

壳寡糖调节 NOD 小鼠的血脂异常和氧化应激

程沁园, 严琳, 马明, 吴小瑜

(无锡卫生高等职业技术学校, 江苏无锡 214111)

摘要: 为了探究壳寡糖(COS)延缓NOD小鼠自发性糖尿病进程的可能机制, 研究不同剂量COS对血脂异常和氧化应激的影响。持续灌胃不同剂量COS 28 w后, 测定各组小鼠血糖、血脂和氧化应激等指标, 并进行组织学检查。结果显示, 各剂量COS均使NOD小鼠进入糖尿病前期和糖尿病阶段的时间有一定的延后, 且可将其处于糖尿病前期的时间段(Control组为9 w)分别延长为10 w、13 w和>16 w; 可分别使小鼠血清T-CHO降低了37.10%、46.68%和62.72% ($p<0.01$), 使TC降低了35.01%、45.06%和60.62% ($p<0.01$), 使LDL-C降低了31.21% ($p<0.05$)、51.68%和72.48% ($p<0.01$), 但对HDL-C无显著影响, 改善了血脂异常; 使小鼠肝组织内SOD和GSH-Px比活力有所提高, 尤其是在COS-H组分别提高了94.69%和167.59% ($p<0.01$), 同时使MDA降低48.41% ($p<0.05$), 有效减轻氧化应激引起的氧化损伤; 组织学检查显示COS使胰腺系数有所增加, 肝脏系数逐步下降, 脂肪空泡有所减少, 对胰腺组织完整性具有一定的保护作用。据此推测, COS可通过调节血脂异常、抵抗血糖异常引起的体内氧化应激、保护组织等途径延缓自发性糖尿病发生发展的进程。

关键词: 壳寡糖; NOD小鼠; 血脂异常; 氧化应激; 糖尿病前期

文章编号: 1673-9078(2021)06-57-62

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.6.0956

Chitooligosaccharides Regulate Dyslipidemia and Oxidative Stress in NOD Mice

CHENG Qin-yuan, YAN Lin, MA Ming, WU Xiao-yu

(Wuxi Higher Health Vocational Technology School, Wuxi 214111, China)

Abstract: To explore the possible mechanism underlying the ability of chitooligosaccharides (COS) to delay the progression of spontaneous diabetes in NOD mice, the effects of different doses of COS on dyslipidemia and oxidative stress were studied. After continuous intragastric administration of different doses of COS for 28 weeks, the indicators including blood glucose, blood lipids and oxidative stress of mice in each group were determined, and the histological examination was carried out. The results showed that COS at each dose could delay the time for NOD mice to enter the prediabetic and diabetic phases, and extend the time period of prediabetic phase to 10 W, 13 W and >16 W, respectively (9 w for the control group); COS at the three doses could decrease the level of T-CHO by 37.10%, 46.68% and 62.72%, respectively ($p<0.01$), level of TC by 35.01%, 45.06% and 60.62%, respectively ($p<0.01$), and level of LDL-C by 31.21% ($p<0.05$), 51.68% and 72.48%, respectively ($p<0.01$), although insignificant effect of COS on HDL-C was found. These results indicate that COS can improve dyslipidemia, increase the specific activities of SOD and GSH-Px in the liver tissues of mice (especially increased by 94.69% and 167.59%, respectively, in the COS-H group; $p<0.01$), and decreased the MDA concentration (by 48.41%; $p<0.05$), thereby reducing effectively oxidative stress-induced oxidative damage. Histological examination showed that COS increased the pancreatic coefficient, decreased gradually the liver coefficient, reduced fat vacuoles, providing a certain protective effect on the integrity of pancreatic tissue. According to these results, COS can delay the development of spontaneous diabetes through regulating dyslipidemia, resisting oxidative stress in the body caused by abnormal blood sugar, and protecting the tissues.

