付永霞, 王晗, 刘振宇, 等. 基于肠道菌群和转录组学分析生小米醇溶蛋白对高脂膳食联合 STZ 诱导的糖尿病小鼠的改善机制[J]. 食品工业科技, 2026, 47(8): 407−416. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030396

FU Yongxia, WANG Han, LIU Zhenyu, et al. Improvement Mechanism of Raw Foxtail Millet Prolamin on High-Fat Diet Combined with STZ Induced Diabetic Mice Based on Gut Microbiota and Hepatic Transcriptomics[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(8): 407−416. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030396

·营养与保健·

基于肠道菌群和转录组学分析生小米醇溶蛋白对高脂膳食联合 STZ 诱导的糖尿病小鼠的改善机制

付永霞[1,2], 王　晗[2], 刘振宇[3], 王海珍[1], 郭　尚[1], 沈　群[2,*]

(1.山西农业大学山西功能食品研究院, 山西 太原 030031;
2.中国农业大学食品科学与营养工程学院/国家粮食产业（青稞深加工）技术创新中心/植物蛋白与谷物加工北京市重点实验室/国家果蔬加工工程技术研究中心, 北京 100083;
3.四川大学轻工科学与工程学院, 四川 成都 610065)

摘　要: 生和熟小米醇溶蛋白均具有显著的糖代谢改善功能。与生小米醇溶蛋白相比，熟小米醇溶蛋白的蛋白质质量显著下降。因此，生小米醇溶蛋白作为潜在的食源性降糖功能物质更有价值。为了研究生小米醇溶蛋白对 2 型糖尿病（Type 2 diabetes，T2D）小鼠肠道菌群及肝脏的影响，通过高脂膳食+链脲佐菌素注射构建 T2D 模型，采用生小米醇溶蛋白对 T2D 小鼠连续干预 5 周，并利用 16S rRNA 测序和转录组学技术分别对小鼠肠道菌群组成和肝脏基因表达进行分析。结果显示：结果表明，RFMP 可通过缓解糖尿病引起的肠道菌群紊乱来改善葡萄糖代谢。生小米醇溶蛋白干预显著增加了 T2D 小鼠中乳酸杆菌属（*Lactobacillus*）、未分类穆里氏菌属（norank_f_*Muribaculaceae*）和毛螺菌科_NK4A136_group 属（*Lachnospiraceae*_NK4A136_group）丰度。肝脏转录组学分析发现，生小米醇溶蛋白干预后，成纤维细胞生长因子 21（*Fgf21*）、双特异性磷酸酶 1（*Dusp1*）、Ras 鸟嘌呤核苷酸释放蛋白 1（*Rasgrp1*）和己糖激酶 3（*Hk3*）的基因表达量上调，磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 1（*Pck1*）的基因表达量下调，这些均为其调控糖代谢的关键基因。研究结果完善了生小米醇溶蛋白改善糖代谢的机制，为开发功能性小米醇溶蛋白产品提供了理论依据。

关键词: 糖尿病, 生小米醇溶蛋白, 肠道菌群, 转录组, 机制

中图分类号: TS210.1　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)08−0407−10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030396　　本文网刊:

Improvement Mechanism of Raw Foxtail Millet Prolamin on High-Fat Diet Combined with STZ Induced Diabetic Mice Based on Gut Microbiota and Hepatic Transcriptomics

FU Yongxia[1,2], WANG Han[2], LIU Zhenyu[3], WANG Haizhen[1], GUO Shang[1], SHEN Qun[2,*]

(1.Shanxi Institute for Functional Food, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030031, China;
2.College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University/National Center of Technology Innovation (Deep Processing of Highland Barley) in Food Industry/Beijing Key Laboratory of Plant Protein and Grain Processing/National Engineering Research Center for Fruit and Vegetable Processing, Beijing 100083, China;

收稿日期: 2025−04−01

基金项目: 山西省基础研究计划资助项目（202203021222178）; 山西农业大学博士科研启动项目（2023BQ32）; 国家现代农业产业技术体系（CARS-07-13.5）。

作者简介: 付永霞（1995−）, 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 杂粮营养与健康, E-mail: fuyongxia@sxau.edu.cn。

*** 通信作者:** 沈群（1967−）, 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品营养与加工, E-mail: shenqun@cau.edu.cn。

3.College of Biomass Science & Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China）

Abstract: Both raw and cooked millet prolamin (RFMP and CFMP) exhibited significant functions in improving glucose metabolism. Compared to RFMP, the protein quality of CFMP significantly decreased. Therefore, RFMP was more valuable as a potential food-derived hypoglycemic functional substance. In order to study the effects of RFMP on the intestinal flora and liver of type 2 diabetes (T2D) mice, C57BL/6J mice were used as the objects, and T2D models were established by high-fat diet combined with streptozotocin. The T2D mice were continuously intervened with RFMP for five weeks. Subsequently, 16S rRNA sequencing and transcriptomics technology were employed to analyze the composition of the gut microbiota and liver gene expression, respectively. The results showed that RFMP could improve glucose metabolism by alleviating the intestinal flora disorder induced by diabetes. At the genus level, RFMP intervention significantly increased the abundance of *Lactobacillus*, norank_f_*Muribaculaceae*, and *Lachnospiraceae*_NK4A136_group in T2D mice. Liver transcriptome results showed that the intervention of RFMP upregulated the expression levels of *Fgf21*, *Dusp1*, *Rasgrp1*, and *Hk3*, while downregulated the expression level of *Pck1*, which were the key genes for regulating glucose metabolism. This study elucidated the mechanism of improving glucose metabolism with RFMP, providing a theoretical basis for the development of functional FMP product.

Key words: diabetes; raw foxtail millet prolamin; gut microbiota; transcriptome; mechanism

2 型糖尿病（Type 2 diabetes, T2D）已成为全球范围内的一种慢性代谢性疾病。胰岛素抵抗、高血糖和 β 细胞衰竭是 T2D 的主要特征[1]。长期使用降血糖药物，包括双胍类、α-葡萄糖苷酶抑制剂和噻唑烷二酮类，成本高昂，并且会出现器官功能障碍或胃肠道问题等副作用[2−3]。因此，功能性食品因其高营养价值、易获得性、相对较低的价格和无毒特性，得到了人们的广泛关注。在这些功能性食品中，全谷物已被证明与 T2D 的发生有负相关关系[4−5]。小米属于全谷物的一种，在亚洲和非洲地区广泛种植，具有改善糖尿病引起的代谢紊乱的作用[6−7]。小米对 T2D 的有益作用部分归因于其蛋白质的抗糖尿病潜力[8−9]。醇溶蛋白在小米蛋白中占比高达 60%。鉴于谷物普遍采用热加工方式食用的特性，本研究探究了生和熟小米醇溶蛋白的糖代谢调控功效，发现无论是生小米还是经蒸煮处理的熟小米，其醇溶蛋白均展现出显著的糖代谢调节功能[10−11]。然而，与生小米醇溶蛋白相比，熟小米醇溶蛋白持水、持油、发泡、乳化能力，以及表面疏水性和 Zeta 电位均显著下降，平均粒径显著增大，进而引起消化率与水解度降低，水解氨基酸含量明显减少，蛋白质质量下降[12−14]。因此，生小米醇溶蛋白作为潜在的食源性功能性组分更有营养价值。然而，前期研究中只对生小米醇溶蛋白干预糖尿病小鼠后的基础指标和血清代谢组学进行了研究[11]。

