

• 实验研究 •

基于 HGF/c-Met 通路探究矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷改善高糖高脂诱导胰岛 β 细胞损伤的机制

马存花, 高静*

新疆医科大学第五附属医院 内分泌科, 新疆 乌鲁木齐 830000

摘要: **目的** 探究矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷对高糖高脂诱导的胰岛 β 细胞损伤的影响及机制。**方法** 使用不同浓度 (10、20、30、40、50 $\mu\text{mol/L}$) 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷处理胰岛 β 细胞, CCK-8 法检测细胞活力; 将胰岛 β 细胞分为对照组、模型组及矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 10、50 $\mu\text{mol/L}$ 组, CCK-8 法检测各组细胞活力, 酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定各组细胞胰岛素分泌量, DCFH-DA 荧光探针法检测各处理组细胞活性氧 (ROS) 水平, 比色法检测各处理组细胞超氧化物歧化酶 (SOD) 活性与丙二醛 (MDA) 含量, 蛋白质免疫印迹 (Western blotting) 法检测各处理组细胞肝细胞生长因子 (HGF) /间质表皮转化因子受体 (c-Met) 通路相关蛋白表达水平。使用 c-Met 抑制剂 SU11274 进行干预, 实验将胰岛 β 细胞分为对照组、模型组、矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷组、矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷+SU11274 组, 再通过 CCK-8 法检测各处理组细胞活力, ELISA 法测定各组细胞胰岛素分泌量。**结果** 与对照组比较, 不同浓度矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷作用均显著提高了胰岛 β 细胞活力 ($P<0.05$)。与模型组比较, 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 10、50 $\mu\text{mol/L}$ 组的细胞活力显著升高, 胰岛素分泌水平显著增加, 细胞内 ROS 水平和 MDA 含量显著降低, SOD 活性显著升高, HGF、p-c-Met/c-Met 蛋白水平显著上调 ($P<0.05$), 且矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 50 $\mu\text{mol/L}$ 组改善更显著 ($P<0.05$)。使用 c-Met 抑制剂 SU11274 干预后, 与矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷组比较, 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷+SU11274 组细胞活力则显著降低, 胰岛素分泌水平显著减少 ($P<0.05$)。**结论** 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷能够提高高糖高脂诱导下胰岛 β 细胞的活力, 增加其胰岛素分泌量, 并抑制氧化应激损伤, 该作用与激活 HGF/c-Met 通路有关。

关键词: 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷; 高糖高脂; 胰岛 β 细胞; 肝细胞生长因子; 细胞间质表皮转化因子受体

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2024)01-0001-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.01.001

Mechanism of cyanidin-3-*O*-glucoside on high glucose and high fat-induced islet β cell damage based on HGF/c-Met pathway

MA Cunhua, GAO Jing

Department of Endocrinology, the Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China

Abstract: Objective To investigate the effects of cyanidin-3-*O*-glucoside on the damage of pancreatic islet β cells induced by high glucose and high fat and its mechanism. **Methods** Islet β cells were treated with different concentrations (10, 20, 30, 40, and 50 $\mu\text{mol/L}$) of cyanidin-3-*O*-glucoside, and cell viability was detected by CCK-8 method. The experiment was divided into control group, model group, cyanidin-3-*O*-glucoside 10 and 50 $\mu\text{mol/L}$ group, the cell viability of each group was detected by CCK-8 method, the insulin secretion of each group was determined by ELISA method, the level of ROS was detected by DCFH-DA fluorescent probe, the SOD and MDA were detected by colorimetry, the expression levels of HGF/c-Met pathway related proteins were detected by Western blotting. In the pathway study, c-Met inhibitor SU11274 was used to intervene, and the experiment was divided into control group, model group, cyanidin-3-*O*-glucoside group, and cyanidin-3-*O*-glucoside + SU11274 group, the cell vitality of each group was detected by CCK-8 method, and the insulin secretion of cells in each group was determined by ELISA method. **Results** Compared with control

收稿日期: 2023-10-10

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目 (2022D01C221)

