

三种植物提取物对 II 型糖尿病小鼠糖脂代谢改善作用研究

Binding and interaction effect of three kinds of plant extracts on Glycolipid Metabolism in Type II Diabetic Mice

张继媛¹ 刘金福^{1,2} 肖萍^{1,2} 刘紫萱¹

ZHANG Ji-yuan¹ LIU Jin-fu^{1,2} XIAO Ping^{1,2} LIU Zi-xuan¹

(1. 天津农学院食品科学与生物工程学院, 天津 300384; 2. 天津市农副产品深加工技术工程中心, 天津 300384)

(1. Food Science and Bioengineering College, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China;

2. Tianjin Engineering and Technology Research Center of Agricultural Products Processing, Tianjin 300384, China)

摘要:通过建立 II 型糖尿病小鼠模型,以血糖值的变化确定南瓜多糖、葛根黄酮、普洱茶褐素提取物降血糖的最佳剂量。在该基础上,通过对其空腹血糖值(FBG)、胰岛素(INS)、甘油三酯(TG)、胆固醇(TC)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)的测定,表明 3 种提取物单一组分及两两联合对 II 型糖尿病小鼠糖脂代谢紊乱均有明显的改善作用,在 FBG、INS、IR、HDL、LDL 指标上联合组显著优于单一组分 ($P < 0.05$)。析因分析结果表明,当 3 种物质两两联合时具有交互作用;协同试验发现,南瓜多糖与葛根黄酮联合或与茶褐素联合在降低 TG 含量上均与多糖组差异显著 ($P < 0.05$);茶褐素与葛根黄酮联合在降低 FBG、TC、LDL 含量上效果显著优于黄酮组,在 TG、INS 方面效果显著优于茶褐素组和黄酮组 ($P < 0.05$)。分子机制试验表明,3 种物质单一组分和两两联合在 PI3K/Akt 蛋白通路表达方面均有增强作用。

关键词:南瓜多糖;葛根黄酮;普洱茶褐素;II 型糖尿病;联合作用;PI3K/Akt 通路

Abstract: In this paper, the type II diabetes model was established and the optimal dose of the pumpkin polysaccharide, pueraria flavonoids and pu-erh theabrowns were determined by measured blood glucose. On the basis, the fasting blood glucose (FBG), insulin (INS), insulin resistance (IR), high density lipoprotein (HDL) and low density lipoprotein (LDL) were also investigated. The FBG, INS, IR, HDL, LDL combined group was significantly better than

the single component ($P < 0.05$). The results revealed that the combinations of pumpkin polysaccharide and pu-erh theabrowns, pueraria flavonoids and pu-erh theabrowns were effective. However, the pumpkin polysaccharide factorial analyses showed that the interactions of the three substances were interactive. The synergistic experiment showed that pumpkin polysaccharide combined with Pueraria lobata flavonoids or combination with tea-flavonoid significantly reduced TG content ($P < 0.05$). The combination of theaflavin and pueraria flavonoids in reducing the content of FBG, TC, LDL was significantly better than flavonoids, and the effect of TG and INS was better than that of the pueraria flavonoids and pu-erh theabrowns group ($P < 0.05$). The molecular mechanism experiments showed that a single one and two of the three components played an important role in the expression of PI3K / Akt protein pathway.

Keywords: pumpkin polysaccharide; pueraria flavonoids; pu-erh theabrowns; Type II Diabetic; binding effect; PI3K/Akt pathway

II 型糖尿病是一种典型的代谢异常疾病,糖脂代谢紊乱形成的糖、脂毒性在 II 型糖尿病的发生与发展中起重要作用,而且糖、脂代谢紊乱常常互相影响,形成恶性循环^[1]。近年来,人们对天然植物中所含有的多种生物活性成分改善 II 型糖尿病动物模型糖脂代谢的效果有诸多报道,大量的试验研究结果表明茶褐素^[2]、葛根黄酮^[3-4]、南瓜多糖^[5]具有明显的改善糖脂代谢紊乱的效果。并且针对不同活性成分在降脂、降糖作用机制方面表现出多靶点、多通路的特点,已有研究^[6-8]表明多成分联合使用具有更加明显的改善糖脂代谢作用。磷脂酰肌醇 3 磷酸激酶/蛋白激酶 B 信号通路 (PI3K/Akt),是胰岛素调控细胞代谢的关键信号通路。PI3K 磷酸化后产生的第二信可以活化 Akt 因子,影响肝脏、脂肪等组织对葡萄糖的摄取、胞内糖原的合成及肝脏葡萄糖异生及输出等^[9-11]。已有研究^[12]表明,在发生胰岛素抵抗

基金项目:天津市科技支撑计划项目(编号:13ZCZDNC01800);天津市农业科技成果转化项目(编号:14ZXNZNC00036)

