

枸杞多糖对 2 型糖尿病病人的短期干预

蔡慧珍^{1,2}, 刘福康¹, 芦慧霞³, 郭斐³, 胡丽杰⁴, 韩超⁵, 孙桂菊^{1,*}

(1. 东南大学公共卫生学院, 环境医学工程教育部重点实验室, 江苏 南京 210009;

2. 宁夏医科大学公共卫生学院, 宁夏 银川 750004; 3. 东南大学附属中大医院, 江苏 南京 210009;

4. 南京市江浦人民医院, 江苏 南京 211800; 5. 上海善力健生物科技有限公司, 上海 200120)

摘要:目的: 研究枸杞多糖(LBP)对 2 型糖尿病人血糖及其胰岛素抵抗相关细胞因子的作用。方法: 采用 1:1 匹配法选取年龄相差不超过 5 岁, 糖尿病病程相差不超过 5 年, 服药类型和剂量相近的糖尿病患者, 分别服用 LBP 胶囊(300mg/d, 持续 3 个月)和安慰剂进行干预和统计分析。结果: 干预前后两组人群的血糖、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 变化有统计学差异。两组的瘦素、白细胞介素-6(IL-6)、脂联素和 C 反应蛋白变化无统计学差异。结论: LBP 能够通过抑制 TNF- α 水平缓解 2 型糖尿病患者的胰岛素抵抗, 从而降低血糖。

关键词: 枸杞多糖; 2 型糖尿病; 血糖

Short-Term Intervention of *Lycium barbarum* Polysaccharide on Type 2 Diabetes

CAI Hui-zhen^{1,2}, LIU Fu-kang¹, LU Hui-xia³, GUO Fei³, HU Li-jie⁴, HAN Chao⁵, SUN Gui-ju^{1,*}

(1. Key Laboratory of Environmental Medicine and Engineering, Ministry of Education, College of Public Health, Southeast University, Nanjing 210009, China; 2. College of Public Health, Ningxia Medicine University, Yinchuan 750004, China; 3. Zhongda Hospital Affiliated, Southeast University, Nanjing 210009, China; 4. Nanjing Jiangpu People's Hospital, Nanjing 211800, China; 5. Sonergy Laboratories Shanghai Co. Ltd., Shanghai 200120, China)

Abstract: Objective: To study the effect of *Lycium barbarum* polysaccharide (LBP) on hypoglycemic activity and cytokine in type 2 diabetic patients. Methods: The 1:1 matching method was used to select subjects according to their age (difference no more than 5 years old), duration of diabetes (difference no more than 5 years) and drug type and doses. LBP or placebo was provided by 300 mg/d for 3 consecutive months. Results: Fasting serum glucose and TNF- α had a significant difference between two groups after administration for 3 months. However, no significant difference was observed in leptin, interleukin 6 (IL-6), adiponectin and C reactive protein. Conclusion: LBP has the functions of decreasing serum glucose and reducing TNF- α in type 2 diabetic patients.

Key words: *Lycium barbarum* polysaccharide; type 2 diabetes; glucose

中图分类号: R507.1; TS218

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)13-0259-04

枸杞是我国传统名贵的中药材, 其主要活性成分枸杞多糖(*Lycium barbarum* polysaccharide, LBP)具有抗氧化、抗肿瘤^[1-2]、增强免疫^[3]等多种功效。LBP 还能够降低动物的血糖血脂^[4-5]。但目前尚未见 LBP 调节人群血糖的研究报道。2 型糖尿病的基本特征是血糖升高, 而胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)是 2 型糖尿病的根本病症。C 反应蛋白(CRP)、瘦素(leptin)、脂联素(adiponectin)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 等细胞因子在葡萄糖的稳态平衡、能量代谢等

方面发挥了重要作用, 同时参与了 IR^[6]。本研究采用 1:1 匹配法选取年龄相差不超过 5 岁, 糖尿病病程相差不超过 5 年, 服药类型和剂量相近的糖尿病患者, 研究 LBP 对 2 型糖尿病患者空腹血糖及 IR 相关细胞因子的作用, 以验证 LBP 对 2 型糖尿病患者的降糖作用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