作者简介: 马存花, 女, 硕士研究生, 研究方向为糖尿病诊疗。E-mail: wy1350731@163.com

*通信作者: 高静, 女, 主任医师, 硕士生导师, 研究方向为糖尿病及并发症诊疗。

group, different concentrations of cyanidin-3-*O*-glucoside significantly increased the activity of pancreatic β cells ($P < 0.05$). Compared with model group, the cell viability of cyanidin-3-*O*-glucoside 10 and 50 $\mu\text{mol/L}$ group were significantly increased, and the level of insulin secretion was significantly increased, ROS level and MDA content were significantly decreased, SOD activity was significantly increased, HGF and p-c-Met/c-Met protein levels were significantly up-regulated ($P < 0.05$), and the effect of cyanidin-3-*O*-glucoside 50 $\mu\text{mol/L}$ group was better than that of cyanidin-3-*O*-glucoside 10 $\mu\text{mol/L}$ group ($P < 0.05$). After the intervention with c-Met inhibitor SU11274, compared with cyanidin-3-*O*-glucoside group, the cell viability and insulin secretion levels in cyanidin-3-*O*-glucoside + SU11274 group were significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Cyanidin-3-*O*-glucoside can enhance the activity of pancreatic β cells induced by high glucose and high fat, increase insulin secretion and inhibit oxidative stress damage, which is related to the activation of HGF/c-Met pathway.

Key words: cyanidin-3-*O*-glucoside; high glucose and high fat; islet β cells; HGF; c-Met

随着社会经济的发展、生活方式的改变和人口老龄化, 糖尿病的患病率不断上升, 现已成为全球大多数国家亟待解决的健康问题。近年来, 我国 2 型糖尿病患病率迅速上升, 现已成为我国重要的公共卫生问题^[1]。此外, 越来越多的糖尿病患者出现严重并发症, 如糖尿病视网膜病变、糖尿病肾病、糖尿病心肌病等, 无疑给患者和社会带来了沉重负担^[2-4]。胰岛 β 细胞的胰岛素分泌水平是维持机体内葡萄糖稳态的关键环节之一, 当遗传因素和环境因素损害胰岛 β 细胞导致胰岛素分泌遭到破坏时, 便会引发代谢性疾病糖尿病的发生^[5]。因此, 保护胰岛 β 细胞免受损伤以维持其正常功能是防治糖尿病的有效手段。

矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷是类黄酮家族中最丰富的花青素之一, 广泛分布于紫色、红色蔬菜和水果中, 具有抗癌、抗炎、抗氧化应激等作用^[6-7]。目前, 已在人类和实验动物中证实花青素可以降低胰岛素抵抗, 促进对葡萄糖的吸收和利用, 在预防和治疗 2 型糖尿病中起着重要作用^[8]。还有研究报道指出, 在胰岛淀粉样蛋白、 β -淀粉样蛋白 1-42 ($A\beta_{1-42}$)、雷帕霉素刺激下, 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷能够发挥抗氧化和抗炎症作用从而提高胰岛 β 细胞活力, 维持其正常功能^[9]。

肝细胞生长因子 (HGF) 是一种含肽的多功能细胞因子, 能调节细胞增殖、存活、分化、形态以及受损组织的组织再生, 通过与其特异性受体间质上皮转化因子 (c-Met) 结合, 将信号传递到细胞中并触发 c-Met 的内在激酶活性, 发挥相关作用。以往研究表明, HGF/c-Met 信号传导对于胰岛 β 细胞的增殖至关重要, 激活该途径可以增强胰岛 β 细胞的再生能力^[10]。基于此, 本研究采用葡萄糖与棕榈酸模拟高糖高脂环境诱导胰岛 β 细胞损伤, 观察矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷对葡萄糖 + 棕榈酸钠

(HGHF) 诱导的胰岛 β 细胞损伤的影响并探究可能的作用机制, 为矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷防治糖尿病提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