作者简介:张继媛,女,天津农学院在读硕士研究生。

通信作者:刘金福(1961-),男,天津农学院教授,硕士。

E-mail: f123@tjau.edu.cn

收稿日期:2016-10-21

时,肝脏、肌肉以及脂肪等胰岛器官组织中的 PI3K 及 Akt 活性及含量均发生明显下调现象。

本试验拟对 II 型糖尿病小鼠进行不同剂量的南瓜多糖、葛根黄酮、普洱茶茶褐素灌胃处理,确定单一成分的有效剂量,在此基础上进行析因分析和协同作用试验^[13],并对肝脏中 PI3K/Akt 分子通路上关键蛋白(PI3K p110 和 p-Akt T308)的表达进行分析,探讨 3 种物质单一及联合对改善 II 型糖尿病糖脂代谢的效果及机制,旨在为营养保健食品的开发提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 主要材料

南瓜多糖提取物:总糖 64.9%,其中多糖含量为 48.3%,水分 8%,果胶 12%,实验室自制;

普洱茶茶褐素提取物:茶褐素含量 53%,蛋白质 24.8%,水分 6.3%,天津天士力集团有限公司;

葛根黄酮:总黄酮含量 78%,水分 3.8%,灰分 3.7%,安康康元医药科技有限公司;

昆明种雄性小鼠:清洁级,20~22 g,北京军事医学科学院实验动物中心;

高脂饲料(含 78.8%基础饲料、10%猪油、10%蛋黄粉、1%胆固醇、0.2%胆盐)、基础饲料:北京军事医学科学院实验动物中心。

1.1.2 主要试剂

胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)试剂盒:中生北控生物科技股份有限公司;

链脲佐菌素(STZ)、羊抗兔二抗:北京索莱宝公司;

内参 β -actin、一抗为兔抗 IgG(P 110)、一抗为兔抗 IgG(T-308):武汉爱博泰克生物科技有限公司;

乙醚、葡萄糖、甲醛、乙醇均为国产分析纯。

1.1.3 主要仪器

可见分光光度计:752 型,上海菁华科技仪器有限公司;

血糖仪:稳豪倍易型,北京怡成生物电子有限公司;

魅力全自动生化仪:GLAMOUR3000 型,美国 MD 仪器公司;

超低温冰箱:8925 型,美国 Thermo 公司;

电泳仪:JY600⁺型,美国 Bio-Rad 公司;

电泳槽:JY-SP-DT,美国 Bio-Rad 公司;

转膜电泳仪:DY CZ-40D 型,美国 Bio-Rad 公司;

凝胶成像分析系统:chemiDocTM XRS+型,美国 Bio-Rad 公司。

1.2 方法

1.2.1 高糖动物模型建立、分组及给药方法 112 只健康清洁级昆明种雄性小鼠,体重约 20~22 g。适应性饲养 1 周后,随机分为 14 组,每组 8 只。分别为正常组、模型组、南瓜多糖组(62.5, 125, 250, 500 mg/kg),葛根黄酮组(50, 100, 200, 400 mg/kg),普洱茶茶褐素组(225, 450, 900, 1 350 mg/kg)(剂量为给药剂量)。正常组饲喂基础饲料,其余各组饲喂高脂饲料,

4 周后除正常组外,其余各组均禁食不禁水 12 h,连续 3 d 腹腔注射链脲霉素(STZ)35 mg/kg,1 周后禁食禁水 24 h,测定空腹血糖,血糖值大于 11.0 mmol/L 为 T2DM 模型小鼠,继续喂养高脂饲料,并进行提取物灌胃 4 周。

1.2.2 联合作用分组及给药方法 采用了高脂饲料喂养与 STZ 注射结合的 II 型糖尿病小鼠模型,联合组分组为南瓜多糖与葛根黄酮联合组、南瓜多糖与茶褐素联合组、茶褐素与葛根黄酮联合组。剂量是通过量效关系得出最佳剂量。

1.2.3 指标观察及测定

(1) 血糖值测定:鼠尾末端取血,用血糖仪测定血糖值。

(2) 血清指标测定:末次给药禁食 12 h,乙醚麻醉后,摘眼球取血,所取血液 4 ℃ 静置 20 min,12 000 r/min 离心 20 min,吸出上清液即为血清,用全自动生化仪测定血清 TC、TG、HDL、LDL 的含量;用酶联免疫分析(ELISA)方法测定空腹胰岛素(FINS)的含量和空腹血糖(FBG),并按式(1)计算稳态模型的胰岛素抵抗(HOMA-IR)指数。

$$H = \frac{A \times B}{22.5}, \quad (1)$$

式中:

H——胰岛素抵抗(HOMA-IR)指数;

A——空腹胰岛素(FINS)的含量, mU/L;

B——空腹血糖(FBG), mmol/L。

1.2.4 免疫印迹试验 设立正常组、模型组、南瓜多糖组、葛根黄酮组、茶褐素组、多糖黄酮联合组(联合 1 组)、多糖茶褐素联合组(联合 2 组)、黄酮茶褐素联合组(联合 3 组)。

