

# 刺梨果酒通过胰岛素介导的 PI3K 途径改善 1-型糖尿病大鼠机体糖代谢紊乱

安玉红<sup>1</sup>, 陆敏涛<sup>2</sup>, 卢秀<sup>2</sup>, 黎代余<sup>1</sup>, 黄燕<sup>1</sup>, 彭永贤<sup>1</sup>

(1. 毕节职业技术学院, 贵州毕节 551700) (2. 贵州大学酿酒与食品工程学院, 贵州贵阳 550025)

**摘要:** 为了探讨刺梨果酒对链脲佐菌素(STZ)诱导的 1-型糖尿病大鼠糖代谢紊乱的影响及其作用机制。采用一次性腹腔注射 STZ 的方法建立 1-型糖尿病大鼠模型, 将造模成功后的的大鼠分为刺梨果酒高、中、低剂量组和模型组, 并设空白对照组。灌胃给药期间测定大鼠的饮食饮水量和体重, 每 2 周测一次空腹血糖 (FBG), 实验期 28 d。实验结束后测量血清胰岛素 (Insulin, Ins) 和果糖胺的含量; 实时荧光定量 PCR (real time polymerase chain reaction, RT-PCR) 测定肝脏磷脂酰肌醇 3-激酶 (Phosphoinositide 3-kinase, PI3K)、蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt/PKB) 和葡萄糖转运载体 2 (Glucose Transporter 2, GLUT2), 以及骨骼肌葡萄糖转运载体 4 (Glucose Transporter 4, GLUT4) mRNA 相对表达量。结果表明, 与模型组相比, 刺梨果酒高、中、低剂量组多饮多食的症状明显好转, 体重下降受到抑制; 刺梨果酒高、中、低剂量可显著 ( $p < 0.05$ ) 降低空腹血糖, 分别下降了 21.20%, 36.14% 和 8.75%; 果糖胺降低了 11.32%, 16.65% 和 8.33%; 血清胰岛素水平分别上升了 39.69%, 45.87% 和 17.82%。与模型组相比, 刺梨果酒高、中、低剂量组均可显著升高肝脏 PI3K、PKB 和 GLUT2 及骨骼肌 GLUT4 mRNA 相对表达量。本试验说明一定量的刺梨果酒具有改善 STZ 诱导的 1-型糖尿病大鼠糖代谢紊乱, 其中中剂量效果更明显。

**关键词:** 刺梨果酒; 1-型糖尿病; 糖代谢紊乱

文章编号: 1673-9078(2020)07-25-33

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.7.1254

## *Rosa roxburghii* Tratt Wine can Improve Glucose Metabolism Disorder in Type 1 Diabetic Rats through Insulin- PI3K Pathway

AN Yu-hong<sup>1</sup>, LU Min-tao<sup>2</sup>, LU Xiu<sup>2</sup>, LI Dai-yu<sup>1</sup>, HUANG Yan<sup>1</sup>, PENG Yong-xian<sup>1</sup>

(1. Bijie Vocational and Technical College, Bijie 551700, China)

(2. School of Liquor and Food Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

**Abstract:** To investigate the effect of *Rosa roxburghii* Tratt wine on the glucose metabolism disorder induced by streptozotocin (STZ) in type 1-diabetic rats, the type 1 diabetic rats model induced by intraperitoneal injection of STZ was established. The rats were randomly divided into blank group, model group, positive group, high, middle and low dose groups, blood glucose is measured every 2 weeks. After 28 days of administration, growth status and relative tissue weight were investigated. The contents of insulin (Ins) in serum were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The mRNA levels of PI3K, PKB and GLUT2 in liver, and GLUT4 in skeletal muscle were determined by real time polymerase chain reaction (RT-PCR). The results showed that *Rosa roxburghii* Tratt wine significantly increase body weight and feed efficiency ( $p < 0.05$ ), significantly reduce fasting blood glucose (21.20%, 36.14% and 8.75%) and glucose tolerance

引文格式:

安玉红, 陆敏涛, 卢秀, 等. 刺梨果酒通过胰岛素介导的 PI3K 途径改善 1-型糖尿病大鼠机体糖代谢紊乱[J]. 现代食品科技, 2020, 36(7):25-33

AN Yu-hong, LU Min-tao, LU Xiu, et al. *Rosa roxburghii* Tratt wine can improve glucose metabolism disorder in type 1 diabetic rats through insulin- PI3K pathway [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(7): 25-33

收稿日期: 2019-12-20

基金项目: 毕节市科技项目(毕科联合字 ZY[2017]01 号); 贵州省科技计划(黔科合平台人才[2018]5781-50); 贵州大学引进人才科研项目[贵大人基合字(2018)42 号]

作者简介: 安玉红 (1982-), 女, 副教授, 研究方向: 农产品贮藏与加工

通讯作者: 彭永贤 (1966-), 男, 教授, 研究方向: 农学

(11.32%, 16.65% and 8.33%), relative tissue weight ( $p < 0.05$ ), when compared with model group. Moreover, *Rosa roxburghii* Tratt wine significantly increased mRNA relative expressions of PI3K, PKB and GLUT2 in liver and GLUT4 in skeletal muscle. In conclusion, *Rosa roxburghii* Tratt wine increased the concentration of Ins in serum of diabetic rats and reduced blood glucose levels. Its possible mechanism was that *Rosa roxburghii* Tratt wine promoted glucose uptake and utilization by activation of the Ins mediated PI3K pathway and translocation of GLUT2/4.