多项研究表明，肠道微生物紊乱与 T2D 有正相关关系[15−16]。膳食干预可以通过调节肠道微生物群组成，从而影响 T2D 的发生和发展[17−18]。研究表明，绿豆分离蛋白、红豆蛋白和燕麦蛋白可通过调节肠道微生物发挥降脂或降血糖作用，从而降低肥胖率，进而减缓 T2D 的发展[19−21]。因此，肠道菌群可能是生小米醇溶蛋白改善糖代谢的关键。此外，前期研究进一步证实，生小米醇溶蛋白干预可显著改善糖尿病模型小鼠的肝功能指标异常[11]，提示肝脏可能作为该蛋白调控糖代谢紊乱的关键靶器官。因此，有必要通过转录组测序技术系统阐明生小米醇溶蛋白干预对肝脏组织基因表达谱的影响，进而揭示其调控糖尿病病理进程的潜在分子机制。本研究旨在采用 16S rRNA 测序和转录组学技术阐明生小米醇溶蛋白的降糖机制。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

‘东方亮’小米　山西东方物华农业科技有限公司提供，并在 4 ℃ 冷库中储藏；低脂饲料（10% kcal, D12450J）和高脂饲料（60% kcal, D12492）　美国 Research Diets 公司；雄性 C57BL/6J 小鼠（4 周龄，SPF 级，20 ±1 g）　北京维通利华实验动物技术有限公司，许可证号 SCXK（J）2019-0010，初始体重 20±1 g，于恒温恒湿屏障环境（22±1 ℃，55%±5% 湿度）中饲养；链脲佐菌素（Streptozocin, STZ）　美国 Sigma Aldrich 公司；6~8 kDa 截留分子量透析袋　上海源叶生物科技有限公司；Omega 基因组 DNA 抽提试剂盒　美国 Omega 生物技术公司；TRIzol™ 总 RNA 提取试剂及 SuperScript™ 双链 cDNA 合成试剂盒　美国 Invitrogen 公司；脱氧核糖核酸酶Ⅰ（DNaseⅠ）　日本 Takara 公司；TruSeq™ RNA 样品制备试剂盒　美国 Illumina 公司。

2100 型生物分析仪　安捷伦科技有限公司；TBS-380 微型荧光计　赛默飞世尔科技公司；NovaSeq 6000 型测序系统、Miseq PE300 型 DNA 测序分析仪　美国 Illumina 公司；Centrifuge 5430R 型高速冷冻离心机　德国 Eppendorf 公司；SWE-C6 高通量组织破碎仪　武汉赛维尔生物科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 生小米醇溶蛋白的提取与纯化　参考文献[11]的方法，将小米研磨成粉，过 60 目筛。小米粉以 1∶5（w/v）的比例分散到正己烷中，并在 37 ℃ 下水浴搅拌 4 h。静置分层后弃去上层正己烷，残留

粉体置于通风橱中，使其挥发溶剂至恒重。随后，将脱脂小米粉以 1∶7(w/v)与 70% 乙醇混合，37 ℃ 条件下采用水浴振荡提取 2 h。提取结束后，将样品在 8000 r/min 下离心 15 min，收集上清液。上清液经 6~8 kDa 截留分子量透析袋对抗超纯水透析 48 h，透析后溶液在 7000 r/min 下离心 5 min，收集沉淀，真空冷冻干燥后得到生小米醇溶蛋白。真空冷冻干燥参数如下：冷阱温度小于−50 ℃，腔室压力保持在 10 Pa 以下，干燥时间为 48 h，蛋白质含量为 90%。

1.2.2　动物实验设计　参考文献 [11] 的方法，所有小鼠适应性培养 1 周后，分为两组。动物实验通过了中国农业大学动物伦理委员会批准，伦理编号为 AW03401202-4-1。设置正常对照组(Control)，饲喂低脂饲料，其余小鼠为高脂组，饲喂高脂饲料，持续 4 周。在第 5 周，通过腹腔注射链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)(90 mg/kg 小鼠体重，现用现配，溶于预冷的柠檬酸盐缓冲液)诱导高脂组小鼠建立糖尿病模型。同时，给 Control 组小鼠注射等量的柠檬酸缓冲液。实验第 6 周，于早晨 8 点对高脂组小鼠实施 6 h 禁食(自由饮水)，采用血糖仪经尾静脉采血测定空腹血糖，并依据空腹血糖大于 11.1 mmol/L 的条件筛选糖尿病模型构建成功的小鼠。随后，所有小鼠被分为 3 组，其中，糖尿病模型小鼠随机分为 2 组：模型对照组(Model)，每日灌胃 0.9% 生理盐水，和生小米醇溶蛋白组(Prolamin)，每日灌胃生小米醇溶蛋白混悬液(200 mg/kg BW，溶解于等体积生理盐水)，等效于人体剂量 17.82 mg kg^{-1} d^{-1}[8]，而 Control 组则给予等量生理盐水溶液。持续干预 5 周后，将所有小鼠禁食 6 h，实施安乐死后收集肝和粪便等样品。

1.2.3　肠道菌群的测定　参考文献 [10] 的方法，收集小鼠新鲜粪便，置于无菌管，液氮速冻后，置于−80 ℃ 冰箱保存。首先根据 Omega 基因组 DNA 抽提试剂盒说明书进行粪便总 DNA 抽提，采用超微量分光光度计检测 DNA 浓度与纯度，并通过 1% 琼脂糖凝胶电泳验证基因组完整性。通过 PCR 使用引物 338F（5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3'）与 806R（5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'）靶向扩增 V3-V4 高变区。用 2% 琼脂糖凝胶电泳回收 PCR 产物，利用 AxyPrep DNA 凝胶提取试剂盒进行纯化，用 Tris-HCl 洗脱凝胶，并通过 2% 琼脂糖凝胶电泳检测纯度。凝胶电泳中使用 TAE 缓冲液。凝胶电泳条件为 100 V 电压下运行 30 min。然后采用 Quanti FluorTM-ST 荧光定量系统对 PCR 产物进行定量。具体步骤如下：首先使用 1×TE 缓冲液梯度稀释 QuantiFluor™-ST dsDNA 标准品，同时稀释待测 PCR 产物。取 100 μL QuantiFluor™-ST dsDNA 染料，分别与样品和标准品等体积混匀，加入黑色 96 孔板，避光孵育 5 min。启动仪器并预热，设置激发光波长为 480 nm，发射波长为 520 nm。将孔板放入检测槽读取荧光值，软件自动生成标准曲线并计算样品浓度。利用 Illumina 公司的 Miseq PE300 平台进行测序。对所有序列首先使用 QIIME 进行质量和嵌合体检查以及低质量片段的剔除，使用 UPARSE 鉴定 97% 相似度水平的 OTU，之后使用核糖体数据库计划(RDP)进行序列分类和注释。

