·实验研究·

燕麦 β–葡聚糖对糖尿病大鼠肾病干预作用及机制*

任锦丽[1,2], 张黎[1,2], 王思惟[1,2], 张召锋[1,2]

【摘　要】**目的**　探讨燕麦 β–葡聚糖对糖尿病大鼠肾病进展的干预作用及机制。**方法**　采用链脲佐菌素(65 mg/kg)一次性腹腔注射 + 单侧肾切除的方式构建糖尿病肾病大鼠模型, 造模成功后随机分为 4 组, 分别为模型组(蒸馏水), 和低、中、高剂量燕麦 β–葡聚糖组(0.275、0.550、1.100 g/kg), 每组 12 只; 同时另取 10 只大鼠行假手术并灌胃蒸馏水, 为对照组; 干预 8 周。采集血液和尿液, 检测尿素氮(BUN)、尿酸(UA)、血肌酐(CR)和血清炎症因子白细胞介素–6(IL-6)、血管内皮生长因子(VEGF)水平, 并取肾脏做病理组织检测。**结果**　与对照组比较, 模型组大鼠血清尿素氮、VEGF、IL-6 水平[分别为(14.80 ± 3.63)mmol/L、(312.54 ± 13.39)、(145.96 ± 5.67)ng/L]明显升高(P < 0.05); 与模型组比较, 燕麦 β–葡聚糖 0.275 g/kg 组大鼠血清尿素氮水平[(10.39 ± 2.04)mmol/L]明显下降, 燕麦 β–葡聚糖 0.550 g/kg 组大鼠血清 VEGF 及 IL-6 水平[分别为(269.94 ± 16.70)、(129.71 ± 6.48)ng/L]明显下降, 差异有统计学意义(P < 0.05); 与模型组比较, 燕麦 β–葡聚糖组大鼠肾脏组织结构损伤明显减轻。**结论**　燕麦 β–葡聚糖可有效改善糖尿病肾病大鼠肾功能, 延缓肾脏组织结构损伤, 其机制可能与下调炎症相关因子表达水平, 改善机体炎症状态有关。

【关键词】燕麦 β 葡聚糖; 糖尿病肾病(DN); 炎症; 血管内皮生长因子(VEGF); 白细胞介素-6(IL-6)
中图分类号:R 155.5+7　**文献标志码:**A　**文章编号:**1001-0580(2018)06-0819-04　**DOI:**10.11847/zgggws1117131

Intervention effect and mechanism of oat β-glucan on diabetic nephropathy in rats

REN Jin-li*, ZHANG Li, WANG Si-wei, et al (**Department of Nutrition and Food Hygiene*, *School of Public Health*, *Peking University*, *Beijing* 100191, China)

【**Abstract**】**Objective**　To explore intervention effect and mechanism of oat β-glucan (OG) on diabetic nephropathy (DN) in rats. **Methods**　Sprague-Dawley (SD) rat DN model was established with peritoneal injection of streptozotocin (65 mg/kg·bw) plus unilateral nephrectomy. Then the model rats were divided in to 4 groups (12 in each group) : a DN model group gavaged with distilled water and three OG groups gavaged with OG at dosages of 0.275, 0.55, and 1.1 g/kg.bw once a day for 8 consecutive weeks. Another 10 normal control rats were treated with distilled water and sham operation. By the end of the experiment, blood urea nitrogen (BUN) , uric acid (UA) , and creatinine (CR) and serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and interleukin-6 (IL-6) were measured; pathological changes of kidneys were also observed. **Results**　The BUN (14.80 ± 3.63 mmol/L), VEGF (312.54 ± 13.39 ng/L), and IL-6 (145.96 ± 5.67 ng/L) of the DN model rats were significantly higher than those of the normal control rats (P < 0.05 for all). Compared with those of the DN model rats, the BUN (10.39 ± 2.04 mmol/L) of the DN rats treated with 0.275 g/kg.bw OG decreased significantly; the VEGF (269.94 ± 16.70 ng/L) and IL-6 (129.71 ± 6.48 ng/L) of the DN rats treated with 0.550 g/kg.bw OG were reduced significantly (both P < 0.05). In addition, alleviated structure damage of kidney tissues were observed in all the DN rats treated with OG in contrast to the DN model rats. **Conclusion**　Oat β-glucan could effectively improve renal function and attenuate damages of kidney tissue by down-regulating inflammation-related factors in rats with diabetic nephropathy.