**Key words:** *Rosa roxburghii* Tratt wine; type I diabetes mellitus; glucose metabolism disorder

刺梨(*Rosa roxburghii*)为蔷薇科(*Rosaceae*)多年生落叶灌木缢丝花的营养珍果<sup>[1]</sup>, 其贵州最多, 全省除威宁县尚未发现有刺梨外, 其它各县均有数量不等的分布。目前, 贵州省刺梨栽培面积已达 330 万  $\text{hm}^2$  以上, 全省鲜果年产量在 1500 万 kg 以上, 居全国之首<sup>[2]</sup>, 已成为贵州省重点发展的特色产业之一。早在公元 1640 年, 由田雯所撰的《黔书》中就有记载: “实如安石榴而较小, 味甘而微酸, 食之可以解闷, 可消滞; 渍汁煎之以蜜, 可作膏, 正不减于梨楂也”。公元 1870 年刘善述《本草便方二亭集》进一步论述“刺梨甘酸涩止痢, 根治牙痛崩带易, 红花甘平泄痢止, 叶疗疥金疮痢”。由此可知, 贵州人民把刺梨用作医疗的历史已久。刺梨果汁中富含大量维生素、植物多糖、单宁类、三萜皂苷类、黄酮类、生物碱类、有机酸类、蛋白质、矿物质等活性成分<sup>[3-6]</sup>; 而且刺梨无急性、慢性毒性, 可长期安全食用<sup>[7]</sup>。

近年来, 刺梨在降血糖, 血脂, 解酒护肝, 抗氧化等方法的研究越来越受到人们的关注<sup>[5-8]</sup>。郭建军等<sup>[9]</sup>研究表明: 刺梨 75%乙醇醇溶部分高剂量(200 mg/kg)能降低糖尿病小鼠的空腹血糖值, 改善糖尿病小鼠体重减轻和多饮现象。邓毅等<sup>[10]</sup>研究表明: 刺梨蜂胶饮料能有效降低四氧嘧啶高血糖小鼠血糖含量和提升小鼠的葡萄糖耐受能力。孙兆峰等<sup>[11]</sup>研究表明: 刺梨叶水提物能对 2 型糖尿病大鼠脂代谢起一定治疗作用。以往的研究均对刺梨果汁在糖尿病降血糖机制方面作深入研究, 但作为我省刺梨加工产品最多和市场需要最大的刺梨果酒在降血糖的效果方面涉及的研究非常少。因此研究刺梨果酒对糖尿病治疗效果及其机制显得十分必要。

本实验采用动物在体实验, 从生长状况、理化指标及 mRNA 水平探索刺梨果酒降血糖作用及可能机制, 为刺梨果油的开发和应用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料

刺梨果酒: 实验室自制; 180~200 g, 70 只 Sprague Dawley 雄性大鼠[SCXK(渝)20120008]和大鼠基础饲

料均由重庆腾鑫生物技术有限公司提供, 基础饲料配方如表 1。

表 1 试验饲料配方

Table 1 Composition of the experiment diet

成分	含量/(g/kg)	成分	含量/(g/kg)
玉米淀粉	549.5	混合矿物	35
Casein	200	混合维生素	10
大豆油	100	L-胱氨酸	3
蔗糖	100	氯化胆碱	2.5

## 1.2 实验试剂与仪器

### 1.2.1 实验试剂

Ins 测定试剂盒, 美国 ADL 公司生产; M-MLV 反转录酶, 美国普洛麦格; RNase Inhibitor, 美国普洛麦格; DNA marker DL2000, 宝生物工程有限公司; 荧光定量试剂、荧光定量膜、荧光定量板子, Bio-Rad; 定量引物, 由华大基因合成; 链脲佐菌素 (STZ) ( $\geq 98\%$ ), 美国 sigma 公司; 格列苯脲 ( $\geq 98\%$ ), 北京博奥华医生物科技有限公司。

### 1.2.2 实验仪器

HITACHI-7020 全自动生化分析仪, 日本株式会社; Nano Drop 1000 微量紫外分光光度, 美国 Thermo 公司; Light Cycler Nano 荧光定量 PCR 仪, 美国罗氏公司; HIMG 酶标仪, 美国基因有限公司; 3~18 k 冷冻离心机, 德国 SIGMA 公司; XW-80 漩涡混合器, 上海青浦沪西仪器厂; Tissue Lyser II 组织研磨仪, 德国 Qiagen 公司; S1000 梯度 PCR 仪, 美国 BIO-RAD 公司; 血糖仪, 江苏鱼跃医疗设备股份有限公司; 手持糖度仪, 上海勃基仪器仪表有限公司。

## 1.3 实验方法

### 1.3.1 动物饲养与样品采集

动物实验过程严格遵循现行的贵州医科大学实验动物伦理委员会批准相关法律法规 (动物实验伦理审编号: 1900834)。70 只 180~200 g 的 6~8 周 SD 雄性大鼠, 独立饲养于 (475 cm×345 cm×200 mm) 笼子中, 相对湿度 55%~60%, 12 h/12 h 明暗交换, 自由饮水和摄食, 适应性饲养 7 d 后, 禁食 12 h, 按体质量

随机分为空白组 (NC) (n=10) 和造模组 (n=60), 造模组大鼠一次性腹腔注射 60 mg/(kg·bw) 溶于 0.1 mol/L 的 pH 4.5 柠檬酸缓冲液中的链脲佐菌素 (STZ) 溶液, 空白组给予等剂量的柠檬酸缓冲液。STZ 注射 7 d 后, 大鼠禁食 12 h, 尾部静脉采血, 血糖仪测定其血糖值, 空腹血糖大于 16.70 mmol/L 的大鼠为造模成功<sup>[6,12,13]</sup>。将造模成功的大鼠按血糖和体质量随机分为 6 组 (n=10), 分别是模型组 (MC), 刺梨果酒高 (DM-HD)、中 (DM-MD)、低 (DM-LD) 和阳性对照组 (PC)。给药剂量依据《药理实验方法学》中“标准体重动物剂量换算表”确定小鼠给药的等效剂量; 空白组和模型对照组灌胃等剂量的生理盐水, 阳性对照组灌胃生理盐水配制的格列苯脲溶液 100 mg/(kg·bw)。每 3 d 称量一次大鼠体重, 同时调整灌胃量, 每天记录大鼠采食量, 观察试验大鼠行为, 实验期为 28 d。颈椎脱臼法处死大鼠, 采集大鼠的血液于离心管中进行离心后采集血清。取肝脏、骨骼肌、肾脏等, 用 4 °C 生理盐水清洗后, 吸水分擦干水分, 称重后, 分割后用锡箔纸包装, 用液氮冷冻后, 置于 -80 °C 保存备用。

### 1.3.2 刺梨果酒理化指标的检测

多酚的测定采用 Folin-Ciocalteu 法进行测定<sup>[14]</sup>;

总黄酮采用硝酸铝-醋酸钾法<sup>[15]</sup>; VC 采用钼蓝比色法分析<sup>[16]</sup>; 酒精度的测定参考 GBT15038-2006 葡萄酒、果酒通用分析方法。