1.2.4　肝脏 RNA 抽提　参考文献 [22] 的方法，取新鲜肝脏组织样本于预冷研钵中，液氮速冻后迅速研磨至粉末状，转移至无 RNA 酶的离心管中。加入 1 mL 预冷裂解缓冲液，涡旋振荡 30 s，室温静置 5 min 促进核酸释放。4 ℃ 条件下以 12000×g 离心 5 min，转移上清至新管，加入 200 μL 氯仿，混匀 15 s，室温静置 3 min 后同条件离心 15 min。收集上层水相至新管。加入 0.5 体积预冷异丙醇，混匀后于−20 ℃ 静置 30 min，4 ℃、12000×g 离心 10 min，可见管底白色沉淀。弃上清，加入 1 mL 预冷 75% 乙醇洗涤沉淀，离心 5 min，重复洗涤两次。加入 30 μL 超纯水溶解沉淀。利用超微量分光光度计测定 RNA 的浓度和纯度($OD_{260\ nm}/OD_{280\ nm}$ 介于 1.8~2.2)，具体步骤如下：用 2 μL 超纯水调准基线。取 2 μL 提取的总 RNA 溶液，读取 $OD_{260\ nm}$ 和 $OD_{280\ nm}$ 数值，$OD_{260\ nm}/OD_{280\ nm}$ 比值在 1.8~2.0 范围内证明 RNA 纯度高。然后配制 1% 琼脂糖凝胶，加入核酸染料，取 1 μg RNA，上样后 110 V 电泳 20 min，通过琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性。最后准备 Agilent RNA Nano/Pico 芯片，注入凝胶-染料混合液。将 1 μL RNA 样本与标记物混合，加入芯片对应孔。运行 Agilent 5300 分析仪，软件自动生成电泳图谱。软件计算 RQN 值(1~10，≥6.5 为优质)。

1.2.5　文库建立和测序　利用带有 Oligo(dT)的磁珠捕获总 RNA 中的 mRNA，随后使用 DNase I 消除基因组 DNA 残留。将 mRNA 与破碎缓冲液孵育，获得 200 bp 片段，使用 N6 随机引物和逆转录酶合成单链 cDNA，然后在反应体系中加入 dNTPs、RNase H 和 DNA 聚合酶 I 孵育，进而合成双链 cDNA。双链的 cDNA 经磁珠纯化后，进行末端修复和接头连接。通过 PCR 富集并筛选 200~300 bp 的片段。使用 TBS380 测定样品库浓度。采用 Illmina HiSeq xten/NovaSeq 6000 对文库产物进行测序，并产生原始测序数据，测序读长为 PE 150。

1.2.6　转录组测序分析　首先对原始测序数据进行质量控制，包括去除低质量碱基、截断 N 含量>5% 的读段以及过滤接头污染，进而输出高质量的测序数据，然后与参考基因组比对，获得 mapped data(Reads)，进行后续转录本组装、表达量计算等。同时，对该次转录组测序的比对结果进行质量评估，主要包括测序饱和度、基因覆盖度、Reads 在参考基因组区域分布以及 Reads 染色体分布均一性。最后，通过定位到基因组区域的序列数量(reads counts)来计算基因的表达水平。

1.3 数据处理

在肠道菌群分析中，采用 Mothur（版本 1.30.2）分析菌群 α 多样性，包括稀释性曲线（Rarefaction Curves）；使用 QIIME（版本 1.9.1）进行了 β 多样性的距离计算，包括主坐标分析（Principal Coordinate Analysis，PCoA）和非度量多维尺度分析（Non-metric Multidimensional Scaling，NMDS）。使用威尔科克森秩和检验（Wilcoxon rank sum test）分析了不同组在门、科和属水平的菌群丰度变化；通过线性判别分析效果大小（Linear Discriminant Analysis Effect Size，LEfSe）和线性判别分析（Linear Discriminant Analysis，LDA）识别不同组中肠道菌群的组成。使用软件 RSEM（版本 1.3.1）对基因表达量进行测定；使用软件 DESeq2（版本 1.24.0）对不同组基因的差异表达水平进行定量分析。设置筛选条件为 P<0.05 和 log2（差异倍数），即 log2（FC）≥2，筛选不同组间的差异表达基因。基于 KEGG 数据库对差异基因进行通路富集分析。通路显著性 P<0.05，即为在差异表达基因中显著富集的 KEGG 通路。

2 结果与分析

2.1 生小米醇溶蛋白对糖尿病小鼠肠道菌群组成的影响

2 型糖尿病会导致肠道菌群失调，因此本研究首先研究了生小米醇溶蛋白干预对糖尿病小鼠肠道菌群组成的影响。香农曲线趋于平坦，表明本次测序数据量可以反映所有样品中的绝大多数微生物信息（图 1a）。图 1b~图 1d 展示了 Control、Model 和 Prolamin 组肠道微生物在门、科和属水平的相对丰度。门水平上，厚壁菌门（Firmicutes）和拟杆菌门（Bacteroidetes）是小鼠肠道菌群中两个主要的门。可以看到，与 Control 组相比，Model 组的 Firmicutes 相对丰度上升，Bacteroidetes 的相对丰度则下降。生小米醇溶蛋白干预后，糖尿病小鼠肠道菌群的 Firmicutes 相对丰度下降，而 Bacteroidetes 的相对丰度上升。科水平上，毛螺菌科（Lachnospiraceae）、瘤胃球菌科（Ruminococcaceae）、乳杆菌科（Lactobacillaceae）和穆里氏菌科（Muribaculaceae）是小鼠肠道菌群中四个主要的科。与 Control 组相比，Model 组的 Lachnospiraceae 和 Ruminococcaceae 相对丰度增加，Lactobacillaceae 和 Muribaculaceae 相对丰度下降。生小米醇溶蛋白干预后，糖尿病小鼠肠道菌群的 Lachnospiraceae 和 Ruminococcaceae 相对丰度下降，Lactobacillaceae 和 Muribaculaceae 相对丰度增加。分析小鼠肠道菌群属水平微生物相对丰度变化，结果显示，与 Control 组相比，Model 组的乳酸杆菌属（*Lactobacillus*）、未分类穆里氏菌属（norank_f_*Muribaculaceae*）和毛螺菌科_NK4A136_group 属（*Lachnospiraceae*_NK4A136_group）相对丰度下降。生小米醇溶蛋白干预后，糖尿病小鼠肠道菌群的 *Lactobacillus*、norank_f_*Muribaculaceae* 和 *Lachnospiraceae*_NK4A136_group 相对丰度增加。