提取肝组织蛋白质,考马斯亮蓝法测定蛋白浓度,经 10%分离胶和 4%浓缩胶进行 SDS-PAGE 电泳分离蛋白。在 4 ℃ 下,采用湿转法,用含有 5%脱脂奶粉 TBST 封闭,按 1:3 000 稀释一抗(P 110 或 T-308),4 ℃ 孵育过夜。洗膜,按 1:1 000 稀释二抗,室温 1 h,洗涤,与 ECL 显色液反应 5 min,曝光。利用凝胶成像进行定量分析,计算蛋白条带与 β -actin 的光密度比值。

1.2.5 2×2 析因设计和协同试验设计 按照 2×2 析因设计条件,选取 2 种提取物 2 个剂量水平及其组合进行 2 种提取物在糖脂指标上是否存在交互作用;协同试验设计采用 2 种提取物之间单一成分有效剂量组合与 2 倍单一成分有效剂量试验组进行组间各糖脂生化指标比较,分析是否存在协同作用。

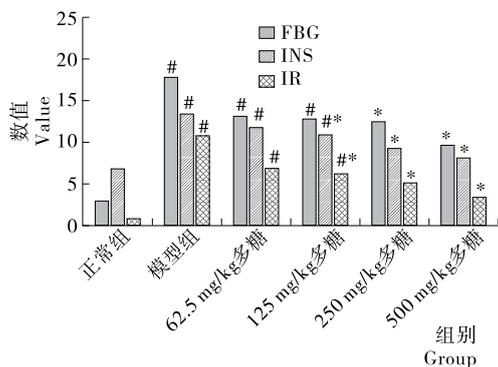
1.2.6 统计学处理 所得数据应用 SPSS19.0 软件处理,计量数据以均数±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示,组间均数比较用 *t* 检验,析因分析用 *F* 检验。P<0.05 表示差异显著,P<0.01 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 南瓜多糖、葛根黄酮、普洱茶茶褐素与血糖血脂指标量效关系

通过 3 种物质 4 种不同剂量的灌胃效果求出 3 种物质的量效关系见图 1~6。图 1~3 中,横坐标为不同剂量下的南瓜多糖(pumpkin polysaccharide)、葛根黄酮(pueraria flavonoids)、茶褐素(pu-erh theabrowns)干预下的空腹血糖(单

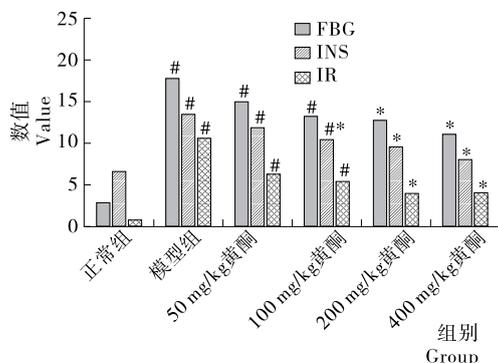
位为 mmol/L)、胰岛素(单位为 mU/L)及胰岛素抵抗,纵坐标 ELISA 试剂盒得到的数值;图 4~6 中,横坐标为不同剂量下的南瓜多糖(pumpkin polysaccharide)、葛根黄酮(pueraria flavonoids)、茶褐素(pu-erh theabrowns)干预下的胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白(单位为 mmol/L),纵坐标为生化仪得到的数值。



#表示与正常组比较, $P < 0.05$; *表示与模型组比较, $P < 0.05$

图 1 不同剂量南瓜多糖与血糖指标关系

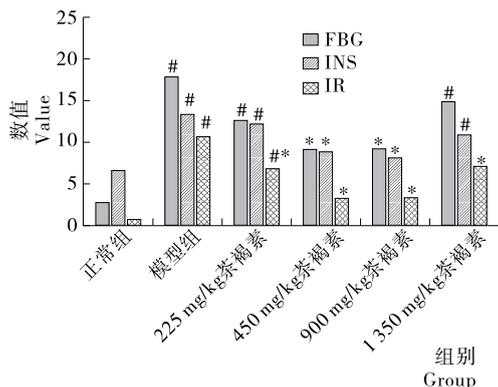
Figure 1 Relationship between of four does different between pumpkin polysaccharide and Blood Glucose Index



#表示与正常组比较, $P < 0.05$; *表示与模型组比较, $P < 0.05$

图 2 不同剂量葛根黄酮与血糖指标关系

Figure 2 Relationship between of four does different pueraria flavonoids and Blood Glucose Index

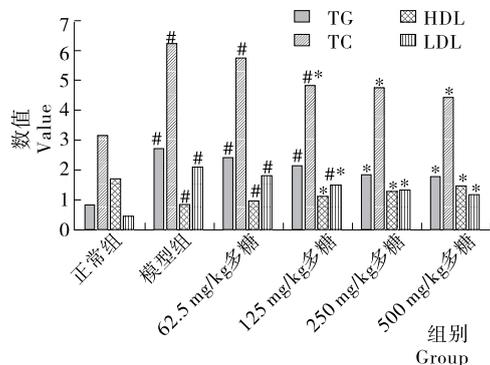


#表示与正常组比较, $P < 0.05$; *表示与模型组比较, $P < 0.05$

图 3 不同剂量的茶褐素与血糖指标关系

Figure 3 Relationship between of four does different pu-erh theabrowns and Blood Glucose Index