引文格式:

程沁园,严琳,马明,等.壳寡糖调节NOD小鼠的血脂异常和氧化应激[J].现代食品科技,2021,37(6):57-62,+236

CHENG Qin-yuan, YAN Lin, MA Ming, et al. Chitooligosaccharides regulate dyslipidemia and oxidative stress in NOD mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(6): 57-63, +236

收稿日期: 2020-10-18

基金项目: 江苏省高校“青蓝工程”中青年学术带头人培养项目(苏教师[2019]3号); 江苏省卫生职业技术教育研究课题(J201715)

作者简介: 程沁园(1981-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 天然活性物质; 通讯作者: 吴小瑜(1982-), 女, 讲师, 研究方向: 生物活性物质

Key words: chitooligosaccharides; NOD mice; dyslipidemia; oxidation stress; prediabetes

糖尿病 (Diabetes) 是由于胰岛素生成缺陷或/和作用缺陷而引起的血糖水平超高^[1], 其发病机理尚未完全探明, 主要与遗传因素、环境、生活方式与免疫等因素密切相关^[2]。NOD 鼠由于其遗传学和免疫学特征与人类非常相似, 被认为是目前研究人类 I 型糖尿病的最佳模型, 被广泛应用于糖尿病的发病机理及保护机制的基础研究中^[3]。糖尿病前期 (Pre-diabetes) 是介于正常糖代谢与糖尿病之间的一个状态, 包括空腹血糖受损 (Impaired fasting glucose, IFG) 和糖耐量受损 (Impaired glucose tolerance, IGT)^[4]。糖尿病前期不是一种疾病, 而是一种不稳定的状态, 既可以进一步发展为显性糖尿病, 也可通过适当的干预措施而恢复正常或延长此过渡期, 对该人群进行早期干预, 可显著降低糖尿病发病率, 因此具有重要研究意义^[4]。

壳聚糖 (Chitosan) 是来源于甲壳类动物中的一种线性多糖, 其部分水解产物壳寡糖 (Chitooligosaccharides, COS) 具有与其类似的生物活性, 如抗菌、降低胆固醇、抗肿瘤、抗氧化、抗炎等^[5-11]。同时, COS 因其分子量较小, 在水中溶解性良好, 且无显著毒副作用, 已被美国食品药品监督管理局 (FDA) 和欧盟食品安全局 (EFSA) 认可为安全的饮食补充或新食品添加剂^[8], 我国卫生计生委也于 2014 年将 COS 批准为新资源食品。壳寡糖曾被报道具有降血糖的作用^[12-14], 但关于 COS 对糖尿病前期的影响研究较少, 一般都是出现血糖异常后才开始服用 COS, 而其对于受遗传因素影响的自发性糖尿病的防治或延缓作用及其作用机制则鲜有研究。本文以 NOD 小鼠为自发性糖尿病模型动物, 在其血糖尚未异常时给予不同剂量 COS, 探索 COS 对糖尿病前期和糖尿病发生、发展过程的影响及其可能机制。

1 材料与方法

1.1 供试动物

NOD 小鼠 40 只 (SPF 标准, 许可证号: SCXK (苏) 2016-0010), 雄性, 4 周龄, 体重 24.0 ± 2.0 g, 购买于常州卡文斯实验动物有限公司, 稳定饲养 1 周以适应环境。

1.2 试剂及设备

壳寡糖 (Mw 1000 u), 购自浙江金壳药业股份有限公司, 生产批号 M-KG-180900。

正置显微镜: NIKON 公司, 型号 ECLIPSE Ni;

石蜡切片机: 湖北徕克医疗仪器有限公司, 型号 SQ2125; 摊片机: 湖北徕克医疗仪器有限公司, 型号 PPTHK-21B; 显微图像分析系统: NIKON 公司, 型号 DS-Ri2; 血糖测定仪: 江苏鱼跃医疗设备股份有限公司, 型号 306 悦准 II 型; 血糖试纸: 江苏鱼跃医疗设备股份有限公司, 生产批号 380224; 总胆固醇 (T-CHO)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、丙二醛 (MDA)、总蛋白定量 (BCA 法) 试剂盒: 均为南京建成生物工程研究所; 苏木素染液, 珠海贝索 (BASO) 生物技术有限公司, 货号 714094; 伊红染液, 珠海贝索 (BASO) 生物技术有限公司, 货号 BA4099; 其余试剂均为国产分析纯。

