

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2020.02.014

参芪复方对糖尿病血糖波动模型大鼠胰腺组织生物钟相关基因与肠道菌群的影响

刘桢^{*}, 张翕宇, 康健, 晁俊, 高泓, 王钧冬, 谢春光

成都中医药大学附属医院, 四川省成都市十二桥路 37 号, 610075

摘要 目的 探讨参芪复方对糖尿病血糖波动模型大鼠血糖稳态的影响及可能作用机制。方法 30 只自发性 2 型糖尿病 GK 大鼠随机分为模型组、参芪复方组和西格列汀组, 每组 10 只, 均予高脂饲料喂养 4 周建立血糖波动模型; 10 只 Wistar 大鼠设为正常组, 予普通饲料喂养 4 周。造模成功后参芪复方组给予参芪复方浸膏 1.44 g/(kg·d) 灌胃, 西格列汀组给予西格列汀片悬液 16 mg/(kg·d) 灌胃, 正常组、模型组给予生理盐水 5 ml/(kg·d) 灌胃, 均连续 8 周。大鼠尾静脉取血, 测 1 日内 8:00、10:00、14:00、16:00、18:00 5 次血糖水平, 计算一日血糖平均水平 (MBG)、最大血糖波动幅度 (LAGE)、平均血糖的标准差 (SDBG); 实时荧光定量 PCR 法检测胰腺组织生物钟相关基因 *Id2*、*Usp2*、*CRY1*、*DBP* mRNA 表达; 运用 16S rDNA 基因测序分析各组大鼠肠道菌群属水平分布情况。结果 与正常组比较, 其余各组大鼠 MBG、SDBG 升高, 模型组和参芪复方组 LAGE 亦升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 参芪复方组和西格列汀组大鼠 MBG、SDBG、LAGE 均降低 ($P < 0.01$), 西格列汀组在降低 SDBG、LAGE 方面优于参芪复方组 ($P < 0.01$)。与正常组比较, 模型组大鼠 *Usp2*、*CRY1* mRNA 表达及丁酸菌属水平均降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型组比较, 参芪复方组和西格列汀组大鼠 *Id2* mRNA 表达降低, *Usp2*、*CRY1* mRNA 表达升高, 拟杆菌属、丁酸菌属水平亦升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 各组 *DBP* mRNA 表达、布劳特氏菌属和罗氏菌属水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 参芪复方可能通过调节血糖波动模型大鼠胰腺组织生物钟相关基因的表达及肠道菌群菌属的分布, 从而调节血糖稳态。

关键词 糖尿病; 血糖波动; 参芪复方; 生物钟; 肠道菌群; 昼夜节律

2 型糖尿病患者由于胰岛功能损伤、自身调节血糖机制减弱, 导致空腹和餐后血糖波动幅度增大, 日内及日间血糖波动幅度分别是正常血糖人群的 3 倍和 2.5 倍^[1]。相关研究^[2]表明, 波动性高血糖危害比稳定性高血糖更大。生物钟是维持体内葡萄糖代谢平衡所必需的机能, 生物钟网络在多个层面调节糖代谢^[3]。肠道菌群参与宿主的营养吸收、能量代谢、免疫等生理过程, 宿主的昼夜节律被破坏后可引起肠道菌群昼夜节律性振荡改变, 同时宿主昼夜节律也受肠道菌群昼夜节律影响, 这种双向作用已经成为研究机体代谢的重要切入点^[4]。既往研究^[5]表明, 参芪复方具有控制血糖、保护血管等多重作用。本实验在前期研究的基础上, 以高脂饮食喂养自发性 2 型糖尿病 GK 大鼠作为血糖波动模

型, 探究参芪复方对其生物钟及肠道菌群的影响, 旨在揭示参芪复方干预血糖波动的可能分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