INS-1 胰岛 β 细胞 (中国科学院细胞库, 批号 SCSP-5061), 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 (质量分数 $\geq 98\%$, 北京康瑞纳生物科技有限公司, 批号 LB1573), c-Met 抑制剂 SU11274 (北京百奥莱博科技有限公司, 批号 M01028), 胎牛血清 (南京森贝伽生物公司, 批号 BC-SE-FBS01), RPMI-1640 培养液 (美国 ScienCell 公司, 批号 09511), 胰蛋白酶 (美国 Hyclone 公司, 批号 SH30042), 葡萄糖与棕榈酸 (美国 Sigma 公司, 批号 G8270、P5585), CCK-8 试剂盒 (上海优利科生命科学有限公司, 批号 Y1026S), DCFH-DA 活性氧 (ROS) 荧光探针 (西安百萤生物科技有限公司, 批号 BY15204), 超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 试剂盒 (武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司, 批号 E-EL-H6188、E-EL-K027), 酶联免疫吸附法 (ELISA) 胰岛素检测试剂盒 (上海远慕生物科技有限公司, 批号 YM-PF0588), 蛋白裂解液 (上海雅吉生物科技有限公司, 批号 3222), 二辛可宁酸 (BCA) 蛋白定量试剂盒 (北京天根生化科技有限公司, 批号 PA115-01), 聚偏二氟乙烯膜 (PVDF) 和 ECL 化学发光液 (上海碧云天生物研究所, 批号 FFP39、P0018M), HGF、磷酸化的间质表皮转化因子受体 (p-c-Met)、c-Met、 β -肌动蛋白 (β -actin) 抗体及辣根过氧化物酶标记的 IgG 抗体 (英国 Abcam 公司, 批号分别为 ab178395、ab278552、ab68141、ab179467、ab205718)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 使用含 10% 胎牛血清和 1% 青链

霉素双抗的 RPMI-1640 培养液培养胰岛 β 细胞, 将培养体系放于 37 °C、5% CO₂ 恒温箱内, 每隔 1 d 换液 1 次, 进行常规传代培养, 取对数生长期的细胞进行实验。

1.2.2 CCK-8 法检测细胞活力 将胰岛 β 细胞按照每孔 5×10^3 个的密度接种于 96 孔板, 在 37 °C、5% CO₂ 恒温箱过夜培养至贴壁后, 换用含 10、20、30、40、50 $\mu\text{mol/L}$ 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷的培养液处理 24 h, 对照组为不含矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷的常规培养液培养的胰岛 β 细胞, CCK-8 法检测不同处理下的细胞活力, 多功能酶标仪测定 490 nm 处每孔的吸光度 (A), 分别计算各处理组的细胞活力。

$$\text{细胞活力} = (A_{\text{处理}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

1.2.3 实验分组与处理 将胰岛 β 细胞以每孔 2×10^5 个的密度接种于 6 孔板中, 分为 4 组进行实验, 具体分组与处理如下: 对照组使用常规培养液培养胰岛 β 细胞 24 h; 模型组参考文献报道^[11], 使用含 25 mmol/L 葡萄糖与 0.5 mmol/L 棕榈酸的培养液培养胰岛 β 细胞 24 h, 诱导细胞损伤; 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 10、50 $\mu\text{mol/L}$ 组在模型组基础上分别使用含 10、50 $\mu\text{mol/L}$ 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷的培养液培养胰岛 β 细胞 24 h。处理结束后收集细胞, CCK-8 法检测各处理组细胞活力。

1.2.4 ELISA 法测定胰岛素分泌量 为通过检测胰岛素分泌量变化来判断胰岛 β 细胞功能是否正常, 将分组处理后的胰岛 β 细胞收集至离心管, 1 000 r/min 离心 20 min, 弃上清, PBS 洗涤, 分别添加含 2.8、16.7 mmol/L 葡萄糖的 KRBH 缓冲液 (无 BSA, 无糖), 在 37 °C、5% CO₂ 恒温箱孵育 1 h, 离心后收集上清, 采用 ELISA 法测定上清液中胰岛素分泌量, 严格按照说明书操作。

1.2.5 DCFH-DA 荧光探针法检测细胞内的 ROS 水平 将胰岛 β 细胞按照每孔 1×10^5 个的密度植入 6 孔板中, 按分组进行对应处理后, 去除上清, 在细胞孔中添加含 1 $\mu\text{mol/L}$ DCFH-DA 荧光探针的培养液, 在 37 °C、5% CO₂ 恒温箱内避光孵育 30 min, 结束后, PBS 洗涤细胞, 采集荧光图像, 使用 Image J 软件分析各组的荧光强度, 以荧光强度表示细胞内 ROS 水平。