【**Key words**】oat β-glucan; diabetic nephropathy; inflammation; vascular endothelial growth factor; interleukin-6

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病最常见的并发症之一。临床上大约 30 % ~ 50 % 的 1 型糖尿病和 20 % ~ 40 % 的 2 型糖尿病伴有明显的 DN, 其中约 1/3 的患者会发展为终末期肾功能衰竭(end-stage renal disease, ESRD)[1 – 2], 给患者、家庭与社会带来严重的经济负担。研究显示, 炎症反应是 DN 发生和发展的关键因素。糖尿病患者机体糖代谢异常和血液动力学障碍等均可损伤肾脏固有细胞, 损伤的细胞释放炎症介质, 进一步导致肾小球硬化, 最终导致 DN 的发生和发展[3 – 4]。研究表明肠道菌群失调是 2 型糖尿病进展的重要机制之一[5], 菌群可以调节炎症诱导的代谢性疾病, 比如糖尿病[6], 因此改善肠道微生态环境可从源头上起到延缓 DN 进展的作用。β–葡聚糖是燕麦最主要的功能因

* **基金项目:**国家自然科学基金面上项目(81472970)
作者单位:1. 北京大学公共卫生学院营养与食品卫生学系, 北京 100191; 2. 北京市重点实验室食品安全毒理学研究与评价实验室
作者简介:任锦丽(1993 –)女, 山西人, 硕士在读, 研究方向: 营养与疾病。
通信作者:张召锋, E-mail: zhangzhaofeng@126.com
数字出版日期: 2018 - 05 - 02 14:41
数字出版地址: http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20180502.1440.002.html

子，可以作为益生元改善肠道菌群状态。本研究拟建立大鼠糖尿病肾病模型，探讨燕麦 β–葡聚糖（oat β-glucan, OG）对 DN 进展的延缓作用及机制。结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 70 只，体重（200 ± 20）g，由北京大学医学部实验动物中心提供，实验动物生产许可证号 SCXK（京）2016 – 0010，实验动物使用许可证号：SYXK（京）2016 – 0041。饲养于 SPF 级动物室，温度 20 ~ 26 ℃，相对湿度 40 % ~ 70 %，实验期间大鼠自由进食与饮水，基础饲料为 AIN-93M（American Institute of Nutrition-1993 Maintenance）配方，由美国营养学会提供。大鼠适应性喂养 1 周后开始实验，本项目经北京大学生物医学动物伦理委员会审查通过。

1.2 主要试剂与仪器 燕麦 β–葡聚糖（陕西森弗天然制品有限公司，纯度 70 %，HPLC 级。MS 352 型酶标仪（芬兰 Labsystems Multiskan 公司）；AC8 洗板机（芬兰 Thermo Labsystems 公司）；TG16W 微量高速离心机（湖南湘仪集团）；GNP-9080 型隔水式恒温培养箱（上海精宏公司）；AU480 全自动生化仪（日本奥林巴斯株式会社）。

1.3 糖尿病肾病模型建立与分组 选取 60 只大鼠行左侧肾切除术，术后一次性腹腔注射 65 mg/kg 链脲佐菌素（streptozotocin, STZ）（0.01 mol/L pH 4.5 柠檬酸钠 – 柠檬酸缓冲液配制）。尾静脉采血检测血糖水平，7 d 后空腹血糖 > 11.1 mmol/L 确定为糖尿病肾病模型造模成功。将建模成功大鼠按血糖及体重水平随机分为 4 组，每组 12 只，模型组（蒸馏水灌胃），低、中、高剂量燕麦 β–葡聚糖组（灌胃剂量分别为 0.275、0.550、1.100 g/kg）。另取 10 只 SD 大鼠行假手术（对照组），对照组大鼠蒸馏水灌胃。连续干预 8 周。股动脉采血后处死大鼠，迅速取出右侧肾脏，肝脏及肾周睾周脂肪并称重，冻透后转入 – 80 ℃ 冰箱中待测。

