

海参岩藻聚糖硫酸酯对小鼠胰岛素抵抗及炎症因子的影响

张 昕, 赵延蕾, 陈睿曦, 王一名, 王静凤, 薛长湖*
(中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东 青岛 266003)

摘 要: 目的: 比较研究海地瓜岩藻聚糖硫酸酯 (fucoidan from *Acaudina molpadioidea*, *Am-FUC*) 和美国肉参岩藻聚糖硫酸酯 (fucoidan from *Isostichopus badionotus*, *Ib-FUC*) 对肥胖小鼠胰岛素抵抗及相关炎症因子的改善作用。方法: 以高脂高果糖饲料饲喂法建立胰岛素抵抗小鼠模型。雄性C57BL/6小鼠随机分为正常对照组、模型对照组、阳性对照组、实验A、B、C、D组。正常对照组饲喂标准饲料, 其他组饲喂高脂高果糖饲料。阳性对照组、实验A、B、C、D组分别在饲料中添加罗格列酮 (rosiglitazone, RSG, 1 mg/(kg·d))、低剂量*Ib-FUC* (20 mg/(kg·d))、高剂量*Ib-FUC* (80 mg/(kg·d))、低剂量*Am-FUC* (20 mg/(kg·d))、高剂量*Am-FUC* (80 mg/(kg·d))。各组小鼠自由摄食饮水120 d。实验结束后, 称量小鼠白色脂肪质量, 检测空腹血糖、血清胰岛素及血清肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、瘦素、脂联素水平。结果: 2种FUC均可极显著地降低胰岛素抵抗小鼠的脂肪积累 ($P < 0.01$), 降低血糖 ($P < 0.01$) 和胰岛素 ($P < 0.01$) 水平, 改善胰岛素抵抗 ($P < 0.01$), 降低TNF- α ($P < 0.01$)、IL-6 ($P < 0.01$) 和瘦素 ($P < 0.01$) 含量, 提高血清脂联素含量 ($P < 0.01$)。 *Am-FUC* 效果优于 *Ib-FUC*。结论: *Am-FUC* 和 *Ib-FUC* 能显著改善胰岛素抵抗小鼠的高血糖症状及胰岛素抵抗程度, *Am-FUC* 的效果优于 *Ib-FUC*, 其作用机制可能与改善肥胖引起的细胞因子的分泌有关。

关键词: 海地瓜; 美国肉参; 岩藻聚糖硫酸酯; 胰岛素抵抗; 炎症因子

Effect of Sea Cucumber Fucoidan on Insulin Resistance Improvement and Serum Inflammatory Cytokines in C57BL/6 Mice

ZHANG Xin, ZHAO Yan-lei, CHEN Rui-xi, WANG Yi-ming, WANG Jing-feng, XUE Chang-hu*
(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: The aim of the present study was to unravel the effects of fucoidan from *Acaudina molpadioidea* (*Am-FUC*) versus *Isostichopus badionotus* (*Ib-FUC*) on insulin resistance improvement and related inflammatory cytokines in obese mice. Male C57BL/6 mice were randomly divided into normal control, model control, positive control, and experimental groups A, B, C and D. The mice in normal control group were fed standard diet, and those in other groups were fed high-fat, high-fructose diet. Rosiglitazone (RSG, 1 mg/(kg·d)), low-dose *Ib-FUC* (20 mg/(kg·d)), high-dose *Ib-FUC* (80 mg/(kg·d)), low-dose *Am-FUC* (20 mg/(kg·d)) and high-dose *Am-FUC* (80 mg/(kg·d)) were added into the diets of positive control group, and experimental groups A, B, C and D, respectively. All animals were fed with diets and allowed to drink water freely for 90 days. After the experiments, white fat weight, fasting serum glucose, serum insulin, serum tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), leptin, and adiponectin levels were determined. Results showed that *Am-FUC* and *Ib-FUC* could significantly decrease fat deposition ($P < 0.01$), blood glucose ($P < 0.01$) and insulin ($P < 0.01$) levels, ameliorate insulin resistance, increase serum adiponectin concentration, lower serum TNF- α ($P < 0.01$), IL-6 ($P < 0.01$) and leptin ($P < 0.01$) levels, and enhance adiponectin levels ($P < 0.01$). The effects of *Am-FUC* were more significant than those of *Ib-FUC* ($P < 0.01$). Both these compounds significantly decreased blood glucose level and ameliorated insulin resistance in insulin-resistant mice, and the mechanisms might involve the regulation of adipocytokines parasecretion caused by adiposity.