1.2.6 SOD 活性和 MDA 含量检测 胰岛 β 细胞分组处理后, 4 000 r/min 离心 10 min, 弃上清, 在沉淀中加入蛋白裂解液提取总蛋白, 采用比色法检测 SOD 活性与 MDA 含量, 严格根据试剂盒说明书进

行测定。

1.2.7 Western blotting 法检测相关蛋白表达 在各处理组胰岛 β 细胞中加入适量蛋白裂解液, 置于冰上充分裂解细胞, 提取总蛋白, BCA 法对蛋白浓度进行定量。各样本均取 30 μg 蛋白上样至凝胶孔, 10% SDS-PAGE 电泳分离蛋白, 并电转至 PVDF 膜, 再将膜浸入脱脂奶粉中封闭 2 h, TBST 洗膜, 加入 HGF、p-c-Met、c-Met 抗体 (1 : 1 000), 4 °C 摇床孵育过夜, 取膜复温, TBST 洗膜, 加入二抗 (1 : 5 000) 室温孵育 2 h。结束后, ECL 化学发光液显影, 采集蛋白条带, 使用 Image J 软件分析条带灰度值, 选择 β -actin 作为内参蛋白, 以目的蛋白灰度值与内参蛋白灰度值的比值来统计目的蛋白相对表达量。

1.2.8 c-Met 抑制剂 SU11274 干预细胞 将胰岛 β 细胞分为对照组、模型组、矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷组、矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 + SU11274 组进行实验, 按照每孔 2×10^5 个的密度接种于 6 孔板中, 进行对应处理, 具体如下: 对照组使用常规培养液培养胰岛 β 细胞 24 h; 模型组使用含 25 mmol/L 葡萄糖与 0.5 mmol/L 棕榈酸的培养液培养胰岛 β 细胞 24 h; 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷组使用含 50 $\mu\text{mol/L}$ 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷的培养液培养胰岛 β 细胞 24 h; 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 + SU11274 组使用含 50 $\mu\text{mol/L}$ 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷的培养液培养胰岛 β 细胞, 并加入 5 $\mu\text{mol/L}$ SU11274 共作用 24 h。结束后, 收集各组细胞, CCK-8 法检测细胞活力, 按 1.2.4 项下 ELISA 法测定上清液中胰岛素分泌量。

1.3 统计学分析

实验数据用 GraphPad Prism 8.0.1 软件进行统计分析, 制作统计图。实验结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组数据差异比较和组间两两比较分别采用单因素方差分析与 LSD-*t* 检验。

2 结果

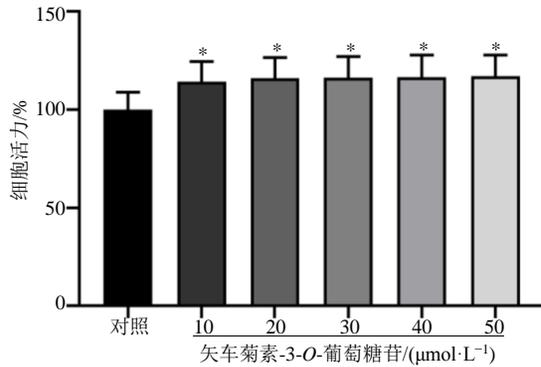
2.1 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷对胰岛 β 细胞活力的影响

结果显示, 相较于对照组, 10、20、30、40、50 $\mu\text{mol/L}$ 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷均显著提高了胰岛 β 细胞活力 ($P < 0.05$), 见图 1。

2.2 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷对 HGHF 诱导下的胰岛 β 细胞活力的影响

结果显示, 与模型组比较, 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 10、50 $\mu\text{mol/L}$ 组细胞活力显著升高 ($P < 0.05$),

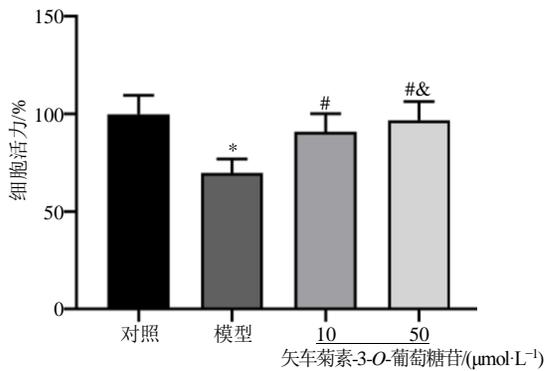
且矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 50 μmol/L 组细胞活力升高更为显著 ($P < 0.05$), 见图 2。



与对照组比较: * $P < 0.05$ 。
* $P < 0.05$ vs control group.

图 1 不同浓度矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷处理下胰岛 β 细胞活力比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1 Comparison of islet β cell activity under different concentrations of cyanidin-3-*O*-glucoside ($\bar{x} \pm s, n = 6$)



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 10 μmol·L⁻¹ 组比较: & $P < 0.05$ 。
* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; & $P < 0.05$ vs cyanidin-3-*O*-glucoside 10 μmol·L⁻¹ group.