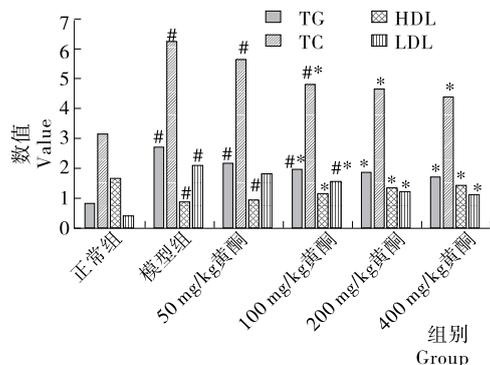
由图 1、2、4、5 可知,随着不同剂量的增加,南瓜多糖和葛根黄酮改善糖脂代谢的效果越好,分别在 250 mg/kg 和 200 mg/kg 剂量时各指标与模型组差异显著。而图 3、6 表明随着茶褐素浓度的增加其改善糖脂代谢的效果越好,在剂量为 450 mg/kg 时,各指标与模型组差异显著,但随着剂量不断增加最高剂量的效果反而下降,证明 1 350 mg/kg 茶褐素超出了其有效剂量,不能良好改善 II 型糖尿病病症,所以高剂量的茶褐素反而不会良好地改善糖脂指标。试验表明,



#表示与正常组比较, $P < 0.05$; *表示与模型组比较, $P < 0.05$

图 4 不同剂量的南瓜多糖与血脂指标关系

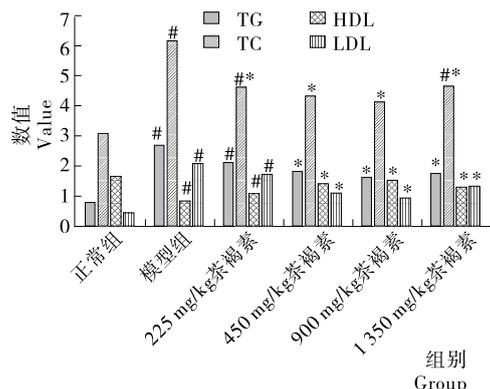
Figure 4 Relationship between of four does different pumpkin polysaccharide and Blood lipid index



#表示与正常组比较, $P < 0.05$; *表示与模型组比较, $P < 0.05$

图 5 不同剂量葛根黄酮与血脂指标关系

Figure 5 Relationship between of four does different pueraria flavonoids and Blood lipid index



#表示与正常组比较, $P < 0.05$; *表示与模型组比较, $P < 0.05$

图 6 不同剂量茶褐素与血脂指标的关系

Figure 6 Relationship between of four does different pu-erh theabrowns and Blood lipid index

南瓜多糖、葛根黄酮、茶褐素这3种物质对降低血糖血脂具有量效关系。通过上述量效关系试验结果,本试验选取南瓜多糖250 mg/kg,葛根黄酮200 mg/kg,茶褐素450 mg/kg有效剂量用于联合作用试验,探究南瓜多糖、葛根黄酮、茶褐素的交互协同作用。

2.2 2×2 析因设计与结果分析

采用2×2析因设计,对小鼠进行250 mg/kg南瓜多糖、200 mg/kg葛根黄酮、450 mg/kg茶褐素及两两物质联合灌胃试验,分析是否有交互作用。析因分析结果见表1~3。

采用析因分析方法,当 $P < 0.05$ 时,两物质联合时具有交互作用。由表1~3可知,当南瓜多糖与葛根黄酮联合时,在改善FBG、INS、IR、TC、HDL、LDL指标方面具有交互作用,黄酮贡献率较多糖大($F_{多糖} > F_{黄酮}$);当南瓜多糖与茶褐素联合时,所有糖脂代谢指标均存在着交互作用,且茶褐素较多糖贡献率大($F_{茶褐素} > F_{多糖}$);当茶褐素与葛根黄酮联合时,在INS、TC、HDL、LDL指标上具有交互作用,且对于INS茶褐素贡献率大,TC、HDL、LDL3个血脂指标黄酮较茶褐素贡献率大($F_{茶褐素} < F_{黄酮}$)。

表1 单一组分与联合组分FBG、INS、IR、TG、TC、HDL、LDL的析因分析结果[†]
Table 1 The post hoc analysis result of FBG, INS, IR, TG, TC, HDL, LDL of single and combined extracts ($\bar{x} \pm SD, n=6$)

