

中图分类号:R151 文献标识码:A 文章编号:1002-3127(2011)02-0096-04

· 论著 ·

壳聚糖调节血糖及其作用机制的探讨

陈建国, 步文磊, 来伟旗, 刘冬英, 梅松, 刘臻, 傅颖, 王茵
(浙江省医学科学院, 浙江 杭州 310013)

【摘要】 目的 探讨壳聚糖调节血糖及其作用机制。方法 将四氧嘧啶导致的糖尿病小鼠随机分成 4 组,另设一个正常对照组,每天分别灌胃给予蒸馏水、壳聚糖 0.25、0.50 和 1.00 g/kg 体重,连续 6 周,每周称重 1 次,在实验 2 周末、4 周末和 6 周末各测空腹血糖 1 次;实验末期进行糖耐量实验,并取股动脉血测糖化血清蛋白、血清胰岛素含量。结果 壳聚糖能明显缓解糖尿病小鼠症状;3 个剂量组小鼠血糖值和糖化血清蛋白均明显降低($P < 0.001$);低、高剂量组小鼠血糖曲线下面积明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);高剂量组小鼠血清胰岛素含量明显增高($P < 0.01$);低剂量组小鼠体重增长明显($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);低、中剂量组小鼠肝体比明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);低剂量组小鼠肾脏重和肾体比均明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 壳聚糖可通过促进胰岛素的分泌等作用,达到调节血糖,改善糖尿病症状的作用。

【关键词】 壳聚糖;四氧嘧啶;糖尿病;血糖;糖耐量;胰岛素;糖化血清蛋白

Effects of the hypoglycemic mechanism of chitosan on glycemia in diabetic mice

CHEN Jian-guo, BU Wen-lei, LAI Wei-qi, LIU Dong-ying, MEI Song, LIU Zhen, FU Ying, WANG Yin
(Zhejiang Academy of Medical Sciences, Zhejiang Hangzhou, 310013, China)

【Abstract】 Objective To investigate the hypoglycemic mechanism of Chitosan on glycemia in mice with alloxan-induced diabetes.

基金项目:浙江省科技厅重点项目(2006F12040);浙江省科技厅重大招投标项目(2007C12019);浙江省科技计划项目(2009F20035);浙江省卫生高层次创新人才培养、浙江省 151 人才培养

作者简介:陈建国,高级实验师,研究方向:营养与食品卫生。

通讯作者:王茵,研究员,研究方向:保健食品开发。

(上接第 95 页)

参考文献

- [1] Moore JM, Casale JF. In-depth chromatographic analyses of illicit cocaine and its precursor, coca leaves [J]. *Chromatogr A*, 1994, 674(3):165-205.
- [2] 吕国丽,周亚萍. 可卡因滥用所致的心血管系统病理损害[J]. *热带医学杂志*, 2008, 6(8):629-631.
- [3] 方成志,蔡宝珍,许敬,等. 可卡因对新生兔肝肾功能损害的研究[J]. *医药导报*, 2007, 7(26):717-719.
- [4] 贾晓佛,宋天保. 可卡因对性成熟期雄性大鼠生精细胞凋亡及 fas 蛋白表达的影响[J]. *第四军医大学学报*, 2009, 30(6):566.
- [5] Song Jun, Guan Xiao-wei, Developmental toxicity of cocaine exposure in mid-pregnancy mice [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2002, 23(11):1029-1034.
- [6] 刘仲熊,方成志,姜毅. 可卡因对新生兔肝脏损害的研究[J]. *中国围产医学杂志*, 2000, 13(4):248-250.
- [7] Bouis P, Boelsterli UA. Modulation of cocaine metabolism in primary rat hepatocyte cultures: Effects on irreversible binding and protein biosynthesis [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1990, 104(5): 429-439.
- [8] Boxenbaum H. Cytochrome P450 3A4 in vivo ketoconazole competitive inhibition [J]. *J Pharm Pharm Sci*, 1999, 2(2): 47-52.
- [9] Wiseman H, Smith C, Arnstein HR, et al. The antioxidant action of ketoconazole and related azoles: comparison with tamoxifen and cholesterol [J]. *Chem Biol Interact*, 1991, 79(2): 229-243.
- [10] Ramez Labib, Rita Turkall, Mohamed S, et al. Oral cocaine produces dose-related hepatotoxicity in male mice [J]. *Toxicology Letters*, 2001, 125(2): 29-37.
- [11] 沈惠麟,赵利英,曲青山,等. 组织中谷胱甘肽的荧光测定法[J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 1988, 6(2): 103-108.
- [12] 庞占军. 自由基医学研究方法 [M]. 北京:人民卫生出版社, 2000: 62-64.

