

基于IRS-1/PI3K/Akt信号通路探讨二冬汤对T2DM小鼠 糖脂代谢的影响

李浩, 姜立娟*, 张文凤*

(长春中医药大学基础医学院, 长春 130117)

[摘要] 目的: 基于胰岛素受体底物-1(IRS-1)/磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)通路研究二冬汤对2型糖尿病(T2DM)小鼠肝脏糖脂代谢紊乱的治疗作用及其作用机制。方法: 采用高脂高糖饲料联合腹腔注射链脲佐菌素(STZ)建立T2DM小鼠模型。将造模成功的小鼠分为模型组, 二甲双胍组及二冬汤高、中、低剂量组。二甲双胍组和二冬汤高、中、低剂量组灌胃剂量分别为0.15、22.64、11.32、5.66 g·kg⁻¹, 另设空白组, 模型组和空白组灌胃等量生理盐水。灌胃给药8周后, 测量小鼠空腹血糖(FBG)、体质量、肝脏质量、肝脏系数、进行口服葡萄糖耐量试验(OGTT)。使用酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清胰岛素(FINS)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、活性氧(ROS), 计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)。检测血清中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)。苏木素-伊红(HE)染色观察肝脏组织病理损伤。蛋白免疫印迹法(Western blot)检测肝脏组织IRS-1、PI3K、Akt、磷酸化(p)-Akt的蛋白表达量。结果: 与空白组比较, 模型组FBG、FINS、HOMA-IR、IL-6、TNF-α、ROS、TC、TG、LDL-C、肝脏质量、肝脏系数显著升高($P < 0.01$); HDL-C、IRS-1、PI3K、Akt、p-Akt/Akt蛋白, 体质量显著减少($P < 0.01$), 肝脏病理组织中肝小叶形态不清晰, 肝细胞排列紊乱, 肝细胞核增大, 核膜不清晰, 脂肪变性明显, 炎症细胞浸润。与模型组比较, 二甲双胍组、二冬汤高、中、低剂量组小鼠FBG、FINS、HOMA-IR、IL-6、TNF-α、ROS、TG、TC、LDL-C含量明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$); 二甲双胍组、二冬汤高、中剂量组小鼠HDL-C、IRS-1、PI3K、Akt、p-Akt/Akt蛋白表达明显增加($P < 0.05$, $P < 0.01$)。二甲双胍组、二冬汤高、中、低剂量组小鼠p-Akt/Akt表达显著增加($P < 0.01$), 各给药组小鼠肝脏病理组织中脂肪变性和炎症细胞浸润得到明显改善。结论: 二冬汤可以有效改善T2DM小鼠的糖脂代谢、减轻炎症反应, 缓解氧化应激, 其机制可能与IRS-1/PI3K/Akt信号通路激活有关。

[关键词] 二冬汤; 2型糖尿病(T2DM); 糖脂代谢; 胰岛素受体底物-1(IRS-1)/磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)信号通路

[中图分类号] R289; R259; R285 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2025)23-0021-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20251301

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20250723.1635.005>

[网络出版日期] 2025-07-23 17:15:16



Effect of Erdong Tang on Glycolipid Metabolism in T2DM Mice Based on IRS-1/PI3K/Akt Signaling Pathway

LI Hao, JIANG Lijuan*, ZHANG Wenfeng*

(College of Basic Medical Sciences, Changchun University of Chinese Medicine,
Changchun 130117, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the therapeutic effects of Erdong Tang on hepatic glycolipid metabolism disorders in type 2 diabetes mellitus (T2DM) mice and explore the mechanism on the basis of the insulin receptor substrate 1 (IRS-1)/phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) pathway. **Methods:** A T2DM mouse model was established by high-

[收稿日期] 2025-05-08

[基金项目] 吉林省卫生健康科技能力提升项目(2023JC039); 吉林省教育厅科学技术研究项目(JJKH20241056KJ); 吉林省中医药管理局项目-张文凤名老中医专家传承工作室项目(吉中医药发[2023]56号)

[第一作者] 李浩, 在读硕士, 从事方剂的中医理论及现代机制、新药研究, E-mail: 1262243165@qq.com

[通信作者] * 张文凤, 教授, 博士生导师, 博士后, 从事方剂的中医理论及现代机制、新药研究, E-mail: 1139607280@qq.com;

* 姜立娟, 博士, 讲师, 从事方剂的中医理论及现代机制、新药研究, E-mail: 1550296821@qq.com

fat and high-sugar feed combined with intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ). Mice successfully modeled were divided into a model group, a metformin group, and high-dose, medium-dose, and low-dose groups of Erdong Tang. The gavage doses for the metformin group and the high-dose, medium-dose, and low-dose groups of Erdong Tang were 0.15, 22.64, 11.32, 5.66 g·kg⁻¹, respectively. At the same time, a blank group was set up, and the model and blank groups were administered with equal amounts of saline by gavage. After eight weeks of gavage administration, mice were measured for fasting blood glucose (FBG), body mass, liver weight, liver coefficient, and an oral glucose tolerance test (OGTT) was conducted. Serum insulin (FINS), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and reactive oxygen species (ROS) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and insulin resistance index (HOMA-IR) was calculated. Total cholesterol (TC), triglycerides (TG), high-density lipoprotein (HDL), and low-density lipoprotein (LDL) were detected. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the histopathological damage of the liver. Western blot was used to detect the protein expression of IRS-1, PI3K, Akt, and p-Akt in liver tissue. **Results:** Compared with those in the blank group, FBG, FINS, HOMA-IR, IL-6, TNF- α , ROS, TC, TG, LDL-C, liver weight, and liver coefficient were significantly increased in the model group ($P<0.01$), and HDL-C, IRS-1, PI3K, Akt, p-Akt/Akt protein, and body mass were significantly reduced ($P<0.01$). The pathological tissue in the liver showed unclear morphology of hepatic lobules, disordered arrangement of hepatocytes, enlarged nuclei of hepatocytes, unclear nuclear membrane, obvious fatty degeneration, and infiltration of inflammatory cells. Compared with that in the model group, the FBG, FINS, HOMA-IR, IL-6, TNF- α , ROS, TG, TC, and LDL-C content of mice was significantly reduced in the metformin group and the high-dose, medium-dose, and low-dose groups of Erdong Tang ($P<0.05$, $P<0.01$). The expression of HDL-C, IRS-1, PI3K, and Akt protein was significantly increased in the metformin group and the high-dose and medium-dose groups of Erdong Tang ($P<0.05$, $P<0.01$). The expression of p-Akt/Akt in mice was significantly increased in the metformin group and the high-dose, medium-dose, and low-dose groups of Erdong Tang ($P<0.01$), and fatty degeneration and inflammatory cell infiltration were significantly improved in the pathological tissues of the mouse liver in each dosing group. **Conclusion:** Erdong Tang ameliorates glycolipid metabolism, inflammatory responses, and oxidative stress in T2DM mice, potentially by activating the IRS-1/PI3K/Akt signaling pathway.