组别	FBG/ (mmol·L ⁻¹)	INS/ (mU·L ⁻¹)	IR	TG/ (mmol·L ⁻¹)	TC/ (mmol·L ⁻¹)	HDL/ (mmol·L ⁻¹)	LDL/ (mmol·L ⁻¹)
正常组	2.92±0.05	6.88±0.09	0.89±0.04 ^c	0.83±0.09	3.14±0.80	1.71±0.24	0.43±0.08
模型组	17.82±2.25 [#]	13.05±0.45 [#]	10.77±0.15 [#]	2.73±0.89 [#]	6.23±0.92 [#]	0.87±0.12 [#]	2.10±0.20 [#]
南瓜多糖组	12.42±1.93 [*]	9.44±0.42 [*]	5.21±0.96 [*]	1.85±0.26 [*]	4.78±0.60 [*]	1.31±0.08 [*]	1.32±0.05 [*]
葛根黄酮组	12.85±1.65 [*]	9.67±0.28 [*]	4.05±0.72 [*]	1.86±0.11 [*]	4.64±0.06 [*]	1.35±0.17 [*]	1.22±0.11 [*]
糖+酮组	9.65±1.87 ^{#*}	7.85±0.28 ^{#*}	3.34±0.05 ^{#*}	1.43±0.12 ^{#*}	4.30±0.12 ^{#*}	1.51±0.03 ^{#*}	1.03±0.15 ^{#*}
$F_{多糖}$ 值	6.447	92.817	1.388	0.106	23.502	21.338	21.266
$F_{黄酮}$ 值	1.759	5.223	0.001	203.633	0.736	48.682	5.567
P值	0.007	0.000	0.007	0.750	0.000	0.046	0.000

[†] #表示与正常组比较, $P < 0.05$; *表示与模型组比较, $P < 0.05$ 。

表2 单一组分与联合组分FBG、INS、IR、TG、TC、HDL、LDL的析因分析结果[†]
Table 2 The post hoc analysis result of FBG, INS, IR, TG, TC, LDL, HDL of single and combined extracts ($\bar{x} \pm SD, n=6$)

组别	FBG/ (mmol·L ⁻¹)	INS/ (mU·L ⁻¹)	IR	TG/ (mmol·L ⁻¹)	TC/ (mmol·L ⁻¹)	HDL/ (mmol·L ⁻¹)	LDL/ (mmol·L ⁻¹)
模型组	17.82±2.25 [#]	13.05±0.45 [#]	10.77±0.15 [#]	2.73±0.89 [#]	6.23±0.92 [#]	0.87±0.12 [#]	2.10±0.20 [#]
南瓜多糖组	12.42±1.93 [*]	9.44±0.42 [*]	5.21±0.96 [*]	1.85±0.26 [*]	4.78±0.60 [*]	1.31±0.08 [*]	1.32±0.05 [*]
茶褐素组	9.26±1.82 [*]	8.82±0.13 [*]	3.63±0.71 [*]	1.85±0.47 [*]	4.39±0.09 [*]	1.46±0.13 [*]	1.14±0.05 [*]
糖+茶褐素组	9.40±1.76 ^{#*}	8.01±0.17 ^{#*}	3.35±0.09 ^{#*}	1.38±0.09 [*]	4.12±0.09 [*]	1.62±0.14 ^{#*}	0.95±0.11 ^{#*}
$F_{多糖}$ 值	1.765	258.094	2.852	0.694	0.694	16.986	29.764
$F_{茶褐素}$ 值	2.352	476.730	4.942	1.283	8.832	83.056	113.936
P值	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000

[†] #表示与正常组比较, $P < 0.05$; *表示与模型组比较, $P < 0.05$ 。

表3 单一组分与联合组分FBG、INS、IR、TG、TC、HDL、LDL的析因分析结果[†]
Table 3 The post hoc analysis result of FBG, INS, IR, TG, TC, HDL, LDL of single and combined extracts ($\bar{x} \pm SD, n=6$)

组别	FBG/ (mmol·L ⁻¹)	INS/ (mU·L ⁻¹)	IR	TG/ (mmol·L ⁻¹)	TC/ (mmol·L ⁻¹)	HDL/ (mmol·L ⁻¹)	LDL/ (mmol·L ⁻¹)
正常组	2.92±0.05	6.88±0.09	0.89±0.04 ^c	0.83±0.09	3.14±0.80	1.71±0.24	0.43±0.08
模型组	17.82±2.25 [#]	13.05±0.45 [#]	10.77±0.15 [#]	2.73±0.89 [#]	6.23±0.92 [#]	0.87±0.12 [#]	2.10±0.20 [#]
葛根黄酮组	12.85±1.65 [*]	9.67±0.28 [*]	4.05±0.72 [*]	1.86±0.11 [*]	4.64±0.06 [*]	1.35±0.17 [*]	1.22±0.11 [*]
茶褐素组	9.26±1.82 [*]	8.82±0.13 [*]	3.63±0.71 [*]	1.85±0.47 [*]	4.39±0.09 [*]	1.46±0.13 [*]	1.14±0.05 [*]
酮+茶褐素组	8.77±1.73 ^{#*}	7.43±0.15 ^{#*}	2.90±0.05 [*]	1.33±0.15 [*]	3.73±0.12 ^{#*}	1.57±0.16 ^{#*}	0.92±0.19 ^{#*}
$F_{黄酮}$ 值	1.302	195.651	0.931	12.191	15.229	26.275	61.680
$F_{茶褐素}$ 值	2.171	486.033	9.093	0.165	5.412	14.178	55.809
P值	0.332	0.000	0.536	0.692	0.019	0.033	0.001

