

文章编号:1001-6880(2016)10-1647-06

芒果苷对四氧嘧啶糖尿病小鼠的降糖作用研究

林 华¹,牛艳芬¹,李 玲¹,庄澳博²,高丽辉^{1*}¹昆明医科大学生物医学工程研究中心,昆明 650500; ²吉林大学医学院,长春 130012

摘要:本研究以二甲双胍为阳性对照,观察芒果苷(12.5、25.0、50.0 mg/kg)灌胃给药4周,对四氧嘧啶性糖尿病小鼠糖脂代谢的影响。实验结果表明芒果苷(25.0、50.0 mg/kg)灌胃给药后显著降低糖尿病小鼠的血糖、血清甘油三酯和总胆固醇水平,增加小鼠肌、肝糖原含量,但对糖尿病小鼠血清胰岛素水平没有影响;组织病理学检查结果表明芒果苷对糖尿病小鼠胰岛和 β 细胞的数量无明显改善,提示芒果苷灌胃给药对四氧嘧啶性糖尿病小鼠有降血糖作用,其降糖作用可能与促进肌、肝糖原的合成,增加机体对葡萄糖的利用有关,对糖尿病小鼠的脂代谢紊乱也有一定改善作用。

关键词:芒果苷;四氧嘧啶性糖尿病小鼠;降糖作用

中图分类号:R965.1

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.10.028

Hypoglycemic Effects of Mangiferin in Alloxan-induced Diabetic Mice

LIN Hua¹, NIU Yan-feng¹, LI Ling¹, ZHUANG Ao-bo², GAO Li-hui^{1*}¹Biomedical Engineering Research Center of Kunming Medical University, Kunming 650500, China;²Medical College of Jilin University, Changchun 130012, China

Abstract: This study was carried out to investigate the antidiabetic activities and mechanism of mangiferin in alloxan-induced diabetic mice. Adult male ICR mice were injected with a single dose of alloxan 60 mg/kg body weight through tail vein to induce diabetic animals. Mangiferin was administered intragastrically at a dose of 12.5, 25.0 and 50.0 mg/kg to diabetic mice for four weeks. Metformin treated diabetic mice were served as positive control. The levels of blood glucose were monitored weekly. At the end of experiment, blood glucose, serum insulin, triglyceride and total cholesterol levels were determined, the glycogen contents of hepatic and skeletal muscle were also measured. The pancreatic islet and β -cell were identified by staining with hematoxylin eosin (HE) and aldehyde-fuchsin. After 4 weeks administration, mangiferin (25.0, 50.0 mg/kg) significantly declined the levels of blood glucose, serum triglyceride and total cholesterol, and increased the contents of muscle and hepatic glycogen, compared with the untreated diabetic mice. However, mangiferin was unable to significantly increase the level of serum insulin and the number of pancreatic islet and β -cell. These results suggested that mangiferin possessed antidiabetic activities in alloxan-induced diabetic mice. The mechanism was related to improve synthesis of muscle and hepatic glycogen, increase the body's use of glucose. In addition, mangiferin also had the regulating effect on the disorder of lipid metabolism.

Key words: mangiferin; alloxan-induced diabetic mice; hypoglycemic effect

芒果苷(mangiferin)又名知母宁或芒果素,是从百合科植物知母、漆科植物芒果及龙胆科植物川西獐芽菜等植物中提取的多酚类化合物,为四羟基吡酮的碳糖苷,具有一定的弱酸性^[1]。芒果苷来源广泛,药理和临床研究表明,芒果苷具有多方面生理活性和药理作用,如抗肿瘤、抗病毒、降尿酸、降血糖等^[2-5],具有良好的临床应用前景。

收稿日期:2016-01-13 接受日期:2016-05-05

基金项目:国家自然科学基金(81260502);云南省应用基础研究
联合专项(2012FB021)