枸杞子购自于宁夏。

收稿日期: 2012-03-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(30872119); 高等学校博士学科点专项科研基金项目(20100092110039)

作者简介: 蔡慧珍(1980—), 女, 博士研究生, 主要从事营养与慢性病研究。E-mail: CHZ.Liu08@gmail.com

* 通信作者: 孙桂菊(1963—), 女, 教授, 博士, 主要从事营养与慢性病研究。E-mail: gjsun@seu.edu.cn

胰岛素、瘦素、TNF- α 、IL-6 放射免疫法检测试剂盒、血糖检测试剂盒 北京方程生物科技有限公司；CRP、脂联素检测 ELISA 试剂盒 烟台赛尔公司；其他试剂为分析纯。

1.2 仪器与设备

LX20 全自动生化仪 美国 Beckman 公司；GC911 放射免疫分析仪 中国科大中佳公司；Mithras LB 940 酶标仪 德国 Berthold 公司。

1.3 方法

1.3.1 枸杞多糖的准备

枸杞多糖的加工委托由上海善力健生物科技有限公司进行，并将其加工制作成胶囊形式以便服用。制作流程：枸杞→烘干→磨成粉状→加水低温(60℃) 煎煮→冷却→采用 300kD 滤膜过滤→30kD 滤膜过滤→100kD 滤膜过滤→80kD 滤膜过滤→50kD 滤膜过滤→干燥浓缩

采用 HPLC 检测，考马斯亮蓝法测定其蛋白含量，并将其加工成 LBP 胶囊(含 LBP 50mg/粒，微晶纤维素 150mg/粒)备用。安慰剂含微晶纤维素 300mg/粒，并由南京市疾病预防控制中心进行卫生学检测。

1.3.2 研究对象

选取项目中符合标准并自愿参加的 2 型糖尿病患者(空腹血糖 $\geq 7.0\text{mmol/L}$ 和/或餐后任意血糖 $\geq 11.1\text{mmol/L}$ ，或已确诊为糖尿病的患者)给予安慰剂或 LBP。1:1 匹配法选取年龄相差不超过 5 岁，糖尿病病程相差不超过 5 年，服药类型和剂量相近，其中男性 22 对，女性 23 对，共配成 45 对作为研究对象。其中排除 1 型糖尿病，肿瘤患者、肝肾功能不全者及妊娠期、哺乳期妇女等。本研究经过东南大学公共卫生学院伦理委员会批准，所有入选对象均签订知情同意书。

1.3.3 实验过程

抽取研究对象的空腹静脉血，测定血常规、丙氨酸转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、肌酐、尿酸、血糖(Glu)。血常规用于排除急性感染期病人。另取一管血清-80℃冻存备检 CRP、瘦素、TNF- α 、IL-6、脂联素。并测定病人的身高、体质量、腰围、臀围、心率和血压等指标。

受试对象于体检第 2 天开始连续服用 3 个月的 LBP 胶囊或安慰剂(两粒/d)。3 个月后再次进行上述检查和各项指标的测定。

1.3.4 指标检测

血糖采用生化分析仪测定；CRP、脂联素的测定采用酶联免疫法；瘦素、TNF- α 、IL-6 的测定采用放射免疫分析法。

1.3.5 统计方法

SPSS13.0 进行统计分析。数据采用 $\bar{x} \pm s$ 或中位数(25th ~ 75th)表示。成组 t 检验分析两组的基本情况。非正态资料采用对数转换后进行分析。采用配对 t 检验对于干预前后的指标差值进行分析。CRP 采用非参数检验统计。