图 2 各处理组胰岛 β 细胞活力比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 Comparison of islet beta cell activity among treatment groups ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表 2 各组胰岛 β 细胞氧化应激相关指标比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Comparison of oxidative stress-related indexes in islet β cells of each group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(μmol·L ⁻¹)	ROS/AU	SOD/(U·mg ⁻¹)	MDA/(nmol·mg ⁻¹)
对照	—	0.27 ± 0.03	98.94 ± 9.76	1.24 ± 0.13
模型	—	0.95 ± 0.09*	70.56 ± 7.07*	3.80 ± 0.36*
矢车菊素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	10	0.46 ± 0.05#	79.59 ± 7.84#	2.45 ± 0.22#
	50	0.29 ± 0.03#&	89.92 ± 8.91#&	1.61 ± 0.15#&

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 10 μmol·L⁻¹ 组比较: & $P < 0.05$ 。
* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; & $P < 0.05$ vs cyanidin-3-*O*-glucoside 10 μmol·L⁻¹ group.

2.3 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷对 HGHF 诱导下的胰岛 β 细胞胰岛素分泌水平的影响

在 2.8、16.7 mmol/L 葡萄糖刺激下, 与对照组相比, 模型组胰岛素分泌水平显著降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 10、50 μmol/L 组胰岛素分泌水平均显著增加 ($P < 0.05$), 且矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 50 μmol/L 组胰岛素分泌水平升高更为显著 ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 各组胰岛 β 细胞分泌胰岛素水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Comparison of insulin secreted by islet β cells among groups ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(μmol·L ⁻¹)	胰岛素/(mIU·L ⁻¹)	
		2.8 mmol·L ⁻¹ 葡萄糖	16.7 mmol·L ⁻¹ 葡萄糖
对照	—	14.03 ± 1.39	23.45 ± 2.29
模型	—	8.16 ± 0.80*	14.98 ± 1.45*
矢车菊素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	10	11.07 ± 1.05#	18.63 ± 1.57#
	50	12.82 ± 1.14#&	21.46 ± 2.15#&

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 10 μmol·L⁻¹ 组比较: & $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; & $P < 0.05$ vs cyanidin-3-*O*-glucoside 10 μmol·L⁻¹ group.

2.4 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷对 HGHF 诱导下的胰岛 β 细胞氧化损伤的影响

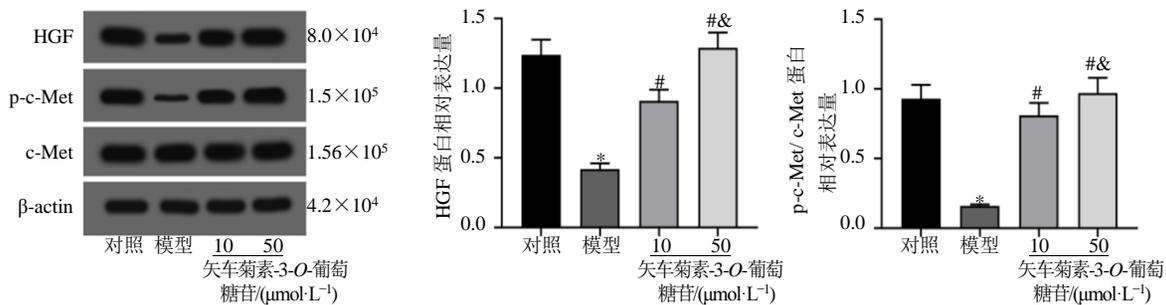
与模型组比较, 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 10、50 μmol/L 组细胞内 ROS 水平、MDA 含量显著降低, SOD 活性显著升高 ($P < 0.05$)。与矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 10 μmol/L 组比较, 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 50 μmol/L 组细胞内 ROS 水平、MDA 含量显著降低, SOD 活性也显著升高 ($P < 0.05$), 见表 2。

2.5 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷对 HGHF 诱导下的胰岛 β 细胞中 HGF/c-Met 信号通路的影响

Western blotting 结果显示, 与模型组比较, 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 10、50 μmol/L 组细胞中 HGF、p-c-Met/c-Met 蛋白水平显著上调 ($P < 0.05$); 与矢

车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 10 $\mu\text{mol/L}$ 组比较, 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 50 $\mu\text{mol/L}$ 组细胞中的 HGF、p-c-