*通讯作者 Tel:86-871-65922743; E-mail:80283490@qq.com

国内外研究表明,在链脲霉素(streptozotocin, STZ)诱导的糖尿病大鼠,芒果苷能通过调节大鼠肾脏中碳水化合物酶的活性而发挥降糖作用,能使大鼠血糖水平显著下降,胰岛素水平明显升高^[6];高糖高脂与STZ联用诱导的糖尿病大鼠腹腔注射芒果苷,给药四周,可以明显改善其胰岛素抵抗,恢复其敏感性^[7]。芒果苷对自发性2型糖尿病小鼠KK-Ay的高胰岛素血症和高糖血症有显著改善作用,并且通过抑制KK-Ay小鼠糖异生途径降低其空腹血糖^[8];在体外用芒果苷干预大鼠骨骼肌细胞(L6细胞),发现芒果苷可激活L6细胞中AKT激酶活性,

上调 L6 细胞 AMPK 的磷酸化, 增加了细胞葡萄糖消耗量^[9,10]。总之, 目前对芒果苷降糖作用研究主要关注其对非胰岛素依赖型糖尿病的影响, 本研究旨在评价芒果苷对胰岛素依赖型糖尿病的影响, 因此以四氧嘧啶性糖尿病小鼠为模型来研究芒果苷的降糖作用, 并初步探讨其作用机理。

1 材料与仪器

1.1 动物

健康雄性 ICR 小鼠, 体重 25~30 g, 由昆明医科大学实验动物中心提供, 合格证号: SYXK(滇)2015-0002。

1.2 试剂

芒果苷, 纯度 90.0% (HPLC), 购自广西百色市天星植物科技公司; 盐酸二甲双胍购自北京四环制药有限公司; 四氧嘧啶购自 J. T. BAKER CHEMICAL CD., 葡萄糖测定试剂盒为上海荣盛生物技术有限公司; 糖原测定试剂盒为南京建成工程研究所; 甘油三酯、总胆固醇试剂盒为中生北控生物科技股份有限公司; 胰岛素 ELISA 试剂盒为 USCN & LTRE Company 产品。

1.3 仪器

Multiskan MK3 酶标仪(美国 Thermo Electron 公司); 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司); TG16-WS 台式离心机(湘仪离心机厂); DK-8D 型电热恒温水槽(上海精宏实验设备有限公司)。

2 实验方法

2.1 糖尿病小鼠模型的复制

健康雄性 ICR 小鼠一次性尾静脉注射四氧嘧啶(60.0 mg/kg)诱导糖尿病动物模型, 注射四氧嘧啶 4 d 后, 自尾静脉取血, 采用葡萄糖氧化酶法测定血糖水平, 血糖值 ≥ 11.1 mmol/L 的小鼠视为糖尿病小鼠^[11,12], 用于实验。

2.2 分组及给药

糖尿病小鼠按血糖值随机分为 5 组, 糖尿病模

型组、芒果苷各给药组(12.5、25.0、50.0 mg/kg)及二甲双胍组(阳性对照, 250.0 mg/kg), 每组 10 只。以 0.5% CMC-Na 为溶媒, 灌胃给药, 每天一次, 连续给药四周, 正常对照组和糖尿病模型组给予相应体积的溶媒。

2.3 检测指标及测定方法

给药期间, 每周断尾取血, 用葡萄糖氧化酶法测定血糖; 给药 4 周后, 眼眶静脉取血, 离心后取血清用于胰岛素、总胆固醇和甘油三酯的测定; 取小鼠骨骼肌、肝脏分别测定肌糖原和肝糖原; 取小鼠胰腺, HE 常规染色和醛品红染色(胰岛 β 细胞染色), 光镜下观察, 计数每张切片的胰岛数(每张切片选取 10 个视野), 各组汇总后用平均值进行组间比较; 胰岛 β 细胞醛品红染色后进行半定量评价, 评分标准为: 0 分: 正常, β 细胞占胰岛细胞总数的 75% 以上; 1 分: β 细胞占胰岛细胞总数的 75%~50%; 2 分: β 细胞占胰岛细胞总数的 50%~25%; 3 分: β 细胞占胰岛细胞总数的 25%~5%; 4 分: β 细胞低于胰岛细胞总数 5%, 各组汇总后用平均值进行组间比较^[13]。