[Keywords] Erdong Tang; type 2 diabetes mellitus (T2DM); glycolipid metabolism; insulin receptor substrate 1 (IRS-1)/phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) signaling pathway

2型糖尿病(T2DM)是一种以胰岛素抵抗(IR)和 β 细胞功能减退为主要特征的慢性代谢性疾病,临床主要表现为持续性高血糖症状^[1]。有研究统计,截至2021年,全球有糖尿病人数高达5.21亿,其中超过90%的糖尿病患者为T2DM,推测截至2050年,全球糖尿病患者将达到13.1亿^[2]。另有研究表明,有60%~70%的糖尿病患者在血糖紊乱的同时伴有脂质代谢障碍^[3]。

T2DM在祖国传统医学中属于消渴病的范畴。消渴病是由于禀赋不足、饮食不节、情志失调等病因导致机体出现阴虚燥热,因此滋阴清热、养阴生津是消渴病的重要治法。二冬汤出自清代医家程国彭的《医学心悟》,作为治疗消渴的经典方剂,方中以麦冬、天冬为君药,共奏润肺养阴、滋肾降火之功,滋养肺胃肾三脏之阴使燥热自消;天花粉、黄芩、知母为臣药,助君药清热润燥,其中天花粉生津止渴,黄芩清上焦之火,知母滋阴清热;人参、甘草为佐药,人参补气生津,甘草调和诸药;荷叶为使药,升发清阳,载药上行并防滋阴药过于滋腻。全方具有滋阴清热并重、益气生津同施的配伍特点,共起滋阴清热、益气生津之功。有研究表明,二冬汤在治疗T2DM及其并发症上疗效明确^[4-8]。目前对复方中麦冬、天花粉、黄芩、知母等单味药的

活性成分研究较多,但二冬汤复方改善血糖的机制仍需进一步探讨。故本研究选用高脂高糖饮食联合链脲佐菌素(STZ)构建T2DM小鼠模型,探究二冬汤改善T2DM小鼠糖脂代谢的作用机制,为二冬汤临床应用及后续研发中提供严谨的科学依据。

1 材料

1.1 动物 本实验选用60只SPF级雄性C57BL/6J小鼠,6周龄,体质量(20 $\pm$ 2)g,购自辽宁长生生物技术股份有限公司,合格证号SCXK(辽)2020-0001,于吉林大学生命科学学院动物实验室饲养,供给无菌水和食物,玉米芯垫料,温度24℃,湿度51%,进行12h光/暗循环。动物实验方案已得到长春中医药大学实验动物伦理委员会的批准,伦理审查编号2023348。

1.2 药物 二冬汤选用北京同仁堂长春药店有限责任公司的药材,天冬7.46g,麦冬11.19g,天花粉、黄芩、知母、荷叶各3.73g,生甘草、人参各1.87g,总剂量为37.31g,药材与水采用1:8比例进行混合,浸泡1h后,大火煮沸后用小火煮40min,冷却后,将药液放置在4℃冰箱中保存。其中天冬饮片、麦冬饮片、知母饮片及黄芩饮片购自北京深港药业有限公司,批号分别为2305048、2411003、2308071、2306064;天花粉饮片、荷叶饮片及甘草饮片购自北

京仟草中药饮片有限公司,批号分别为24121711、24090101、230826004;人参饮片购自北京同仁堂吉林人参有限责任公司,批号为20241202。以上中药饮片均由长春中医药大学药学院翁丽丽教授鉴定为正品。二甲双胍片,规格0.85 g/片,生产厂家为广东赛康制药厂有限公司,国药准字H20203366。

1.3 试剂 STZ(北京博爱港生物技术有限公司,货号S0130);苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,货号为G1120);胰岛素(INS)酶联免疫试剂盒(武汉三鹰生物技术有限公司,货号KE10089);活性氧(ROS)酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(江苏酶免实业有限公司,货号MM-43700M1);白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)ELISA试剂盒(上海优选生物科技有限公司,货号分别为YX-091260M、YX-201407M);总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,货号分别为A111-1-1、A110-1-1、A113-1-1、A112-1-1);胰岛素受体底物1(IRS-1)抗体、磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)抗体、蛋白激酶B(Akt)抗体、磷酸化蛋白激酶B(p-Akt)抗体、 β -肌动蛋白(β -actin)、一抗、二抗(武汉三鹰生物技术有限公司,货号分别为17509-1-AP、67071-1-Ig、10176-2-AP、66444-1-Ig、66009-1-Ig、20000575、20000626)。

1.4 仪器 KDC-140HR型台式低温高速离心机(美国Sigma公司);JY-MINI610型智能荧光化学发光成像系统(广州光仪生物科技有限公司);A51119600型全自动酶标仪-ELx808(美国BioTek公司);GI54DWS型立式自动压力蒸汽灭菌器(致微仪器有限公司);Tissuelyser-24L型多样品组织研磨仪(中国上海净信实业发展有限公司);LF-600S型电泳仪电源(北京龙方科技有限公司);DYCZ-24DN型垂直电泳槽、WD-9405FN型脱色摇床(北京六一生物科技有限公司);BGZ-306型电热鼓风干燥箱(上海博迅医疗生物仪器股份有限公司);LE403E/02型电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);安稳免调血糖仪及配套血糖试纸(中国三诺);不同型号微量移液器(德国Eppendorf公司)。