1.4 指标与方法

1.4.1 一般状况观察 观察大鼠毛色、尿量、排便情况，每周记录体重、进食量及血糖。

1.4.2 肾功能相关指标检测 采用全自动生化分析仪检测大鼠血清尿素氮（blood urea nitrogen, BUN）、尿酸（uric acid, UA）、肌酐（creatinine, CR）含量。

1.4.3 血清炎症因子检测 应用酶联免疫法，用纯化的大鼠血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor, VEGF）或白细胞介素 6（interleukin-6, IL-6）抗体包被微孔板，制成固相抗体，往包被单抗的微孔中依次加入 VEGF 或 IL-6，再与辣根过氧化物酶（horseradish peroxidase, HRP）标记的 VEGF 抗体结合，形成抗体–抗原–酶标抗体复合物，洗涤后加底物 3, 3′, 5, 5′–四甲基联苯胺（tetramethylbenzidine, TMB）显色。TMB 在 HRP 酶的催化下转化成蓝色，并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅与样品中因子的浓度呈正相关。用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度（A）值，通过标准曲线计算样品中 VEGF 或 IL-6 浓度。

1.4.4 肾脏病理学观察 以 10 % 多聚甲醛固定肾脏组织，将组织脱水、透明、浸蜡，包埋后切片，切片厚度为 4 μm，粘片后脱蜡苏木素染色，分化漂洗后脱水复染透明，中心树胶封片，苏木精–伊红（hematoxylin-eosin, HE）染色，用光镜（ × 400）观察组织形态。

1.5 统计分析 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析，采用单因素方差分析比较组间差异，$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 一般指标观察 实验期间可观察到糖尿病大鼠活跃度下降，毛色暗淡发黄，尿量明显增加，整个观察期间，模型组和燕麦 β–葡聚糖 0.275 g/kg 组大鼠分别死亡 5 只，0.550 和 1.100 g/kg 组大鼠分别死亡 4 只，对照组无死亡。与对照组比较，模型组大鼠进食量明显增加，差异有统计学意义（$P < 0.05$）。

2.2 燕麦 β–葡聚糖对大鼠血糖影响 对照组、模型组、燕麦 β–葡聚糖 0.275、0.550、1.100 g/kg 组大鼠血糖水平分别为（5.07 ± 0.31）、（25.32 ± 1.63）、（23.94 ± 1.48）、（23.98 ± 1.24）、（24.11 ± 2.71）mmol/L；与对照组比较，模型组大鼠血糖明显升高，差异有统计学意义（$P < 0.01$），表明糖尿病模型构建成功。与模型组比较，各剂量燕麦 β–葡聚糖组大鼠血糖无明显变化。

2.3 燕麦 β–葡聚糖对大鼠体重与脏体比影响（表 1）与对照组比较，模型组大鼠体重明显下降；与模型组比较，各剂量燕麦 β–葡聚糖组大鼠体重无明显变化。与对照组比较，模型组大鼠肾脏、肝脏系数均明显升高，睾周肾周脂肪系数明显下降，差异有统计学意义（$P < 0.01$）；与模型组比较，各剂量燕麦 β–葡聚糖组大鼠肾脏、肝脏、睾周肾周脂肪系数无明显变化。

2.4 燕麦 β–葡聚糖对大鼠肾功能影响（表 2）与对照组比较，模型组大鼠血清中尿素氮、尿酸水平明显升高，肌酐水平明显下降，差异有统计学意义（$P < 0.01$）；与模型组比较，燕麦 β–葡聚糖 0.275 g/kg 组大鼠血清中尿素氮水平明显下降，差异有统计学意义（$P < 0.01$）。