2 结果与分析

2.1 枸杞多糖的成分检测

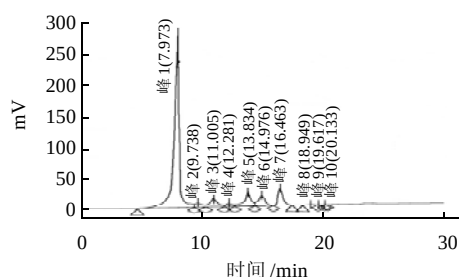


图 1 HPLC 法检测 LBP

Fig.1 HPLC profile of LBP

LBP 是一种水溶性的淡黄色粉末。HPLC 法检测样品 LBP，由图 1 可知，分子质量介于 30~50kD 的多糖成分占 70.53%(峰 1)，分子质量为 10~30kD 之间的多糖成分占 22.53%(峰 2~6)。考马斯亮蓝法检测其蛋白质含量为 6.92%。

2.2 人群调查一般信息

表 1 安慰剂组与 LBP 组 2 型糖尿病人群的基础情况($\bar{x} \pm s$, $n=45$)

Table 1 Baseline characteristics of patients in control and LBP groups ($\bar{x} \pm s$, $n=45$)

项目	安慰剂组	LBP 组	t	P
年龄/岁	58.64 $\pm$ 8.31	57.53 $\pm$ 9.58	1.76	> 0.05
身高/cm	163.23 $\pm$ 6.27	163.61 $\pm$ 8.41	-0.28	> 0.05
体质量/kg	64.04 $\pm$ 10.57	64.54 $\pm$ 10.48	-1.59	> 0.05
BMI/(kg/m ²)	23.86 $\pm$ 3.12	24.48 $\pm$ 3.22	-1.01	> 0.05
腰围/cm	87.69 $\pm$ 10.23	88.18 $\pm$ 9.12	-0.23	> 0.05
收缩压/mmHg	118.16 $\pm$ 14.58	120.18 $\pm$ 12.05	-0.93	> 0.05
舒张压/mmHg	77.62 $\pm$ 10.08	77.62 $\pm$ 9.13	0.00	> 0.05
ALT 活力/(IU/L)	27.33 $\pm$ 19.80	27.18 $\pm$ 17.92	0.04	> 0.05
AST 活力/(IU/L)	26.52 $\pm$ 12.69	23.83 $\pm$ 9.69	1.10	> 0.05
肌酐含量/($\mu\text{mol/L}$)	62.88 $\pm$ 10.54	64.79 $\pm$ 18.82	-0.72	> 0.05
尿酸含量/($\mu\text{mol/L}$)	267.37 $\pm$ 63.87	273.18 $\pm$ 78.34	-0.45	> 0.05
空腹血糖含量/(mmol/L)	7.19 $\pm$ 1.81	7.98 $\pm$ 2.16	-1.88	> 0.05

由表 1 可知，干预前两组人群的年龄、身高、体质量、身体质量指数(BMI)、腰围、血压、ALT 活力、AST 活力及肌酐、尿酸、空腹血糖含量无差异。

表2 干预前后两组人群的人体测量资料的比较($\bar{x} \pm s$, $n=45$)Table 2 Effect of LBP on anthropometric measurements($\bar{x} \pm s$, $n=45$)

项目	安慰剂组		LBP 组		<i>t</i>	<i>P</i>
	干预前	干预后	干预前	干预后		
体质量/kg	64.04 ± 10.57	64.54 ± 10.48	65.67 ± 10.08	65.60 ± 9.80	1.15	> 0.05
腰围/cm	87.69 ± 10.23	87.76 ± 10.14	88.18 ± 9.12	87.60 ± 7.46	0.57	> 0.05
臀围/cm	94.58 ± 6.19	95.60 ± 6.32	95.08 ± 8.15	95.64 ± 6.04	0.45	> 0.05
上臂围/cm	27.32 ± 2.81	27.36 ± 2.79	27.18 ± 2.94	26.46 ± 4.72	1.01	> 0.05
BMI/(kg/m ²)	23.96 ± 3.15	24.48 ± 3.22	24.32 ± 3.30	24.57 ± 2.91	1.02	> 0.05
腰臀比	0.93 ± 0.07	0.92 ± 0.07	0.92 ± 0.06	0.92 ± 0.05	0.04	> 0.05
脉搏/(次/分)	75.29 ± 10.59	73.98 ± 10.49	76.84 ± 10.48	77.13 ± 10.83	-0.80	> 0.05
收缩压/mmHg	118.16 ± 14.58	121.62 ± 13.23	120.18 ± 12.05	120.78 ± 12.84	1.10	> 0.05
舒张压/mmHg	77.62 ± 10.08	75.04 ± 9.78	77.62 ± 9.13	77.82 ± 7.94	-1.55	> 0.05