Met/c-Met 蛋白表达水平也要显著升高 ($P < 0.05$), 见图 3。



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较: & $P < 0.05$ 。

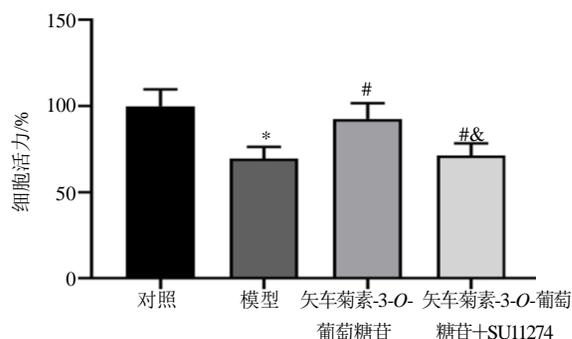
* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; & $P < 0.05$ vs cyanidin-3-*O*-glucoside 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group.

图 3 各组胰岛 β 细胞中 HGF 和 p-c-Met/c-Met 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 3 Comparison of HGF and p-c-Met/c-Met protein expression levels in islet β cells of different groups ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

2.6 c-Met 抑制剂 SU11274 作用下对矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷改善 HGF 诱导下胰岛 β 细胞损伤效果的影响

结果显示, 与模型组比较, 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷组细胞活力显著升高 ($P < 0.05$); 与矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷组比较, 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 + SU11274 组细胞活力显著降低 ($P < 0.05$), 见图 4。



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较: & $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; & $P < 0.05$ vs cyanidin-3-*O*-glucoside 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group.

图 4 各组胰岛 β 细胞活力比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 4 Comparison of islet β cell activity among treatment groups ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

胰岛 β 细胞分泌胰岛素水平结果显示, 经过 2.8、16.7 mmol/L 葡萄糖刺激下, 与模型组比较, 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷组胰岛素分泌水平均显著增加 ($P < 0.05$); 而与矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷组比较, 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 + SU11274 组胰岛素分泌水平显著减少 ($P < 0.05$), 见表 3。

3 讨论

糖尿病作为一种慢性疾病, 是全球十大死因之一, 发病率呈逐年上升趋势, 对人类健康造成了严重威胁^[12]。胰岛 β 细胞功能障碍和/或胰岛 β 细胞丢失引起的胰岛素分泌不足是引发糖尿病的关键原因。胰岛 β 细胞功能障碍或死亡可能由多种代谢紊乱引发, 如糖毒性、脂毒性、氧化反应等^[13-14]。研究表明, 高糖高脂环境极易诱发胰岛 β 细胞死亡, 引起血糖水平增高, 形成恶性循环, 促进了疾病进展^[15]。因此, 保护胰岛 β 细胞免受高糖高脂环境诱导的损伤是延缓糖尿病进程的关键。本研究结果显示, 经过在葡萄糖与棕榈酸建立的高糖高脂环境中培养胰岛 β 细胞后, 细胞活力显著降低, 通过 2.8、16.7 mmol/L 葡萄糖刺激后, 胰岛 β 细胞分泌胰岛素的水平也显著减少。由此说明, 在葡萄糖与棕榈酸诱导下胰岛 β 细胞发生了糖脂毒性损伤。

近年来, 越来越多的研究揭示了矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷对人体健康的益处, 如矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷通过抑制 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 通路阻断肿瘤细胞及其微环境中的自噬水平, 在体内表现出抗肿瘤作用^[16]; 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷能够修复破损肠黏膜和调节肠道菌群, 改善肠道疾病与保持肠道稳态, 起到肠道保护作用^[17]; 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷能够减少心肌缺血再灌注损伤中心肌梗死面积, 减轻组织病理改变, 减弱氧化应激反应, 其可能是保护心肌免受缺血再灌注损伤的潜在药物^[18]。此外, 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷对糖尿病及其并发症产生积极作用。Ye 等^[19]研究发现, 矢车菊素-3-*O*-

表 3 各组胰岛 β 细胞分泌胰岛素水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
 Table 3 Comparison of insulin secreted by islet β cells among groups ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	胰岛素/($\text{mIU}\cdot\text{L}^{-1}$)	
		2.8 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖	16.7 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖
对照	—	14.10 ± 1.37	24.03 ± 2.36
模型	—	8.08 ± 0.76*	14.76 ± 1.41*
矢车菊素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	50	12.69 ± 1.13#	21.75 ± 2.06#
矢车菊素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷+SU11274	50+5	8.12 ± 0.80#&	16.43 ± 1.57#&

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷组比较: & $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; & $P < 0.05$ vs cyanidin-3-*O*-glucoside group.