### 1.3.3 饲料效率及相对组织重测定<sup>[17]</sup>

$$\text{相对组织重} = \frac{\text{组织重 (g)}}{\text{活体重 (g)}} \times 100\%$$

$$\text{饲料效率 (\%)} = \frac{\text{日均增重 (g)}}{\text{日均采食量 (g)}} \times 100\%$$

### 1.3.4 生理生化指标分析

血清中胰岛素 (Ins) 的测定采用酶联免疫法进行, 所用试剂盒为美国 ADL (Adlitteram diagnostic laboratories) 公司生产, 具体步骤参见试剂盒; 果糖胺采用硝基四氮唑蓝法进行, 所用试剂盒为德国罗氏诊断有限公司, 具体步骤参见试剂盒。

### 1.3.5 关键基因 RT-PCR 的分析

从组织样品中提取总 RNA, 使用 Qiagen 提取并反转录得 cDNA, 使用紫外分光光度计测定 RNA 浓度。实时荧光定量聚合酶链反应用于检测相关基因的表达, 以  $\beta$ -actin 为内参并采用  $2^{-\Delta Ct}$  法计算各基因相对表达, 操作步骤如下<sup>[13,18]</sup>: 总 RNA 提取→反转录及 cDNA 的合成与检测→荧光定量 PCR 检测, 各基因的引物序列如表 2。

表 2 用于 RT-PCR 引物序列

Table 2 The primer sequences for RT-PCR

基因名	Primer sequence		产物大小/bp
	正向引物	反向引物	
PI3K	CTCAGGGAAAGCTGGACCAC	TGGTTCAGACGAGCTTCTGTG	184
PKB	ACTCATTCAGACCCACGAC	CCGGTACACCACGTTCTTCT	176
GLUT4	CCCACAGAAAGTGATTGAACAG	AGAGAGCCCAAAGGGTAGTGG	110
GLUT2	CCAGCACATACGACACCAGACG	CCAAAGAACGAGGCGACCAT	125
$\beta$ -actin	TCGTACCACTGGCATTGTGAT	CGAAGTCTAGGGCAACATAGCA	233

## 1.4 数据分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析, 并用 Origin 9.0 软件进行作图。统计分析以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 结果采用 Duncan 显著性差异检验进行单因素方差分析, 显著水平是 0.05。

## 2 结果与讨论

### 2.1 刺梨果酒及其理化指标

刺梨果酒参照李劲松<sup>[19]</sup>的方法并作适当改进, 主要步骤为: 清洗干净后, 直接对刺梨鲜果进行榨汁, 装入容器, 糖度的调整, 控温发酵, 陈酿, 过滤, 密封存储等。因新酿刺梨果酒涩味较重, 滋味弱, 而 2

年陈酿的刺梨果酒涩味及滋味均较好, 市场接受度也是最好的, 故选取 2 年陈酿的刺梨果酒进行本试验, 其理化指标如表 3。

### 2.2 刺梨果酒对糖尿病大鼠生长状况及相对

组织重的影响

糖尿病 (Diabetes Mellitus) 是因机体胰岛素相对或绝对分泌不足而引起的以糖、脂、蛋白质等代谢紊乱的一种严重危害人类健康的全球性疾病, 主要包括 1-型、2-型和妊娠性糖尿病<sup>[20,21]</sup>。据国际糖尿病联盟 (IDF) 统计, 2017 年, 全球糖尿病患者人数已达 4.25 亿; 预计到 2045 年, 将会有近 7 亿糖尿病患者; 而且大部分患者 (72.3%) 来自低收入或中等收入国

家,由此造成的医疗卫生支出也是相当巨大的,并呈逐步增加的趋势<sup>[22]</sup>。目前对于糖尿病的治疗主要措施是注射胰岛素或联合降糖药物使用<sup>[23]</sup>。但存在疗程长、疗效慢、不良反应多、花费高等缺点。因此,来源于膳食中的活性成分以其健康、安全及其作用温和而备受人们的青睐。链脲佐菌素(Streptozotocin, STZ)是一种 DNA 烷基化试剂,具有强  $\beta$ -细胞毒性,因其诱导的糖尿病模型稳定、死亡率低<sup>[24]</sup>,是目前国内外公认的糖尿病动物模型造模药物。由于 STZ 对雌性与雄性大鼠胰岛造成的损伤程度有差异,雄性大鼠更敏感<sup>[25]</sup>;另外,雌激素可能在一定程度上存在延缓糖尿病病程的作用<sup>[26]</sup>。因此本试验采用 STZ 诱导雄性大鼠建立 1-型糖尿病模型。

本实验给予大鼠 STZ 造模出现多饮、多食、多尿等典型的糖尿病症状。由表 4 可知,空白组大鼠体重增加了 25.10%,而模型组大鼠体重仅增加了 4.56%,但模型组采食量却是空白组的 2.20 倍,饮水量为空白组的 3 倍多,饲料效率显著 ( $p<0.05$ ) 低于空白组。给予刺梨果酒 28 d 治疗后,高、中、低剂量组大鼠体重分别显著 ( $p<0.05$ ) 升高了 17.76%,18.21%和 8.78%;饲料效率显著 ( $p<0.05$ ) 上升,而采食量和饮水量显

著 ( $p<0.05$ ) 降低。说明刺梨果酒可改善因 STZ 诱导的糖尿病大鼠的症状,其中高、中剂量组更明显。这可能与刺梨果酒中含有丰富的黄酮、Vc、多酚、槲皮素等功能性物质有关。陈小敏等<sup>[6]</sup>研究表明,连续灌胃 28 d 刺梨汁后,可显著改善 1-型糖尿病小鼠多饮多食的症状,同时体重下降也受到抑制。Wang 等<sup>[27]</sup>研究表明,槲皮素可刺激骨骼肌中 GLUT4 发生易位反应来维持体内的葡萄糖稳态。仇菊等<sup>[28]</sup>研究表明,葡萄籽多酚可显著上调胰腺中胰岛素的表达,促进胰岛素分泌。早在 70 年代,人们就开始关注酒精与糖尿病的关系,但酒精对糖尿病人血糖及胰岛素分泌功能的影响及其作用机制目前仍不清楚。Friedrenberg 等<sup>[29]</sup>人研究表明,适量饮酒不会改变人类基础胰岛素的分泌。然而, Pullen 等研究表明,酒精可抑制或增加大鼠葡萄糖刺激的胰岛素分泌<sup>[30-32]</sup>。周振宇等<sup>[33]</sup>从体内和体外两个角度说明了低氘白酒干预能显著降低糖尿病大鼠的空腹血糖水平,提高血浆胰岛素水平。国内外研究果酒降血糖的功能性物质主要集中在多酚、黄酮、多糖等成分上<sup>[34,35]</sup>,而果酒中所含酒精对降血糖的贡献及其机制还有待研究。