(收稿日期:2010-11-15)

Methods Alloxan-induced diabetic mice were divided into 4 groups, with one natural control group, and administered orally distilled water, Chitosan at dose of 0.25, 0.50, 1.00 g/kg BW per day, respectively for 6 weeks. Body weight was recorded weekly. Blood samples were collected for measurement of glucose at the 2nd, 4th and 6th weekend after fasting for 5 h. Observed Glucose tolerance test and taking femoral artery blood to measure the glycosylated serum proteins (GSP) and the blood serum insulin content at the 6th weekend. **Results** Symptoms of diabetic mice fed Chitosan were improved obviously. Their blood glucose lever and GSP decreased significantly ($P < 0.01$). The area under curve of the blood glucose of diabetic mice fed Chitosan at dose of 0.25, 1.00g/kg BW decreased obviously ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The blood serum insulin increased obviously in high dose Chitosan groups ($P < 0.01$). The body weight of diabetic mice fed Chitosan at dose of 0.25g/kg BW increased obviously ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The ratio of liver to body weight decreased obviously in the diabetic mice fed Chitosan at dose of 0.25, 0.50g/kg BW ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The kidney weight and the ratio of kidney to body weight decreased obviously in the diabetic mice fed Chitosan at dose of 0.25g/kg BW ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** It is suggested that Chitosan has effects of decreasing blood glucose and improving symptoms of mice with alloxan-induced diabetes by mechanisms of enhancing the blood serum insulin.

【Key words】 Chitosan; Alloxan; Diabetes; Blood glucose; Glucose tolerance test; The blood serum insulin; The glycosylated serum proteins

壳聚糖(chitosan)为广泛存在于虾、蟹等甲壳类动物外壳及真菌细胞壁中的甲壳素(chitin)脱乙酰化而制得,是仅次于纤维素的第二大生物资源。壳聚糖分子中的氨基可与质子结合,使自身带正电荷,是天然多糖中少见的带正电荷的高分子物质。壳聚糖及其衍生物具有抗感染、抗肿瘤、降血糖、降血脂、防治高血压、增强免疫功能等多种生物学活性^[1-7]。本研究就壳聚糖降血糖及其作用机制进行探讨,为综合利用壳聚糖资源,开发成辅助降血糖保健食品提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 壳聚糖 由浙江工业大学提供,含量 98%。

1.2 动物 选浙江省实验动物中心提供的健康、成熟、体重 24~26 g 的 ICR 种雌性小鼠 120 只,实验动物合格证号:SCXK(浙)2003-0001,动物设施环境合格证号:SYXK(浙)2005-0074。

1.3 试剂 四氧嘧啶(Alloxan,美国 Sigma),血糖试纸盒(美国强生),生理盐水(扬州中宝制药有限公司),糖化血清蛋白含量测定试剂盒(宁波赛克生物技术有限公司),血清胰岛素含量测定试剂盒由美国 ADL 公司生产,上海西塘生物科技公司进口分装。