表3 干预前后两组人群的血糖、细胞因子及CRP的变化

Table 3 Changes in glucose, cytokines and C reactive protein before and after LBP administration

项目	安慰剂组($n=45$)		LBP 组($n=45$)		<i>t</i>	<i>P</i>
	干预前	干预后	干预前	干预后		
血糖含量/(mmol/L)	7.19 ± 1.81	7.22 ± 1.73	7.98 ± 2.16	7.33 ± 2.07	2.48	< 0.05
瘦素含量/(ng/mL) ^a	0.79(0.17~1.80)	0.50(0~1.78)	0.96(0.06~1.71)	0.32(0~1.27)	0.19	> 0.05
TNF- α 含量/(pg/mL)	1.03 ± 0.07	1.24 ± 0.05	1.28 ± 0.13	1.22 ± 0.04	2.47	< 0.05
IL-6 含量/(pg/mL) ^a	37.42(0~83.38)	72.68(44.63~120.66)	60.65(6.19~96.42)	75.37(37.90~133.41)	1.03	> 0.05
脂联素含量/(ng/mL)	67.97 ± 39.89	66.25 ± 32.61	72.33 ± 47.88	72.36 ± 54.37	-0.28	> 0.05
CRP 含量/(mg/L) ^b	0.84(0.84~1.75)	0.84(0.75~6.32)	0.88(0.84~1.84)	0.84(0.84~1.78)		

注: a.中位数(25th~75th), 分析前数据经对数转换; b.中位数(25th~75th), 采用非参数检验。

2.3 LBP 对 2 型糖尿病人群的作用

动物实验研究表明, LBP 对动物体质量具有一定的调节作用, 但结果并不一致。有研究表明 LBP 能降低动物体质量^[7-8], 但也有研究指出 LBP 对力竭大鼠动物的体质量干预无效^[9], 甚至有人提出 LBP 能够增加四氧嘧啶诱导的氧化应激损伤大鼠的体质量^[10]。本研究比较干预前后两组 2 型糖尿病人群的体质量变化, 由表 2 可知, LBP(300mg/d)干预 3 个月 2 型糖尿病患者体质量、腰围、臀围等未见统计学差异。这可能与 LBP 干预的剂量和时间有关, 但也不排除是由于干预物种不同的原因引起。关于 LBP 的降压作用研究较少。有人曾报道 LBP(10%)能够抑制高血压大鼠的血压升高^[11]。但是本研究未观察到 LBP 对 2 型糖尿病患者的降压作用($P > 0.05$)。这可能与本实验的观察对象是 2 型糖尿病人群, 人群的平均血压值处于正常范围内, 因此 LBP 对血压的降压作用未表现出来。

2.4 LBP 对 2 型糖尿病人群血糖及细胞因子的作用

由表 3 可知, 采用配对 t 检验对干预前后的指标差值进行分析, 干预后两组的血糖、TNF- α 含量变化有统计学差异($P < 0.05$), 两组的瘦素、IL-6 和脂联素含量变化均无统计学差异。分别比较 LBP 组、安慰剂组干预前后的 TNF- α 差异, 发现干预前后 LBP 组的 TNF- α 含量变化无差异($t = 0.48$, $P > 0.05$), 而安慰剂组的 TNF- α 含量变化有统计学差异($t = -2.88$, $P < 0.01$)。干预前后