2.4 统计学分析

数据用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 SPSS11.5 统计软件进行处理。病理学结果方差齐用单因素方差分析进行组间比较, 方差不齐, 用秩和检验进行组间比较; 其余组间比较采用 t 检验进行统计学分析, 检验水准为 0.05 或 0.01。

3 实验结果

3.1 芒果苷对四氧嘧啶性糖尿病小鼠血糖水平的影响

实验结果表明, 灌胃芒果苷 3 周后, 芒果苷中、高剂量组(25.0、50.0 mg/kg)显著降低了糖尿病小鼠的血糖水平($P < 0.05$); 低剂量组(12.5 mg/kg)有降低血糖的趋势, 但没有统计学意义。二甲双胍组给药 1 周就显著降低了糖尿病小鼠的血糖水平($P < 0.05$)(表 1)。

表 1 芒果苷对四氧嘧啶糖尿病小鼠血糖的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of mangiferin on blood glucose in alloxan-induced diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Group	剂量 Dose (mg/kg)	血糖值 Blood glucose (mmol/L)				
		0	1	2	3	4 (week)
空白对照 Control	-	5.38 ± 0.45	5.51 ± 0.60	5.19 ± 0.32	5.39 ± 0.24	5.63 ± 0.49
模型对照 Diabetes	-	19.49 ± 3.05▲▲	20.66 ± 4.26▲▲	21.01 ± 3.46▲▲	20.12 ± 4.50▲▲	21.73 ± 5.44▲▲

组别 Group	剂量 Dose (mg/kg)	血糖值 Blood glucose (mmol/L)				
		0	1	2	3	4 (week)
芒果苷 Mangiferin	12.5	19.49 ± 2.28	18.17 ± 3.14	16.01 ± 4.64	18.39 ± 5.72	16.73 ± 2.47
芒果苷 Mangiferin	25.0	19.42 ± 3.28	19.03 ± 4.83	18.19 ± 3.79	14.52 ± 4.31*	14.47 ± 4.30*
芒果苷 Mangiferin	50.0	19.43 ± 2.73	19.62 ± 4.37	16.42 ± 5.79	14.10 ± 2.39*	13.73 ± 4.32*
二甲双胍 Metformin	250.0	19.42 ± 2.47*	13.36 ± 3.38*	10.75 ± 3.87*	11.82 ± 4.52*	10.28 ± 2.79*

注:与空白对照组相比,▲P<0.05,▲▲P<0.01;与模型对照组相比,*P<0.05, **P<0.01。

Note: ▲P<0.05, ▲▲P<0.01, vs control; *P<0.05, **P<0.01, vs diabetes.

3.2 芒果苷对四氧嘧啶性糖尿病小鼠血清胰岛素水平的影响

灌胃给芒果苷4周后,模型组小鼠血清胰岛素水平显著低于正常组($P < 0.05$);而芒果苷中、高剂量

组(25.0、50.0 mg/kg)和二甲双胍组小鼠血清胰岛素水平有增加趋势,但与模型组相比,没有显著性差异(表2)。

表2 芒果苷对四氧嘧啶糖尿病小鼠血清胰岛素水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of mangiferin on serum insulin in alloxan-induced diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Group	剂量 Dose (mg/kg)	血清胰岛素 Serum insulin (ng/mL)
空白对照 Control	-	2.92 ± 1.26
模型对照 Diabetes	-	0.74 ± 0.43▲
芒果苷 Mangiferin	12.5	0.59 ± 0.39
芒果苷 Mangiferin	25.0	1.03 ± 0.61
芒果苷 Mangiferin	50.0	1.73 ± 1.05
二甲双胍 Metformin	250.0	1.66 ± 0.87

注:与空白对照组相比,▲P<0.05,▲▲P<0.01;与模型对照组相比,*P<0.05, **P<0.01。

Note: ▲P<0.05, ▲▲P<0.01, vs control; *P<0.05, **P<0.01, vs diabetes.