SPF 级雄性自发性 2 型糖尿病 GK 大鼠 40 只, 平均体重 (310.4 ± 14.2) g, 5 月龄, 中国科学院上海实验动物中心提供, 实验动物许可证号: SCXK (沪) 2012-0002。SPF 级雄性 Wistar 大鼠 10 只, 5 月龄, 平均体重 (341.1 ± 18.5) g, 成都达硕实验动物有限公司提供, 实验动物许可证号: SCXK (川) 2015-030。实验动物饲养于四川省中医药科学院实验动物中心, 12 h 光照维持, 相对湿度 55% ~ 60%, 室温 22 ~ 23℃, 昼夜循环。实验期间大鼠自由饮水、摄食。

高脂饲料配方为猪胆盐 0.3%、胆固醇 1.5%、精炼猪油 10%、普通饲料 88.2%, 由四川省中医

基金项目: 国家自然科学基金(81503566)

* 通讯作者: liuyaya918@163.com

药科学院实验动物中心提供。

1.2 药物

参芪复方药物组成: 人参 15 g, 黄芪 15 g, 天花粉 10 g, 生地黄 10 g, 丹参 10 g, 山药 10 g, 山萸肉 10 g, 熟地黄 6 g。参芪复方浸膏每毫升含 1.44 g 生药, 由成都中医药大学附属医院药剂科生产。西格列汀片 (磷酸西格列汀片, 批号: R010527, 规格: 100 mg), 默沙东公司。

1.3 主要试剂及仪器

总 RNA 提取试剂盒 (货号: 9109), 美国 Invitrogen 公司; SYBR Green qPCR Mastermix (货号: 4368708), 美国 ABI 公司; 反转录试剂盒 (货号: FSQ-101), TOYOBO 公司; ThermalStat Plus (货号: 5352 000.088), 德国 Eppendorf 公司; 高灵敏度 DNA 试剂盒 (货号: 5067-4626), 美国安捷伦科技有限公司; dsDNA HS 检测试剂盒 (货号: Q32854), 美国英杰生命技术有限公司; Agencourt AMPure XP Beads (货号: A63881), 美国 Beckman Coulter 公司; 高保真聚合酶 (货号: 2612), 美国罗氏公司; MiSeq Reagent 试剂盒 v3 (货号: MS-102-3003)、MiSeq Reagent 试剂盒 v2 (货号: MS-102-2003), 美国 Illumina MiSeq 公司。

9700 型 GeneAmp PCR 系统, 美国 Life Technologies 公司; Qubit 2.0 荧光计, 美国 Invitrogen 有限公司; 2100 型生物分析仪, 美国 Agilent 公司; ND-4000 型全波长紫外/可见光扫描分光光度计, Nanodrop 公司; 稳豪倍易型血糖仪, 美国强生公司; DM4000B 型荧光显微镜, LEICA 公司; 7900 HT 型定量 PCR 仪, 美国 ABI 公司。

1.4 动物分组与干预方法

40 只 GK 大鼠适应性喂养 4 周, 两次随机血糖 ≥ 11.1 mmol/L 的 30 只大鼠纳入实验, 根据随机数字表分为模型组、参芪复方组和西格列汀组, 每组 10 只。各组均予高脂饲料喂养 4 周建立血糖波动模型^[6-7]。10 只 Wistar 大鼠设为正常组, 予普通饲料喂养 4 周。造模成功后参芪复方组给予 1.44 g/(kg·d) 灌服参芪复方浸膏, 西格列汀组给予西格列汀片悬液 16 mg/(kg·d) 灌胃, 正常组、模型组按 5 ml/(kg·d) 灌服生理盐水。每周定时测大鼠体重, 并根据体重变化调整灌胃量, 连续给药 8 周。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 血糖波动指标检测 灌胃 8 周后用血糖仪测 1 日内 8:00、10:00、14:00、16:00、18:00 5 次血糖水平, 用一日血糖平均水平 (MBG)、最