表 3 刺梨果酒理化指标

Table 3 The *Rosa roxburghii* Tratt wine in physical and chemical indicators

编号	总黄酮/(mg/g)	Vc/(mg/100 mL)	酒度/%vol	可溶性固形物/°Brix	pH 值
平均值	55.00±2.83	365.10±21.56	12.56±0.28	7.97±0.15	4.98±0.05

表 4 大鼠生长状况及相对组织重量

Table 4 Growth status and relative tissue weight of rats (n=10)

项目	NC	MC	DM-HD	DM-MD	DM-LD	PC
初重/g	256.63±10.81	204.25±11.47 <sup>*a</sup>	202.13±13.48 <sup>a</sup>	196.38±10.91 <sup>a</sup>	205.12±14.11 <sup>a</sup>	206.08±9.22 <sup>a</sup>
终体重/g	342.63±8.11	214.01±6.43 <sup>*a</sup>	252.03±8.21 <sup>b</sup>	261.63±7.66 <sup>b</sup>	234.63±5.95 <sup>c</sup>	279.44±9.54 <sup>d</sup>
体重增加量/g	86.02±4.44	9.75±7.35 <sup>*a</sup>	49.88±5.26 <sup>b</sup>	68.25±8.78 <sup>c</sup>	29.51.25±6.33 <sup>c</sup>	72.64±4.55 <sup>c</sup>
采食量/g	479.45±18.32	1053.92±22.548 <sup>*a</sup>	814.65±18.82 <sup>b</sup>	769.16±16.75 <sup>c</sup>	894.65±25.32 <sup>d</sup>	742±19.99 <sup>c</sup>
饲料效率/%	17.94±0.93	0.93±0.98 <sup>*a</sup>	6.12±0.86 <sup>b</sup>	8.76±0.73 <sup>c</sup>	4.33±0.92 <sup>d</sup>	9.11±1.10 <sup>c</sup>
饮水量/mL	18.05±2.33	55.76±4.44 <sup>*a</sup>	42.5±4.23 <sup>bc</sup>	38.4±2.98 <sup>c</sup>	48.33±5.98 <sup>b</sup>	32.4±6.12 <sup>d</sup>

注:实验结果以平均值±标准误差表示(n=10);\*表示模型对照组与空白组间存在显著差异( $p<0.05$ );a、b、c、d、e不同字母表示糖尿病大鼠各组之间存在显著差异( $p<0.05$ )。

### 2.3 对糖尿病大鼠空腹血糖(FBG)和果糖胺(FMN)的影响

空腹血糖表示糖尿病患者的即时血糖水平,可反映胰岛  $\beta$  细胞的功能状态,是糖尿病患者临床检查的主要指标<sup>[36]</sup>。由图 1a 可知,灌胃处理前(0 d),糖尿病组空腹血糖值均大于 16.70 mmol/L,而糖尿病模型各组间血糖值差异不显著 ( $p>0.05$ ),说明造模成功;

模型组(MC)在试验期间血糖始终处于较高水平,并有升高趋势,说明模型组大鼠糖尿病越来越严重。除正常组和模型组外,其它各组经过 28 d 给药后,各组血糖均有不同程度的下降,刺梨高、中、低分别下降了 21.20%、36.14%和 8.75%;阳性组降低了 42.06%。说明刺梨果酒具有降低糖尿病空腹血糖,其中高、中剂量效果明显。

血清中果糖胺的含量可反应 2~4 周内的血糖情况的,是评价糖尿病控制情况的一个重要指标<sup>[13,18,20]</sup>,由

图 1b 可看出, 与 CN 相比, 模型组大鼠果糖胺水平显著增加, 上升了 26.23% ( $p < 0.05$ )。与相比 MC 相比, 通过 28 d 治疗后, 大鼠果糖胺显著 ( $p < 0.05$ ) 下降, 分别降低了 11.32%、16.65%和 8.33%, PC 组下降了 18.58%。贾蕊<sup>[37]</sup>等研究表明, 齿叶白鹃梅叶具有显著降低糖尿病大鼠的 FBG 值 ( $p < 0.05$ )。周艺<sup>[38]</sup>研究了刺梨茶的乙醇溶剂中降低糖尿病小鼠的 FBG 值的主要成分为多酚、黄酮等。

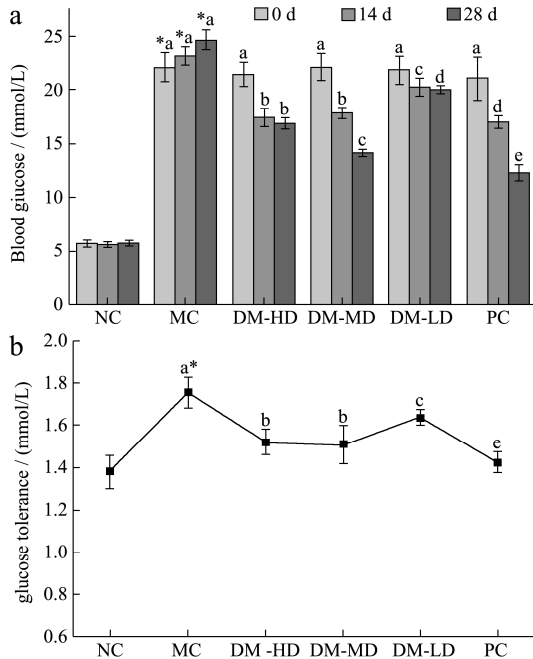


图 1 刺梨果酒对大鼠空腹血糖及果糖胺的影响

Fig.1 Effect of *Rosa roxburghii* Tratt wine on fasting blood glucose and glucose tolerance in rats (n=10)

注: \*表示模型对照组与空白组间存在显著差异 ( $p < 0.05$ ); a、b、c、d、e 不同字母表示糖尿病大鼠各组之间存在显著差异 ( $p < 0.05$ ); 下同。