Key words: *Acaudina molpadioidea*; *Isostichopus badionotus*; fucoidan; insulin resistance; inflammatory cytokine

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2014) 21-0201-06

doi:10.7506/spkx1002-6630-201421039

收稿日期: 2014-06-08

基金项目: 海洋公益性行业科研专项 (201105029); 山东省自主创新专项 (2012CX80201)

作者简介: 张昕 (1990—), 男, 硕士研究生, 研究方向为海洋生物活性物质。E-mail: 1209539022@qq.com

*通信作者: 薛长湖 (1964—), 男, 教授, 博士, 研究方向为水产品加工。E-mail: xuech@ouc.edu.cn

胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 是代谢综合征的共同生理基础, 是促使糖尿病、高血压、高血脂等疾病发生发展的最重要和最根本的原因, 严重威胁人类健康。IR的形成机制较为复杂, 至今其分子机制尚未被完全阐明^[1]。目前认为, 肥胖引起的炎症反应与胰岛素抵抗关系密切, 在II型糖尿病、非酒精性脂肪性肝病、动脉粥样硬化等疾病发生发展过程中起着非常重要的作用^[2]。近年来炎症导致IR的机制一直是研究热点。一般认为IR是一个慢性亚临床炎症过程, 肥胖发生时, 过量的脂肪在体内堆积, 引起炎症反应。脂肪细胞分泌的许多炎症因子 (如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、抵抗素等) 可介导细胞内的炎症反应, 阻碍胰岛素信号转导, 从而诱发IR^[3]。因此, 抗炎治疗改善胰岛素抵抗为防治糖尿病提供新的思路和方法。

海参岩藻聚糖硫酸酯 (sea cucumber fucoidan, SC-FUC) 是一类主要由L-岩藻糖及硫酸酯基团组成的直链多糖, 通常结构较为简单且硫酸酯化形式规律。岩藻聚糖硫酸酯的结构存在着明显的种间差异。美国肉参岩藻聚糖硫酸酯 (fucoidan from *Isostichopus badionotus*, *Ib*-FUC) 和海地瓜岩藻聚糖硫酸酯 (fucoidan from *Acaudina molpadioidea*, *Am*-FUC) 的结构如图1所示。两者因为结构和硫酸化程度不同因而存在活性差异^[4-5]。目前有研究表明, SC-FUC具有免疫调节^[6]、改善脂肪肝^[7]、抗炎^[8]、抗肿瘤^[9]、抗胃溃疡^[10]等活性, 但是对于其改善胰岛素抵抗的作用报道较少。本实验以海地瓜岩藻聚糖硫酸酯 (*Am*-FUC) 和美国肉参岩藻聚糖硫酸酯 (*Ib*-FUC) 为研究对象, 比较研究其对小鼠胰岛素抵抗及与胰岛素抵抗相关的炎症因子的改善作用, 为低值海参的高值化利用提供理论依据。

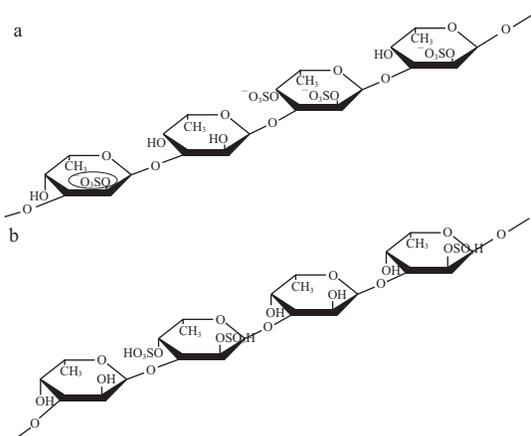


图1 *Am*-FUC (a) 和 *Ib*-FUC (b) 的结构
Fig.1 Structures of *Am*-FUC (a) and *Ib*-FUC (b)

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

2种海参干品: 海地瓜 (*Acaudina molpadioidea*)、美国肉参 (*Isostichopus badionotus*), 购于山东省青岛市南山水产品市场, 由中国科学院海洋研究所廖玉麟研究员对其进行了种属鉴定; 雄性C57BL/6小鼠, SPF级, 体质量17~19 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 许可证号: SCXK (京) 2012-0001。

氯化十六烷基吡啶 (cetylpyridinium chloride, CPC) 生工生物工程 (上海) 股份有限公司; 干酪素北京奥博星生物技术有限责任公司; DL-蛋氨酸天津市大茂化学试剂厂; 罗格列酮 (rosiglitazone, RSG)、胰岛素、木瓜蛋白酶 美国Sigma公司; 葡萄糖试剂盒北京中生北控生物科技股份有限公司; 胰岛素、瘦素、脂联素、IL-6和TNF- α 酶联免疫反应 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测试剂盒 美国R&D公司; 其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