2 方法

2.1 分组、给药、取材 采用高脂高糖联合小剂量腹腔注射STZ建立T2DM小鼠模型^[9],选用C57BL/6J小鼠60只,体质量均为(20 $\pm$ 2) g,适应性喂养1周,随机留取10只小鼠作为空白组,其余逐渐添加高脂

饲料,至7天时完全给予高脂饲料,继续喂养4周后,禁食12 h不禁水,将STZ用0.1 mol·L⁻¹枸橼酸钠缓冲液(pH 4.2~4.5)配制后按40 mg·kg⁻¹剂量左下腹腔内单次注射连续5 d,3 d后,尾静脉采血测空腹血糖(FBG), ≥ 16.7 mmol·L⁻¹的小鼠即为T2DM模型建立成功^[10]。造模成功后将T2DM小鼠随机分为模型组、二冬汤高剂量组、二冬汤中剂量组、二冬汤低剂量组、西药二甲双胍组,每组10只。取预留取的血糖值在正常范围内(4.7~8.3 mmol·L⁻¹)同周龄同批次小鼠10只为正常组。各组动物分笼饲养,正常进水,除正常组外均持续给予高脂高糖饲料喂养8周。整个治疗周期为8周,按成人与小鼠体表面积关系计算小鼠灌胃剂量,小鼠灌胃量(g·kg⁻¹)=9.1 $\times$ 体质量/60,高、中、低剂量分别为22.64、11.32、5.66 g·kg⁻¹。二甲双胍剂量为0.15 g·kg⁻¹。空白组及模型组每日给予生理盐水10 mL·kg⁻¹,实验结束后取小鼠肝脏,部分置于4%多聚甲醛中固定,剩余肝脏组织放入-80℃冰箱中备用。眼球取血后离心得到血清放入-80℃冰箱中储存。

2.2 动物指标检测

2.2.1 基础指标检测 观察小鼠一般状态,包括小鼠的体质量、毛色、精神状态等。每周对小鼠体质量、FBG进行检测,体质量检测时读取小数点后2位,血糖监测前1 d晚上小鼠禁食不禁水8 h,采用三诺安稳免调血糖仪取尾静脉血检测FBG。

2.2.2 ELISA检测小鼠FINS,计算HOMA-IR 取小鼠血清离心后取上液,严格按照FINS试剂说明书操作,配置不同浓度标准品,FINS配置质量浓度分别为15.6、31.2、62.5、125、250、500、1 000 ng·L⁻¹。加入样品及样品稀释液后,在37℃下酶标仪孵育2 h后,倒掉液体,拍干,加入洗涤液对其清洗5次;随后添加底物溶液,将其置于37℃环境中避光显色15 min;完成显色后,加入终止液终止反应。在酶标仪450 nm波长条件下,测量吸光度A,计算HOMA-IR=(FBG $\times$ FINS)/22.5。

2.2.3 ELISA试剂盒检测小鼠IL-6、TNF- α 、ROS

取小鼠血清离心后取上液,严格按照酶联免疫试剂说明书操作,配置不同浓度标准品,IL-6配置质量浓度为0、7.5、15、30、60、120 ng·L⁻¹,TNF- α 配置质量浓度为0、40、80、160、320、640 ng·L⁻¹,ROS配置浓度为30、60、120、240、480 U·mL⁻¹。加入样品及样本稀释液后,每孔加入HRP标记的检测抗体,在37℃温度下酶标仪孵育1 h,倒掉液体,加入洗涤液对其清洗5次,随后添加显色液,在37℃温度下孵

育15 min,加入终止液。酶标仪450 nm波长测量A,计算IL-6、TNF- α 、ROS含量。

2.2.4 试剂盒检测TG、TC、LDL-C、HDL-C含量

取小鼠血清离心后取上液,按照试剂盒说明书进行空白孔、标准孔、样品孔的液体配置,混匀后37℃下孵育10 min,在波长500 nm下测定各孔A。计算TG、TC值。测量LDL-C、HDL-C时,37℃下孵育10 min,波长550 nm测量A,计算LDL-C、HDL-C值。

2.2.5 肝脏组织HE染色 取出多聚甲醛固定的肝脏组织,首先进行常规石蜡包埋及病理切片,将其充分脱蜡水化。HE染色、之后将切片进行充分脱水透明,使用中性树胶封片,光学显微镜观察后保存图像。

2.2.6 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测肝脏组织中IRS-1、PI3K、Akt、p-Akt通路中相关蛋白的表达 检测肝脏组织IRS-1、PI3K、Akt、p-Akt蛋白表达,各组小鼠肝脏组织裂解后,充分离心10 min,收集上清液。按照BCA蛋白浓度测定试剂盒说明书配置标准品及BCA工作液,测量样品浓度。加入蛋白缓冲液,沸水浴变性,变性完后冷却至室温再放

回-20℃冰箱中保存备用。制胶、加入样品、电泳、转膜。转膜后,TBST充分清洗,分别用一抗 β -actin(1:10 000)、IRS1(1:10 000)、PI3K(1:3 000)、Akt(1:1 000)、p-Akt(1:5 000)4℃孵育过夜。第2天,TBST充分洗涤条带后,在室温条件下使用二抗(1:10 000)摇床孵育1 h。(孵育完成后,将一抗、二抗回收)。将条带充分洗涤干净后加入ECL发光液显色,全使用自动化学发光图像分析系统曝光,保存图像。采用Image J软件分析灰度值。

2.3 统计学方法 采用IBM SPSS Statistics 27软件对数据进行统计分析,采用单因素方差分析对不同组间的数据进行比较,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 二冬汤对各组小鼠体质量、FBG的影响