葡萄糖苷能够抑制高浓度高葡萄糖和棕榈酸诱导胰岛 β 细胞的氧化损伤, 并缓解糖尿病 db/db 小鼠胰岛氧化应激; Bartel 等^[20]研究表明, 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷参与缓解炎症、降低血糖以及与 2 型糖尿病发展相关的基因表达, 有助于预防与减轻 2 型糖尿病的发生发展; Anfusio 等^[21]研究指出矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷能提高高浓度葡萄糖刺激下人视网膜内皮细胞的活力, 降低细胞内 ROS 水平, 防治血液-视网膜屏障破坏, 有效地保护视网膜内皮细胞免受高葡萄糖损伤。本研究结果显示, 相较于单独在高糖高脂环境下培养的胰岛 β 细胞, 在高糖高脂环境中同时加入 10、50 $\mu\text{mol/L}$ 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷培养胰岛 β 细胞后, 细胞活力显著升高, 2.8、16.7 mmol/L 葡萄糖刺激下的胰岛素分泌水平也显著增加, 细胞内 ROS 水平、MDA 含量显著降低且 SOD 活性显著升高。由此说明, 在高糖高脂环境下, 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷能够提高胰岛 β 细胞活力, 改善其胰岛素分泌功能, 抑制氧化应激反应。

与其他生长因子及其受体不同, HGF 作为独特的配体与 c-Met 结合, 诱导 c-Met 的聚集和磷酸化, 随后导致适配器分子与其结合并介导下游信号的传输。HGF/c-Met 信号通路的生物学功能广泛而多样, 对于肝脏损伤修复、肝纤维化、肝移植后再生具有重要的临床意义^[22], 激活该通路也能够促进子宫内膜损伤的修复作用^[23]。先前已有研究表明, 在高糖刺激下, 缺失了 c-Met 的胰岛 INS-1 细胞表现为胰岛素分泌不足^[24], 提示 HGF/c-Met 信号通路对于维持正常的胰岛分泌功能至关重要。本研究检测发现, 在高糖高脂环境中培养的胰岛 β 细胞中 HGF、p-c-Met/c-Met 蛋白水平显著下调; 而加入 10、50 $\mu\text{mol/L}$ 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷培养的胰岛 β 细胞中检测到 HGF、p-c-Met/c-Met 蛋白水平显著上调。因此推测, HGF/c-Met 信号通路可能参与胰岛 β 细胞的糖脂毒性损伤。为了进一步验证该结论, 在高

糖高脂环境联合矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷培养的体系中加入 c-Met 抑制剂 SU11274 处理胰岛 β 细胞后, 检测到细胞活力显著下降, 且胰岛素分泌水平显著减少。以上结果表明, 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷对 HGF 诱导的胰岛 β 细胞损伤的保护效应与激活 HGF/c-Met 通路有关。

综上所述, 本研究表明矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷能够提高高糖高脂诱导下的胰岛 β 细胞活力, 改善胰岛素分泌功能, 抑制氧化应激损伤反应, 该作用与其激活 HGF/c-Met 通路有关。本研究为糖尿病的治疗提供新的切入点, 并为探究矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷的抗糖脂毒性作用提供实验依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Hu C, Jia W. Diabetes in China: Epidemiology and genetic risk factors and their clinical utility in personalized medication [J]. *Diabetes*, 2018, 67(1): 3-11.
- [2] 林婧格, 白洁. 血糖变异性对糖尿病慢性并发症影响及机制的研究进展 [J]. *中国糖尿病杂志*, 2023, 31(7): 547-550.
- [3] 安琪, 杨宇峰, 石岩. 糖尿病肾脏病竞争性内源 RNA 网络构建及潜在中药预测研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(2): 620-630.
- [4] Bai Y H, Shi D X, Lu H Y, et al. Hypoglycemic effects of Tibetan medicine Huidouba in STZ-induced diabetic mice and db/db mice [J]. *Chin Herb Med*, 2021, 13(2): 202-209.
- [5] Rubio-Navarro A, Gómez-Banoy N, Stoll L, et al. A beta cell subset with enhanced insulin secretion and glucose metabolism is reduced in type 2 diabetes [J]. *Nat Cell Biol*, 2023, 25(4): 565-578.
- [6] Jia Y, Wu C, Rivera-Piza A, et al. Mechanism of action of cyanidin 3-*O*-glucoside in gluconeogenesis and oxidative stress-induced cancer cell senescence [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(4): 749.
- [7] Cheng Z, Si X, Tan H, et al. Cyanidin-3-*O*-glucoside and