表 1　燕麦 β–葡聚糖对大鼠体重及脏体比影响（$\bar{x} \pm s$）

组别（g/kg）		n	体重（g）	肾脏（%）	脂肪（%）	肝脏（%）
对照组		10	487.30 ± 39.99	0.30 ± 0.04	2.61 ± 0.93	2.56 ± 0.23
模型组		7	236.60 ± 45.55[a]	0.94 ± 0.17[a]	0.09 ± 0.11[a]	4.84 ± 0.45[a]
燕麦 β–葡聚糖	0.275	7	232.80 ± 66.49	0.91 ± 0.09	0.25 ± 0.14	4.45 ± 0.24
	0.550	8	223.21 ± 48.06	0.88 ± 0.20	0.17 ± 0.19	4.56 ± 0.45
	1.100	8	238.70 ± 54.16	0.91 ± 0.07	0.24 ± 0.31	4.65 ± 0.51

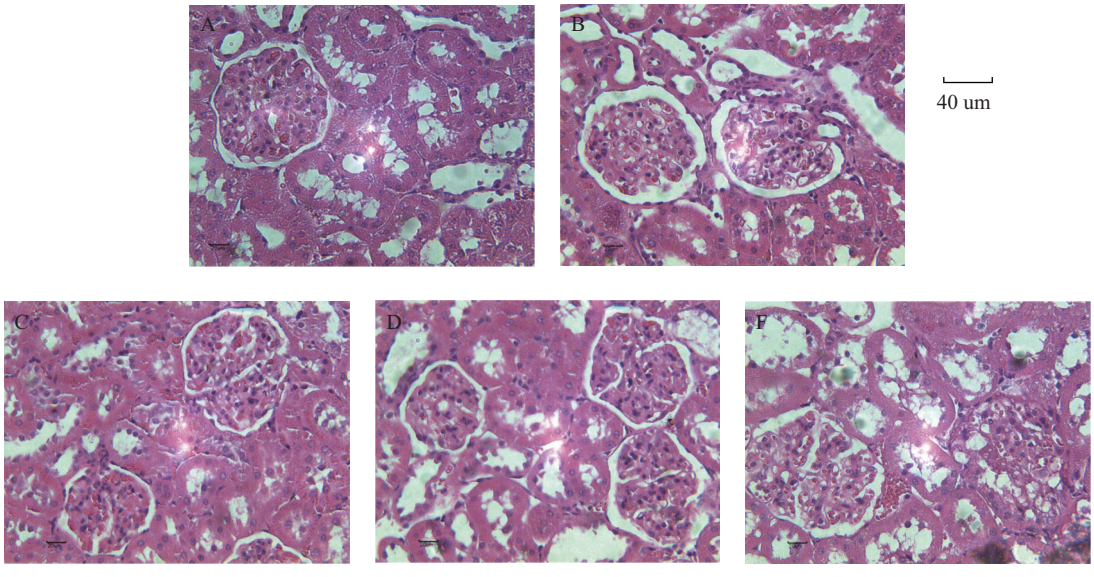
注：与对照组比较，a $P < 0.01$。

表 2　燕麦 β–葡聚糖对大鼠肾功能影响（$\bar{x} \pm s$）

组别（g/kg）		n	尿素氮（mmol/L）	尿酸（μmol/L）	肌酐（μmol/L）
对照组		10	6.90 ± 1.90	94.20 ± 23.60	33.90 ± 13.89
模型组		7	14.80 ± 3.63[a]	181.05 ± 47.87[a]	21.34 ± 11.46[a]
燕麦 β–葡聚糖	0.275	7	10.39 ± 2.04[b]	178.56 ± 22.51	17.95 ± 7.41
	0.550	8	12.29 ± 2.50	191.43 ± 146.91	15.71 ± 9.50
	1.100	8	14.45 ± 3.26	250.88 ± 137.29	20.80 ± 9.01