与空白组比较,模型组小鼠体质量显著降低($P<0.01$),FBG显著升高($P<0.01$);干预8周后,与模型组比较,二甲双胍组、二冬汤高、中、低剂量组小鼠体型增加,体质量明显增加($P<0.05$, $P<0.01$),FBG显著降低,差异有统计学意义($P<0.01$)。见表1。

表1 二冬汤对各组小鼠体质量、FBG的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 1 Effect of Erdong Tang on body mass and fasting blood glucose of mice in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	体质量/g		FBG/mmol·L ⁻¹	
		给药前	给药后	给药前	给药后
空白组		22.47±0.06	25.53±0.31	4.77±0.15	5.20±0.61
模型组		27.97±0.32	22.90±0.85 ²⁾	23.83±2.75	23.93±3.90 ²⁾
二甲双胍组	0.15	23.93±0.38	31.10±0.57 ⁴⁾	19.60±4.03	9.57±0.85 ⁴⁾
二冬汤高剂量组	22.64	24.77±1.10	30.80±0.20 ⁴⁾	19.27±1.07	10.21±0.72 ⁴⁾
二冬汤中剂量组	11.32	23.73±0.71	26.93±0.15 ⁴⁾	19.63±0.90	11.90±1.06 ⁴⁾
二冬汤低剂量组	5.66	24.80±1.75	27.43±1.80 ³⁾	21.40±1.93	13.10±1.06 ⁴⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与模型组比较³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$ (表2-表6同)

3.2 二冬汤对各组小鼠口服葡萄糖耐量测试(OGTT)的影响 干预8周后,对各组小鼠进行OGTT。与空白组比较,模型组小鼠在每个时间点的OGTT显著升高($P<0.01$);与模型组比较,二甲双胍组及二冬汤高、中、低剂量组小鼠OGTT明显下降($P<0.05$, $P<0.01$)。见表2。

3.3 二冬汤对各组小鼠FINS、HOMA-IR的影响

与空白组比较,模型组小鼠FINS、HOMA-IR显著上升($P<0.01$);与模型组比较,二甲双胍组、二冬汤高、中、低剂量组小鼠FINS、HOMA-IR显著下降($P<0.01$)。见表3。

3.4 二冬汤对各组小鼠肝脏质量、肝脏系数影响

与空白组比较,模型组小鼠肝脏质量、肝脏系数增加($P<0.01$);与模型组比较,二甲双胍组及二冬汤高、中、低剂量组小鼠肝脏质量、肝脏系数明显降低($P<0.05$, $P<0.01$)。见表4。

3.5 二冬汤对各组小鼠HDL-C、LDL-C、TG、TC的影响

与空白组比较,模型组小鼠LDL-C、TC、TG含量明显增多($P<0.01$),HDL-C含量明显减少,差异有统计学意义($P<0.01$);与模型组比较,二甲双胍组及二冬汤高、中剂量组小鼠HDL-C含量显著增加,差异有统计学意义($P<0.01$),二冬汤低剂量

表2 二冬汤对各组小鼠OGTT的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Effect of Erdong Tang on OGTT of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)							mmol·L ⁻¹
组别	剂量/g·kg ⁻¹	0 min	30 min	60 min	90 min	120 min	
空白组		5.32±0.42	6.41±0.34	6.31±0.56	5.87±0.71	5.47±0.47	
模型组		21.75±3.63 ²⁾	30.34±4.18 ²⁾	27.67±4.35 ²⁾	25.49±3.21 ²⁾	23.16±2.73 ²⁾	
二甲双胍组	0.15	10.75±1.32 ⁴⁾	18.38±1.46 ⁴⁾	15.24±1.58 ⁴⁾	13.89±2.03 ⁴⁾	12.17±2.36 ⁴⁾	
二冬汤高剂量组	22.64	11.69±1.79 ⁴⁾	20.24±1.52 ⁴⁾	17.93±1.28 ⁴⁾	15.76±1.81 ⁴⁾	13.82±0.96 ⁴⁾	
二冬汤中剂量组	11.32	13.29±0.76 ⁴⁾	21.86±1.31 ⁴⁾	19.17±1.24 ⁴⁾	17.07±1.79 ⁴⁾	15.68±1.46 ⁴⁾	
二冬汤低剂量组	5.66	14.73±1.76 ⁴⁾	23.16±1.25 ⁴⁾	21.37±1.84 ³⁾	18.75±1.80 ³⁾	18.03±1.17 ³⁾	

表3 二冬汤对各组小鼠FINS、HOMA-IR的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Effect of Erdong Tang on FINS and HOMA-IR of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=3$)			
组别	剂量/g·kg ⁻¹	FINS/mU·L ⁻¹	HOMA-IR/%
空白组		18.63±0.48	5.80±0.15
模型组		32.58±0.48 ²⁾	37.36±0.55 ²⁾
二甲双胍组	0.15	24.70±0.31 ⁴⁾	14.82±0.19 ⁴⁾
二冬汤高剂量组	22.64	20.03±0.72 ⁴⁾	9.35±0.34 ⁴⁾
二冬汤中剂量组	11.32	23.70±0.27 ⁴⁾	14.01±0.16 ⁴⁾
二冬汤低剂量组	5.66	30.72±0.64 ⁴⁾	20.34±0.43 ⁴⁾

表4 二冬汤对各组小鼠肝脏质量、肝脏系数的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 4 Effect of Erdong Tang on liver weight and liver coefficient of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)			
组别	剂量/g·kg ⁻¹	肝脏/g	肝脏系数/%
空白组		0.98±0.11	3.70±0.32
模型组		1.53±0.24 ²⁾	6.89±0.81 ²⁾
二甲双胍组	0.15	1.03±0.11 ⁴⁾	5.14±0.22 ⁴⁾
二冬汤高剂量组	22.64	1.02±0.10 ⁴⁾	4.61±0.05 ⁴⁾
二冬汤中剂量组	11.32	1.13±0.07 ⁴⁾	5.38±0.21 ⁴⁾
二冬汤低剂量组	5.66	1.25±0.12 ³⁾	5.51±0.31 ³⁾