1.3 方法

1.3.1 动物分组及受试物剂量

自发性糖尿病 NOD 小鼠随机分为 4 组, 每组 10 只, 其中对照组 (Control) 按体重每日灌胃生理盐水 (10 mL/kg); 壳寡糖低、中、高剂量组 (COS-L、COS-M、COS-H) 小鼠每日称重后按 250、500、1000 mg/kg 体重剂量灌胃壳寡糖溶液。连续给药 28 w, 各组小鼠均自由进食饮水。

1.3.2 指标观察

(1) 每日给药后观察各组小鼠的一般状况并记录。

(2) 血糖测定^[15]: 每周测定一次小鼠空腹血糖 (Fasting Blood Glucose, FBG)。提前禁食 8 h, 取小鼠尾尖血约 5 μ L, 用血糖仪测定即得 FBG。

(3) 口服糖耐量测定 (Oral Glucose Tolerance Test, OGTT)^[16]: 每 4 w 测定一次。提前禁食 8 h, 每组小鼠按体重灌胃 250 mg/kg 葡萄糖, 分别于 0、0.5、1、2 h 取尾尖血测定血糖值, 计算曲线下面积 (Area Under Curve, AUC)。

$AUC = 0.5 \times 0 \text{ h 血糖} + 0.5 \text{ h 血糖} + 1.5 \times 1 \text{ h 血糖} + 2 \text{ h 血糖}$

(4) 糖尿病病程判断: 根据 2014 年美国糖尿病协会 (ADA) 诊疗标准^[12], NOD 小鼠 $FBG \geq 126$ mg/dL (7.0 mmol/L) 或 OGTT 试验中 2 h $PG \geq 200$ mg/dL (11.1 mmol/L) 时即为糖尿病; 100 mg/dL (5.6 mmol/L) $\leq FBG < 126$ mg/dL (7.0 mmol/L) 且 OGTT 试验中 2 h $PG < 140$ mg/dL (7.8 mmol/L) 时为空腹血糖受损 (IFG) 阶段, 140 mg/dL (7.8 mmol/L) $\leq OGTT$ 试验中 2 h $PG < 200$ mg/dL (11.1 mmol/L) 且 $FPG < 126$

mg/dL (7.0 mmol/L) 时为糖耐受受损 (IGT) 阶段。

(5) 血脂指标检测: 给药周期结束后断颈处死 NOD 小鼠, 采血后按测试盒说明书操作测定总胆固醇 (T-CHO)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 等各项指标。

(6) 肝脏抗氧化指标检测: 取 NOD 小鼠部分肝脏, 用生理盐水清洗干净后吸干表面, 按照测试盒说明书操作测定总蛋白、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、丙二醛 (MDA) 等各项指标。

(7) 器官系数及组织学检查: NOD 小鼠处死后立即剖取胰腺、肝、脾、肾等器官, 生理盐水清洗干净后吸干表面, 称重计算器官系数 (器官重量与小鼠体重之比)。各器官作组织切片, 苏木素-伊红 (HE) 染色法观察其组织学变化。

1.4 统计学处理

所有的数据用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析, 所得数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异采用 *t* 检验。

2 结果与讨论

2.1 壳寡糖对 NOD 小鼠血糖及糖尿病进程的影响

摄入 COS 对各组 NOD 小鼠空腹血糖、OGTT 实验中 AUC 的影响如图 1 和图 2 所示。

由图 1 可知, 各组 NOD 小鼠 FBG 随时间稳步升高, 但 Control 组升高程度高于 COS 各组。28 w 试验结束时, Control 组 NOD 小鼠 FBG 为 9.2 mmol/L, 87.5% (7/8, 2 只小鼠分别于第 2 w 和第 4 w 死亡) 小鼠 FBG > 7.0 mmol/L, 即发展到显性糖尿病阶段; COS-L 组 NOD 小鼠 FBG 为 7.7 mmol/L, 显著低于 Control 组 ($p < 0.05$), 50.0% (5/10) 小鼠发生糖尿病, 其余为 IFG 阶段; COS-M 组 NOD 小鼠 FBG 为 7.1 mmol/L, 极显著低于 Control 组 ($p < 0.01$), 50.0% (5/10)