ALPHA 1-4 LO型冻干机 德国CHRIST公司; Model680型酶标仪 美国Bio-Rad公司; LABOROTA 4000型旋转蒸发器 德国Heidolph公司; GL-20M型高速冷冻离心机 上海卢湘离心机仪器有限公司; 1100型高效液相色谱仪 美国Agilent公司; TSK-gel G4000 PWxl色谱柱 日本Tosoh Bioscience公司。

1.3 方法

1.3.1 *Am*-FUC和*Ib*-FUC的制备

海地瓜和美国肉参干品经粉碎、丙酮浸泡脱脂48 h后, 室温晾干。向干物质中 (以下提取步骤均按照1 g干物质计算) 加入加入30 mL 0.1 mol/L乙酸钠缓冲溶液 (pH 6.0)、100 mg木瓜蛋白酶, 60 °C水浴条件下搅拌反应24 h, 20 °C、4 000 r/min离心15 min。向上清液中加入1.6 mL质量分数10%的CPC溶液, 室温放置24 h后离心, 沉淀溶解于15 mL 3 mol/L NaCl-乙醇 (100:15, *V/V*) 溶液中, 4 °C静置24 h, 离心弃沉淀。向上清液中加入乙醇, 使溶液醇度达到40%, 离心后向上清液中再次加入乙醇使其醇度达到75%, 沉淀充分后离心取沉淀物, 分别用30 mL 80%和95%乙醇先后洗2~3次。蒸馏水溶解沉淀物, 用截流分子质量为10 kD的透析袋室温下流水透析24 h, 蒸馏水透析24 h, 浓缩冻干, 分别得到*Am*-FUC和*Ib*-FUC粗品。

分别取400 g *Am*-FUC和*Ib*-FUC粗品溶于10 mL 25 mmol/L NaH₂PO₄-NaOH (pH 6.3) 缓冲盐溶液中, 过DEAE-52阴离子交换柱, 以0~1.4 mol/L NaCl缓冲盐溶液连续梯度洗脱, 流速0.5 mL/min, 每10 mL收集1管。洗脱液过液相TSK4000柱检测组分单一的管, 收集后

透析, 冻干得到*Am*-FUC和*Ib*-FUC纯品。本课题组前期研究显示, *Am*-FUC和*Ib*-FUC分子质量分别为1 656.7、435 kD, 2种FUC硫酸根含量分别为27.25%^[11]和32.9%^[12]。

1.3.2 动物实验

用高脂高果糖饲料饲喂C57BL/6小鼠建立胰岛素抵抗小鼠模型。小鼠随机分为正常对照组、模型对照组、阳性对照组、实验A、B、C、D组, 每组10只。正常对照组饲喂标准饲料, 其他组饲喂高脂高果糖饲料。阳性对照组、实验A、B、C、D组, 分别饲喂RSG (1 mg/(kg·d))、低剂量*Ib*-FUC (20 mg/(kg·d))、高剂量*Ib*-FUC (80 mg/(kg·d))、低剂量*Am*-FUC (20 mg/(kg·d))、高剂量*Am*-FUC (80 mg/(kg·d))。各组动物饲料配制成分见表1。其中, 复合矿物质及维生素均参照美国营养学会颁布的啮齿类实验动物纯化饲料AIN-93配方。按照阿特沃特通用系数系统进行食物能量换算, 正常对照组饲料热量为16.95 kJ/g, 其他组饲料热量为20.3 kJ/g。

表1 动物饲料配方组成
Table 1 Composition of experimental diets for animals

成分	正常对照组	模型对照组	阳性对照组	实验A组	实验B组	实验C组	实验D组
酪蛋白	200	200	200	200	200	200	200
淀粉	700	150	149.972	149.972	149.888	149.973	149.892
果糖	0	450	450	450	450	450	450
玉米油	50	50	50	50	50	50	50
猪油	0	100	100	100	100	100	100
矿物质	30	30	30	30	30	30	30
维生素	10	10	10	10	10	10	10
纤维素	5	5	5	5	5	5	5
酒石酸胆碱	3	3	3	3	3	3	3
DL-蛋氨酸	2	2	2	2	2	2	2
罗格列酮	0	0	0.028	0	0	0	0
<i>Ib</i> -FUC	0	0	0	0.027	0.108	0	0
<i>Am</i> -FUC	0	0	0	0	0	0.028	0.112