大血糖波动幅度 (LAGE)、平均血糖的标准差 (SDBG) 量化各组大鼠血糖稳定性。

1.5.2 实时荧光定量 PCR 法测定胰腺组织生物钟相关基因表达 取大鼠胰腺标本 50~100 mg, 按总 RNA 提取试剂盒要求提取总 RNA, 紫外分光光度法和凝胶电泳法判定总 RNA 纯度并计算 RNA 的浓度; 将总 RNA 反转录成相应的 cDNA, cDNA 按一定顺序排好后, 即可加至以 SYBR Green qPCR Mastermix 配好的反应体系中; 以 95℃ 预变性 90 s、退火 10 s、72℃ 延伸 15 s 为条件进行实时定量 PCR, 共 45 个循环。比较生物钟节律相关基因 Id2、Usp2、CRY1、DBP mRNA 表达量差异, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析目的基因的相对表达量。运用 Primer Express 3.0.1 软件设计引物序列, 由上海生工生物工程股份有限公司合成。Id2: 上游 GAGCTTATGTCTGAATGACAGCAA, 下游 AAGGAAAAAGTCCCAAATGC, 扩增片断 67 bp; Usp2: 上游 AC-GAACCAGCAAGCTCAGCA, 下游 CAAATTCTCTCAAGTCCAGGTCTCT, 扩增片断 65 bp; DBP: 上游 GCAGCCAAGAGGTCGAGAGA, 下游 GGCTGCCGCACAGATAT, 扩增片断 63 bp; CRY1: 上游 TTTGACCTAATTTTGCAGTCTTTGA, 下游 AGCGTTCGCACTGATTCCA, 扩增片断 66 bp。

1.5.3 肠道菌群 16S rDNA 基因测序 各组大鼠采用随机数字表法抽取 5 只, 提尾反射法留取大鼠粪便。样本进行基因组 DNA 抽提, 所得 DNA 经 Qubit 2.0 荧光计和 0.8% 琼脂糖凝胶电泳质检。质控标准为: 电泳时必须有一条大于 10 kb 的主带, 并且主带下无明显弥散带/无降解。经质检合格的 DNA 按照 MiSeq 测序系统 (美国 Illumina MiSeq 公司) 的使用说明书准备测序试剂。将流动细胞放到测序仪上, 运用数据收集软件控制整个测序过程, 配对末端程序进行测序。根据各样本生成的操作分类单元 (OTU) 数, 对样本序列随机抽样, 以抽取的序列数及该序列所代表的 OTU 数构建曲线, 计算样本的 Alpha 多样性, 属于 α 多样性分析, 其中 Chao 和 Ace 指数是反映物种丰富度的指标; 并采用 Beta 多样性分析中 Metastats 分析方法, 检测客观宏基因组样本的差异丰度特征, 找出两个样本组中具有显著差异的微生物类型。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件, 计量资料符合正态分布以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 方差齐者采用单因素方差分析中 LSD 法检验, 方差不齐者采用 Tamhane's T^2 法检验, 组间比较采用 q 检验, 以

$P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠 MBG、SDBG、LAGE 水平比较

本实验灌胃期间,于灌胃第 44 天模型组大鼠死亡 1 只,解剖大鼠后发现肝组织存在局部脓肿,推测其死亡原因与感染诱发肝脓肿相关。表 1 示,与正常组比较,其余各组大鼠 MBG、SDBG 升高,模型组和参芪复方组 LAGE 亦升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较,参芪复方组和西格列汀组大鼠 MBG、SDBG、LAGE 均降低 ($P < 0.01$),西格列汀组在降低 SDBG、LAGE 方面优于参芪复方组 ($P < 0.01$),而两组在降低 MBG 方面差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 各组大鼠血糖波动情况比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	MBG	SDBG	LAGE
正常组	10	5.07 $\pm$ 0.95	0.67 $\pm$ 0.45	1.87 $\pm$ 1.24
模型组	9	21.47 $\pm$ 2.18*	2.62 $\pm$ 0.53*	7.35 $\pm$ 1.44*
参芪复方组	10	18.77 $\pm$ 1.40* Δ	1.92 $\pm$ 0.80* Δ	5.22 $\pm$ 2.06* Δ
西格列汀组	10	17.68 $\pm$ 0.62* Δ	1.10 $\pm$ 0.33* Δ	3.05 $\pm$ 0.99 Δ