小鼠发生糖尿病, 40.0% (4/10) 为 IFG 阶段, 仍有一只小鼠维持正常血糖; COS-H 组 NOD 小鼠 FBG 为 6.7 mmol/L, 极显著低于 Control 组 ($p < 0.01$), 30.0% (3/10) 小鼠发生糖尿病, 50.0% (5/10) 为 IFG 阶段, 剩余 2 只小鼠仍维持正常血糖。由此可见, COS 可降低 NOD 小鼠 FBG, 且其效果具有剂量依赖性。

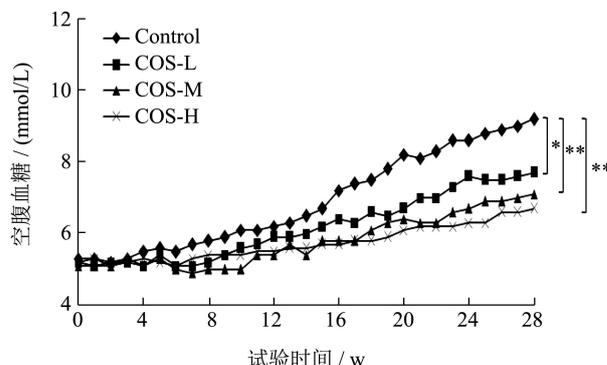


图 1 摄入 COS 对 NOD 小鼠 FBG 的影响

Fig.1 The effect of COS on FBG of NOD mice

注: *表示与 Control 组相比 $p < 0.05$, **表示与 Control 组相比 $p < 0.01$ 。

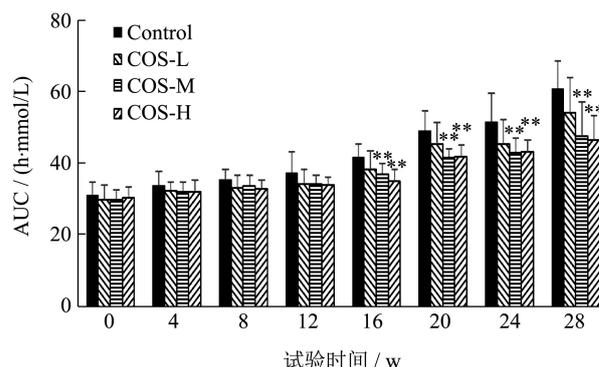


图 2 摄入 COS 对 NOD 小鼠 AUC 的影响

Fig.2 The effect of COS on AUC of NOD mice

注: **表示与 Control 组相比 $p < 0.01$ 。

图 2 结果显示, 摄入 COS 对 NOD 小鼠 AUC 的影响与对 FBG 的影响类似, 随着时间的延长和剂量的增加, COS 降低 AUC 的作用越来越显著, 自第 16 w 起, COS-M 组和 COS-H 组 AUC 极显著低于 Control 组 ($p < 0.01$)。

表 1 各组 NOD 小鼠自发性 I 型糖尿病发生发展的情况

Table 1 The developments of type I diabetes mellitus in NOD mice of each group

血糖指标	试验周次/w			
	Control	COS-L	COS-M	COS-H
FBG ≥ 5.6 mmol/L	7	11	13	15
FBG ≥ 7.0 mmol/L	16	21	25	> 28
OGTT 试验中 2 h PG ≥ 7.8 mmol/L	8	12	12	12
OGTT 试验中 2 h PG ≥ 11.1 mmol/L	20	28	> 28	> 28

表 1 显示了各组 NOD 小鼠进入糖尿病前期和糖尿病阶段的时间, 由此表可知: Control 组 NOD 小鼠平均进入 IFG 阶段的时间是在试验第 7 w, 进入 IGT 阶段是第 8 w, 进入糖尿病阶段是第 16 w; COS 各组进入糖尿病前期和糖尿病阶段的时间均有一定的延后, 效果呈剂量依赖性, 尤其是 COS-H 组至试验结束时仍处于糖尿病前期阶段。同时摄入低、中、高剂量的 COS 可将 NOD 小鼠处于糖尿病前期的时间段 (Control 组为 9 w) 分别延长为 10 w、13 w 和 >16 w, 即可有效延缓 NOD 小鼠的糖尿病发生发展进程。