1.4 方法^[8] 小鼠禁食 16 h,按 190 mg/kg 体重剂量腹腔注射四氧嘧啶生理盐水液,72 h 后测空腹血糖,取血糖值在 12~25 mmol/L 的小鼠 48 只,按血糖值、体重随机分成 4 组,设一个模型对照组(蒸馏水)和壳聚糖 0.25、0.50、1.00 g/kg 体重 3 个剂量组;另设一个正常对照组(蒸馏水),每组 12 只。小鼠分笼饲养,剂量灌胃 1 次/d,自由进食饮水,每周称重一次。实验期 6 周,在实验 2 周末、4 周末和 6 周末各测空腹血糖 1

次。实验第 6 周末,小鼠禁食 5 h,按剂量灌胃 1 次,20 min 后经口给予葡萄糖 2.0 g/kg 体重,测定给葡萄糖后 0、0.5 和 2 h 血糖值,进行糖耐量实验,计算血糖曲线下面积。实验末期,小鼠股动脉采血,测糖化血清蛋白、血清胰岛素含量,脱臼处死。血糖按美国强生 OneTouch Ultra^{MT} 方法;糖化血清蛋白按试剂盒方法进行,美国雅培 ci8200 全自动生化免疫分析仪测定;血清胰岛素采用酶联免疫法,用芬兰 Thermo 公司生产的 DENLEY DRAGON Wellscan MK 3 型酶标仪进行。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 13.0 版软件包进行方差分析,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结 果

2.1 一般观察 造模后小鼠多饮、多食、多尿、体重减轻即“三多一少”体征十分明显,3 个剂量组小鼠随实验进程体征逐渐缓解。模型对照组和 3 个剂量组各有 2 只小鼠死亡,系死于糖尿病,与灌胃、壳聚糖无关。

2.2 壳聚糖对糖尿病小鼠血糖值的影响 结果见表 1。实验期间,模型对照组小鼠空腹血糖值继续升高,与给药前比较 $P < 0.01$,并在实验第 4 周末达到最高值。3 个剂量组小鼠在给药 2 周末血糖值继续升高,与给药前比较,中、高剂量组 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$;但低剂量组差异无统计学意义($P > 0.05$)。随着实验进程,3 个剂量组小鼠血糖值均有所降低,在实验 4 周末和 6 周末,与模型对照组比较 $P < 0.01$;并以低剂量组降低最显著,在实验 6 周末,与给药前比较 $P < 0.01$,而与正常对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。表明壳聚糖具有明显降低糖尿病小鼠空腹血糖值的作用,但以低剂量组作用最明显。

表 1 壳聚糖对糖尿病小鼠血糖值的影响 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别 (g/kg)	n (只)	给药前	给药后		
			2 周	4 周	6 周
模型对照组	10	17.6 ± 5.3	24.4 ± 4.1 ^{**}	30.6 ± 3.3 ^{**}	24.7 ± 5.3 ^{**}
0.25	10	17.5 ± 4.4	20.8 ± 7.2	19.8 ± 8.7 [*]	9.9 ± 6.1 ^{* **}
0.50	10	17.6 ± 5.1	22.8 ± 3.4 [#]	21.3 ± 5.9 [*]	14.9 ± 8.1 [*]
1.00	10	17.9 ± 4.6	26.1 ± 6.4 ^{**}	23.6 ± 6.6 [*]	14.3 ± 9.7 [*]
正常对照组	12	6.3 ± 0.7	6.0 ± 0.9	5.1 ± 0.7	5.0 ± 0.8

注:与模型对照组比较, * $P < 0.01$;与给药前比较, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

2.3 壳聚糖对糖尿病小鼠糖耐量实验的影响 结果见表 2。3 个剂量组小鼠血糖曲线下面积均低于模型对照组,且以低剂量组最低;与模型对照组比较,低、高剂量组其差异有统计学意义 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。表明壳聚糖对糖尿病小鼠糖耐量实验结果为阳性,并以低剂量组作用最明显。