组小鼠HDL-C水平较模型组差异无统计学意义,二甲双胍组及二冬汤高、中、低剂量组小鼠LDL-C、

TC、TG含量明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$)。见表5。

表5 二冬汤对各组小鼠HDL-C、LDL-C、TG、TC的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 5 Effect of Erdong Tang on HDL-C, LDL-C, TG and TC of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=3$)						mmol·L ⁻¹
组别	剂量/g·kg ⁻¹	LDL-C	HDL-C	TG	TC	
空白组		0.29±0.02	2.46±0.02	0.49±0.02	1.71±0.06	
模型组		0.62±0.09 ²⁾	1.44±0.10 ²⁾	0.91±0.02 ²⁾	3.59±0.19 ²⁾	
二甲双胍组	0.15	0.34±0.04 ⁴⁾	2.29±0.03 ⁴⁾	0.49±0.04 ⁴⁾	2.15±0.06 ⁴⁾	
二冬汤高剂量组	22.64	0.20±0.03 ⁴⁾	2.19±0.07 ⁴⁾	0.59±0.03 ⁴⁾	1.87±0.06 ⁴⁾	
二冬汤中剂量组	11.32	0.31±0.04 ⁴⁾	1.67±0.06 ⁴⁾	0.60±0.04 ⁴⁾	2.28±0.05 ⁴⁾	
二冬汤低剂量组	5.66	0.52±0.05 ³⁾	1.61±0.04	0.62±0.04 ⁴⁾	2.25±0.18 ⁴⁾	

3.6 二冬汤各组小鼠IL-6、TNF- α 、ROS的影响
与空白组比较,模型组小鼠IL-6、TNF- α 、ROS增加,差异有统计学意义($P<0.01$);与模型组比较,二

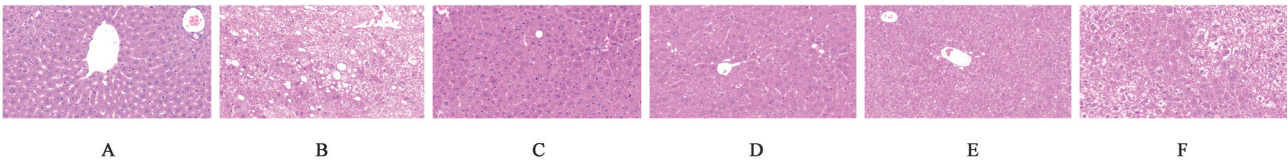
甲双胍组及二冬汤中、高剂量组小鼠IL-6、TNF- α 、ROS明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$)。见表6。

表6 二冬汤对各组小鼠IL-6、TNF- α 、ROS的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 6 Effect of Erdong Tang on IL-6, TNF- α and ROS in various groups of mice ($\bar{x} \pm s, n=3$)				
组别	剂量/g·kg ⁻¹	IL-6/ng·L ⁻¹	TNF- α /ng·L ⁻¹	ROS/U·mL ⁻¹
空白组		28.35±1.26	120.30±13.01	85.96±9.11
模型组		85.10±2.19 ²⁾	263.30±16.30 ²⁾	255.52±6.11 ²⁾
二甲双胍组	0.15	30.40±1.60 ⁴⁾	141.35±8.60 ⁴⁾	138.65±4.75 ⁴⁾
二冬汤高剂量组	22.64	31.56±1.23 ⁴⁾	145.78±7.62 ⁴⁾	146.83±6.65 ⁴⁾
二冬汤中剂量组	11.32	44.27±1.89 ⁴⁾	212.37±12.30 ³⁾	180.98±2.09 ⁴⁾
二冬汤低剂量组	5.66	56.39±2.57 ⁴⁾	222.47±17.49	184.13±7.74 ⁴⁾

3.7 二冬汤对各组小鼠肝脏组织病理变化的影响 各组小鼠肝脏HE染色结果显示,空白组小鼠肝小叶结构完整、清晰,肝细胞为多边形,呈索状排列,边界清晰,肝细胞核大而圆,核膜清晰,未见明显脂肪变形和炎症细胞浸润。与空白组比较,模型组小鼠肝小叶形态不清晰,肝细胞排列紊乱,边界模糊,肝细胞核增大,核膜不清晰,

出现明显脂肪变性,表现为细胞内出现不一的脂滴空泡,出现炎症细胞浸润。干预8周后,与模型组比较,二甲双胍组、二冬汤组小鼠肝小叶结构及肝细胞形态趋于正常、排列较规则,脂肪变性和炎症细胞浸润得到明显改善,二甲双胍组、二冬汤高剂量组>二冬汤中剂量组>二冬汤低剂量组。见图1。



注:A.空白组;B.模型组;C.二甲双胍组;D.二冬汤高剂量组;E.二冬汤中剂量组;F.二冬汤低剂量组(图2同)

图1 二冬汤改善了T2DM小鼠肝脏脂肪变性及炎症细胞浸润(HE,×400)

Fig. 1 Erdong Tang ameliorates hepatic steatosis and inflammatory cell infiltration in T2DM mice (HE,×400)

3.8 二冬汤对各组小鼠肝脏组织中IRS-1/PI3K/Akt通路的影响 与空白组比较,模型组小鼠IRS1、PI3K、Akt、p-Akt/Akt蛋白表达显著减少,差异具有统计学意义($P<0.01$);与模型组比较,二甲双胍组、二冬汤高、中、低剂量组小鼠p-Akt/Akt蛋白表达显

著升高,差异具有统计学意义($P<0.01$),二甲双胍组、二冬汤高、中剂量组小鼠IRS1、PI3K、Akt蛋白表达明显升高($P<0.05$, $P<0.01$),二冬汤低剂量组小鼠IRS1、PI3K、Akt蛋白表达水平较模型组无统计学意义。见表7、图2。