[†] #表示与正常组比较, $P < 0.05$; *表示与模型组比较, $P < 0.05$ 。

2.3 南瓜多糖、葛根黄酮、普洱茶褐素提取物协同作用与分析

选取南瓜多糖剂量为 500 mg/kg、葛根黄酮为 400 mg/kg、茶褐素为 900 mg/kg、多糖黄酮组为 250 mg/kg 南瓜多糖与 200 mg/kg 葛根黄酮、多糖茶褐素组为 250 mg/kg 南瓜多糖与 450 mg/kg 茶褐素、黄酮茶褐素组为 200 mg/kg 葛根黄酮与 450 mg/kg 茶褐素,进行小鼠灌胃试验,结果见表 4、5。

由表 4、5 可知,多糖黄酮和多糖茶褐素在降低 TG 含量上均与南瓜多糖单一组分差异显著($P < 0.05$);黄酮茶褐素组在降低 FBG、TC、LDL 含量上效果显著优于葛根黄酮单一组分,在 TG、INS 方面效果显著优于普洱茶褐素和葛根黄酮单一组分($P < 0.05$)。通过上述析因分析设计试验和协同作用试验结果进一步说明,不同的植物活性成分在调节糖脂代谢方面表现出多靶点、多通路和不同靶点、不同通路,以及

表 5 单一组分与联合组分 TG、TC、HDL、LDL 的协同分析结果[†]

Table 5 The Synergistic effect result of TG, TC, HDL, LDL of single and combined extracts ($\bar{x} \pm SD, n=6$)

组别	TG/ (mmol · L ⁻¹)	TC/ (mmol · L ⁻¹)	HDL/ (mmol · L ⁻¹)	LDL/ (mmol · L ⁻¹)
正常组	0.83 ± 0.09 ^d	3.14 ± 0.18 ^c	1.71 ± 0.24 ^c	0.43 ± 0.08 ^d
模型组	2.73 ± 0.12 ^a	6.23 ± 0.22 ^a	0.87 ± 0.12 ^a	2.10 ± 0.20 ^a
南瓜多糖组	1.77 ± 0.10 ^b	4.43 ± 0.27 ^b	1.48 ± 0.14 ^b	1.17 ± 0.01 ^b
茶褐素组	1.65 ± 0.11 ^{bc}	4.20 ± 0.04 ^{bc}	1.52 ± 0.02 ^b	1.04 ± 0.07 ^{bc}
葛根黄酮组	1.70 ± 0.10 ^{bc}	4.39 ± 0.10 ^{bc}	1.46 ± 0.09 ^b	1.13 ± 0.16 ^b
糖+黄酮组	1.43 ± 0.12 ^{cd}	4.30 ± 0.12 ^{bc}	1.51 ± 0.03 ^b	1.03 ± 0.15 ^{bc}
糖+茶褐素组	1.38 ± 0.09 ^{cd}	4.12 ± 0.09 ^{bc}	1.62 ± 0.14 ^b	0.95 ± 0.11 ^{bc}
黄酮+茶褐素组	1.33 ± 0.15 ^d	3.73 ± 0.12 ^c	1.57 ± 0.16 ^b	0.92 ± 0.19 ^c

† 同一列肩注不同字母表示差异显著, $P < 0.05$ 。

存在着量效关系和构效关系等生物学特点,通过各个生理学指标、通路代表的生物学意义,可以挖掘和深入研究分子机制及其关联性。

2.4 南瓜多糖、葛根黄酮、茶褐素提取物对 PI3K/Akt 蛋白通路的作用效果

肝脏是胰岛素抵抗发生的重要器官之一,肝细胞糖代谢的紊乱是发生胰岛素抵抗的重要原因。因此,本试验选取肝脏作为靶器官研究 3 种植物提取物单一组分及联合组分对 PI3K/Akt 蛋白通路中 PI3K(P110)和 Akt(T-308)蛋白的表达,试验剂量同 2.3,结果见图 7~12。

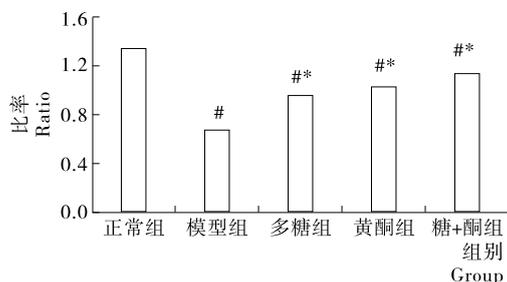
图 7~12 是正常组小鼠肝脏中 PI3K(P110)和 P-Akt(T 308)蛋白与内参 β -actin 光密度比值即比率,有显著差异($P < 0.05$),说明糖尿病模型小鼠在 PI3K/Akt 蛋白通路上有明显体现。葛根黄酮、南瓜多糖、茶褐素单独干预后,PI3K(P110)和 P-Akt(T 308)蛋白的表达增强,南瓜多糖、葛根黄酮、茶褐素单一和联合组干预后,PI3K(P110)和 P-Akt(T 308)蛋白增加明显,单一组、联合组与模型组之间存在差异性($P < 0.05$),也就是说葛根黄酮、南瓜多糖、茶褐素联合干预时可增加 II 型糖尿病小鼠肝脏组织 PI3K/Akt 信号通路中 PI3K(P110)和 P-Akt(T 308)蛋白的表达,比 3 种物质单独干预效果要好。