#### 2.4 刺梨果酒对糖尿病大鼠空腹血清胰岛素 (Ins) 的影响

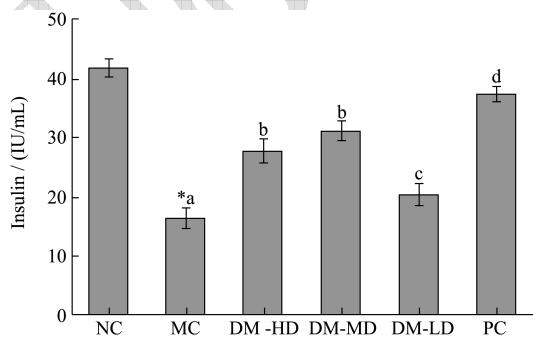


图 2 刺梨果酒对血清 Ins 的影响

Fig.2 Effect of *Rosa roxburghii* Tratt wine on the content of insulin (Ins) in serum of rats (n=10)

胰岛素 (insulin) 是机体内唯一能降低血糖的激素, 血液中的胰岛素需与胰岛素受体蛋白 InR 结合后, 才能发挥作用。糖尿病发生后, 由于胰岛素分泌不足或细胞对胰岛素作用不敏感, 使葡萄糖进入肌肉细胞受阻, 利用率减少, 造成血糖升高<sup>[39-41]</sup>。由图 3 可知, 与空白组相比, 模型组血 Ins 降低了 59.99% ( $p < 0.05$ )。与模型组相比, 经过 28 d 处理后, 刺梨果酒组 Ins 均显著 ( $p < 0.05$ ) 升高, 分别上升了 39.69%、45.87%和 17.82%; 阳性对照组 Ins 升高了 55.24%。以上结果表明, 刺梨果酒降血糖的作用机制可能与其促进胰岛细胞分泌胰岛素有关。

#### 2.5 对胰岛素介导的 PI3K/PKB 途径的影响

胰岛素通路有磷脂酰肌醇 3-激酶 (Phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt/PKB) 和丝 Ras-裂原活化蛋白激酶 (Ras-Mitogen-activated protein kinase, Ras-MAPK) 途径, 其 PI3K/PKB 是胰岛素信号通路的主要途径<sup>[42,43]</sup>。与空白组相比, 模型组 PI3K 和 PKB mRNA 表达量均显著降低, 分别降低了 55.41%和 43.75%。与模型组相比, 经过 28 d 处理后, 刺梨果酒组可显著 ( $p < 0.05$ ) 升高了 PI3K、PKB mRNA 表达量, PI3K 分别升高了 49.76%、51.57%、39.49%; PKB 分别升高了 28.04%、20.94%、11.98%; 阳性组 PI3K 和 PKB 分别升高了 53.93%和 38.52%。

杨维波等<sup>[44]</sup>研究表明, 大柴胡汤降 2 型糖尿病血糖的机制与激活 PI3K/AKT 信号通路, 增加葡萄糖的运转有关。蔡羽研究表明, 桑瓜饮降血糖的机制是激活 PI3K/Akt 信号通路中的关键分子 (PI3K、Akt、p-Akt 和 GLUT-4) 的 mRNA 及蛋白表达, 促进葡萄糖的运转<sup>[45]</sup>。刘美晓等<sup>[46]</sup>研究表明, 丝胶可改善糖尿病时胰腺胰岛素 PI3K-Akt 信号转导通路的异常, 从而发挥降低血糖的作用。

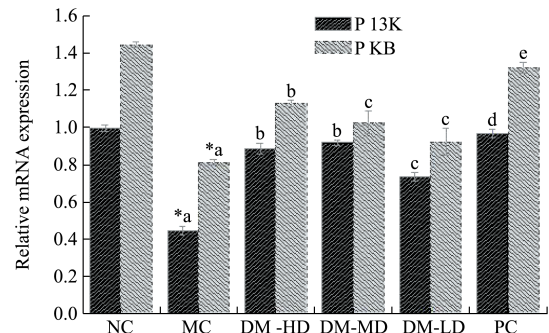


图 3 刺梨果酒对 PI3K 和 PKB mRNA 相对表达量的影响

Fig.3 Effect of *Rosa roxburghii* Tratt wine on mRNA relative expression of PI3K and PKB in liver of rats (n=10)

## 2.6 对肝脏和骨骼肌葡萄糖转运载体的影响

葡萄糖转运载体是细胞吸收葡萄糖的载体，葡萄糖转运载体 2 (Glucose Transporter 2, GLUT2) 在肝脏中高度表达，形成葡萄糖分子通道，促进吸收合成肝糖原，肝糖原吸收 7% 的葡萄糖；然而，葡萄糖转运载体 4 (Glucose Transporter 4, GLUT4) 在肌肉和脂肪具有高表达量，形成分子通道，使细胞能够吸收并合成肌肉糖原，肌肉细胞吸收约 70% 葡萄糖，脂肪组织细胞吸收 7%<sup>[47-50]</sup>。当体内血糖浓度升高时，胰岛  $\beta$  细胞产生的胰岛素与其受体底物结合，PI3K 蛋白被激活并大量表达，激活后的 PI3K 又介导下游的 PKB 蛋白高表达并磷酸化，磷酸化的 PKB 蛋白诱导 GLUT2 和 GLUT4 大量表达并由细胞质转位到细胞膜，形成葡萄糖通道促进细胞吸收葡萄糖形成糖原被机体利用从而降低血糖浓度<sup>[51-53]</sup>。

由图可知，与空白组相比，模型组肝脏 GLUT2 和骨骼肌 GLUT4 mRNA 表达量显著 ( $p < 0.05$ ) 降低，分别下降了 27.22% 和 54.11%。与模型组相比，经过 28 d 治疗后，刺梨果酒组高、中、低肝脏 GLUT2 mRNA 表达量分别显著升高了 16.51%、19.91% 和 8.42%，而骨骼肌 GLUT4 mRNA 表达量分别显著 ( $p < 0.05$ ) 升高了 36.91%、45.82% 和 13.96%；阳性对照肝脏 GLUT2 和骨骼肌 GLUT4 mRNA 表达量显著 ( $p < 0.05$ ) 升高了 21.45% 和 49.49%。任廷远等<sup>[54]</sup>研究表明，花椒降低 1-型糖尿病模型血糖的机制，可能是通过激活骨骼肌膜上 GLUT4 mRNA 和蛋白水平，促进机体葡萄糖的转运。另外，花椒可显著上调肝脏 GLUT2 mRNA 和蛋白水平，抑制糖异生作用，减少肝糖的输出<sup>[55]</sup>。