2.2 生小米醇溶蛋白对糖尿病小鼠肠道菌群 β 多样性的影响

进一步对生小米醇溶蛋白干预对小鼠肠道微生

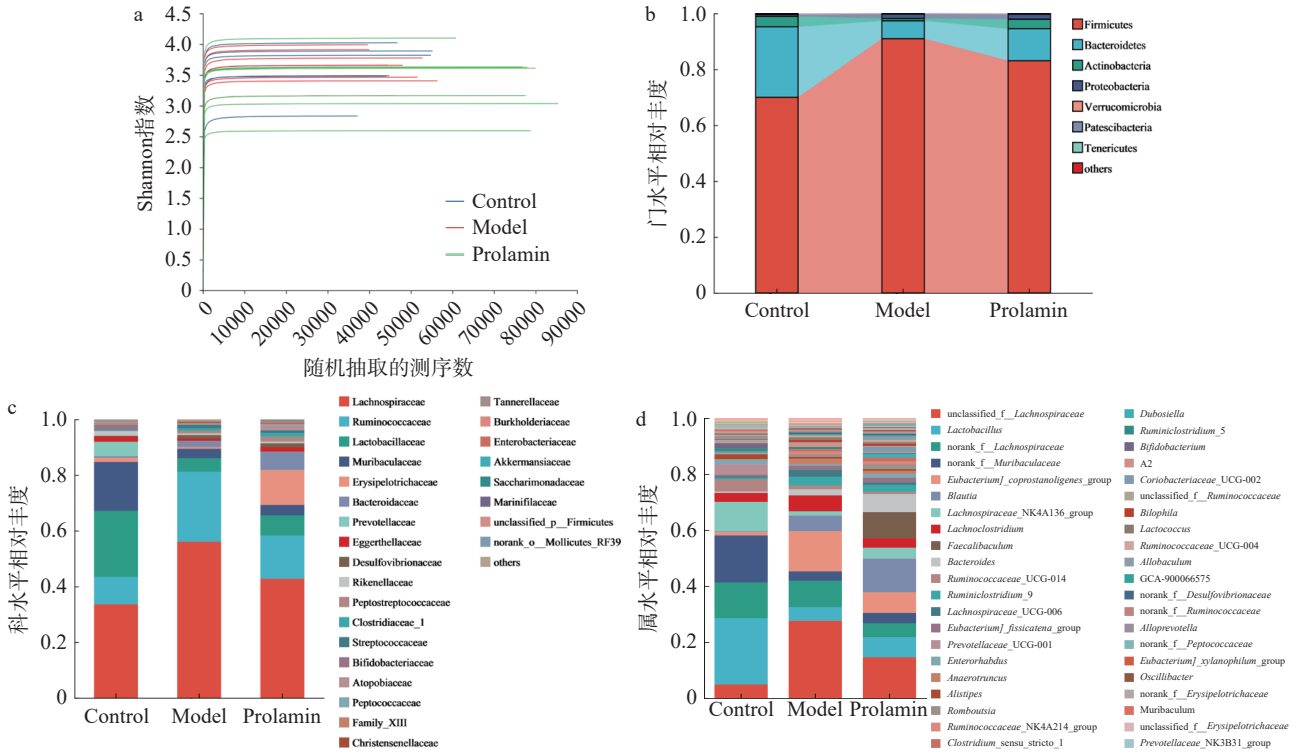


图 1 生小米醇溶蛋白对糖尿病小鼠肠道微生物组成的影响

Fig.1 Effects of raw foxtail millet prolamin on gut microbial composition in diabetic mice

注：a. Shannon 稀释曲线；b. 门水平微生物相对丰度；c. 科水平微生物相对丰度；d. 属水平微生物相对丰度。

物群组成的影响进行研究。如图 2a~图 2b 所示，Control 组的分组椭圆与 Model 组的分组椭圆明显分开，这表明糖尿病小鼠出现了肠道微生物群紊乱。生小米醇溶蛋白干预 5 周后，Prolamin 组的分组椭圆与 Model 组的分组椭圆部分分离，表明补充生小米醇溶蛋白后，糖尿病小鼠的肠道微生物组成发生了变化。

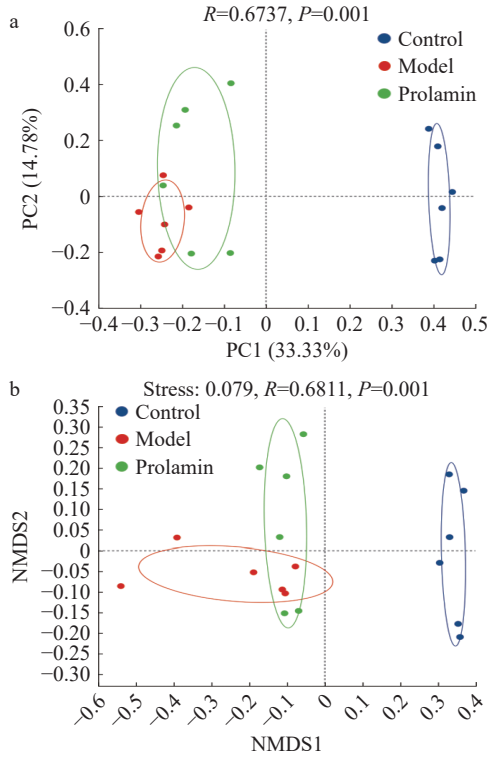


图 2　生小米醇溶蛋白对糖尿病小鼠肠道菌群 β 多样性的影响

Fig.2　Effects of raw foxtail millet prolamin on the β diversity of gut microbial diversity in diabetic mice

注：a. PCoA 图；b. NMDS 图。

2.3　生小米醇溶蛋白对糖尿病小鼠肠道菌群相对丰度的影响

进一步分析门、科和属水平上肠道微生物群的相对丰度变化。在门水平上，小鼠肠道微生物中的 Firmicutes 和脱铁杆菌门（Deferribacteres）水平发生显著变化（P<0.05）（图 3a）。在科水平上，Model 组的 Lachnospiraceae 较 Control 组显著增加，Lactobacillaceae、Muribaculaceae 和普雷沃氏菌科（Prevotellaceae）水平较 Control 组显著下降（P<0.05）。生小米醇溶蛋白干预后，Lachnospiraceae 相对丰度较 Model 组显著下降，Lactobacillaceae、Muribaculaceae 和 Prevotellaceae 水平较 Model 组显著上升（图 3b）。在属水平上，Model 组的 *Lactobacillus*、norank_f_*Muribaculaceae* 和 *Lachnospiraceae*_NK4A136_group 较 Control 组显著下降，生小米醇溶蛋白干预后，以上三种菌属相对丰度较 Model 组显著上升（图 3c）。

和 LDA 分析表明每组的特征菌群不同（图 4）。Control 组的特征菌群是 *Lactobacillus*、普雷沃氏菌

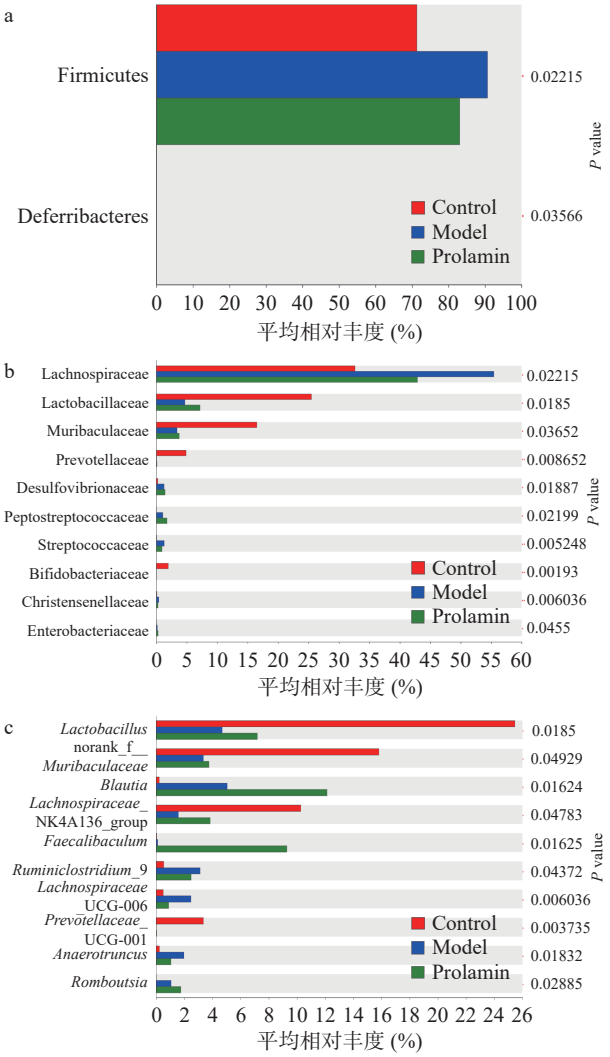


图 3　生小米醇溶蛋白对糖尿病小鼠在门、科和属水平差异微生物平均相对丰度的影响

Fig.3　Effects of raw foxtail millet prolamin on mean proportion of differential microbiota at phylum, class, and genus level in diabetic mice

注：a. Model vs Prolamin 比较组在门水平的差异微生物平均相对丰度；b. Model vs Prolamin 比较组在科水平的差异微生物平均相对丰度；c. Model vs Prolamin 比较组在属水平的差异微生物平均相对丰度。