3.3 芒果苷对四氧嘧啶性糖尿病小鼠肌、肝糖原含量的影响

灌胃给芒果苷4周后,模型组小鼠的肌、肝糖原显著低于正常组($P < 0.01$);芒果苷中、高剂量组

(25.0、50.0 mg/kg)小鼠肌、肝糖原显著高于模型组($P < 0.05$);二甲双胍组也显著升高了小鼠肌、肝糖原含量,与模型组相比有显著性差异($P < 0.05$) (表3)。

表3 芒果苷对四氧嘧啶糖尿病小鼠肌、肝糖原含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of mangiferin on the content of muscle and hepatic glycogen in alloxan-induced diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Group	剂量 Dose (mg/kg)	肌糖原 Muscle glycogen (mg/g)	肝糖原 Hepatic glycogen (mg/g)
空白对照 Control	-	2.19 ± 0.14	10.44 ± 1.19
模型对照 Diabetes	-	1.43 ± 0.13▲▲	7.30 ± 1.48▲▲
芒果苷 Mangiferin	12.5	1.51 ± 0.33	7.68 ± 1.19
芒果苷 Mangiferin	25.0	1.71 ± 0.18*	9.25 ± 1.37*
芒果苷 Mangiferin	50.0	1.96 ± 0.27**	9.32 ± 1.02*
二甲双胍 Metformin	250.0	1.99 ± 0.13**	9.43 ± 0.75**

注:与空白对照组相比,▲P<0.05,▲▲P<0.01;与模型对照组相比,*P<0.05, **P<0.01。

Note: ▲P<0.05, ▲▲P<0.01, vs control; *P<0.05, **P<0.01, vs diabetes.

3.4 芒果苷对四氧嘧啶糖尿病小鼠血清甘油三酯、总胆固醇的影响

模型组小鼠的血清甘油三酯、总胆固醇水平显著高于正常组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),灌胃给芒果苷4周后,芒果苷中、高剂量组(25.0、50.0 mg/kg)

小鼠总胆固醇水平显著低于模型组($P < 0.01$);芒果苷高剂量组(50.0 mg/kg)甘油三酯水平显著低于模型组($P < 0.01$);二甲双胍组则显著降低了糖尿病小鼠甘油三酯和总胆固醇水平($P < 0.01$)(表4)。

表 4 芒果昔对糖尿病小鼠血清甘油三酯、总胆固醇的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 4 Effect of mangiferin on serum triglyceride and total cholesterol in alloxan-induced diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Group	剂量 Dose (mg/kg)	总胆固醇 Total cholesterol (mmol/L)	甘油三酯 Triglyceride (mmol/L)
空白对照 Control	-	0.92 ± 0.31	2.63 ± 0.86
模型对照 Diabetes	-	$2.23 \pm 0.54^{▲▲}$	$3.68 \pm 1.16^{▲▲}$
芒果昔 Mangiferin	12.5	1.89 ± 0.43	3.46 ± 1.10
芒果昔 Mangiferin	25.0	$1.67 \pm 0.40^*$	3.01 ± 1.23
芒果昔 Mangiferin	50.0	$1.41 \pm 0.42^{**}$	$2.60 \pm 0.36^*$
二甲双胍 Metformin	250.0	$1.41 \pm 0.35^{**}$	$2.39 \pm 0.82^{**}$

注:与空白对照组相比, $^{\Delta}P < 0.05$, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$;与模型对照组相比, $^*P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ 。

Note: $^{\Delta}P < 0.05$, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$, vs control; $^*P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, vs diabetes.