两组间 CRP 含量无统计学差异(干预前: $\chi^2 = -0.95$, $P > 0.05$; 干预后: $\chi^2 = -0.92$, $P > 0.05$), LBP 组干预前后的 CRP 含量也无统计学差异($\chi^2 = -0.67$, $P > 0.05$)。

LBP 对动物的降糖作用研究已经比较明确。研究表明^[4,12-13], LBP 能够显著降低糖尿病小鼠、大鼠的空腹血糖水平, 还能够通过 PKC 途径激活肾小球系膜细胞的细胞外信号调节激酶 1/2(ERK1/2), 保护糖尿病大鼠的肾脏^[14]; 抑制丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)的产生, 促使超氧化物歧化酶(SOD)的产生, 抑制非胰岛素依赖性糖尿病大鼠的氧化应激作用^[15]。本次研究同样观察到 LBP 对 2 型糖尿病人的降糖作用。LBP 对 2 型糖尿病人空腹血糖具有显著抑制作用, 验证了 LBP 对动物实验的结果。

LBP 对细胞因子的作用研究较少。非糖尿病动物或巨噬细胞实验表明, LBP 能够促进 IL-2 和 / 或 TNF- α 含量升高^[16-17], 或者通过 NF- κ B 和 AP-1 的激活诱导 TNF- α 含量增多^[18-19]或表达增强^[20], 从而发挥抗衰老、抗肿瘤等作用。而本研究中, 两组人群间 TNF- α 含量变化有统计学差异, 安慰剂组干预后的 TNF- α 含量升高, 而 LBP 组干预前后的 TNF- α 含量无差异。TNF- α 是脂肪细胞分泌的细胞因子之一。一方面 TNF- α 能够与 TNF- α 受体 TNFR-2 结合, 使胰岛素受体 b 亚单位酪氨酸残基和胰岛素受体底物 -1 磷酸化下降, 降低蛋白激酶的活

性; 另一方面 TNF- α 可以通过降低胰岛素受体的数目及其对胰岛素的亲和力, 抑制胰岛素信号传导以及胰岛素调节的葡萄糖摄取, 促使胰岛素抵抗(IR)的产生^[6]。因此 TNG- α 含量升高可以加剧 2 型糖尿病患者的 IR。本研究 LBP 干预 3 个月后, 安慰剂组 2 型糖尿病患者的血清 TNF- α 含量比 3 个月前有所升高, 而 LBP 组的 TNF- α 含量与干预前相比无统计学差异, 说明 LBP 可能能够通过抑制 TNF- α 的含量抑制 2 型糖尿病患者的 IR 进一步加剧。

3 结 论

LBP(300mg/d)干预 3 个月后 2 型糖尿病患者体质量、腰围、臀围以及血压等未见明显改变。LBP 能够降低 2 型糖尿病患者的空腹血糖, 并可能通过抑制 TNF- α 含量的升高, 从而缓解 2 型糖尿病患者的 IR 进一步加剧, 对于降低 2 型糖尿病患者的血糖、缓解病情具有一定作用。

参考文献:

- [1] BUCHELI P, VIDAL K, SHEN L, et al. Goji berry effects on macular characteristics and plasma antioxidant levels[J]. *Optometry & Vision Sci*, 2011, 88(2): 257-262.
- [2] 王瑞, 何伟, 张卫星, 等. 不同剂量中药单体复方对(60)Co- γ 致雄性小鼠生精功能障碍的治疗作用[J]. *中国男科学杂志*, 2010, 24(2): 23-27.
- [3] ZHANG Xiaorui, ZHOU Wenxia, ZHANG Yongxiang, et al. Macrophages, rather than T and B cells are principal immunostimulatory target cells of *Lycium barbarum* L. polysaccharide LBPF4-OL[J]. *J Ethnopharmacology*, 2011, 136(3): 465-472.
- [4] JING Longjun, YIN Libo. Antihyperglycemic activity of polysaccharide from *Lycium barbarum*[J]. *J Med Plants Res*, 2010, 4: 23-26.
- [5] MA Ming, LIU Guanghua, YU Zhanhai, et al. Effect of the *Lycium barbarum* polysaccharides administration on blood lipid metabolism and oxidative stress of mice fed high-fat diet *in vivo*[J]. *Food Chem*, 2009, 113(4): 872-877.
- [6] HUTLEY L, PRINS J B. Fat as an endocrine organ: relationship to the metabolic syndrome[J]. *Am J Med Sci*, 2005, 330(6): 280-289.
- [7] ZHAO Rui, LI Qingwang, BO Xiao. Effect of *Lycium barbarum* polysaccharide on the improvement of insulin resistance in NIDDM rats[J]. *Yakugaku Zasshi*, 2005, 125(12): 981-988.
- [8] ZHANG Min, CHEN Haixia, HUANG Jin, et al. Effect of *Lycium barbarum* polysaccharide on human hepatoma QGY7703 cells: inhibition of proliferation and induction of apoptosis[J]. *Life Sci*, 2005, 76(18): 2115-2124.
- [9] NIU Aijun, WU Jingmei, YU Dinghai, et al. Protective effect of *Lycium barbarum* polysaccharides on oxidative damage in skeletal muscle of exhaustive exercise rats[J]. *Int J Biol Macromol*, 2008, 42(5): 447-449.
- [10] 李宏辉, 刘秀芳, 杨惠芳, 等. 宁夏枸杞对束缚大鼠行为、体质量和肿瘤坏死因子- α 水平的影响[J]. *卫生研究*, 2007, 36(6): 743-745.
- [11] 贾月霞, 董建文, 吴秀香, 等. 枸杞多糖对肾性高血压大鼠离体血管反应性的影响及其机制[J]. *生理学报*, 1998, 50(3): 309-314.
- [12] ZHOU Zhengwei, JING Longjun, CUI Guowen, et al. Effects of polysaccharide from *Lycium barbarum* in alloxan-induced diabetic mice[J]. *Afr J Biotechnol*, 2009, 8(23): 6634-6637.
- [13] JING Longjun, CUI Guowen, FENG Qiang, et al. Evaluation of hypoglycemic activity of the polysaccharides extracted from *Lycium barbarum* [J]. *Afr J Tradit Complem*, 2009, 6(4): 579-584.
- [14] ZHAO Rui, LI Qingwang, LI Jian, et al. Protective effect of *Lycium barbarum* polysaccharide 4 on kidneys in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Can J Physiol Pharm*, 2009, 87(9): 711-719.
- [15] WU Hao, GUO Hongwei, ZHAO Rui. Effect of *Lycium barbarum* polysaccharide on the improvement of antioxidant ability and DNA damage in NIDDM rats[J]. *Yakugaku Zasshi*, 2006, 126(5): 365-371.
- [16] DENG Hongbin, CUI Dapeng, JIANG Jianming, et al. Inhibiting effects of *Achyranthes bidentata* polysaccharide and *Lycium barbarum* polysaccharide on nonenzyme glycation in D-galactose induced mouse aging model[J]. *Biomed Environ Sci*, 2003, 16(3): 267-275.
- [17] LI X M. Protective effect of *Lycium barbarum* polysaccharides on streptozotocin-induced oxidative stress in rats[J]. *Int J Biol Macromol*, 2007, 40(5): 461-465.
- [18] CHEN Zhisong, SOO M Y, SRINIVASAN N, et al. Activation of macrophages by polysaccharide-protein complex from *Lycium barbarum* Linnaeus[J]. *Phytother Res*, 2009, 23(8): 1116-1122.
- [19] GAN Lu, ZHANG Shenghua, LIU Qiong, et al. A polysaccharide-protein complex from *Lycium barbarum* upregulates cytokine expression in human peripheral blood mononuclear cells[J]. *Eur J Pharmacol*, 2003, 471(3): 217-222.
- [20] del AGUILA L F, CLAFFEY K P, KIRWAN J P. TNF- α impairs insulin signaling and insulin stimulation of glucose uptake in C2C12 muscle cells[J]. *Am J Physiol-Endoc M*, 1999, 276(5): E849-E855.