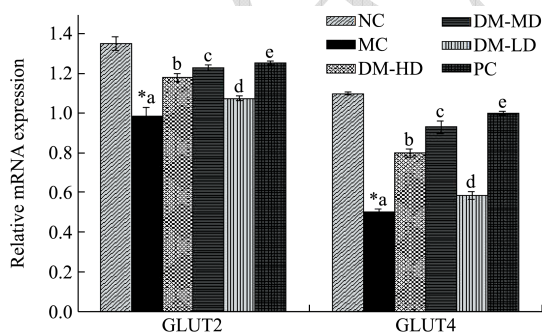


图 4 刺梨果酒对肝脏和骨骼肌葡萄糖转运载体 mRNA 相对表达量的影响

Fig.4 Effect of *Rosa roxburghii* Tratt wine on mRNA relative expression of GLUT2 in liver and GLUT4 in skeletal muscle

## 3 结论

3.1 通过 STZ 诱导 1-型糖尿病大鼠模型，从生理生化指标和 mRNA 水平研究刺梨果酒对糖尿病大鼠的

降血糖效果及可能机制。研究表明，刺梨果酒高、中、低剂量组与模型组比较均有不同程度的降低糖尿病小鼠的血糖水平，特别是高、中剂量组与模型组比较差异显著 ( $p < 0.05$ )。刺梨果酒降血糖的可能机制是激活 Ins 介导的 PI3K 途径，使 GLUT2/4 移位，促进细胞对葡萄糖的吸收和利用。

3.2 本研究从 mRNA 水平研究刺梨果酒降血糖的效果及可能机制，下一步将从蛋白水平深入验证；另外，本文仅对胰岛素介导 PI3K 途径进行了研究，而对非胰岛素介导的 AMPK 途径及胰岛素介导的 Ras-MAPK 途径如何?仍需进一步研究。

## 参考文献

- [1] Yoshida T, Chen X M, Hatano T, et al. Tannins and related polyphenols of rosaceous medicinal plants. IV. Roxbins A and B from *Rosa roxburghii* fruits [J]. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1987, 35(5): 1817-1822
- [2] 白静,张宗泽,鲁敏,等. 贵州不同地区野生刺梨果实品质分析[J]. 贵州农业科学, 2016, 44(3): 43-46  
BAI Jing, ZHANG Zong-ze, LU Min, et al. Fruit quality of wild *Rosa roxburghii* germplasm resources from different regions in Guizhou [J]. Guizhou Agricultural Science, 2016, 44(3): 43-46
- [3] WEN Xiao-peng, DENG Xiu-xin. Characterization of genotypes and genetic relationship of cili (*Rosa roxburghii*) and its relatives using RAPD markers [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2003, 11(6): 605-611
- [4] 夏仕青,张爱华. 刺梨的营养保健功能及其开发利用研究进展[J]. 贵州医科大学学报, 2018, 43(10): 1129-1132, 1153  
XIA Shi-qing, ZHANG Ai-hua. Research progress on nutrition and health care function of *Rosa roxburghii* Tratt and its development and utilization [J]. Journal of Guizhou Medical University, 2018, 43(10): 1129-1132, 1153
- [5] 陈萍,谭书明,陈小敏,等. 刺梨、蜂胶、山楂口服液的降血脂功能研究[J]. 现代食品科技, 2019, 35(8): 78-83, 72  
CHEN Ping, TAN Shu-ming, CHEN Xiao-min, et al. Study on hypolipidemic activity of *Rosa roxburghii* tratt, propolis and crataegus oral liquid [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(8): 78-83, 72
- [6] 陈小敏,谭书明,黄颖,等. 刺梨汁对 I 型糖尿病小鼠的降糖作用[J]. 现代食品科技, 2019, 35(8): 13-20  
CHEN Xiao-min, TAN Shu-ming, HUANG Ying, et al. Hypoglycemic effect of *Rosa roxburghii* juice on type 1 diabetic mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(8): 13-20

