  蛋白抑制肝脏脂质合成关键基因 SREBP-1c 和 FAS 的表达改善脂质代谢。机制研究发现<sup>[39]</sup>，BE 通过激活 AMPK 通路促进脂肪酸氧化，同时抑制 PPAR $\gamma$  介导的脂质蓄积。此外，蓝莓干预还表现出调节脂蛋白代谢的潜力，如升高高密度脂蛋白胆固醇和载脂蛋白 A1 水平<sup>[40]</sup>。动物实验进一步证实<sup>[41]</sup>，BE 干预可显著下调脂肪组织中 TNF- $\alpha$  和 IL-6 等促炎因子的表达，同时增加脂联素分泌，通过 AMPK/ACC 信号通路促

进脂肪酸氧化并抑制脂质异位沉积。蓝莓多酚具有抗氧化特性，可以降低肝脏谷丙转氨酶和谷草转氨酶水平，减少氧化应激标志物活性氧和丙二醛的产生，通过激活 Nrf2/KEAP1 信号通路减轻肝脏和脂肪组织的氧化损伤，从而改善线粒体功能并恢复胰岛素信号传导<sup>[42]</sup>。目前，BE 已被证实可以一定程度上改善胰岛素抵抗，但具体机制仍不明确。目前基于胆汁酸 FXR/TGR5 信号通路探讨 BE 改善高脂引起的肝脏胰岛素抵抗的研究仍然较少。

综上所述，本研究通过高脂饮食诱导 C57BL-6J 小鼠构建肥胖小鼠肝脏胰岛素抵抗模型和棕榈酸诱导肝细胞 BRL-3A 构建胰岛素抵抗模型，探讨 BE 对肥胖状态下肝脏胰岛素抵抗的影响，并着重关注 BE 对胆汁酸信号通路和胰岛素信号通路相关蛋白的影响。为阐明 BE 改善肥胖状态下肝脏胰岛素抵抗的潜在机制提供参考。

## 2 材料与方法

### 2.1 材料和试剂

本研究中主要使用的耗材与试剂见表 2-1。

表 2-1 实验的耗材及试剂

试剂名称	生产厂家
蓝莓花青素提取物（25%）	上海科顺生物科技有限公司
PBS 缓冲液、RPMI1640 培养基	武汉塞维尔生物科技有限公司
胎牛血清	武汉塞维尔生物科技有限公司
0.25%胰蛋白酶、青霉素、链霉素双抗	北京索莱宝科技有限公司
无血清快速冻存液、过硫酸铵、	北京索莱宝科技有限公司
CCK-8 检测试剂盒、ECL 化学发光底物试剂盒	合肥白鲨生物科技有限公司
微量移液器枪头、离心管	南京建成生物工程研究所
ELISA 检测试剂盒	南京建成生物工程研究所
辣根酶标记山羊抗兔 IgG（H+L）	武汉三鹰生物技术有限公司
辣根酶标记山羊抗小鼠 IgG	武汉三鹰生物技术有限公司
FXR、TGR5、IRS1、PI3K、AKT、	武汉三鹰生物技术有限公司
GSK-3 $\beta$ 、GAPDH 抗体	
脱脂奶粉	内蒙古伊利有限公司
PVDF 膜	美国 millipore 公司
Marker、BSA	武汉塞维尔生物科技有限公司
30% 丙烯酰胺（29:1）	合肥白鲨生物科技有限公司
电泳液粉末、电转液粉末	武汉塞维尔生物科技有限公司
SDS、磷酸酶抑制剂、Tween 20、甘氨酸	北京索莱宝科技有限公司
TC、TG、FINS、TBA 检测试剂盒	南京建成生物工程研究所
葡萄糖检测试剂盒、糖原检测试剂盒	南京建成生物工程研究所
油红 O 染色试剂盒	北京索莱宝科技有限公司
棕榈酸	上海阿拉丁生化科技股份有限公司
促凝管、通用型组织固定液	武汉塞维尔生物科技有限公司
三溴乙醇	南京爱贝生物科技有限公司