UCG-001（*Prevotellaceae* UCG-001）和双歧杆菌（*Bifdobacterium*）。Model 组中富集的为 *Eubacterium*_*coprostanoligenes*_group，*Ruminiclostridium*_9 和 *Intestinibacter* 菌属。与正常对照组和模型对照组相比，布劳特氏菌属（*Blautia*）和粪杆菌属（*Faecalibaculum*）在 Prolamin 组中富集。

2.4　生小米醇溶蛋白对糖尿病小鼠肝脏基因表达的影响

如图 5a 所示。与 Control 组小鼠相比，T2D 小鼠肝脏组织累计 1475 个基因表达量变化，其中，831 个基因显著下调，644 个基因显著上调。如图 5b 所示，生小米醇溶蛋白的干预影响了糖尿病小鼠肝脏基因表达水平，其中，诱导上调了 144 个基因，诱导下调了 82 个基因，累计 226 个基因。

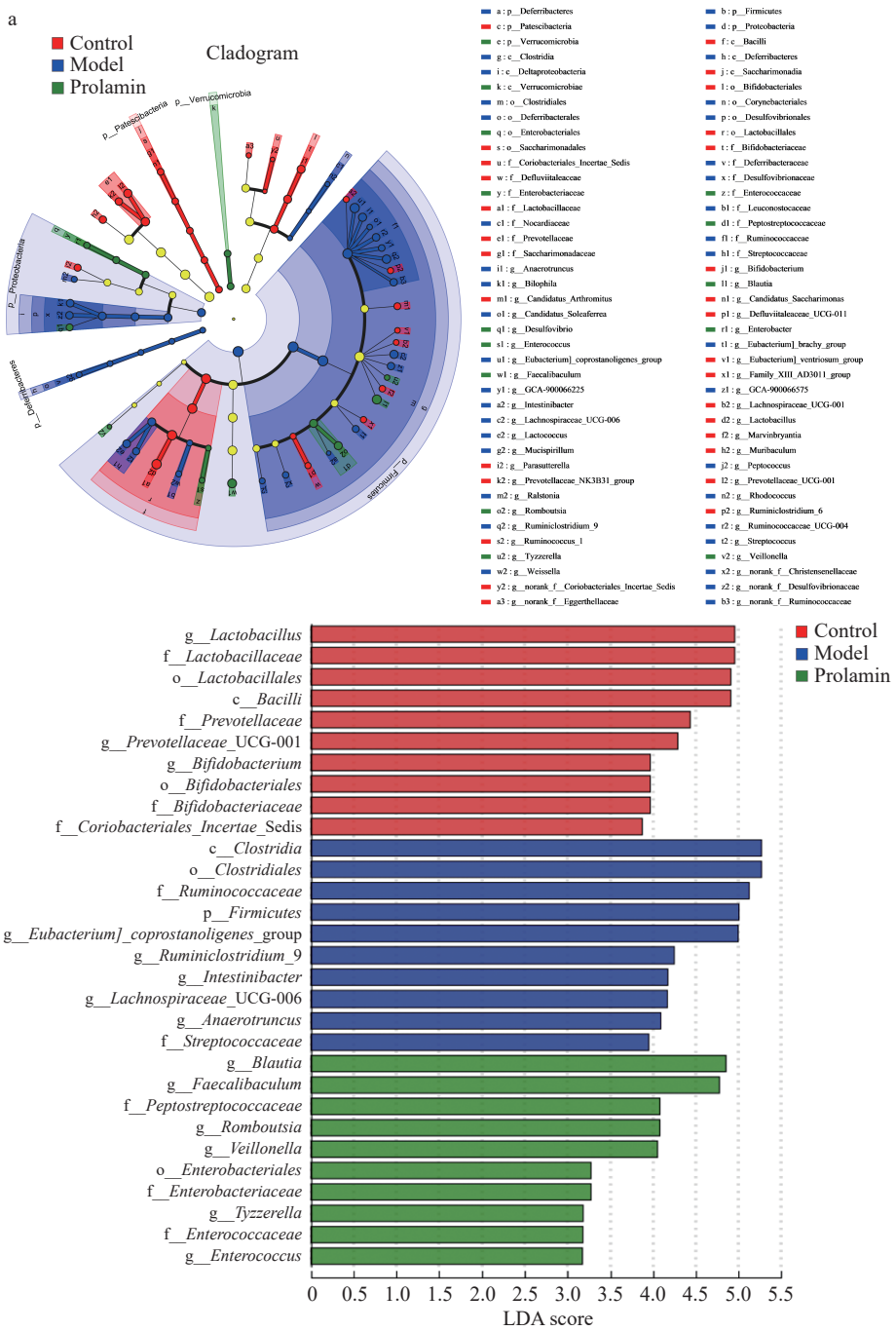


图 4　不同组的肠道菌群组成差异和特征菌群

Fig.4　Differences in gut microbiota composition and characteristic microbiota of different groups

注: a. LDA Effect Size(LEfSe)进化分支图; b. LDA 值分布柱状图(LDA 值>4)。

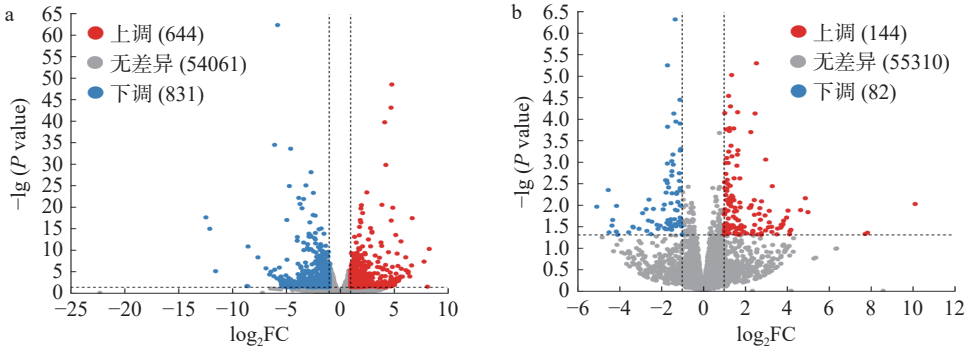


图 5　不同比较组的差异基因火山图

Fig.5　Volcanic map of differentially expressed genes in different comparison groups

注: a. Control vs. Model 比较组的差异基因火山图; b. Model vs. Prolamin 比较组的差异基因火山图。

2.5　生小米醇溶蛋白对肝脏基因生物学过程的影响

采用 KEGG 数据库对 T2D 和 Prolamin 组之间的 226 个差异表达基因进行功能注释（图 6）。可以看到，T2D 和 Prolamin 组之间的差异基因注释于以下六大类 KEGG 一级代谢通路中，其中，代谢通路与机体病理状态密切相关。8 个差异基因显著注释于脂质代谢的相关通路中，碳水化合物代谢相关的通路中注释了 7 个差异基因，辅助因子和维生素代谢相关的通路上富集了 6 个差异基因，氨基酸代谢相关的通路富集了 5 个差异基因。以上代谢通路与糖尿病存在密切联系。