- [7] 黄颖,谭书明,陈小敏,等.刺梨口服液对急性醉酒小鼠的解酒护肝作用[J].现代食品科技,2019,35(7):18-23  
HUANG Ying, TAN Shu-ming, CHEN Xiao-min, et al. Ntialcoholism effects of *Rosa roxburghii* tratt oral liquid in acute drunkenness mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(7): 18-23
- [8] 简崇东.刺梨药理作用的研究进展[J].中国医药指南,2011,9(29):38-40  
JIAN Chong-dong. Research progress on pharmacological effects of *Rosa roxburghii* [J]. Guide of China Medicine, 2011, 9(29): 38-40
- [9] 郭建军,陆锦锐,罗俊,等.刺梨茶对糖尿病小鼠血糖的影响[J].中国民族民间医药,2017,26(14):50-53  
GUO Jian-jun, LU Jin-rui, LUO Jun, et al. Pilot study on the hypoglycemic effect of the tea of tratt *Rosa roxburghii* on diabetic mice [J]. Chinese Journal of Ethnopharmacology, 2017, 26(14): 50-53
- [10] 邓毅.刺梨蜂胶饮料加工技术研究[D].贵阳:贵州大学,2016  
DENG Yi. Studies on processing technique of *Rosa roxburghii* tratt and propolis beverage [D]. Guiyang: Guizhou University, 2016
- [11] 孙兆峰,张霞,夏作理.刺梨叶对2型糖尿病大鼠脂代谢的影响[J].社区医学杂志,2015,13(10):53-55  
SUN Zhao-feng, ZHANG Xia, XIA Zuo-li. Effect of *Rosa roxburghii* leaf on lipid metabolism in type 2 diabetic rats [J]. Journal of Community Medical, 2015, 13(10): 53-55
- [12] Begorre M A, Dib A, HabchiK, et al. Microvascular vasodilator properties of the angiotensin II type 2 receptor in a mouse model of type 1 diabetes [J]. Scientific Reports, 2017, 7: 45625
- [13] REN Ting Yuan, ZHU Yu Ping, XIA Xu Ju, et al. *Zanthoxylum alkylamides* ameliorate protein metabolism disorder in STZ-induced diabetic rats [J]. Journal of Molecular Endocrinology, 2017, 58(3): 113-125
- [14] 梁茜,吴琼,武昌芳,等.刺梨根多酚提取工艺考察和含量测定方法建立[J].时珍国医国药,2019,30(2):319-322  
LIANG Qian, WU Qiong, WU Jing-fang, et al. Investigation on extraction process and content determination method of polyphenols from *Rosa roxburghii* root [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2019, 30(2): 319-322
- [15] 杜薇,刘国文.刺梨总黄酮的含量测定及资源利用[J].食品科学,2003,1:112-114  
DU Wei, LIU Guo-wen. Determination and resource utilization of total flavonoids in *Rosa roxburghii* [J]. Food Science, 2003, 1: 112-114
- [16] 李军.钼蓝比色法测定还原型维生素C[J].食品科学,2000,8:42-45  
LI Jun. Determination of reduced vitamin C by molybdenum blue colorimetry [J]. Food Science, 2000, 8: 42-45
- [17] 游玉明,任文瑾,刘庆庆,等.花椒精有效成分对高脂膳食大鼠脂质代谢的影响[J].营养学报,2015,37(3):288-293  
YOU Yu-ming, REN Wen-jin, LIU Qing-qing, et al. Effects of active ingredients of zanthoxylum oleoresin on lipid metabolism in rats fed high [J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2015, 37(3): 288-293
- [18] You Yu Min, Ren Ting, Zhang Shu Qi, et al. Hypoglycemic effects of *Zanthoxylum alkylamides* by enhancing glucose metabolism and ameliorating pancreatic dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Food & Function, 2015, 6(9): 3144-3154
- [19] 李劲松.刺梨果酒的酿造方法[P]. CN105331481A, 2016-02-17  
LI Jin-song. Brewing method of *Rosa roxburghii* wine [P]. CN105331481A, 2016-02-17
- [20] Kuller L H, Velentgas P, Barzilay J, et al. Diabetes mellitus: subclinical cardiovascular disease and risk of incident cardiovascular disease and all-cause mortality [J]. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 2000, 20(3): 823-829
- [21] Chakraborty R, Sen S. Editorial (Thematic issue: treatment and diagnosis of diabetes mellitus and its complication: advanced approaches) [J]. Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 2015, 15(14): 1132-1133
- [22] IDF 全球糖尿病概览(第8版)发布[J].糖尿病文摘,2017,23:1-12  
IDF global diabetes overview (8th edition) release [J]. Diabetes Digest, 2017, 23: 1-12
- [23] Zumin Shi. Prevalence of diabetes among men and women in China [J]. New England Journal of Medicine, 2010, 362(12): 1090-1101
- [24] Liu Y, Deng J, Fan D. Ginsenoside Rk3 ameliorates high-fat-diet/streptozocin induced type 2 diabetes mellitus in mice via the AMPK/Akt signaling pathway [J]. Food Funct, 2019, 10(5): 2538-2551
- [25] 王晓琳,邱宗荫,夏永鹏.性别差异对实验性链脲佐菌素糖尿病大鼠造模的影响[J].第三军医大学学报,2009,31(17):1668-1671  
WANG Xiao-lin, QIU Zong-yin, XIA Yong-peng. Difference in streptozotoc in-induced experimental diabeticmodel

- between male and female rats [J]. *Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae*, 2009, 31(17): 1668-1671
- [26] 赵圆宇,王艺蓉,徐彩婷,等.性别差异对 1 型糖尿病大鼠造模的影响[J].*川北医学院学报*,2014,29(5):421-424  
ZHAO Yuan-yu, WANG Yi-rong, XU Cai-ting, et al. Impact of gender difference in type 1 diabetic rats modeling [J]. *Journal of North Sichuan Medical College*, 2014, 29(5): 421-424
- [27] Wang W, Wang C, Ding X Q, et al. Quercetin and allopurinol reduce liver thioredoxin-interacting protein to alleviate inflammation and lipid accumulation in diabetic rats [J]. *Brit J Pharmacol*, 2013, 169(6): 1352-1371
- [28] 仇菊,朱宏,卢林纲.葡萄籽多酚对糖尿病大鼠的降血糖作用及其机制[J].*食品科学*,2018,39(1):226-231  
QIU Ju, ZHU Hong, LU Lin-gang. Hypoglycemic effect of grape seed polyphenols in diabetic rats and its underlying mechanism [J]. *Food Science*, 2018, 39(1): 226-231
- [29] Friedrenberg R, Wetz R, Mako M, et al. Differential plasma insulin response to glucose stimulation following ethanol priming [J]. *Diabetes*, 1971, 20: 397-403
- [30] Pullen GL, Singh SP, Snyder AK, et al. Ethanol influence on calcium uptake and insulin release by rat islets [J]. *J Endocrinol Invest*, 1987, 10: 9-14
- [31] Svartberg J, Holst J J, Gutniak M, et al. The ethanol augmentation of glucose-induced insulin secretion is abolished by calcium antagonism with Nifedipine: no evidence for a role of glucagons-like peptide-1(GLP-1) [J]. *Pancreas*, 1998, 16: 66-71
- [32] Singh S P, Patel D G. Effects of alcohol on carbohydrate metabolism: Influence on oral glucose tolerance test [J]. *Metabolism*, 1976, 25: 239-243
- [33] 周振宇.低氘白酒降血糖作用的原理研究[D].上海:上海交通大学,2011  
ZHOU Zhen-yu. Effects of deuterium-depleted Chinese liquor on hypoglycemic action [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2011
- [34] 饶炎炎,唐琳琳,陈思睿,等.红树莓果酒发酵过程中功效成分、香气物质及体外降血糖功效的动态变化[J].*食品科学*: 2020,41(6):222-230  
RAO Yan-yan, TANG Lin-lin, CHEN Si-rui, et al. Dynamic changes of aroma and functional components of red raspberry wine during fermentation and its hypoglycemic effect *in vitro* [J]. *Food Science*, 2020, 41(6): 222-230
- [35] 花俊丽,杨辉,杜丁,等.海红果酒多糖的结构鉴定及降血糖活性验证[J].*陕西科技大学学报(自然科学版)*,2016,34(5): 129-132,141  
HUA Jun-li, YANG Hui, DU Ding, et al. Structure and hypoglycemic activity characterization of polysaccharide from *Malus micromalus* Makino wine [J]. *Journal of Shaanxi University of Science & Technology*, 2016, 34(5): 129-132, 141
- [36] Rushforth N B, Bennett P H, Steinberg A G, et al. Diabetes in the pima Indians. Evidence of bimodality in glucose tolerance distributions [J]. *Diabetes*, 1971, 20(11): 756-758
- [37] 贾蕊,刘阳芷,刘玉强,等.齿叶白鹃梅叶对 2-型糖尿病大鼠模型降糖调脂作用的研究[J].*中南药学*,2018,16(5):602-605  
JIA Rui, LIU Yang-zhi, LIU Yu-qiang, et al. Role of *Exochorda serratifolia* leaves in lowering blood glucose and cholesterol in type 2-diabetic rat models [J]. *Central South Pharmacy*, 2018, 16(5): 602-605
- [38] 周艺.刺梨茶对实验小鼠降血糖、血脂及抗氧化作用研究[D].贵州:贵州大学,2017  
ZHOU Yi. The study on the hypoglycemic and hypolipidemic and antioxidant activity effect from the tea of *Rosa roxburghii* trutt [D]. Guizhou: Guizhou University, 2017
- [39] Riehle C, Abel E D. Insulin signaling and heart failure [J]. *Circulation Research*, 2017, 118(7): 1151-1169
- [40] Wang Z, Xiong L, Wang G, et al. Insulin-like growth factor-1 protects SH-SY5Y cells against  $\beta$ -amyloid-induced apoptosis via the PI3K/Akt-Nrf2 pathway [J]. *Experimental Gerontology*, 2016, 87(Pt A): 23-32
- [41] Dror E, Dalmas E, Meier D T, et al. Postprandial macrophage-derived IL-1 $\beta$  stimulates insulin, and both synergistically promote glucose disposal and inflammation [J]. *Nature Immunology*, 2017, 18(3): 283-292
- [42] Kim J, Go H, Jin D H, et al. Inhibition of the PI3K-Akt/PKB survival pathway enhanced an ethanol extract of *Rhus verniciflua* Stokes-induced apoptosis via a mitochondrial pathway in AGS gastric cancer cell lines [J]. *Cancer Letters*, 2008, 265(2): 197-205
- [43] Sumimoto H, Takano A, Teramoto K, et al. Abstract 3708: RAS-MAPK signal is required for enhanced PD-L1 expression in human lung cancers [J]. *Cancer Research*, 2017, 77 (13 Supplement): 3708-3708
- [44] 杨维波,焦建洪,董淑华.大柴胡汤对 2 型糖尿病模型大鼠血糖的影响[J].*中医药临床杂志*,2019,11:2119-2123  
YANG Wei-bo, JIAO Jian-hong, DONG Shu-hua. Effect of dachaihu decoction on blood glucose in type 2 diabetic rats [J]. *Chinese Journal of Clinical Medicine*, 2019, 11: 2119-2123