注：与对照组比较，a $P < 0.01$。与模型组比较，b $P < 0.01$。

2.5　燕麦 β–葡聚糖对大鼠肾脏结构影响（图 1）　对照组大鼠肾小球血管袢薄而清晰，内皮细胞和系膜细胞数目正常；系膜细胞及系膜基质未见增多，周围肾小管正常（图 1A）。模型组大鼠肾小球明显减小，肾小球细胞增生，散在肾小管上皮细胞肿胀变性、脱落，肾小球毛细血管基底膜弥漫性增厚，系膜区增宽，系膜区血管基质增多及系膜细胞增生，伴有间质散在灶性炎症分布和淋巴细胞浸润，肾小动脉内膜增生，管壁增厚，管腔狭窄，偶可见轻度玻璃样改变（图 1B）。燕麦 β–葡聚糖 0.275 g/kg 组大鼠肾小球主要由毛细血管组成，毛细血管通畅，球囊腔清晰可见；系膜细胞及系膜基质未见增多，间质未见明显的病理改变（图 1C）。燕麦 β–葡聚糖 0.550 g/kg 组大鼠肾小球明显减小，肾小球细胞增生，散在肾小管上皮细胞肿胀变性、脱落，肾小球毛细血管基底膜弥漫性增厚，系膜区增宽，肾小球系膜区血管基质增多及系膜细胞增生，伴有间质散在的灶性炎症分布和淋巴细胞浸润；肾小动脉内膜增生，管壁增厚，管腔狭窄，偶可见轻度玻璃样改变（图 1D）。燕麦 β–葡聚糖 1.100 g/kg 组大鼠肾小球明显减小，肾小球细胞增生，散在肾小管上皮细胞肿胀变性、脱落，肾小球毛细血管基底膜弥漫性增厚（图 1E）。



注：A：对照组；B：模型组；C、D、E：燕麦 β-葡聚糖 0.275、0.550、1.100 g/kg 组。

图 1　燕麦 β–葡聚糖对糖尿病大鼠肾脏组织病理学影响（HE，× 400）

2.6　燕麦 β–葡聚糖对大鼠血清炎症因子水平影响（表 3）　与对照组比较，模型组大鼠血清中炎症因子 VEGF、IL-6 水平明显升高，差异有统计学意义（$P < 0.01$）；与模型组比较，燕麦 β–葡聚糖 0.275、

0.550 g/kg 组大鼠血清中炎症因子 VEGF 水平下降、燕麦 β–葡聚糖 0.550 g/kg.组大鼠血清中 IL-6 水平明显下降，差异有统计学意义（$P < 0.05$）。

表 3 燕麦 β–葡聚糖对大鼠血清炎症因子水平影响（ng/L, $\bar{x} \pm s$, $n = 6$）

组别（g/kg）		VEGF	IL-6
对照组		279.93 ± 12.52	131.08 ± 3.49
模型组		312.54 ± 13.39[a]	145.96 ± 5.67[a]
燕麦 β–葡聚糖	0.275	302.66 ± 11.40[b]	140.70 ± 7.90
	0.550	269.94 ± 16.70[b]	129.71 ± 6.48[b]
	1.100	312.44 ± 15.91	148.99 ± 9.92

注：与对照组比较，a $P < 0.01$；与模型组比较，b $P < 0.05$。

3 讨 论

糖尿病肾病发病率高，病情转归差，社会及个人经济负担严重，早期防治或者从源头上减缓病情发展至关重要。人群糖尿病肾病进展周期长，且诊断后多半处于较严重阶段[7]。与其他干预糖尿病肾病的研究[8－9]相同，本研究同样采取 STZ 注射构建糖尿病模型方法，但出于实验时间考虑，本研究同时采取了单侧肾切除方式加重肾脏负担，有利于糖尿病肾病的加速进展。本研究结果显示，与对照组比较，模型组大鼠肾功能 3 项指标均明显异常，血糖明显升高，大鼠肾脏出现明显病理改变。提示，糖尿病肾病模型构建成功。