注: MBG, 一日血糖平均水平; SDBG, 平均血糖的标准差; LAGE, 最大血糖波动幅度; 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$; 与西格列汀组比较, $\Delta P < 0.01$

2.2 各组大鼠生物钟节律相关基因比较

表 2 示,与正常组比较,模型组大鼠 Usp2、CRY1 mRNA 表达降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),DBP、Id2 mRNA 表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与模型组比较,参芪复方组和西格列汀组大鼠 Id2 mRNA 表达降低,Usp2、CRY1mRNA 表达升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),DBP mRNA 表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。参芪复方组和西格列汀组各指标组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2 各组大鼠生物钟节律相关基因 Id2、Usp2、CRY1、DBP mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	Id2	Usp2	CRY1	DBP
正常组	10	0.1110 $\pm$ 0.0468	0.0371 $\pm$ 0.0149	0.1027 $\pm$ 0.0182	0.0391 $\pm$ 0.0143
模型组	9	0.1510 $\pm$ 0.0418	0.0066 $\pm$ 0.0039*	0.0246 $\pm$ 0.0197**	0.0083 $\pm$ 0.0023
参芪复方组	10	0.0391 $\pm$ 0.0094 Δ	0.0351 $\pm$ 0.0111 Δ	0.0645 $\pm$ 0.0114 Δ	0.0167 $\pm$ 0.0029
西格列汀组	10	0.0697 $\pm$ 0.0199 Δ	0.0752 $\pm$ 0.0296 Δ	0.0686 $\pm$ 0.0103 Δ	0.1765 $\pm$ 0.0570

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta \Delta P < 0.01$

表 4 各组大鼠肠道菌群属水平 Metastats 分析结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	拟杆菌属	丁酸菌属	布劳特氏菌属	罗氏菌属
正常组	5	0.023 $\pm$ 0.018	0.0027 $\pm$ 0.0002	0.0152 $\pm$ 0.0098	0.0098 $\pm$ 0.0103
模型组	5	0.021 $\pm$ 0.015	0.0008 $\pm$ 0.0003**	0.0009 $\pm$ 0.0005	0.0016 $\pm$ 0.0011
参芪复方组	5	0.046 $\pm$ 0.005* Δ	0.0015 $\pm$ 0.0005** Δ	0.0023 $\pm$ 0.0008	0.0030 $\pm$ 0.0007
西格列汀组	5	0.044 $\pm$ 0.011* Δ	0.0014 $\pm$ 0.0004** Δ	0.0026 $\pm$ 0.0009	0.0035 $\pm$ 0.0010

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

2.3 各组大鼠粪便菌群 OTU 数及 α 多样性分析结果比较

各组大鼠粪便菌群测序深度均在 0.98 以上,表明样品中序列未被测到的概率较低,反映本次测序结果代表了样本的真实情况。表 3 示,各组大鼠 OTU 数和 Ace、Chao 指数差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.4 各组大鼠肠道菌群门水平分布情况

正常组肠道菌群主要组成: 厚壁菌门 47%, 拟杆菌门 46%, 变形菌门 3.9%, 柔膜菌门 0.6%, 放线菌门 0.01%; 模型组肠道菌群主要组成: 厚壁菌门 59%, 拟杆菌门 34%, 变形菌门 1%, 柔膜菌门 2.4%, 放线菌门 1.6%; 参芪复方组肠道菌群主要组成: 厚壁菌门 45%, 拟杆菌门 44%, 变形菌门 3%, 柔膜菌门 2.1%, 放线菌门 1.7%; 西格列汀组肠道菌群主要组成: 厚壁菌门 57%, 拟杆菌门 33%, 变形菌门 3%, 柔膜菌门 1.9%, 放线菌门 1.7%。在门水平上,各组大鼠肠道菌群中厚壁菌门和拟杆菌门为主要优势菌群,均占有较高比例。