2.2 壳寡糖对 NOD 小鼠血脂的影响

摄入 COS 对 NOD 小鼠血清中 T-CHO、TG、HDL-C 和 LDL-C 的影响如图 3 所示。

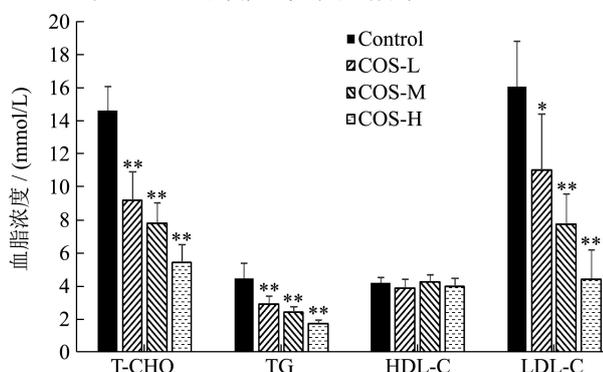


图 3 摄入 COS 对 NOD 小鼠血脂指标的影响

Fig.3 The effect of COS on blood lipid concentrations of NOD mice

注: *表示与 Control 组相比 $p < 0.05$, **表示与 Control 组相比 $p < 0.01$ 。

糖尿病是一种内分泌紊乱引起的代谢性疾病, 不仅可引起血糖升高, 还可加速脂肪分解, 过多的脂肪酸重新酯化成甘油三酯释放入血, 形成高脂血症等并发症^[17]。摄入低、中、高剂量的 COS 后可分别使 NOD 小鼠血清 T-CHO 降低了 37.10%、46.68% 和 62.72% ($p < 0.01$), 使 TC 降低了 35.01%、45.06% 和 60.62% ($p < 0.01$), 使 LDL-C 降低了 31.21% ($p < 0.05$)、51.68% 和 72.48% ($p < 0.01$), 但对 HDL-C 无显著影响。COS 具有良好的降脂作用, Muanprasat 等^[5]的研究结果表明 COS 可抑制胰腺脂肪酶活性, 并与胆汁酸结合, 导致肠道脂肪吸收减少, 粪便脂肪排泄增加。COS 的摄入抑制 3T3-L1 脂肪细胞的细胞分化、甘油三酯的积累和成脂标志物的表达, 并抑制了大鼠和小鼠肥胖模型的脂肪积累^[18]。因此 COS 不仅可延缓 NOD 小鼠的糖尿病发生发展进程, 还可以通过降低体内 T-CHO、TC 和 LDL-C 改善其血脂异常, 预防和延缓相关并发症的发生发展。