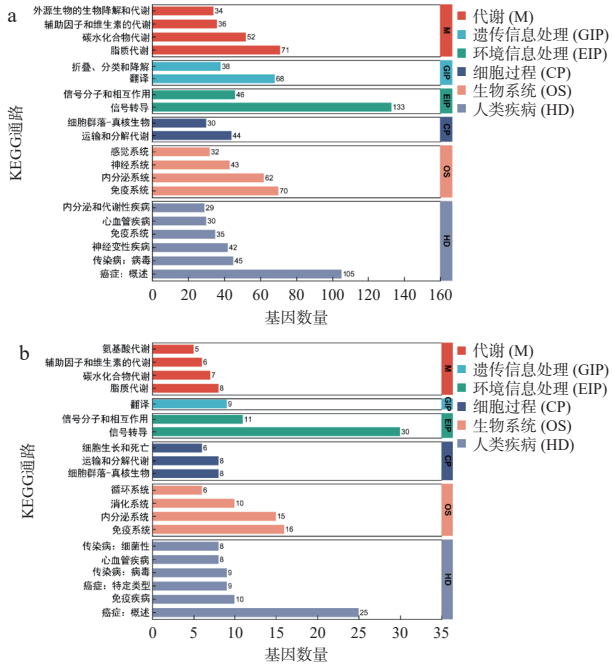


图 6　生小米醇溶蛋白干预后的糖尿病小鼠肝脏差异基因 KEGG 富集柱状图

Fig.6　KEGG enrichment histogram of raw foxtail millet prolamin intervention on differential expressed genes in liver of diabetes mice

注：a. Control vs. Model 比较组的 KEGG 富集柱状图；b. Model vs Prolamin 比较组的 KEGG 富集柱状图。

2.6　KEGG 富集分析

如图 7 所示，T2D 和 Prolamin 组间的差异表达基因参与了多种不同代谢通路的调控，包括 PPAR 信号通路、MAPK 信号通路、FoxO 信号通路和淀粉和蔗糖代谢通路等。其中，生长阻滞与 DNA 损伤基因 45a（*Gadd45a*）、激肽释放酶 1-相关肽酶 b4（*Klk1b4*）、生长阻滞与 DNA 损伤基因 45g（*Gadd45g*）、成纤维细胞生长因子 21（*Fgf21*）、双特异性磷酸酶 1（*Dusp1*）和 Ras 鸟嘌呤核苷酸释放蛋白 1（*Rasgrp1*）富集在 MAPK 信号通路；磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 1（*Pck1*）、细胞色素 P450*ω*-羟化酶（*Cyp4a14*）、胆固醇 7*α*-羟化酶（*Cyp7a1*）和脂蛋白 2（*Plin2*）富集在 PPAR 信号通路；己糖激酶 3（*HK3*）和重组海藻糖酶（*Treh*）富集在淀粉与蔗糖代谢通路上；B 细胞淋巴瘤 6（*Bcl6*）、*Gadd45a*、*Gadd45g* 和 *Pck1* 富集在 FoXo 信号通路（表 1）。Prolamin 干预后，T2D 小鼠肝脏中的 *Gadd45a*、*Pck1*、*Cyp4a14*、*Plin2*、*Treh* 和 *Bcl6* 表达

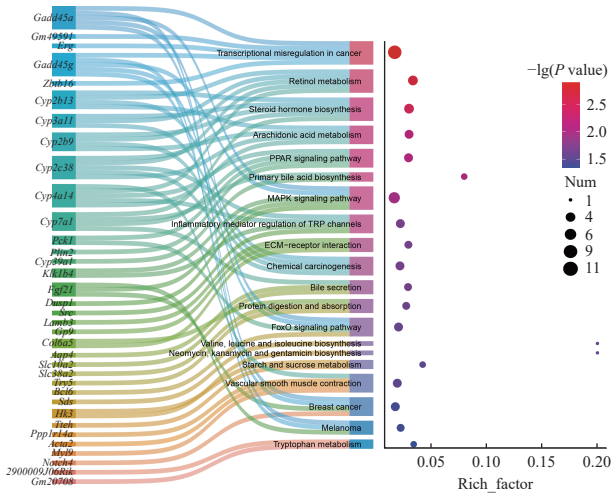


图 7　生小米醇溶蛋白对糖尿病小鼠肝脏差异基因的 KEGG 富集气泡图

Fig.7　KEGG enrichment bubble diagram of raw foxtail millet prolamin on differential expressed genes in liver of diabetes mice

表 1　糖尿病和生小米醇溶蛋白组间富集在信号通路上的差异表达基因

Table 1　Differentially expressed genes enriched in signaling pathways between diabetes and raw foxtail millet prolamin groups

基因名称	通路名称	基因描述	$\log_2$ FC	调节
Gadd45a	MAPK通路, FoxO通路	生长阻滞与DNA损伤基因45a	−1.107393908	下调
Klk1b4	MAPK通路	激肽释放酶1-相关肽酶b4	1.021388945	上调
Gadd45g	MAPK通路, FoxO通路	生长阻滞与DNA损伤基因45g	3.300911802	上调
Fgf21	MAPK通路	成纤维细胞生长因子21	1.766947018	上调
Dusp1	MAPK通路	双特异性磷酸酶1	1.958640886	上调
Rasgrp1	MAPK通路	Ras鸟嘌呤核苷酸释放蛋白1	2.264187583	上调
Pck1	PPAR通路, FoxO通路	磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶1	−1.073984126	下调
Cyp4a14	PPAR通路	细胞色素P450*ω*-羟化酶	−2.491301767	下调
Cyp7a1	PPAR通路	胆固醇7*α*-羟化酶	1.038793755	上调
Plin2	PPAR通路	脂蛋白2	−1.090866026	下调
Hk3	淀粉与蔗糖代谢	己糖激酶3	1.107044419	上调
Treh	淀粉与蔗糖代谢	重组海藻糖酶	−1.543396148	下调
Bcl6	FoxO通路	B细胞淋巴瘤6	−1.136054336	下调

量下调，而 *Klk1b4*、*Gadd45g*、*Fgf21*、*Dusp1*、*Rasgrp1*、*Cyp7a1* 和 *Hk3* 表达量上调。

3 讨论

本研究发现，生小米醇溶蛋白干预对糖尿病小鼠的肠道菌群组成产生了一定的影响。这可能是因为来自上消化道（胃和十二指肠）的未消化蛋白质以及部分未被吸收的肽进入小肠后被水解为氨基酸，产生的氨基酸一部分被肠上皮细胞吸收，一部分被肠道菌群利用。剩余的未消化蛋白及部分未吸收的肽继续进入大肠，进一步被水解为氨基酸，但是绝大部分不能被大肠上皮细胞吸收，只能被肠道中微生物利用产生代谢产物进而被大肠上皮细胞吸收或者排出体外，因此蛋白的摄入会对肠道菌群组成有影响[23−24]。肠道中蛋白质水解产生的氨基酸越多，对肠道菌群的影响就越大。在 Firmicutes 中，高丰度的 Lachnospiraceae 与葡萄糖和脂质代谢呈正相关，提示发生了代谢紊乱[25]。同时，在葡萄糖代谢受损或代谢综合征患者中观察到高水平的 Lachnospiraceae 菌属，因此 Lachnospiraceae 菌属丰度也可用于反映宿主代谢健康状况[26]。本研究中，Model 组中 Lachnospiraceae 的相对丰度显著高于对照组，表明糖尿病引起小鼠肠道菌群紊乱。除此之外，Muribaculaceae 因其对宿主健康的有益作用而受到广泛关注。Muribaculaceae 可以产生短链脂肪酸，调节肠道屏障功能和免疫反应[27]。*Lactobacillus* 则被证实可以用于改善 2 型糖尿病小鼠葡萄糖稳态受损、炎症和氧化应激[28]。因此，Model 组中 *Muribaculaceae*、*Lactobacillaccae*、*Lactobacillus* 及 norank_f_*Muribaculaceae* 相对丰度的降低也提示小鼠肠道菌群稳态受损。生小米醇溶蛋白干预后，以上三种菌属相对丰度较 Model 组显著上升。总体而言，生小米醇溶蛋白治疗改变了糖尿病小鼠的肠道微生物组成，有助于其抗糖尿病作用。