表 2 壳聚糖对糖尿病小鼠糖耐量实验的影响 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别 (g/kg)	n (只)	0 h	0.5 h	2.0 h	曲线下面积
0.25	10	9.9 ± 6.1 ^{**}	25.8 ± 7.9 ^{**}	20.9 ± 9.4 ^{**}	44.0 ± 15.4 ^{**}
0.50	10	14.9 ± 8.1 ^{**}	28.9 ± 5.7	26.8 ± 5.8	52.7 ± 11.4
1.00	10	14.3 ± 9.7 ^{**}	30.2 ± 4.6	23.0 ± 5.7 [*]	51.0 ± 10.3 [*]
正常对照组	12	5.0 ± 0.8	9.8 ± 1.4	5.3 ± 0.7	15.0 ± 1.7

注:与模型对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

2.4 壳聚糖对糖尿病小鼠糖化血清蛋白的影响 结果见表 3。3 个剂量组小鼠糖化血清蛋白含量均明显低于模型对照组 ($P < 0.01$)。模型对照组、3 个剂量组小鼠糖化血清蛋白含量均明显高于正常对照组, $P < 0.01$ 。表明壳聚糖具有降低糖尿病小鼠糖化血清蛋白含量的作用。

2.5 壳聚糖对糖尿病小鼠血清胰岛素的影响 结果见表 4。3 个剂量组小鼠血清胰岛素含量随着剂量的

增高而逐渐增高,且高剂量组小鼠血清胰岛素含量明显高于模型对照组 ($P < 0.01$),而与正常对照组比较,则差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。模型对照组和低、中剂量组小鼠血清胰岛素含量明显低于正常对照组, $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ 。表明高剂量壳聚糖具有促进糖尿病小鼠血清胰岛素分泌的作用。

表 3 壳聚糖对糖尿病小鼠糖化血清蛋白的影响 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别 (g/kg)	鼠数 (只)	糖化血清蛋白
模型对照组	10	1.96 ± 0.34 [#]
0.25	10	1.39 ± 0.45 ^{**}
0.50	10	1.45 ± 0.27 ^{**}
1.00	10	1.50 ± 0.27 ^{**}
正常对照组	12	0.83 ± 0.13

注:与模型对照组比较, * $P < 0.01$;与正常对照组比较, * $P < 0.01$ 。

2.6 壳聚糖对糖尿病小鼠体重的影响 结果见表 5。模型对照组和 3 个剂量组小鼠体重在造模后均明显减轻,与造模前比较 ($P < 0.01$)。实验期间,各组小鼠体重均有一定的回升。3 个剂量组中,以低剂量组体重增长最明显,给药后 1 和 5 周,低剂量组与模型对照组比较 ($P < 0.05$);而与正常对照组比较,除在给药后 2 周,其体重明显低于正常对照组 ($P < 0.05$)外,其余均差异无统计学意义。表明壳聚糖具有促进糖尿病小鼠体重恢复的作用,并且,以低剂量组作用最明显。

表 4 壳聚糖对糖尿病小鼠血清胰岛素的影响 (ng/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别 (g/kg)	n (只)	血清胰岛素
模型对照组	10	17.0 ± 5.3 ^{**}
0.25	10	16.7 ± 3.9 ^{**}
0.50	10	19.4 ± 8.2 [#]
1.00	10	24.3 ± 5.6 [*]
正常对照组	12	25.4 ± 2.4

注:与模型对照组比较, * $P < 0.01$ 。与正常对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

表 5 壳聚糖对糖尿病小鼠体重的影响 (g, $\bar{x} \pm s$)