2.3 壳寡糖对 NOD 小鼠肝脏抗氧化指标的影响

响

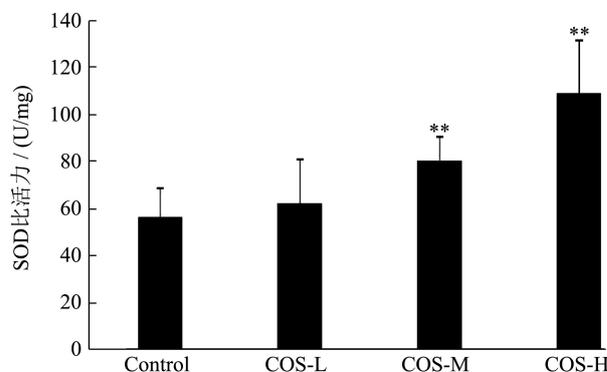


图 4 摄入 COS 对 NOD 小鼠肝组织中 SOD 比活力的影响

Fig.4 The effect of COS on specific activity of SOD in livers of NOD mice

注: **表示与 Control 组相比 $p < 0.01$ 。

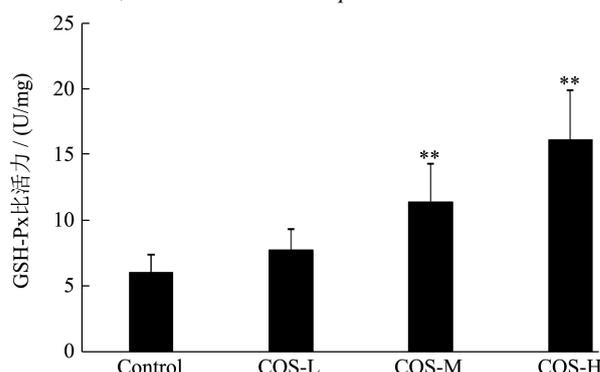


图 5 摄入 COS 对 NOD 小鼠肝组织中 GSH-Px 比活力的影响

Fig.5 The effect of COS on specific activity of GSH-Px in livers of NOD mice

注: **表示与 Control 组相比 $p < 0.01$ 。

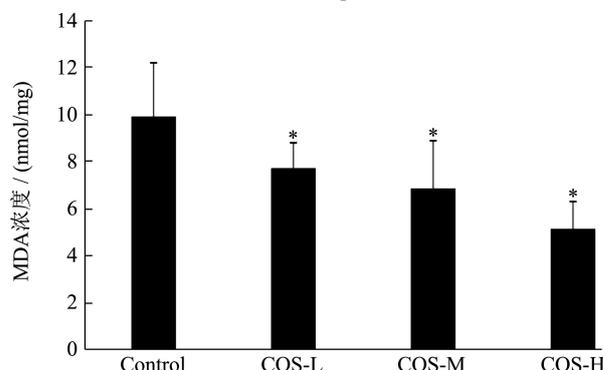


图 6 摄入 COS 对 NOD 小鼠肝组织中 MDA 含量的影响

Fig.6 The effect of COS on MDA concentration in livers of NOD mice

注: *表示与 Control 组相比 $p < 0.05$ 。

摄入 COS 对 NOD 小鼠肝组织中 SOD 比活力、GSH-Px 比活力和 MDA 含量的影响分别如图 4、

图 5 和图 6 所示。

氧化应激与糖尿病的发生发展密切相关。由于持续和慢性高血糖，糖尿病患者胰岛中表现出高氧化应激标记物和活性氧，从而消耗抗氧化防御系统的活性，从而促进自由基的生成；自由基水平异常升高和抗氧化防御机制同时下降可能导致细胞和酶的损伤、脂质过氧化增加和胰岛素抵抗的发展^[19]。SOD 和 GSH-Px 能够清除超氧阴离子和羟基离子，是体内重要的抗氧化酶。

图 5 和图 6 结果显示，低、中、高剂量 COS 均可使 NOD 小鼠肝组织内 SOD 和 GSH-Px 比活力有所提高，尤其是 COS-M 组和 COS-H 组的 SOD 比活力提高了 43.46% 和 94.69% ($p < 0.01$)，GSH-Px 比活力提高了 89.49% 和 167.59% ($p < 0.01$)。MDA 是脂质过氧化的终产物，是脂质过氧化的指标^[20]。氧化应激可引起脂质过氧化，图 6 显示低、中、高剂量 COS 均可显著降低 NOD 小鼠肝组织内 MDA 含量，其降低比例分别达 22.11%、30.93% 和 48.41% ($p < 0.05$)，即 COS 可有效减轻氧化应激引起的氧化损伤。COS 提高了 NOD 小鼠体内抗氧化酶系统的活力，降低氧化损伤，这可能是其减缓 NOD 小鼠糖尿病发生发展进程的机制之一。

2.4 壳寡糖对 NOD 小鼠器官系数和组织学检查的影响

表 2 各组 NOD 小鼠器官系数的变化

Table 2 Changes of organ index of NOD mice

器官	器官系数/%			
	Control	COS-L	COS-M	COS-H
胰腺	1.14±0.13	1.14±0.14	1.15±0.15	1.17±0.14
肝	4.43±0.34	4.36±0.49	4.07±0.30	3.97±0.20
脾	0.30±0.04	0.34±0.02*	0.34±0.04	0.33±0.03
肾	1.21±0.07	1.23±0.13	1.18±0.08	1.23±0.05