实验期间, 小鼠自由摄食和饮水, 每3 d记录小鼠体质量和摄食量, 连续喂养90 d。末次喂养后, 禁食不禁水10 h, 摘眼球取血, 常规分离血清, 保存于-20℃备用。迅速剥离皮下脂肪、肾周脂肪、附睾脂肪称质量。按照公式(1)计算脂体比。

$$\text{脂体比}/\% = \frac{\text{皮下脂肪}/\text{g} + \text{肾下脂肪}/\text{g} + \text{附睾脂肪}/\text{g}}{\text{体质量}/\text{g}} \times 100 \quad (1)$$

1.3.3 空腹血糖测定

小鼠禁食不禁水5 h, 尾静脉取血10 μL, 置于含有蛋白质沉淀剂的EP管中, 按照试剂盒方法测定血糖浓度。

1.3.4 口服葡萄糖耐量测定

小鼠禁食不禁水5 h, 灌胃葡萄糖溶液 (2 g/kg) 后, 分别在0、0.5、1.0、2.0 h时, 尾静脉取血10 μL, 置于含有蛋白质沉淀剂的EP管中。按照试剂盒方法测

定口服葡萄糖耐量, 绘制口服葡萄糖耐量曲线, 按公式(2)计算血糖浓度-时间曲线下面积 (area under the curve, AUC)。

$$\text{AUC}/(\text{mmol} \cdot \text{h}/\text{L}) = 0.25 \times c_1 + 0.50 \times c_2 + 0.75 \times c_3 + 0.50 \times c_4 \quad (2)$$

式中: c_1 、 c_2 、 c_3 、 c_4 分别为0、0.5、1.0、2.0 h的血糖浓度/(mmol/L)。

1.3.5 血清胰岛素水平测定

小鼠禁食不禁水10 h, 摘眼球取血, 常规分离血清, 按照ELISA试剂盒方法检测血清胰岛素含量, 分别按公式(3)、(4)计算胰岛素抵抗指数 (insulin resistance index, HOMA-IR) 及胰岛素敏感性指数 (insulin sensitivity index, QUICKI)。

$$\text{HOMA-IR} = \text{血清胰岛素水平} \times \text{空腹血糖水平} / 22.5 \quad (3)$$

$$\text{QUICKI} = 1/\text{g} (\text{血清胰岛素水平} \times \text{空腹血糖水平}) \quad (4)$$

1.3.6 血清TNF-α、IL-6、瘦素、脂联素水平的测定

小鼠禁食不禁水10 h, 摘眼球取血, 常规分离血清, 参照酶联免疫吸附剂测定 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒方法测定。

1.4 数据处理

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用SPSS 17.0软件进行单因素方差分析, 同时采用LSD法进行两两比较, 以 $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 2种FUC对小鼠体质量增加量和脂肪组织质量的影响

表2 *Am*-FUC和*Ib*-FUC对小鼠对糖尿病小鼠体质量增量及脂肪质量的影响

Table 2 Effects of *Am*-FUC and *Ib*-FUC on body weight gain and adipose weight in mice

组别	体质量增加量/g	肾周脂肪/g	附睾脂肪/g	皮下脂肪/g	脂体比/%
正常对照组	23.36±0.85	0.12±0.01	0.18±0.02	0.24±0.04	2.20±0.13
模型对照组	30.27±0.89 [#]	0.57±0.03 [#]	0.46±0.03 [#]	0.62±0.07 [#]	5.20±0.30 [#]
阳性对照组	25.82±0.36 ^{**}	0.40±0.03 ^{**}	0.29±0.05 ^{**}	0.46±0.06 ^{**}	4.44±0.24 [*]
实验A组	29.14±0.51 [*]	0.48±0.03	0.35±0.07	0.54±0.05	4.93±0.31
实验B组	26.30±0.69 ^{**}	0.36±0.04 ^{**}	0.29±0.04 ^{**}	0.35±0.04 ^{**}	3.26±0.25 ^{**}
实验C组	29.92±0.60	0.51±0.05	0.41±0.05	0.57±0.07	4.78±0.37
实验D组	25.68±0.44 ^{**}	0.33±0.05 ^{**}	0.26±0.04 ^{**}	0.31±0.08 ^{**}	2.87±0.32 ^{**}

注: #. 与正常对照组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); ##. 与正常对照组相比, 差异极显著 ($P < 0.01$); *. 与模型对照组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); **. 与模型对照组相比, 差异极显著 ($P < 0.01$)。下同。