表7 二冬汤对各组小鼠肝脏组织中IRS-1、PI3K、Akt、p-Akt的影响($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Table 7 Effect of Erdong Tang on IRS-1, PI3K, p-Akt and Akt in liver tissues of mice in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	IRS-1/ β -actin	PI3K/ β -actin	Akt/ β -actin	p-Akt/Akt
空白组		0.51 ± 0.03	0.58 ± 0.01	0.76 ± 0.11	1.16 ± 0.04
模型组		$0.06\pm 0.02^{2)}$	$0.09\pm 0.04^{2)}$	$0.33\pm 0.02^{2)}$	$0.24\pm 0.10^{2)}$
二甲双胍组	0.15	$0.40\pm 0.06^{4)}$	$0.49\pm 0.040^{4)}$	$0.64\pm 0.05^{4)}$	$0.95\pm 0.09^{4)}$
二冬汤高剂量组	22.64	$0.37\pm 0.04^{4)}$	$0.45\pm 0.051^{4)}$	$0.68\pm 0.10^{4)}$	$0.97\pm 0.05^{4)}$
二冬汤中剂量组	11.32	$0.25\pm 0.05^{4)}$	$0.30\pm 0.09^{3)}$	$0.48\pm 0.05^{3)}$	$0.84\pm 0.06^{4)}$
二冬汤低剂量组	5.66	0.12 ± 0.00	0.16 ± 0.07	0.38 ± 0.02	$0.61\pm 0.05^{4)}$

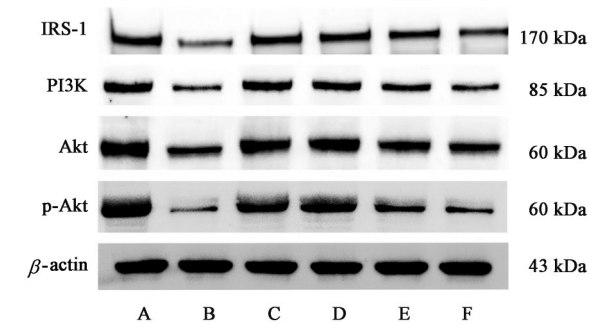


图2 各组小鼠肝脏IRS-1、PI3K、Akt、p-Akt蛋白电泳

Fig. 2 Protein electrophoresis of IRS-1, PI3K, Akt and p-Akt in liver of mice in each group

4 讨论

糖脂代谢紊乱是T2DM的主要表现,若高血糖状态不能及时纠正,长期以来会损伤器官,引起心

血管疾病、肾脏疾病、神经疾病等并发症的出现^[11]。现代研究表明,二冬汤可以改善T2DM小鼠的糖脂代谢紊乱^[12],但具体的机制尚不明确。本研究表明二冬汤可能通过激活IRS-1/PI3K/Akt,改善T2DM小鼠糖脂代谢紊乱,减轻氧化应激及炎症反应。

血糖升高是诊断糖尿病的核心指标之一,糖耐量可以反映机体对葡萄糖的调节能力,同样也是诊断糖尿病的核心指标之一。实验结果显示,与模型组比较,二冬汤给药组的小鼠的体质量、FBG、FINS、HOMA-IR及各个时间段的OGTT显著降低,提示二冬汤可以改善T2DM小鼠的糖代谢异常及糖耐量。有研究表明,糖代谢异常可以通过降低胰岛素利用率和生成脂溶性激素途径使机体脂肪细胞脂解加快,使更多的游离脂肪酸释放入血,这些

游离脂肪酸在肝脏的作用下形成TG, TG由极低密度脂蛋白(VLDL)的形式进入血液中, 使TG升高; 同时机体对LDL的清除速率减慢, 对HDL的合成减少及清除增加, 因此导致LDL升高、HDL减少^[13]。过量的TG在肝脏进一步积累导致脂肪肝的形成, 进一步加重糖脂代谢紊乱^[14]。实验结果显示, 与模型组比较, 二冬汤给药组的小鼠的LDL、HDL、TC、TG、肝脏系数、肝脏质量, 肝脏病理组织脂肪病变得改善, 提示二冬汤可以改善T2DM小鼠脂代谢异常。

糖脂代谢紊乱会引起炎症反应和氧化应激, 肝脏中脂质的异常沉积使脂肪细胞出现肥大和增生, 这些异常脂肪细胞分泌如IL-6、TNF- α 的炎症因子。这些炎症因子还可以导致脂质线粒体功能发生障碍, 出现氧化损伤, 最终导致肝脏脂质进一步沉积及血清中LDL、TC、TG的进一步升高^[15]。过量的ROS提示机体处于氧化应激状态, ROS会影响外周组织对葡萄糖的利用, 进一步加重糖代谢紊乱^[16]。实验结果显示, 与模型组比较, 二冬汤给药组的小鼠的IL-6、TNF- α 、ROS显著降低, 肝脏病理组织中炎症细胞浸润减少, 提示二冬汤可以改善T2DM小鼠的氧化应激和炎症反应。

肝脏作为发挥胰岛素作用的关键靶器官, 通过调节糖原合成及糖异生来维持血糖稳定^[17]。胰岛素首先抵达肝脏, 作用于肝细胞上的胰岛素受体, 激活胰岛素信号通路, 促进糖原合成, 抑制糖异生, 最终实现对血糖的精准调控^[18]。IRS-1/PI3K/Akt在调节肝脏胰岛素信号传导发挥主要作用, 表现为参与对葡萄糖和脂质的代谢。研究发现, 胰岛 β 细胞分泌的胰岛素与位于细胞膜中的胰岛素受体结合后, IRS-1发生酪氨酸磷酸化, 磷酸化后的IRS-1激活PI3K/Akt信号通路, PI3K被激活后, 磷脂酰肌醇4, 5-二磷酸(PIP2)发生磷酸化, 生成磷脂酰肌醇3, 4, 5-三磷酸(PIP3), 与Akt结合后发生生物效应。活化后的Akt是IRS-1/PI3K/Akt信号通路下游的关键蛋白, 可以调节糖脂代谢^[19]。具体来说, 磷酸化后的Akt可以抑制为糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β)的酶活性, 提高糖原合酶的活性, 从而促进肝脏糖原合成, 活化后的Akt可以抑制葡萄糖-6-磷酸酶(G6Pase)和磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(PEPCK)的活性, 影响肝脏糖异生^[20-21]。IRS-1/PI3K/Akt信号通路不仅能影响糖代谢, 还可以通过影响胆固醇调节元件结合蛋白(SREBP)的转录, 调控总胆固醇(TC)和游离脂肪酸(FFA)的合成、调节甘油三酯