表 4 单一组分与联合组分 FBG、INS、IR 的协同分析结果[†]

Table 4 The Synergistic effect result of FBG, INS, IR of single and combined extracts ($\bar{x} \pm SD, n=6$)

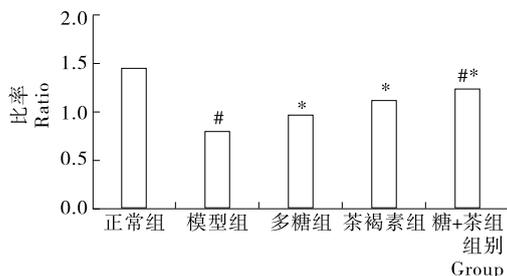
组别	FBG/ (mmol · L ⁻¹)	INS/ (mU · L ⁻¹)	IR
正常组	2.92 ± 0.05 ^c	6.88 ± 0.09 ^d	0.89 ± 0.04 ^c
模型组	17.82 ± 2.25 ^a	13.05 ± 0.45 ^a	10.77 ± 0.15 ^a
南瓜多糖组	9.66 ± 1.38 ^b	8.17 ± 0.12 ^b	3.51 ± 0.06 ^b
茶褐素组	9.22 ± 1.57 ^{bc}	8.14 ± 0.11 ^b	3.42 ± 0.07 ^b
葛根黄酮组	11.18 ± 1.58 ^b	8.11 ± 0.54 ^b	4.05 ± 0.12 ^b
糖+黄酮组	9.65 ± 1.87 ^b	7.85 ± 0.28 ^{bc}	3.34 ± 0.05 ^{bc}
糖+茶褐素组	9.40 ± 1.76 ^b	8.02 ± 0.17 ^b	3.35 ± 0.09 ^{bc}
黄酮+茶褐素组	8.77 ± 1.73 ^c	7.43 ± 0.15 ^c	2.89 ± 0.05 ^{bc}

† 同一列肩注不同字母表示差异显著, $P < 0.05$ 。



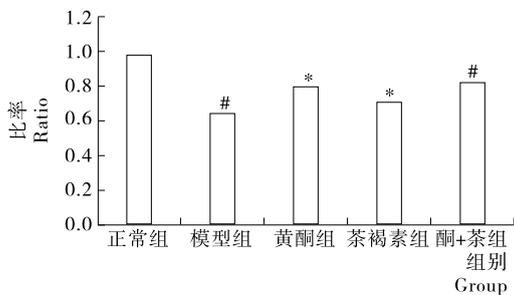
表示与正常组比较, $P < 0.05$; * 表示与模型组比较, $P < 0.05$

图 7 南瓜多糖与葛根黄酮及联合组分对 PI3K 蛋白表达影响
Figure 7 Effect of pumpkin polysaccharides puerariae flavonoids and combined expression of PI3K protein



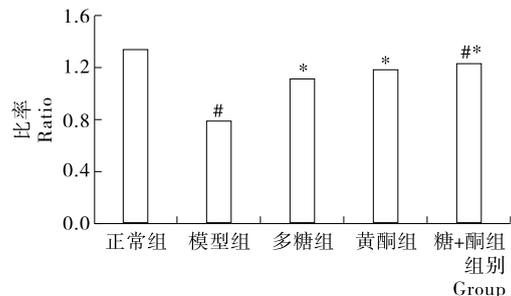
表示与正常组比较, $P < 0.05$; * 表示与模型组比较, $P < 0.05$

图 8 南瓜多糖与茶褐素及联合组分对 PI3K 蛋白表达影响
Figure 8 Effect of pumpkin polysaccharides pu-er theabrownin and combined expression of PI3K protein



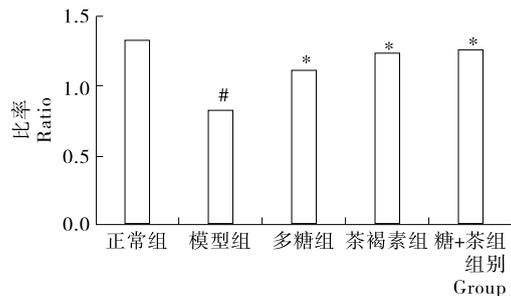
#表示与正常组比较, $P < 0.05$; *表示与模型组比较, $P < 0.05$

图9 茶褐素与葛根黄酮及联合组分对PI3K蛋白表达影响
Figure 9 Effect of puerariae flavones pu-er theabrownin and combined expression of PI3K protein