如表2所示, 模型对照组小鼠体质量增加量明显高于正常对照组 ($P < 0.01$), 与模型对照组相比, 实验B、D组小鼠体质量分别下降了13.12%和15.17% ($P < 0.01$)。结果提示, 2种海参岩藻聚糖硫酸酯可以显著减轻胰岛素抵抗小鼠的肥胖程度, 抑制体质量的增加。其中, *Am*-FUC的效果优于*Ib*-FUC。

模型对照组小鼠体内脂肪质量和脂体比极显著高于正常对照组 ($P<0.01$), 表明摄入高脂高果糖饮食导致小鼠脂肪的积累。与模型对照组比, 实验B、D组小鼠脂体比极显著降低, 分别下降了37.33%和44.83% ($P<0.01$)。结果提示2种海参岩藻聚糖硫酸酯均能减少小鼠体内脂肪的积累, 而Am-FUC的效果优于Ib-FUC。

2.2 2种FUC对小鼠空腹血糖及口服葡萄糖耐量的影响

表3 2种FUC对小鼠空腹血糖、口服葡萄糖耐量、血清胰岛素含量及胰岛素抵抗指数的影响

组别	空腹血糖浓度/(mmol/L)	血清胰岛素含量/(mIU/L)	HOMA-IR	QUICKI
正常对照组	7.39±0.21	9.79±0.51	2.94±0.43	0.55±0.02
模型对照组	9.25±0.14 ^{##}	21.54±0.64 ^{##}	9.27±0.69 ^{##}	0.43±0.01 ^{##}
阳性对照组	7.97±0.24 ^{**}	15.48±0.69 ^{**}	4.89±0.28 ^{**}	0.49±0.01 ^{**}
实验A组	8.98±0.11	20.22±0.19	8.24±0.42 [*]	0.44±0.01
实验B组	8.33±0.17 [*]	15.48±1.10 [*]	5.50±0.25 ^{**}	0.48±0.01 ^{**}
实验C组	8.63±0.15	19.09±1.05	7.43±0.46 ^{**}	0.45±0.01 [*]
实验D组	7.87±0.11 ^{**}	14.52±0.74 ^{**}	4.89±0.32 ^{**}	0.49±0.01 ^{**}

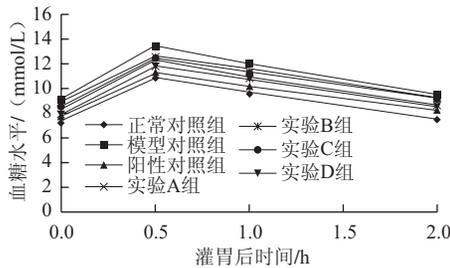


图2 2种FUC对小鼠空腹血糖水平的影响

Fig.2 Effect of Am-FUC and Ib-FUC on fasting blood glucose levels in mice

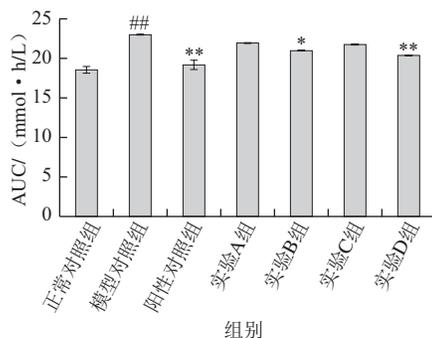


图3 小鼠血糖浓度-时间曲线下面积

Fig.3 AUC of blood glucose in mice

空腹血糖和口服葡萄糖耐量是目前公认诊断II型糖尿病的标准, AUC越小, 表明葡萄糖耐受力越高。如表3和图2、3所示, 模型对照组小鼠空腹血糖水平和AUC较正常对照组极显著升高 ($P<0.01$), 表明模型对照组小鼠出现了高血糖症状, 同时口服葡萄糖耐量严重受损。与模型对照组相比, 实验B、D组小鼠空腹血糖分别下降了9.99%和14.94% ($P<0.01$); AUC分别下降了8.99%

和11.58% ($P<0.01$)。结果提示, 2种海参岩藻聚糖硫酸酯可以显著降低胰岛素抵抗小鼠的血糖水平并改善葡萄糖耐受能力, 其中, Am-FUC的效果优于Ib-FUC。

2.3 对血清胰岛素水平的影响

高胰岛素血症是胰岛素抵抗的典型标志。胰岛素水平越高, 说明胰岛素抵抗程度越严重。HOMA-IR是评价个体的胰岛素抵抗程度的指标, QUICKI是评价个体的胰岛素敏感程度的指标。由表3可知, 高脂高果糖饮食成功诱导小鼠产生高胰岛素血症, 同时极显著提高HOMA-IR值 ($P<0.01$), 并且降低QUICKI值 ($P<0.01$)。与模型对照组相比, 实验B、D组的血清胰岛素含量分别降低了26.83%和32.59% ($P<0.01$), HOMA-IR值分别降低了40.64%和47.21% ($P<0.01$), QUICKI值分别上升了11.62%和13.95% ($P<0.01$)。结果提示2种海参岩藻聚糖硫酸酯均能改善小鼠的胰岛素抵抗, 其中Am-FUC效果优于Ib-FUC, 与RSG效果相近。