组别 (g/kg)	n (只)	造模前	造模后	给药后					
				1 周	2 周	3 周	4 周	5 周	6 周
模型组	10	25.7 ± 1.0	22.3 ± 2.7 ^d	23.9 ± 3.8 ^d	25.8 ± 3.0 ^d	26.8 ± 3.2 ^d	27.3 ± 2.9 ^d	27.7 ± 3.2 ^d	28.5 ± 3.2 ^D
0.25	10	25.5 ± 1.7	22.7 ± 2.7 ^d	26.5 ± 2.1 ^A	27.6 ± 2.4 ^{BD}	28.9 ± 2.3	28.9 ± 2.1	30.2 ± 2.0 ^A	30.5 ± 2.4
0.50	10	25.6 ± 1.0	22.1 ± 2.0 ^d	24.9 ± 2.7 ^d	26.2 ± 2.4 ^d	27.1 ± 3.0 ^D	27.5 ± 3.1 ^d	28.0 ± 3.4 ^D	29.1 ± 3.2 ^b
1.00	10	25.5 ± 0.9	22.3 ± 3.8 ^d	25.6 ± 3.6 ^D	26.5 ± 3.3 ^d	27.4 ± 3.9	27.9 ± 3.2 ^D	27.9 ± 3.8 ^D	28.7 ± 3.5 ^{B, D}
正常组	12	25.3 ± 1.7	27.2 ± 2.2 ^B	28.3 ± 2.3 ^b	29.9 ± 2.0	30.0 ± 2.5	31.1 ± 2.9	31.1 ± 2.6	32.0 ± 3.0

注:A/a 与模型对照组比较, $P < 0.05$ / $P < 0.01$;B/b 与造模前比较, $P < 0.05$ / $P < 0.01$;D/d 与正常对照组比较, $P < 0.05$ / $P < 0.01$ 。

2.7 壳聚糖对糖尿病小鼠脏器重和脏体比的影响 结果见表 6。3 个剂量组小鼠肝体比均低于模型对照组,低、中剂量组 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$;而模型对照组

和高剂量组小鼠肝体比均明显高于正常对照组, $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ 。低剂量组小鼠肾脏重和肾体比均明显低于模型对照组, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$;模型对照组

和 3 个剂量组小鼠肾脏重和肾体比均明显高于正常对照组, $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ 。各组小鼠脾脏重和脾体比差异均无统计学意义。表明糖尿病小鼠肝体比、肾脏重

和肾体比均增高, 而壳聚糖具有使其降低的作用, 0.25 和 0.50 g/kg 体重剂量对肝体比作用效果明显, 0.25 g/kg 体重剂量对肾脏重和肾体比作用效果最明显。

表 6 壳聚糖对糖尿病小鼠脏器重和脏体比的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别(g/kg)	鼠数(只)	肝脏(g)	肝体比(%)	肾脏(g)	肾体比(%)	脾脏(g)	脾体比(%)
模型对照组	10	1.68 ± 0.24	5.89 ± 0.54**	0.61 ± 0.11**	2.17 ± 0.43**	0.11 ± 0.04	0.39 ± 0.11
0.25	10	1.60 ± 0.34	5.21 ± 0.87*	0.52 ± 0.11**	1.68 ± 0.27***	0.13 ± 0.03	0.42 ± 0.07
0.50	10	1.46 ± 0.34	4.95 ± 0.66**	0.57 ± 0.06**	1.95 ± 0.18**	0.12 ± 0.03	0.41 ± 0.10
1.00	10	1.54 ± 0.30	5.37 ± 0.74*	0.56 ± 0.11**	1.99 ± 0.48**	0.11 ± 0.04	0.37 ± 0.13
正常对照组	12	1.49 ± 0.17	4.66 ± 0.32	0.42 ± 0.05	1.30 ± 0.09	0.11 ± 0.03	0.35 ± 0.08

注:与模型对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与正常对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