- [45] 蔡羽.桑瓜饮干预2型糖尿病大鼠的作用及其PI3K/Akt信号通路机制研究[D].武汉:湖北中医药大学,2018  
CAI Yu. The effect and molecular mechanisms of Sangguayin through the PI3K/Akt signaling pathway in type 2 diabetes mellitus rats [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2018
- [46] 刘美晓,孙一婵,侯丽娜,等.丝胶对2型糖尿病大鼠胰腺胰岛素 PI3K-Akt 信号通路的调节作用[J].解剖学报,2016, 47(6):807-811  
LIU Mei-xiao, SUN Yi-chan, HOU Li-na, et al. Regulatory effects of sericin on pancreatic insulin PI3K/Akt signaling pathway in type 2 diabetic rats [J]. Acta Anatomica Sinica, 2016, 47(6): 807-811
- [47] Sharawy M H, El-Awady M S, Megahed N, et al. Attenuation of insulin resistance in rats by agmatine: role of SREBP-1c, mTOR and GLUT-2 [J]. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 2016, 389(1): 45-56
- [48] Leney S E, Tavaré J M. The molecular basis of insulin-stimulated glucose uptake: signalling, trafficking and potential drug targets [J]. Journal of Endocrinology, 2009, 203(1): 1-18
- [49] Hatem-Vaquero M, Griera M, García-Jerez A, et al. Peripheral insulin resistance in ILK-depleted mice by reduction of GLUT4 expression [J]. Journal of Endocrinology, 2017, 234: 115-128
- [50] Hopkins B D, Pauli C, Xing D, et al. Suppression of insulin feedback enhances the efficacy of PI3K inhibitors [J]. Nature, 2018, 560: 499-503
- [51] Liem M, Ang, Ching-Seng, et al. Insulin mediated activation of PI3K/Akt signalling pathway modifies the proteomic cargo of extracellular vesicles [J]. Proteomics, 2017, 17(23-24): 1600371-1600374
- [52] Stahel P, Kim J J, Cieslar S R L, et al. Supranutritional selenium intake from enriched milk casein impairs hepatic insulin sensitivity via attenuated IRS/PI3K/AKT signaling and decreased PGC-1 $\alpha$  expression in male Sprague-Dawley rats [J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2017, 41: 142-150
- [53] Jiang M, Wu Y L, Li X, et al. Oligomeric proanthocyanidin derived from grape seeds inhibited NF- $\kappa$ B signaling in activated HSC: involvement of JNK/ERK MAPK and PI3K/Akt pathways [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2017, 93: 674-680
- [54] Ren T, Zhu Y, Kan J. Zanthoxylum alkylamides activate phosphorylated AMPK and ameliorate glycolipid metabolism in the streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Clinical and Experimental Hypertension, 2017, 458(3): 113-1253
- [55] You Y, Ren T, Zhang S, et al. Hypoglycemic effects of *Zanthoxylum* alkylamides by enhancing glucose metabolism and ameliorating pancreatic dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Food & Function, 2015, 6(9): 3144-3154

欢迎订阅中文核心期刊

《现代食品科技》

邮发代号：46-349 刊号：ISSN 1673-9078/CN 44-1620

每期定价40元，全年12期480元。欢迎食品及相关行业的机构和科学工作者到各地邮局订阅，并踊跃投稿和建立产学研合作关系。

地址：广州五山华南理工大学食品科学与工程学院麟鸿楼506室，邮编：510640

电话：020-87113352

E-mail: [xdspkj@126.com](mailto:xdspkj@126.com)

投稿系统: <http://xdspkj.ijournals.cn>