2.4 对血清中TNF- α 、IL-6、瘦素和脂联素含量的影响

表4 2种FUC对血清TNF- α 、IL-6、瘦素、脂联素含量的影响

Table 4 Effects of Am-FUC and Ib-FUC on serum TNF- α , IL-6, leptin and adiponectin in mice

组别	TNF- α 含量/(pg/mL)	IL-6含量/(\mu mol/L)	瘦素含量/(ng/mL)	脂联素含量/(ng/mL)
正常对照组	343.77±16.08	22.87±1.65	1.49±0.18	387.49±15.33
模型对照组	570.66±13.80 ^{##}	41.47±1.28 ^{##}	3.57±0.19 ^{##}	137.65±13.05 ^{##}
阳性对照组	454.08±9.82 ^{**}	28.67±1.13 ^{**}	2.25±0.14 ^{**}	294.41±17.93 ^{**}
实验A组	537.35±17.73	37.47±1.21	3.17±0.15	146.92±12.88
实验B组	479.92±12.24 ^{**}	33.27±1.02 ^{**}	2.59±0.17 ^{**}	219.86±19.89 ^{**}
实验C组	518.45±14.09 [*]	36.40±1.42 [*]	3.03±0.15 [*]	184.68±18.12
实验D组	460.00±16.78 ^{**}	30.89±1.03 ^{**}	2.44±0.11 ^{**}	255.69±15.69 ^{**}

TNF- α 是由脂肪组织分泌的一种促炎因子, 其在血清中的含量与胰岛素抵抗程度呈正相关, 与胰岛素敏感性呈负相关。由表4可知, 与正常对照组比, 模型对照组小鼠血清TNF- α 水平极显著上升 ($P<0.01$)。与模型对照组相比, FUC干预组血清TNF- α 水平下降, 其中实验B、D组血清TNF- α 含量分别降低了15.9%和19.39% ($P<0.01$)。结果提示2种海参岩藻聚糖硫酸酯均能降低小鼠血清TNF- α 水平, 改善胰岛素抵抗, 其中Am-FUC效果优于Ib-FUC。

IL-6由脂肪细胞、脂肪基质细胞和胰岛 β 细胞产生, 主要作用于肝脏。其在血清中的含量与胰岛素抵抗程度呈正相关。由表4可知, 模型组小鼠血清IL-6水平极显著高于正常对照组 ($P<0.01$)。与模型对照组相比, FUC干预组血清IL-6下降, 其中实验B、D组血清IL-6含量分别降低了19.46%和25.21% ($P<0.01$)。结果提示2种海参岩藻聚糖硫酸酯能降低小鼠血清IL-6水平, Am-FUC效果优于Ib-FUC, 与RSG效果相近。

瘦素是由肥胖基因编码的, 由白色脂肪组织分泌

的肽类激素,具有调节体质量和能量代谢的作用,在血清中的含量与胰岛素抵抗程度呈正相关。由表4可知,模型对照组小鼠血清瘦素水平极显著高于正常对照组($P<0.01$)。与模型对照组相比,FUC干预组血清IL-6下降,其中实验B、D组血清IL-6含量分别降低了27.42%和31.57%($P<0.01$)。结果提示,2种海参岩藻聚糖硫酸酯能降低小鼠血清IL-6水平,Am-FUC效果优于Ib-FUC,且与RSG效果相近。

脂联素是脂肪细胞特异性分泌的蛋白质,是重要的抗炎因子。血清脂联素浓度与胰岛素敏感性呈正相关,与机体胰岛素抵抗程度呈负相关。由表4可知,与正常对照组比,模型组小鼠的血清脂联素水平极显著降低($P<0.01$)。与模型对照组相比,FUC干预组血清脂联素含量上升,其中实验B、D组血清脂联素含量分别上升59.72%和85.76%($P<0.01$)。提示2种海参岩藻聚糖硫酸酯均能促进脂肪组织分泌脂联素,改善胰岛素抵抗,其中Am-FUC效果优于Ib-FUC,与RSG效果相近。