- its phenolic metabolites ameliorate intestinal diseases via modulating intestinal mucosal immune system: Potential mechanisms and therapeutic strategies [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2023, 63(11): 1629-1647.
- [8] Róžańska D, Regulska-Ilow B. The significance of anthocyanins in the prevention and treatment of type 2 diabetes [J]. *Adv Clin Exp Med*, 2018, 27(1): 135-142.
- [9] Kalt W, Cassidy A, Howard L R, *et al.* Recent research on the health benefits of blueberries and their anthocyanins [J]. *Adv Nutr*, 2020, 11(2): 224-236.
- [10] Alvarez-Perez J C, Ernst S, Demirci C, *et al.* Hepatocyte growth factor/c-Met signaling is required for β -cell regeneration [J]. *Diabetes*, 2014, 63(1): 216-223.
- [11] Cuenco J, Dalmás E. Islet inflammation and β cell dysfunction in type 2 diabetes [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2022, 274: 227-251.
- [12] 李丛宇, 曹世杰, 邱峰, 等. 常见甘味中药抗糖尿病作用机制研究进展 [J]. *中草药*, 2022, 53(11): 3531-3537.
- [13] 张癸之, 祖丽胡马·热合曼, 董怀洋. 高糖高脂环境下尿石素 A 对 MIN6 胰岛 β 细胞形态活力影响及分子机制初探 [J]. *新疆医科大学学报*, 2022, 45(6): 660-665.
- [14] 玉斯日古楞, 白兆星, 吴贞思, 等. AA-CYP 表氧化酶代谢产物对胰岛 β 细胞增殖和细胞周期的影响 [J]. *中国兽医杂志*, 2022, 58(11): 59-64.
- [15] 闫百仪, 姚丽华. 糖脂毒性对胰岛 β 细胞功能损伤的研究进展 [J]. *江西科技师范大学学报*, 2022(6): 71-74.
- [16] Wei T, Ji X, Xue J, *et al.* Cyanidin-3-*O*-glucoside represses tumor growth and invasion *in vivo* by suppressing autophagy via inhibition of the JNK signaling pathways [J]. *Food Funct*, 2021, 12(1):387-396.
- [17] Cheng Z, Si X, Tan H, *et al.* Cyanidin-3-*O*-glucoside and its phenolic metabolites ameliorate intestinal diseases via modulating intestinal mucosal immune system: Potential mechanisms and therapeutic strategies [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2023, 63(11): 1629-1647.
- [18] Shan X, Lv Z Y, Yin M J, *et al.* The protective effect of cyanidin-3-glucoside on myocardial ischemia-reperfusion injury through ferroptosis [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 8880141.
- [19] Ye X, Chen W, Tu P, *et al.* Food-derived cyanidin-3-*O*-glucoside alleviates oxidative stress: Evidence from the islet cell line and diabetic db/db mice [J]. *Food Funct*, 2021, 12(22): 11599-11610.
- [20] Bartel I, Koszarska M, Strzałkowska N, *et al.* Cyanidin-3-*O*-glucoside as a nutrigenomic factor in type 2 diabetes and its prominent impact on health [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(11): 9765.
- [21] Anfuso C D, Giurdanella G, Longo A, *et al.* Antioxidant activity of cyanidin-3-*O*-glucoside and verbascoside in an *in vitro* model of diabetic retinopathy [J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2022, 27(11): 308.
- [22] Zhao Y, Ye W, Wang Y D, *et al.* HGF/c-Met: A key promoter in liver regeneration [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 808855.
- [23] Xu X, Xing Q, Liu R, *et al.* Therapeutic effects and repair mechanism of HGF gene-transfected mesenchymal stem cells on injured endometrium [J]. *Stem Cells Int*, 2022, 2022: 5744538.
- [24] 胡艳妹, 夏彪, 丁颖, 等. c-met 在大鼠胰岛 β 细胞 INS-1 胰岛素分泌中的作用 [J]. *现代生物医学进展*, 2012, 12(3): 435-438.

[责任编辑 高源]