3.5 芒果昔对四氧嘧啶糖尿病小鼠胰腺形态学的影响

胰腺 HE 常规染色及醛品红染色,光镜下观察。正常组小鼠胰腺 HE 染色显示(图 1),胰岛形态正常,数量多,体积大,边界整齐;醛品红染色可见胰岛

β 细胞呈紫色,椭圆型,大小均一,胞浆内充满紫色颗粒,位于胰岛中央(图 2)。模型组小鼠胰腺 HE 染色,胰岛萎缩,体积变小,胰岛的数量和正常组相比明显减少($P < 0.05$),醛品红染色显示胰岛内 β 细胞明显减少或消失, β 细胞数和正常组相比有显

表 5 芒果昔对糖尿病小鼠胰岛和 β 细胞的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 5 Effect of mangiferin on the number of pancreatic islet and β -cell in alloxan-induced diabetic mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Group	剂量 Dose (mg/kg)	胰岛数量 Pancreatic islet (n)	β 细胞评分 B-cell score
空白对照 Control	-	10.64 ± 3.35	0
模型对照 Diabetes	-	$5.12 \pm 5.11^{▲▲}$	$3.60 \pm 0.89^{▲▲}$
芒果昔 Mangiferin	12.5	3.44 ± 2.65	3.20 ± 1.79
芒果昔 Mangiferin	25.0	6.38 ± 2.97	3.40 ± 0.89
芒果昔 Mangiferin	50.0	5.57 ± 3.40	4.00 ± 0.00
二甲双胍 Metformin	250.0	6.71 ± 2.14	4.00 ± 0.00

注:与空白对照组相比, $^{\Delta}P < 0.05$, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$;与模型对照组相比, $^*P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ 。

Note: $^{\Delta}P < 0.05$, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$, vs control; $^*P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, vs diabetes.

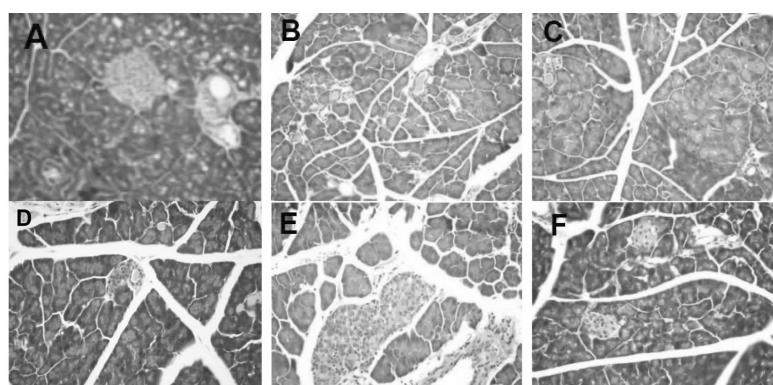


图 1 空白对照组(A)、模型对照组(B)、芒果昔 12.5 mg/kg 组(C)、芒果昔 25.0 mg/kg 组(D)、芒果昔 50.0 mg/kg 组(E) 及二甲双胍 250.0 mg/kg 组(F) 四氧嘧啶糖尿病小鼠胰腺 HE 染色图

Fig. 1 HE staining microphotographs of pancreas of the alloxan-induced diabetic mice from control group (A), diabetes group (B), mangiferin 12.5 mg/kg group (C), mangiferin 25.0 mg/kg group (D), mangiferin 50.0 mg/kg group (E) and metformin 250.0 mg/kg group (F)

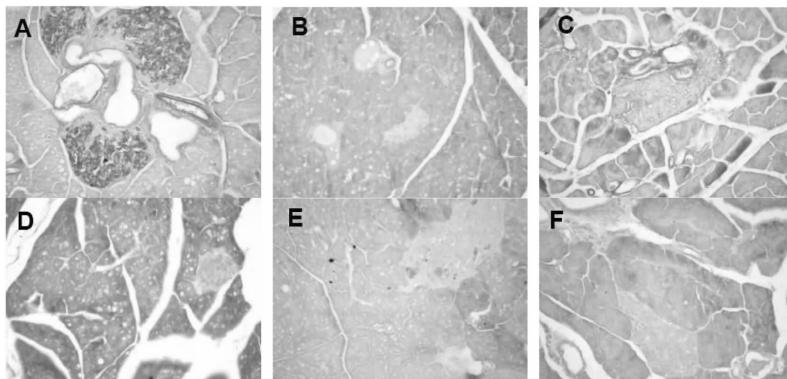


图2 空白对照组(A)、模型对照组(B)、芒果苷12.5 mg/kg组(C)、芒果苷25.0 mg/kg组(D)、芒果苷50.0 mg/kg组(E)及二甲双胍250.0 mg/kg组(F)四氧嘧啶糖尿病小鼠胰腺醛品红染色图