3 讨论

本实验采用高脂高果糖建立胰岛素抵抗小鼠模型,研究Am-FUC和Ib-FUC改善胰岛素抵抗及降低相关炎症因子水平作用。结果表明,2种海参岩藻聚糖硫酸酯均能显著减轻小鼠体质量、降低脂体比,降低空腹血糖水平,改善葡萄糖耐量受损情况,降低空腹胰岛素水平及HOMA-IR值,提高QUICKI值,降低血清TNF- α 、IL-6和瘦素含量,同时增加血清脂联素含量。提示2种海参岩藻聚糖硫酸酯均能降低肥胖小鼠血清炎症因子,改善胰岛素抵抗,其中Am-FUC效果优于Ib-FUC,与RSG效果相近。

岩藻聚糖硫酸酯的药效与分子质量有关,分子质量很高的岩藻聚糖硫酸酯消化吸收和生物利用率相对较低,大量研究表明低分子质量比高分子质量更具有生物活性。海参岩藻聚糖硫酸酯分子质量较大,不易吸收,对于它在动物体内的消化吸收目前仍处于探究阶段。不少研究结果表明,炎症是IR的主要致病介质,在炎症-IR-II型糖尿病这一过程中,脂肪组织的内分泌紊乱起着关键作用。脂肪组织可分泌和表达各种脂肪因子,其中相当一部分为脂肪组织特异分泌,如瘦素、脂联素、抵抗素等;而某些并非脂肪组织特异性表达的脂肪因子多为炎症因子,如TNF- α 、IL-6和单核细胞趋化蛋白等^[13]。这些脂肪因子均与胰岛素抵抗相关,脂肪细胞对上述分泌产物过多或不足能够引起胰岛素抵抗。脂联素是由脂肪细胞分泌的蛋白质,在预防和抵抗IR方面有重要的作用,是重要的抗炎因子。脂联素在II型糖尿病患者体内低表达,与胰岛素抵抗程度呈负相关,脂联素可通过多条途径提高各组织对胰岛素的敏感性,如抑制糖原输出来调节葡萄糖的代谢,增

加骨骼肌组织脂肪酸的氧化,通过葡萄糖转运子4的转位活性增加,从而提高肌肉组织对葡萄糖的摄取利用。脂联素还可激活AMPK途径,加强对脂质摄取及 β -氧化作用降低外周组织中脂质浓度,使胰岛素敏感性增加。有研究发现黄芪多糖能提高II型糖尿病大鼠血清脂联素含量,增加胰岛素的敏感性,改善胰岛素抵抗^[14]。本实验中Am-FUC和Ib-FUC显著提高了小鼠血清脂联素水平,降低了胰岛素抵抗程度。TNF- α 和IL-6是目前发现与IR关系最为密切的促炎因子,主要由脂肪组织,包括脂肪细胞和脂肪基质细胞在内的多种细胞产生。炎症反应活化脂肪细胞,分泌大量TNF- α 和IL-6,TNF- α 和IL-6可以相互协同:一方面激活IKK-I κ B-NF- κ B信号传导通路,从而介导NO合成加剧炎症反应;另一方面诱导IRS-1丝氨酸磷酸化,进而抑制其酪氨酸磷酸化,降低葡萄糖转运子4和磷脂酰肌醇-3激酶(phosphatidylinositol-3 kinase, PI3K)的活性,阻碍PI3K/PKB胰岛素信号传导通路,降低胰岛素敏感性,导致IR^[15]。此外,TNF- α 能够促进脂肪细胞的分解,增加脂肪氧化,使体内游离脂肪酸升高,并通过游离脂肪酸抑制葡萄糖代谢的氧化与非氧化途径,使胰岛素的生物学效应降低,产生IR。金智生等^[16-17]证明红芪多糖能降低高脂高糖诱导的胰岛素抵抗大鼠的血清及脂肪中TNF- α 和IL-6的含量,改善胰岛素抵抗。瘦素是ob基因产物,由脂肪细胞合成、分泌,它的发现是脂肪组织内分泌功能及肥胖研究的里程碑^[18]。瘦素对脂肪的分解作用使脂肪合成减少,分解增加,产生大量的游离脂肪酸而引起肝脏和肌肉的IR。此外,瘦素水平升高可造成氧化应激的增强,使单核细胞产生的活性氧簇增多,促炎性转录因子-核因子- κ B活性增强,从而产生一系列促炎性反应,导致 β 细胞功能受损,使血糖升高,而高血糖状态本身也可造成氧化应激的增加,进一步加强炎症反应,加速胰岛素抵抗的发展^[19]。胡世伟等^[20]证明了海地瓜岩藻糖基化海参硫酸软骨素能降低高脂高糖诱导的胰岛素抵抗小鼠的血清瘦素的含量,改善胰岛素抵抗。本实验中Am-FUC和Ib-FUC显著降低了胰岛素抵抗小鼠的血清TNF- α 、IL-6和瘦素含量,改善了胰岛素抵抗。提示2种岩藻聚糖硫酸酯能通过增加血清脂联素浓度及降低血清TNF- α 、IL-6和瘦素的水平,改善胰岛素抵抗,而Am-FUC的效果优于Ib-FUC。