表 3 各组大鼠粪便菌群 OTU 数及 α 多样性分析结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	OTU 数	α 多样性分析	
			Ace 指数	Chao 指数
正常组	5	929 $\pm$ 48	1560.5 $\pm$ 190.9	1364.9 $\pm$ 108.7
模型组	5	1010 $\pm$ 54	1955.8 $\pm$ 286.1	1610.6 $\pm$ 190.0
参芪复方组	5	995 $\pm$ 72	1808.7 $\pm$ 268.1	1540.6 $\pm$ 165.2
西格列汀组	5	1039 $\pm$ 47	1995.3 $\pm$ 256.9	1653.1 $\pm$ 138.1

注: OTU, 操作分类单元

2.5 各组大鼠肠道菌群属水平 Metastats 分析结果比较

表 4 示,与正常组比较,参芪复方组及西格列

汀组拟杆菌属水平升高,模型组、参芪复方组及西格列汀组丁酸菌属水平均降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较,参芪复方组及西格列汀组拟杆菌属、丁酸菌属水平均升高 ($P < 0.05$)。各组大鼠肠道菌群中布劳特氏菌属和罗氏菌属差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

糖尿病中医学称之为“消渴”,属于津液代谢障碍所致的疾病,与脾、肾关系密切,其中“脾不散精”乃糖尿病之核心病机。脾胰同居中焦,共主消化,主散精,主物质代谢,胰腺所分泌的胰岛素是“脾主散精”的物质基础^[8]。何绍奇指出“糖尿病病在胰,胰归属于脾,故绝大多数病人从脾论治,治脾即是治胰,脾的运化恢复才是真正的降糖之道。”^[9]素体阴虚,加之后天情志失调、劳逸失度、饮食不节、药物损伤等原因影响脾的正常功能,可发为消渴。而“久病不已,穷必及肾”,脾肾两虚,气化失司,升降降浊功能失常,出现水谷津液输布和利用不平衡的状态。因此,我们以养阴益气活血为法,脾肾兼顾,气机通畅,则水谷精微运化正常。参芪复方中人参、黄芪为君,益气生津,先安未受邪之地;生地、天花粉、山萸肉、山药补脾肾气阴;丹参、熟地黄活血通络而不化燥伤阴。西格列汀片具有较低的低血糖风险,安全性较好,无体重增加,作用时间长,且能改善胰岛细胞功能,减少血糖波动,调节肠道菌群^[10],故选择其为阳性对照药物。本研究结果显示,参芪复方可降低糖尿病血糖波动模型大鼠 MBG、SDBG、LABG,但在降低 SDBG、LABG 方面效果不如西格列汀片。

现代研究^[11]证实,糖尿病和生物钟节律具有相关性。昼夜失调可加速代谢综合征的发展^[12],可能会增加糖尿病的风险和炎症^[13]。连续暴露于夜间光线可引起体内明暗周期变化,破坏胰岛昼夜节律钟的功能振荡,胰岛分泌脉冲质量减少,导致葡萄糖刺激的胰岛素分泌减低^[14]。同时生物钟紊乱和饮食导致的肥胖共同促进 β 细胞衰竭,这可能是胰岛时钟受损的结果^[15]。本研究结果显示,参芪复方可上调生物钟节律相关基因 *Usp2*、*CRY1* mRNA 的表达、下调 *Id2* mRNA 表达,说明参芪复方可通过调控生物钟相关基因,从而调节血糖稳态,并且其效果与西格列汀片相当。

肠道菌群的组分和代谢呈现昼夜节律模式^[16],而高糖高脂饮食可导致肠道菌群变化。有研究^[17]表明,呈现昼夜节律震荡为相对丰度约 15% 的菌

群,占全部肠道菌群的 60%。肠道菌群在白天的节律性震荡可因为生物钟基因突变或者时差破坏宿主生物钟^[18-19]。菌群节律性变化可以影响宿主时钟基因转录和翻译等活动^[20]。因此,肠道菌群的组成和功能存在昼夜变化,时差等导致昼夜节律紊乱的因素会诱发肠道菌群失调^[21]。本研究结果显示,各组大鼠 OTU 数和 Ace、Chao 指数差异无统计学意义,说明各组菌群丰富度均较好,无明显差异。参芪复方可增加肠道拟杆菌属、丁酸菌属的相对丰度,且与西格列汀片疗效相当。肠道产丁酸菌分解产生的丁酸盐是一种重要的短链脂肪酸,可通过调节生物钟影响宿主代谢功能^[22]。因此,我们推测,参芪复方可通过调节肠道菌群,调控生物钟,影响代谢功能,从而稳定血糖波动。