Fig. 2 Aldehyde fuchsin staining microphotographs of pancreas of the alloxan-induced diabetic mice from control group (A), diabetes group (B), mangiferin 12.5 mg/kg group (C), mangiferin 25.0 mg/kg group (D), mangiferin 50.0 mg/kg group (E) and metformin 250.0 mg/kg group (F)

著性差异($P < 0.05$)。灌胃给芒果苷4周后,胰腺HE染色和醛品红染色后,芒果苷各给药组、二甲双胍组小鼠胰岛数和 β 细胞数没有明显增加,和模型组相比没有显著性差异(表5)

4 讨论与结论

糖尿病动物模型是研究糖尿病发病机制和抗糖尿病药物的基础,同时也是糖尿病研究的一个难点。目前,常用链脲霉素(streptozotocin, STZ)和四氧嘧啶(alloxan)来诱导糖尿病动物模型,STZ和四氧嘧啶能选择性破坏胰岛 β 细胞,使胰岛素分泌减少,产生高血糖^[13]。STZ价格昂贵,诱导小鼠成模率低,四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠能快速成模,且成模率高,血糖值稳定,故本实验采用四氧嘧啶来诱导糖尿病小鼠模型^[14,15]。在实验中,采用一次性尾静脉注射四氧嘧啶诱导高血糖症小鼠,并把血糖值大于11.1 mmol/L的小鼠确定为糖尿病小鼠,这与沃格尔、杜冠华等^[16]的研究相一致,且在实验期间,模型组小鼠血糖一直维持在大于11.1 mmol/L高血糖水平,表明诱导的糖尿病小鼠模型稳定可靠。

芒果苷灌胃给药3周后,中、高剂量组(25.0、50.0 mg/kg)显著降低了糖尿病小鼠的血糖水平,但芒果苷降糖作用起效时间缓慢,这可能与其水溶性差,灌胃给药生物利用度低有关,我们的实验结果与文献报道的结果有一致性^[17]。糖原是体内葡萄糖的重要储存形式,在维持血糖稳定方面起着重要作用。文献报道,糖尿病患者肝糖原合成能力降低,肌

糖原含量明显低于正常人群,并且糖原合成酶活性下降^[18-21]。我们的研究结果也显示,四氧嘧啶性糖尿病小鼠肌糖原和肝糖原含量显著低于正常组。芒果苷灌胃给药4周后,中、高剂量组(25.0、50.0 mg/kg)显著增加了肌、肝糖原含量,提示芒果苷有增强肝脏和肌肉合成糖原的能力,能促进体内血糖的去路来维持体内糖代谢的动态平衡。

糖尿病在引起糖代谢紊乱的同时,还可以引起脂代谢紊乱,使甘油三酯(TG)和胆固醇(CHO)含量增加^[22,23]。在本实验中,模型组小鼠血清TG和CHO显著高于正常组,芒果苷灌胃4周后,显著降低了糖尿病小鼠TG和CHO含量,表明芒果苷能改善糖尿病小鼠的脂代谢紊乱,减轻脂毒性,有利于糖尿病的综合防治。

综上所述,芒果苷灌胃给药能显著降低糖尿病小鼠的血糖水平并能改善其脂代谢紊乱,其可能的机理是通过促进肌、肝糖原的合成,增加机体对葡萄糖的利用来降低血糖水平。

参考文献

- Li Y(李莹), Gong YQ(龚云麒), Zhang W(张伟). New study progress of mangiferin at home. *Guid J Tradit Chin Med Pharm*(中医药导报), 2015, 21(14): 92-95.
- Li H, Huang J, Yang B, et al. Mangiferin exerts antitumor activity in breast cancer cells by regulating matrix metalloproteinases, epithelial to mesenchymal transition, and β -catenin signaling pathway. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2013, 272: 180-190.

(下转第1525页)