综上所述,Am-FUC和Ib-FUC通过促进脂肪细胞对脂联素的分泌,降低TNF- α 、IL-6和瘦素的分泌水平,缓解脂肪细胞因子分泌失调引起的糖代谢紊乱从而改善胰岛素抵抗,Am-FUC效果优于Ib-FUC。其作用机制尚待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 叶金理, 林志辉, 李宁, 等. 益生菌对高脂饮食诱导的大鼠胰岛素抵抗的影响[J]. 中国微生态学杂志, 2013, 25(7): 778-781.
- [2] 何天博. DHA抑制2型糖尿病大鼠肝脏炎症改善胰岛素抵抗的机制研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2013.
- [3] 张豫文, 洪洁. 炎症因子与胰岛素抵抗[J]. 诊断学理论与实践, 2010, 9(1): 90-94.
- [4] CHEN Shiguo, HU Yaqin, YE Xinqian, et al. Sequence determination and anticoagulant and antithrombotic activities of a novel sulfated fucan isolated from the sea cucumber *Isoctichopus badiionotus*[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 2012, 1820(7): 989-1000.
- [5] YU Long, GE Lei, XUE Changhu, et al. Structural study of fucoidan from sea cucumber *Acaudina molpadioides*: a fucoidan containing novel tetra-fucose repeating unit[J]. *Food Chemistry*, 2014, 142: 197-200.
- [6] 黄益丽, 郑忠辉, 苏文金. 二色桌片参的化学成分研究III. 二色桌片参多糖-1: 岩藻聚糖的免疫调节作用[J]. 海洋通报, 2001, 20(1): 88-91.
- [7] 石迪, 王静凤, 胡世伟, 等. 北极刺参岩藻聚糖硫酸酯对糖尿病小鼠胰岛素抵抗的改善作用[J]. 中国海洋药物, 2013, 32(6): 72-78.
- [8] 杨玉红. 海参岩藻聚糖硫酸酯抗肿瘤及作用机制的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
- [9] 张珣, 王静凤, 杨玉红, 等. 海参岩藻聚糖硫酸酯抑制小鼠肿瘤生长和转移及其作用机制的研究[J]. 中国药理学通报, 2011, 27(8): 1098-1103.
- [10] 刘艳青, 李国云, 高焱, 等. 海参硫酸软骨素对大鼠酒精性胃溃疡的保护[J]. 食品科学, 2011, 32(19): 201-204.
- [11] 尹利昂. 不同海参多糖的分离纯化及生化性质分析[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009.
- [12] 陈士国. 几种海洋动物酸性多糖的结构和活性研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010.
- [13] 张风霞, 张铭, 孙西庆, 等. 化浊行血汤治疗胰岛素抵抗及对血清炎症因子的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2013, 8(4): 393-402.
- [14] 张霞. 黄芩多糖对2型糖尿病胰岛素抵抗作用机制的研究[D]. 太原: 山西医科大学, 2011.
- [15] 张洁, 王方, 许海燕, 等. 炎症因子与胰岛素抵抗[J]. 世界华人消化杂志, 2006, 14(32): 3121-3125.
- [16] 金智生, 孙丹凤, 汝亚琴, 等. 红芪多糖对实验性大鼠糖尿病胰岛素抵抗大鼠TNF- α 的影响[J]. 上海中医药杂志, 2006, 44(9): 61-63.
- [17] 金智生, 张东鹏. 红芪多糖对2型糖尿病胰岛素抵抗大鼠IL-6的影响[J]. 甘肃中医学院学报, 2006, 23(5): 6-8.
- [18] 阮丹杰, 王伟, 等. 炎症因子与胰岛素抵抗的研究进展[J]. 医学综述, 2009, 15(4): 508-510.
- [19] 潘宇. 瘦素与2型糖尿病及炎症[J]. 医学综述, 2006, 12(14): 835-837.
- [20] 胡世伟, 王静凤, 王玉明, 等. 海地瓜岩藻糖基化海参硫酸软骨素对II型糖尿病小鼠胰岛素抵抗改善作用的研究[J]. 中国海洋药物, 2014, 33(1): 58-64.