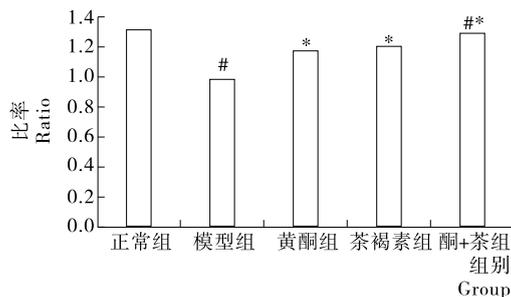
#表示与正常组比较, $P < 0.05$; *表示与模型组比较, $P < 0.05$

图10 南瓜多糖与葛根黄酮及联合组分对P-Akt蛋白表达影响
Figure 10 Effect of pumpkin polysaccharides puerariae flavones and combined expression of P-Akt protein



#表示与正常组比较, $P < 0.05$; *表示与模型组比较, $P < 0.05$

图11 南瓜多糖与茶褐素及联合组分对P-Akt蛋白表达影响
Figure 11 Effect of pumpkin polysaccharides pu-er theabrownin and combined expression of P-Akt protein



#表示与正常组比较, $P < 0.05$; *表示与模型组比较, $P < 0.05$

图12 茶褐素与葛根黄酮及联合组分对P-Akt蛋白表达影响
Figure 12 Effect of puerariae flavones pu-er theabrownin and combined expression of P-Akt protein

3 结论

本试验证实3种植物提取物两两联合均能改善II型糖尿病病症,两物质协同作用优于单一组分,当两物质联合作用时,通过对缓解胰岛素抵抗,进而改善血糖血脂,缓解糖脂代谢紊乱,在糖脂代谢方面200 mg/kg 葛根黄酮与450 mg/kg 茶褐素联合效果最佳,其他两个联合组次之。

本试验结果显示,南瓜多糖、葛根黄酮、茶褐素两两联合可增加II型糖尿病模型小鼠肝脏组织PI3K/Akt蛋白信号通路中PI3K(p110)、p-Akt(T308)蛋白及磷酸化表达,促进肝脏组织胰岛素信号传递的恢复,干预胰岛素抵抗,从而改善II型糖尿病病症。这可能是其改善II型糖尿病IR的重要分子机制。蛋白信号通路也有同样的效果,更加证明3种植物提取物两两联合使用在糖脂代谢的多个生理指标上具有交互作用和协同作用。

本试验的不足之处应结合多个信号通路更加宏观的分析南瓜多糖、葛根黄酮、茶褐素干预蛋白信号的传递。

参考文献

- [1] YANG Wen-ying, LU Ju-ming, WENG Jian-ping, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China[J]. N Eng J Med, 2010, 362(12): 1 090-1 101.
- [2] 苏静静, 王雪青. 普洱茶对小鼠血糖干预作用[J]. 食品科学, 2014, 25(9): 260-263.
- [3] 郑巧巧, 郭春花. 葛根黄酮对亚急性衰老抗氧化作用研究[J]. 四川生理科学杂志, 2009, 31(4): 145-146.
- [4] 胡琴, 齐云. 葛根黄酮的体外抗氧化活性研究[J]. 中药药理与临床, 2007, 23(6): 29-31.
- [5] 陈玉玲, 张宜英. 南瓜多糖的提取与纯化[J]. 内江师范学院学报, 2009(2): 38-41.
- [6] 冯超, 尤玲玲, 何庆峰, 等. 苦瓜皂苷、南瓜多糖和苦荞黄酮改善HepG2/IR的联合作用研究[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(9): 8-12.
- [7] 李毅腾, 王晓闻, 何庆峰, 等. 苦瓜皂苷与南瓜多糖或苦荞黄酮联合改善2型糖尿病大鼠糖脂代谢研究[J]. 现代食品科技, 2015, 31(9): 14-19.
- [8] 常胜. PI3K/Akt信号通路与胰岛素抵抗的研究进展[J]. 中医药导报, 2008, 14(7): 113-115.
- [9] 迟毓婧, 李晶, 管义飞, 等. PI3K-Akt信号通路对糖代谢的调控[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2010, 26(10): 879-885.
- [10] 吴沁璇. 六味地黄汤水提醇溶部位对2型糖尿病模型大鼠肝脏PI3K/Akt信号通路影响[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2015: 1-48.
- [11] HAN Ji-wen, LI Xin-yu, ZHAN Xiao-rong, et al. Impaired PI3K/Akt signal pathway and hepatocellular injury in high-fat fed rats[J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(48): 6 111-6 118.
- [12] BREITBARTH, ROTMAN T, RUBINSTEIN S, et al. Role and regulation of PI3K in sperm capacitation and the acrosome reaction[J]. Mol Cell Endocrinol, 2010, 314(2): 234-238.
- [13] 罗非, 韩念淋, 韩济生. 关于药物协同作用的几种计算方法[J]. 生理科学进展, 1995, 26(3): 276-280.