参考文献

- [1] 周健,喻明,贾伟平等.应用动态血糖监测系统评估 2 型糖尿病患者日内及日间血糖波动幅度[J].中华内分泌代谢杂志,2006,22(3):286-288.
- [2] ZINMAN B, MARSO SP, POULTER NR, et al. Day-to-day fasting glycaemic variability in DEVOTE: associations with severe hypoglycaemia and cardiovascular outcomes (DEVOTE 2) [J]. Diabetologia, 2018, 61(1):48-57.
- [3] MARCHEVA B, RAMSEY KM, BASS J. Circadian genes and insulin exocytosis [J]. Cell Logist, 2011, 1(1):32-36.
- [4] 张勇跃,李华军.肠道菌群昼夜节律与宿主生物节律相互作用的研究进展[J].中国微生态学杂志,2018,30(10):1217-1220.
- [5] 晁俊.养阴益气活血法减少糖尿病 GK 大鼠血糖波动的机制探索[J].成都:成都中医药大学,2018.
- [6] 梁磊,陈立新,唐慧青,等.Ⅱ型糖尿病模型 GK 大鼠部分生物学特性观测[J].实验动物与比较医学,2011,31(2):130-133.
- [7] 陈立新,徐平,朱建国.4 月龄Ⅱ型糖尿病 GK 大鼠血糖值的日间变化[J].湖北畜牧兽医,2012(6):12-14.
- [8] 王德惠,吴贤顺,李晋宏,等.从脾虚脾不散精或散精障碍探讨糖尿病的中医病机[J].中医杂志,2014,55(22):1906-1908.
- [9] 沈桂祥.何绍奇谈糖尿病的中医治疗:纪念著名中青年中医学家何绍奇先生逝世一周年[J].中医药通报,2006,5(6):25-26.
- [10] 邹大进.二肽基肽酶Ⅳ抑制剂西格列汀上市七年循证证据回顾[J].中华糖尿病杂志,2014,6(1):62-64.
- [11] 王吉英,徐勇.糖尿病及糖尿病并发症与生物钟节律的研究进展[J].西南医科大学学报,2017,40(1):7-9.
- [12] LIN YC, HSIAO TJ, CHEN PC. Persistent rotating shift-work exposure accelerates development of metabolic syndrome among middle-aged female employees: a five-year follow-up [J]. Chronobiol Int, 2009, 26(4):740-755.

- [3] LEPROULT R, HOLMBACK U, VAN CAUTER E. Circadian misalignment augments markers of insulin resistance and inflammation, independently of sleep loss [J]. Diabetes, 2014, 63(6): 1860-1869.
- [4] QIAN J, BLOCK GD, COLWELL CS, et al. Consequences of exposure to light at night on the pancreatic islet circadian clock and function in rats [J]. Diabetes, 2013, 62(10): 3469-3478.
- [5] QIAN J, YEH B, RAKSHIT K, et al. Circadian disruption and diet-induced obesity synergize to promote development of β -cell failure and diabetes in male rats [J]. Endocrinology, 2015, 156(12): 4426-4436.
- [6] ZARRINPAR A, CHAIX A, YOOSEPH S, et al. Diet and feeding pattern affect the diurnal dynamics of the gut microbiome [J]. Cell Metab, 2014, 20(6): 1006-1017.
- [7] THAISS CA, ZEEVI D, LEVY M, et al. Transkingdom control of microbiota diurnal oscillations promotes metabolic homeostasis [J]. Cell, 2014, 159(3): 514-529.
- [8] VOIGT RM, FORSYTH CB, GREEN SJ, et al. Circadian disorganization alters intestinal microbiota [J]. PLoS One, 2014, 9(5): e97500.
- [9] LIANG X, BUSHMAN FD, FITZGERALD GA. Rhythmicity of the intestinal microbiota is regulated by gender and the host circadian clock [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2015, 112(33): 10479-10484.
- [10] THAISS CA, LEVY M, KOREM T, et al. Microbiota diurnal rhythmicity programs host transcriptome oscillations [J]. Cell, 2016, 167(6): 1495-1510.
- [11] 黑利娟, 马士芬, 徐俊荣. 昼夜节律与胃肠道动力及肠道菌群的关系 [J]. 国际消化病杂志, 2018, 38(4): 230-232.
- [12] LEONE V, GIBBONS SM, MARTINEZ K, et al. Variation of gut microbes and high-fat feeding on host circadian clock function and metabolism [J]. Cell Host Microbe, 2015, 17(5): 681-689.