研究显示，燕麦 β 葡聚糖对于糖尿病具有改善作用，燕麦 β 葡聚糖能有效改善血糖但对于胰岛素敏感性结论不明[10]；1991 年队列研究[11]表明 IL-6 与 1 型糖尿病患者微量白蛋白尿相关，多因素分析显示，有 5 类炎性物质 2 个以上标记物升高患者，其早期肾功能逐渐下降的可能性是对照组 5 倍以上。研究指出燕麦 β 葡聚糖在结肠炎中具有抗炎作用，可以降低结肠炎大鼠肿瘤坏死因子–α（tumor necrosis factor-α, TNF-α），IL-6 表达[12]。本研究结果显示，与模型组比较，燕麦 β 葡聚糖组大鼠肾功能指标尿素氮、血清炎症因子 VEGF 和 IL-6 均明显降低，肾脏组织结构病理改变减轻。提示，燕麦 β–葡聚糖具有一定延缓糖尿病大鼠肾病进展作用，其机制可能与燕麦 β–葡聚糖降低炎症因子表达、降低炎症水平有关。研究表明燕麦 β 葡聚糖可有效改变小鼠肠道菌群[13]，可改变大鼠的肠道屏障作用[14]。燕麦 β–葡聚糖延缓糖尿病大鼠肾病进展作用是否还与肠道菌群功能相关？值得进一步深入研究。

参考文献

[1] Collins AJ, Foley RN, Chavers B, et al. United States Renal Data System 2011 Annual Data Report: atlas of chronic kidney disease and end-stage renal disease in the United States[J]. American Journal of Kidney Diseases the Official Journal of the National Kidney Foundation, 2012, 59(1 Suppl 1): A7, e1.

[2] Caramori ML, Fioretto P, Mauer M. Low glomerular filtration rate in normoalbuminuric type 1 diabetic patients: an indicator of more advanced glomerular lesions[J]. Diabetes, 2003, 52(4): 1036 – 1040.

[3] Mora C, Navarro JF. Inflammation and pathogenesis of diabetic nephropathy[J]. Metabolism, 2004, 53(2): 265 – 266.

[4] Tam FW, Riser BL, Meeran K, et al. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and connective tissue growth factor (CCN2) as prognostic markers for progression of diabetic nephropathy[J]. Cytokine, 2009, 47(1): 37 – 42.

[5] Qin J, Li Y, Cai Z, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes[J]. Nature, 2012, 490(7418): 55 – 60.

[6] Joyce SA,Gahan CG. The gut microbiota and the metabolic health of the host[J]. Gastroenterology, 2014, 30(2): 120 – 127.

[7] Sowers KM, Habibi J, Hayden MR. Diabetic nephropathy and tubulointerstitial fibrosis in cardiometabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus[J]. Journal of the Cardiometabolic Syndrome, 2010, 2(2): 143 – 148.

[8] Liu M, Zhang Y, Zhang H, et al. The anti-diabetic activity of oat β-d-glucan in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic mice[J]. Int J Biol Macromol, 2016, 91: 1170 – 1176.

[9] Bayrasheva VK, Babenko AY, Dobronravov VA, et al. Uninephrectomized high-fat-fed nicotinamide-streptozotocin-induced diabetic rats: a model for the investigation of diabetic nephropathy in type 2 diabetes[J]. Diabetes Res, 2016, 2016(6): 1 – 18.

[10] Malik S, Suchal K, Khan SI, et al. Apigenin ameliorates streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats via MAPK/NF-κB/TNF-α and TGF-β1/MAPK/Fibronectin pathways[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2017, 313(2): F414 – F422.

[11] Krolewski AS. Progressive renal decline: the new paradigm of diabetic nephropathy in type 1 diabetes[J]. Diabetes Care, 2015, 38(6): 954 – 962.

[12] Liu B, Lin Q, Yang T, et al. Oat beta-glucan ameliorates dextran sulfate sodium (DSS)-induced ulcerative colitis in mice[J]. Food Funct, 2015, 6(11): 3454 – 3463.

[13] 申瑞玲, 王章存, 姚惠源. 燕麦 β-葡聚糖对小鼠肠道菌群的影响[J]. 食品科学, 2005, 26(02): 208 – 212.

[14] 刘灿, 姜燕飞, 张召锋,等. 燕麦 β-葡聚糖对 2 型糖尿病大鼠肠黏膜屏障的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(11): 167 – 173.

收稿日期: 2017 - 10 - 17 （解学魁编校）