(TG)的代谢, 从而改善脂质代谢^[22]。当该信号通路传递障碍及相关蛋白分子异常均能导致糖脂代谢出现紊乱^[23]。炎症反应、氧化应激反应均能导致IRS-1/PI3K/Akt信号通路障碍及相关靶蛋白发生异常, 使肝脏调节血糖、血脂能力减弱, 出现糖脂代谢紊乱^[24-25]。慢性低度炎症是T2DM发生发展的关键因素之一, 炎症因子中IL-6可以通过降解IRS-1, 影响胰岛素信号传递途径; TNF- α 可以通过抑制IRS-1、Akt的磷酸化, 阻碍胰岛素传递通路, 同时TNF- α 还可以通过级联反应, 使其他促炎因子增加, 进一步加重炎症反应^[26]。TNF- α 、IL-6等炎症因子增多会进一步影响胰岛素信号传递途径, 加重T2DM^[20]。氧化应激同样也是T2DM发生发展的关键因素之一, 肝脏是极易受到氧化损伤的器官^[27-28]。ROS可以抑制IRS-1的磷酸化, 影响胰岛素信号传递^[15]。实验结果显示, T2DM模型小鼠肝脏内IRS-1、PI3K、Akt、p-Akt/Akt蛋白表达显著降低, 经二冬汤干预后蛋白表达显著增加, 提示二冬汤对T2DM小鼠的治疗效果可能是因为激活了IRS-1/PI3K/Akt信号通路, 一方面可能通过激活T2DM小鼠肝脏IRS-1/PI3K/Akt信号通路, 抑制G6Pase、PEPCK及GSK-3 β 活性, 阻碍肝脏糖异生和促进肝糖原合成; 另一方面通过改善T2DM小鼠脂肪变性、炎症反应及氧化应激来减轻对该通路的抑制, 增强胰岛素敏感性。然而, 由于实验周期等原因, 对二冬汤作用机制的探索深度尚浅, 特别是信号通路上下游关键效应分子的调控关系未系统阐明, 未来可增加体外实验及使用转录组学、代谢组学等多组学研究方法来系统解析信号通路调控网络。

综上所述, 本研究通过动物实验证实二冬汤可以改善T2DM小鼠糖脂代谢、炎症反应及氧化应激, 初步揭示了其作用机制可能与IRS-1/PI3K/Akt信号通路激活有关, 为其作为治疗2型糖尿病糖脂代谢紊乱提供了分子层面的实验依据, 更为经典名方现代化开发提供了创新靶点与理论支撑。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 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: 109119.
- [2] ONG K L, STAFFORD L K, MCLAUGHLIN S A, et al. Global, regional, and national burden of diabetes from 1990 to 2021, with projections of prevalence to 2050: A systematic