KEGG 功能富集分析发现，关键差异表达基因富集在 MAPK 信号通路、FoXo 信号通路、PPAR 信号通路和淀粉和蔗糖代谢等。其中，MAPK 信号通路中的 *Fgf21*、*Dusp1* 和 *Rasgrp1* 基因表达量上调。*FGF21* 是一种肝脏来源的激素，已成为关键的代谢调节因子，可以改善胰岛素抵抗小鼠肝脏胰岛素敏感性，维持全身葡萄糖稳态[29]。Seternes 等[30] 研究发现，*Dusp1* 的敲除会导致小鼠出现高血糖和糖异生途径激活。Albanus 等[31] 发现，*Rasgrp1* 与糖尿病风险负相关；*Rasgrp1* 基因的缺失会导致胰岛 β 细胞凋亡等，进而影响糖代谢。PPAR 信号通路中，*Pck1* 表达量下调。*Pck1* 是肝脏中关键的糖异生酶，是催化肝脏糖异生的第一步。因此，*Pck1* 下调表明肝脏中糖异生被抑制，进而使得葡萄糖生成减少，血糖水平下降[32]。淀粉可由蔗糖经过磷酸化、转移和合成反应合成，上述两种糖均可通过水解生成葡萄糖。因此，淀粉与蔗糖代谢通路的调控对糖代谢具有重要作用[33]。本研究发现，该通路中的 *Hk3* 表达量增加。*HK* 是糖酵解代谢途径中的关键激酶，在生物体内起着催化葡萄糖磷酸化的作用，是糖代谢的第一步。*HK* 将葡萄糖转化为葡萄糖-6-磷酸，这一过程为糖酵解提供了必要的能量[34]。因此，*Hk3* 表达量的增加，提示糖酵解过程加快，因此生小米醇溶蛋白干预后血糖水平下降。

现有研究表明，植物蛋白可通过多种机制调控糖代谢，其作用路径具有显著多样性。以谷物蛋白为例，小麦、荞麦和芸豆蛋白质中含有 α-淀粉酶抑制剂，能强烈抑制哺乳动物 α-淀粉酶，从而防止血糖水平升高[35−37]。大米和米糠白蛋白来源的不可消化的高分子量肽段可以在肠道内与葡萄糖分子发生物理吸附，促进未吸收葡萄糖随粪便排出[38]。豌豆蛋白、玉米蛋白、大米胚乳和米糠经酶解产生的活性肽可直接作用于肠道 L 细胞，促进肠促胰岛素分泌，进而抑制餐后血糖水平增加[39−41]。相较之下，本研究发现生小米醇溶蛋白通过双重通路发挥作用：其一是缓解糖尿病诱导的肠道菌群紊乱；其二是调控肝脏转录组，使关键基因 *FGF21*、*Dusp1*、*Rasgrp1* 和 *HK* 表达量上调，*Pck1* 表达量下降，与传统的直接酶抑制或激素调节路径形成显著区别。

4 结论

本研究表明，生小米醇溶蛋白可以通过缓解糖尿病诱导的肠道菌群紊乱来改善糖代谢。门水平上显著降低了 Firmicutes 和 Deferribacteres 的丰度，属水平上，显著增加了 *Lactobacillus*、norank_f_*Muribaculaceae* 和 *Lachnospiraceae*_NK4A136_group 丰度。分析则表明，*Blautia* 和 *Faecalibaculum* 菌在 Prolamin 组中富集。此外，本研究还发现生小米醇溶蛋白干预显著改变了糖尿病小鼠的肝脏基因表达，差异基因富集在 MAPK 信号通路、FoXo 信号通路、PPAR 信号通路和淀粉和蔗糖代谢等。其中，*FGF21*、*Dusp1*、*Rasgrp1*、*Pck1* 和 *HK* 是小米醇溶蛋白调控糖代谢的关键基因。但是，现有研究仅聚焦于生小米醇溶蛋白干预后糖尿病小鼠肠道菌群的结构性改变，尚未深入探究变化的菌属是如何发挥改善糖代谢作用。另外，仍需进一步对关键基因进行功能验证，同时深入挖掘转录组学结果，以全面揭示生小米醇溶蛋白缓解糖尿病的分子机理。此外，未来需明确生小米醇溶蛋白经胃肠道消化后产生的活性肽在体内的作用路径，并通过质谱联用技术精准鉴定其中发挥功效的肽段序列，为阐明其降糖作用的物质基础提供实验依据。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] GILBERT E R, FU Z, LIU D M. Development of a nongenetic mouse model of type 2 diabetes[J]. Journal of Diabetes Re-