3 讨论

四氧嘧啶是一种 β 细胞毒剂, 可选择性地损伤多种动物的胰岛 β 细胞, 使胰岛素绝对的或相对的不足, 引起实验性糖尿病^[9-11]。由于糖尿病患者糖代谢和脂代谢障碍, 酸性代谢产物增加, 使体液易呈酸性, 若体液 pH 值下降 0.1, 则胰岛素敏感度下降 30%, 患者糖利用降低, 呈高血糖。而壳聚糖分子结构中含氮碱性基团, 可调节 pH 值到弱碱性, 提高胰岛素利用率, 有利于糖尿病的防治。另外壳聚糖刺激迷走神经, 使血管扩张, 促进血液循环和胰岛素分泌。而且壳聚糖未被吸收部分, 因有很强吸附性和膨润性, 在肠道内保持一定容积, 延缓或减少食物中糖类吸收, 不仅降低并延缓血糖峰值, 且排除多余糖类, 使血糖下降, 亦有利于减肥、防止肥胖^[12-13]。本实验结果表明壳聚糖能明显促进四氧嘧啶糖尿病小鼠症状的缓解, 明显降低其空腹血糖、糖化血清蛋白和血糖曲线下面积, 促进其体重恢复和降低肝体比、肾脏重和肾体比的作用, 并以低剂量组效果最明显; 高剂量壳聚糖还具有促进糖尿病小鼠血清胰岛素分泌的作用。提示低剂量壳聚糖可能通过提高四氧嘧啶糖尿病小鼠对胰岛素的敏感性, 提高胰岛素的利用率; 而高剂量壳聚糖还可通过促进胰岛素的分泌等综合作用, 从而达到调节血糖, 改善糖尿病症状的作用。并且, 高剂量壳聚糖可能不易被肠道完全吸收, 未被吸收部分壳聚糖, 在肠道内延缓或减少食物中糖类吸收, 排除多余糖类, 不仅降低并延缓血糖峰值, 使血糖下降, 同时在一定程度上影响体重增长, 其结果值得进一步探讨。

参考文献

[1] 王金柱. 甲壳素的医学应用[J]. 河南中医药学刊, 2001, 16(4): 46.

- [2] Muzzarelli R A A. Chitin [M]. Oxford: Pergamon Press, 1997:1.
- [3] Jayakumar R, Nwe N, Tokura S, et al. Sulfated chitin and chitosan as novel biomaterials [J]. Int J Biol Macromol, 2007, 40(3): 175-181.
- [4] Crompton KE, Tomas D, Finkelstein DI, et al. Inflammatory response on injection of chitosan/GP to the brain [J]. J Mater Sci Mater Med, 2006, 17(7): 633-669.
- [5] 吕朋, 李八方, 夏兰. 壳聚糖在医药保健中的应用[J]. 中国海洋药物杂志, 2001, 20(5): 30-34.
- [6] 田德峰, 王彦辉, 张景英, 等. 壳聚糖调血脂活性研究概况[J]. 中国海洋药物杂志, 2000, 19(6): 37-41.
- [7] 孙先明, 刘思当, 季云峰. 壳聚糖对奶牛免疫功能及生产性能的影响[J]. 中国兽医杂志 2008, 44(1): 40-41.
- [8] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范 [M]. 北京: 卫生部卫生法制与监督司编印, 2003: 38-42.
- [9] Shimizu H, Sato N, Tanaka Y, et al. Interleukin-6 stimulates insulin secretion in HIT-T 15 cells [J]. Horm Metab Res, 1995, 27(1): 37-38.
- [10] Suarez PW, Rajotte RV, Mosmann TR, et al. Both CD⁺ 4 and CD⁺ 8T cells in syngenic islet grafts in NOD mice produce interferon-gamma during beta-cell destruction [J]. Diabetes, 1996, 45(10): 1350-1357.
- [11] Takahanshin M, Masuyam QJ, Ikeda U, et al. Effects of endogenous endothelial interleukin-8 on neutrophil migration across an endothelial monolayer [J]. Cardiovasc Res, 1995, 29(5): 670-675.
- [12] 许剑峰. 壳聚糖及其衍生物的药理活性研究进展 [J]. 海峡药学, 2006, 18(6): 13-14.
- [13] 姜秀芬, 刘桂菊, 李恩泽. 甲壳质及其衍生物在医药方面的应用 [J]. 齐鲁医学杂志, 2002, 17(4): 364-366.

(收稿日期: 2010-09-06)