Effects of *Shenqi Compound* (参芪复方) on Biological Clock Related Genes and Intestinal Flora in Pancreatic Tissue of Diabetic Glucose Fluctuation Model Rats

LIU Ya, ZHANG Xiyu, KANG Jian, CHAO Jun, GAO Hong, WANG Jundong, XIE Chunguang

Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu, 610075

ABSTRACT Objective To investigate the effects of *Shenqi Compound* (参芪复方) on the blood glucose homeostasis of diabetic blood glucose fluctuation model rats and its possible mechanism. **Methods** A total of 40 spontaneous type 2 diabetic GK rats were randomly divided into a model group, a *Shenqi Compound* group and a sitagliptin group, with 10 rats in each group. All rats were fed with high-fat diet for 4 weeks to establish a blood glucose fluctuation model. Ten Wistar rats were set into the normal group and fed with ordinary feed for 4 weeks. After successful modeling, the *Shenqi Compound* group was administered with *Shenqi Compound* extract 1.44 g/(kg·d), and the sitagliptin group was administered with 16 mg/(kg·d) of sitagliptin tablet suspension. The normal group, and the model group were given intragastrically with 5 ml/(kg·d) saline for 8 consecutive weeks. Blood was taken from the rat tail vein, and blood glucose levels were measured 5 times during the day at 8: 00, 10: 00, 14: 00, 16: 00, and 18: 00, and the daily mean blood glucose (MBG) and largest amplitude of glycemic excursions (LAGE) were calculated, standard deviation of mean blood glucose (SDBG) were calculated; real-time fluorescent quantitative PCR was used to detect mRNA expression of biological clock-related genes *Id 2*, *Usp 2*, *CRY 1*, and *DBP*; 16S rDNA gene sequencing was used to analyze intestinal flora of each group of rats. **Results** Compared with the normal group, MBG and SDBG in the other groups were increased, and LAGE in the model group and the *Shenqi Compound* group was also increased ($P < 0.01$). Compared with the model group, MBG, SDBG, and LAGE of the *Shenqi Compound* group and the sitagliptin group were all reduced ($P < 0.01$). The sitagliptin group was superior to the *Shenqi Compound* group in reducing SDBG and LAGE ($P < 0.01$). Compared with the normal group, the expression of *Usp 2*, *CRY1* mRNA and butyric acid levels in the model group rats were reduced ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the model group, the rats in the *Shenqi Compound* group and the sitagliptin group had *Id 2* mRNA expression decreased, *Usp 2*, *CRY1* mRNA expression increased, and level of *Bacteroides* and *Butyrica* also increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); There was no significant difference in the levels of *DBP* mRNA expression, *Broutella*, and *Rhodium* in all groups ($P > 0.05$). **Conclusion** *Shenqi Compound* may regulate the blood glucose homeostasis by regulating the expression of biological clock-related genes and the distribution of intestinal flora in the pancreas tissue of rat models of blood glucose fluctuation. **Keywords** diabetes; blood glucose fluctuations; *Shenqi Compound* (参芪复方); biological clock; intestinal flora; circadian rhythm

(收稿日期: 2019-04-01; 修回日期: 2019-06-21)

编辑: 邓 媛