search, 2011, 2011(1): 416254.
[2] CZECH M P. Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes[J]. Nature Medicine, 2017, 23(7): 804−814.
[3] DeMARSILIS A, REDDY N, BOUTARI C, et al. Pharmacotherapy of type 2 diabetes: An update and future directions[J]. Metabolism, 2022, 137: 155332.
[4] KRAWĘCKA A, SOBOTA A, SYKUT-DOMAŃSKA E. Functional cereal products in the diet for type 2 diabetes patients[J]. International Journal of Food Science, 2019, 2019(1): 4012450.
[5] GHANBARI-GOHARI F, MOUSAVI S M, ESMAILLZADEH A. Consumption of whole grains and risk of type 2 diabetes: A comprehensive systematic review and dose–response meta-analysis of prospective cohort studies[J]. Food Science & Nutrition, 2022, 10(6): 1950−1960.
[6] REN Xin, WANG Linxuan, CHEN Zenglong, et al. Foxtail millet improves blood glucose metabolism in diabetic rats through PI3K/AKT and NF-κB signaling pathways mediated by gut microbiota[J]. Nutrients, 2021, 13(6): 1837.
[7] REN Xin, WANG Linxuan, CHEN Zenglong, et al. Foxtail millet supplementation improves glucose metabolism and gut microbiota in rats with high-fat diet/streptozotocin-induced diabetes[J]. Food Science and Human Wellness, 2022, 11(1): 119−128.
[8] FU Yongxia, YIN Ruiyang, GUO Erhu, et al. Protein isolates from raw and cooked foxtail millet attenuate development of type 2 diabetes in streptozotocin-induced diabetic mice[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2021, 65(6): 2000365.
[9] WANG Han, FU Yongxia, ZHAO Qingyu, et al. Effects of heat-treated starch and protein from foxtail millet (*Setaria italica*) on type 2 diabetic mice[J]. Food Chemistry, 2023, 404(Pt B): 134735.
[10] FU Yongxia, YIN Ruiyang, LIU Zhenyu, et al. Hypoglycemic effect of prolamin from cooked foxtail millet (*Setaria italic*) on streptozotocin-induced diabetic mice[J]. Nutrients, 2020, 12(11): 3452.
[11] FU Yongxia, ZHANG Fan, LIU Zhenyu, et al. Improvement of diabetes-induced metabolic syndrome by millet prolamin is associated with changes in serum metabolomics[J]. Food Bioscience, 2021, 44: 101434.
[12] 付永霞, 刘振宇, 张凡, 等. 蒸煮前、后小米中醇溶蛋白的结构和功能性质[J]. 中国食品学报, 2021, 21(11): 96−104. [FU Yongxia, LIU Zhenyu, ZHANG Fan, et al. Structural and functional properties of prolamin in foxtail millet before and after cooking[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(11): 96−104.]
[13] FU Yongxia, LIU Zhenyu, WANG Han, et al. Comparison of the generation of α-glucosidase inhibitory peptides derived from prolamins of raw and cooked foxtail millet: *In vitro* activity, *de novo* sequencing, and in silico docking[J]. Food Chemistry, 2023, 411: 135378.
[14] FU Yongxia, WANG Han, LIU Zhenyu, et al. Changes in physicochemical and digestibility properties of foxtail millet prolamin after cooking, and novel antioxidant peptide identification from cooked foxtail millet prolamin[J]. Future Foods, 2024, 9: 100352.
[15] JIA W P, PANAGIOTOU G. Recent advances in diabetes and microbiota[J]. Science Bulletin, 2022, 67(17): 1720−1723.
[16] ADESHIRLARIJANEY A, GEWIRTZ A T. Considering gut microbiota in treatment of type 2 diabetes mellitus[J]. Gut Microbes, 2020, 11(3): 253−264.
[17] WEI S D, BREJNROD A D, TRIVEDI U, et al. Impact of intensive lifestyle intervention on gut microbiota composition in type 2 diabetes: A post-hoc analysis of a randomized clinical trial[J]. Gut Microbes, 2022, 14(1): 2005407.
[18] MOZAFFARI H, MADANI C R, ASKARI M, et al. The impact of food-based dietary strategies on achieving type 2 diabetes remission: A systematic review[J]. Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews, 2024, 18(8): 103096.
[19] HIGUCHI Y, HOSOJIMA M, KABASAWA H, et al. Rice endosperm protein administration to juvenile mice regulates gut microbiota and suppresses the development of high-fat diet-induced obesity and related disorders in adulthood[J]. Nutrients, 2019, 11(12): 2919.
[20] ZHAO Qingyu, FU Yongxia, ZHANG Fan, et al. Heat-treated adzuki bean protein hydrolysates reduce obesity in mice fed a high-fat diet *via* remodeling gut microbiota and improving metabolic function[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2022, 66(8): 2100907.
[21] DAI Zijian, WANG Han, SHEN Qun, et al. Raw and heat-treated quinoa protein protects against glucose metabolism disorders in high-fat diet (HFD)-induced mice by reshaping gut microbiota and fecal metabolic profiles[J]. Food & Function, 2024, 15(18): 9409−9419.
[22] WU S J, BHAT Z F, GOUNDER R S, et al. Effect of dietary protein and processing on gut microbiota-a systematic review [J]. Nutrients, 2022, 14(3): 453.
[23] HOU Dianzhi, LIU Fang, REN Xin, et al. Protective mechanism of mung bean coat against hyperlipidemia in mice fed with a high-fat diet: Insight from hepatic transcriptome analysis[J]. Food & Function, 2021, 12(24): 12434−12447.
[24] BARTLETT A, KLEINER M. Dietary protein and the intestinal microbiota: An understudied relationship[J]. iScience, 2022, 25(11): 105313.
[25] CHÁVEZ-CARBAJAL A, NIRMALKAR K, PÉREZ-LIZAUR A, et al. Gut microbiota and predicted metabolic pathways in a sample of Mexican women affected by obesity and obesity plus metabolic syndrome[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(2): 438.
[26] VACCA M, CELANO G, CALABRESE F M, et al. The controversial role of human gut Lachnospiraceae[J]. Microorganisms, 2020, 8(4): 573.
[27] ZHU Yiqing, CHEN Borui, ZHANG Xinyu, et al. Exploration of the Muribaculaceae family in the gut microbiota: Diversity, metabolism, and function[J]. Nutrients, 2024, 16(16): 2660.
[28] SONG Hainan, XUE Hui, ZHANG Zeng, et al. Amelioration of type 2 diabetes using four strains of *Lactobacillus* probiotics: Effects on gut microbiota reconstitution-mediated regulation of glucose homeostasis, inflammation, and oxidative stress in mice[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(51): 20801−20814.
[29] CHEN Yi, LI Qi, ZHAO Shiwei, et al. Berberine protects mice against type 2 diabetes by promoting PPARγ-FGF21-GLUT2-regulated insulin sensitivity and glucose/lipid homeostasis[J]. Biochemical Pharmacology, 2023, 218: 115928.
[30] SETERNES O M, KIDGER A M, KEYSE S M. Dual-specificity MAP kinase phosphatases in health and disease[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research, 2019, 1866(1): 124−143.
[31] ALBANUS R D O, ZHANG X S, ZHAO Z P, et al. Integra-

tive single-cell multi-omics profiling of human pancreatic islets identifies T1D-associated genes and regulatory signals[J]. Cell Reports, 2025, 44(8): 116065.

[32] HU Qiantu, CHEN Huafeng, ZUO Yanli, et al. Role of PCK1 gene on oil tea-induced glucose homeostasis and type 2 diabetes: An animal experiment and a case-control study[J]. Nutrition & Metabolism, 2019, 16(1): 12.

[33] KUMAR R, MUKHERJEE S, AYELE B T. Molecular aspects of sucrose transport and its metabolism to starch during seed development in wheat: A comprehensive review[J]. Biotechnology Advances, 2018, 36(4): 954−967.

[34] 郑秀芹. 基于糖酵解限速酶探讨三棱成分山柰酚抗黑色素瘤转移机制[D]. 南京: 南京中医药大学, 2021. [ZHENG Xiuqin. Exploring the anti-metastatic mechanism of *Sparganium* Stoloniferum component kaempferol based on glycolysis rate-limiting enzyme[D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2021.]

[35] GEISSLITZ S, WEEGELS P, SHEWRY P, et al. Wheat amylase/trypsin inhibitors (ATIs): Occurrence, function and health aspects[J]. European Journal of Nutrition, 2022, 61(6): 2873−2880.

[36] NINOMIYA K, INA S, HAMADA A, et al. Suppressive effect of the *α*-amylase inhibitor albumin from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) on postprandial hyperglycaemia[J]. Nutrients, 2018, 10(10): 1503.

[37] JÄGER R, ABOU S S, PURPURA M, et al. Proprietary alpha-amylase inhibitor formulation from white kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) promotes weight and fat loss: A 12-week, double-blind, placebo-controlled, randomized trial[J]. Scientific Reports, 2024, 14: 12685.

[38] OGAWA R, SUGIMOTO C, HAMADA A, et al. Differences and similarities of albumins from Japonica rice bran, Japonica, indica, and javanica rice endosperm in the suppressive effect of postprandial blood glucose elevation[J]. Sustainable Food Proteins, 2023, 1(2): 74−83.

[39] ISHIKAWA Y, HIRA T, INOUE D, et al. Rice protein hydrolysates stimulate GLP-1 secretion, reduce GLP-1 degradation, and lower the glycemic response in rats[J]. Food & Function, 2015, 6(8): 2525−2534.

[40] THONDRE P S, ACHEBE I, SAMPSON A, et al. Co-ingestion of NUTRALYS® pea protein and a high-carbohydrate beverage influences the glycaemic, insulinaemic, glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) and glucagon-like peptide-1 (GLP-1) responses: Preliminary results of a randomised controlled trial[J]. European Journal of Nutrition, 2021, 60(6): 3085−3093.

[41] HIGUCHI N, HIRA T, YAMADA N, et al. Oral administration of corn zein hydrolysate stimulates GLP-1 and GIP secretion and improves glucose tolerance in male normal rats and Goto-Kakizaki rats[J]. Endocrinology, 2013, 154(9): 3089−3098.