- analysis for the Global Burden of Disease Study 2021 [J]. *Lancet*, 2023, 402(10397): 203-234.
- [3] KUPRIYANOVA Y, ZAHARIA O P, BOBROV P, et al. Early changes in hepatic energy metabolism and lipid content in recent-onset type 1 and 2 diabetes mellitus [J]. *J Hepatol*, 2021, 74(5): 1028-1037.
- [4] 师美凤. 二冬汤对糖尿病前期患者胰腺 β 细胞功能的影响[J]. *云南中医中药杂志*, 2016, 37(5): 39-40.
- SHI M F. Effect of Erdong decoction on pancreatic beta-cell function in patients with pre-diabetes mellitus [J]. *Yunnan J Tradit Chin Med Mater Med*, 2016, 37(5): 39-40.
- [5] 李少锋, 杜少辉. 甘桔二冬汤治疗糖尿病便秘的临床研究[J]. *广州中医药大学学报*, 2019, 36(8): 1133-1136.
- LI S F, DU S H. Clinical efficacy of Ganjie Erdong decoction for diabetic constipation: A prospective cohort study [J]. *J Guangzhou Univ Tradit Chin Med*, 2019, 36(8): 1133-1136.
- [6] 徐雯珺, 华文进, 陈慧, 等. 滋水清肝饮加减联合二冬汤加减少对糖尿病合并甲状腺功能亢进症患者内分泌代谢的影响[J]. *陕西中医*, 2022, 43(6): 736-739.
- XU W J, HUA W J, CHEN H, et al. Effects of modified Zishui Qinggan decoction combined with modified Erdong decoction on endocrine-metabolic parameters in patients with diabetes mellitus and hyperthyroidism [J]. *Shaanxi J Tradit Chin Med*, 2022, 43(6): 736-739.
- [7] 张辽, 高金超, 闫丽梅. 常规西医疗法联合二冬汤加减治疗糖尿病视网膜病变的临床分析[J]. *糖尿病新世界*, 2023, 26(17): 159-162.
- ZHANG L, GAO J C, YAN L M. Clinical analysis of conventional western medicine therapy combined with modified Erdong decoction in treating diabetic retinopathy [J]. *Diabetes New World*, 2023, 26(17): 159-162.
- [8] 黄璐. 加减二冬汤治疗糖尿病肾病CKD2-3期气阴两虚证的临床研究[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2024: 7-11.
- HUANG L. Clinical study on modified Erdong decoction for stage 2-3 diabetic kidney disease with Qi-Yin deficiency syndrome [D]. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine, 2024: 7-11.
- [9] 王杨, 姜立娟, 崔巍, 等. 补阳还五汤防治2型糖尿病小鼠骨骼肌病变的作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(14): 10-16.
- WANG Y, JIANG L J, CUI W, et al. Therapeutic effects of Buyang Huanwu decoction on skeletal muscle myopathy in type 2 diabetic mice [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2024, 30(14): 10-16.
- [10] 张月颖, 张珊, 温志歌, 等. 肾气丸加减小鼠胰岛 β 细胞PI3K/Akt/GSK-3 β 信号通路的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2024, 39(11): 5875-5882.
- ZHANG Y Y, ZHANG S, WEN Z G, et al. Effects of modified Shenqi pill on the PI3K/Akt/GSK-3 β signaling pathway in pancreatic β -cells of type 2 diabetic mice [J]. *Chin J Trad Chin Med Pharm*, 2024, 39(11): 5875-5882.
- [11] SUN L, ZHOU Y B, ZHANG M G, et al. Association of major chronic noncommunicable diseases and life expectancy in China, 2019 [J]. *Healthcare*, 2022, 10(2): 296.
- [12] 袁新国, 谢梦洲, 杨英, 等. 二冬汤和有氧运动对2型糖尿病大鼠糖代谢和脂代谢的影响[J]. *重庆医学*, 2018, 47(28): 3610-3613.
- YUAN X G, XIE M Z, YANG Y, et al. Effects of Erdong decoction combined with aerobic exercise on glucose and lipid metabolism in type 2 diabetic rats [J]. *Chongqing Med J*, 2018, 47(28): 3610-3613.
- [13] 朱海瑀, 管洪艺, 闫慧新, 等. 中医药通过调控PI3K/Akt信号通路防治2型糖尿病肝脏胰岛素抵抗的研究进展[J]. *吉林中医药*, 2023, 43(11): 1356-1360.
- ZHU H Y, GUAN H Y, YAN H X, et al. Research advances in traditional Chinese medicine for preventing and treating hepatic insulin resistance in type 2 diabetes via PI3K/Akt signaling pathway regulation [J]. *Jilin J Chin Med*, 2023, 43(11): 1356-1360.
- [14] NIE K X, GAO Y, CHEN S, et al. Diosgenin attenuates non-alcoholic fatty liver disease in type 2 diabetes through regulating SIRT6-related fatty acid uptake [J]. *Phytomedicine*, 2023, 111: 154661.
- [15] 王晓艳, 李伟霞, 张辉, 等. 五味子-甘草配伍的调血脂作用及对甘油三酯合成途径的影响[J]. *中国药理学通报*, 2021, 37(1): 136-142.
- WANG X Y, LI W X, ZHANG H, et al. Hypolipidemic effects of *Schisandra-Glycyrrhiza* herb pair: Modulation on triglyceride biosynthesis pathway [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2021, 37(1): 136-142.
- [16] NIU F L, LIU W X, REN Y Y, et al. β -cell neogenesis: A rising star to rescue diabetes mellitus [J]. *J Adv Res*, 2024, 62: 71-89.
- [17] HEEREN J, SCHEJA L. Metabolic-associated fatty liver disease and lipoprotein metabolism [J]. *Mol Metab*, 2021, 50: 101238.
- [18] SANDOVAL D A, PATTI M E. Glucose metabolism after bariatric surgery: Implications for T2DM remission and hypoglycaemia [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2023, 19(3): 164-176.
- [19] CAO M Y, WANG J, JIANG X Y, et al. Phenolic constituents from black quinoa alleviate insulin resistance in HepG2 cells via regulating IRS1/PI3K/Akt/GLUTs signaling pathways [J]. *J Agric Food Chem*, 2023, 71(48): 18780-18791.
- [20] LI X Q, LI X X, WANG G B, et al. Xiao Ke Qing improves glycometabolism and ameliorates insulin resistance by regulating the PI3K/Akt pathway in KKAY mice [J]. *Front Med*, 2018, 12(6): 688-696.
- [21] ZHANG H J, GAO X, LI K L, et al. Sandalwood seed oil ameliorates hepatic insulin resistance by regulating the JNK/NF- κ B inflammatory and PI3K/Akt insulin signaling pathways [J]. *Food Funct*, 2021, 12(5): 2312-2322.
- [22] GOWRIKUMAR S, BASTOLA D, SINGH A B, et al. Claudin-1 enhances lipid droplet accumulation to promote

- dysplasia by Akt/SREBP-1c signaling[J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(6S1):S-213.
- [23] 李斌,范源,李鑫. 基于PI3K/Akt信号通路的中药治疗2型糖尿病胰岛素抵抗研究进展[J]. *中成药*, 2017, 39(1):151-154.
- LI B, FAN Y, LI X. Research advances in traditional Chinese medicine for type 2 diabetes insulin resistance via PI3K/Akt signaling pathway: From molecular mechanisms to clinical translation[J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2017, 39(1): 151-154.
- [24] HUANG X J, LIU G H, GUO J, et al. The PI3K/Akt pathway in obesity and type 2 diabetes[J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(11):1483-1496.
- [25] 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.
- [26] 侯黎明,刘迎见,舒闪闪. 2型糖尿病患者外周血单个核细胞miR-18a、miR-125b相对表达水平与糖脂代谢、炎症因子及胰岛素抵抗的关系研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2021, 42(18):2190-2194, 2199.
- HOU L M, LIU Y J, SHU S S. Association of miR-18a and miR-125b expression in peripheral blood mononuclear cells with glycolipid metabolism, inflammatory cytokines, and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus patients[J]. *Int J Lab Med*, 2021, 42(18):2190-2194, 2199.
- [27] 王姗,黄举凯,温雅璐,等. 益消方经转化生长因子 β_1 信号通路干预糖尿病合并脂肪肝的实验研究[J]. *世界中医药*, 2024, 19(11):1625-1631.
- WANG S, HUANG J K, WEN Y L, et al. Experimental study on Yixiao formula intervening in diabetes mellitus complicated with fatty liver via transforming growth factor β_1 signaling pathway[J]. *World Chin Med*, 2024, 19(11):1625-1631.
- [28] CHEN J, DING X Q, WU R Y, et al. Novel sesquiterpene glycoside from loquat leaf alleviates type 2 diabetes mellitus combined with nonalcoholic fatty liver disease by improving insulin resistance, oxidative stress, inflammation, and gut microbiota composition[J]. *J Agric Food Chem*, 2021, 69(47):14176-14191.
- [责任编辑 周冰冰]