注：*表示与 Control 组相比 $p < 0.05$ 。

摄入 COS 对 NOD 小鼠胰腺、肝脏、脾和肾等器官系数的影响如表 2 所示，COS 各组胰腺系数随剂量增加有所增加，肝脏系数随剂量降低逐步下降，脾脏系数有所增加，但各组变化大多未达到统计学差异。胰腺萎缩是 NOD 小鼠糖尿病进程中主要病理学特征之一^[21]，COS 组胰腺系数的增加表明 COS 可在一定程度上减缓 NOD 小鼠的胰腺萎缩过程，但其具体作用机理需进一步深入研究。随着 NOD 小鼠血糖的升高，其肝脏中脂肪含量会逐步累积，造成肝脏系数增加，COS 可使肝脏系数有所下降，且该作用具有剂量

依赖性。已有研究^[22]显示，COS 可显著增加小鼠的脾脏系数，具有较好的免疫调节功能，与本文结果基本一致，但由于 COS 分子质量和小鼠品系等差异，本研究中 NOD 小鼠脾脏系数的增加大多并未到达统计学意义。本研究中各组肾脏系数并无显著差异，推测 COS 的摄入对 NOD 小鼠肾脏器官影响不大。

肝脏组织切片结果(图 7)表明 COS 各组结构较为紧密，脂肪空泡均较 Control 组有所减少(图中黑色箭头所示)，因此 COS 可在一定程度上减少肝脏脂肪量，减轻其重量，与脏器系数结果一致。

胰腺组织切片结果(图 7)显示 Control 组胰岛较小，形状略显不规则；COS 各组胰岛均为较完整的椭圆形，形态较为完好，即 COS 对胰腺组织具有一定的保护作用，可部分抵御血糖异常引起的胰腺损伤。

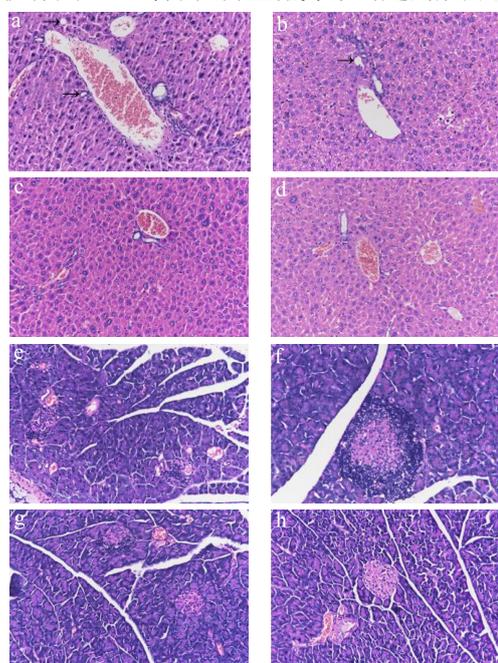


图 7 COS 对 NOD 小鼠肝脏和胰腺组织的影响(HE 染色, ×200)

Fig.7 The effect of COS on liver and pancreas of NOD mice (HE stained, ×200)

注：图 a~d 分别为肝脏 Control 组、COS-L 组、COS-M 组、COS-H 组；图 e~h 分别为胰腺 Control 组、COS-L 组、COS-M 组、COS-H 组。

3 结论

综上所述，COS 可将 NOD 小鼠进入 IFG、IGT 和糖尿病阶段的时间都有所延后，延长其处于糖尿病前期的时间，对自发性糖尿病的发生发展具有一定的阻滞作用；同时 COS 还可大幅降低 NOD 小鼠血脂指标，高剂量 COS 可分别使 T-CHO 降低 62.72%、TC 降低 60.62%、LDL-C 降低 72.48% ($p < 0.01$)，但对 HDL-C 无显著影响，即部分改善糖尿病发生发展过程

中伴随的脂代谢异常;进一步研究显示, COS 提高 NOD 小鼠体内抗氧化酶系统的活力,尤其是高剂量 COS 可使肝组织内 SOD 和 GSH-Px 比活力分别提高 94.69%和 167.59% ($p<0.01$),同时降低过氧化产物 MDA 含量,这可能是其减缓 NOD 小鼠糖尿病发生发展进程的机制之一;组织学检查显示 COS 可减少肝组织脂肪空泡,保护胰腺组织形态完好,部分抵御糖尿病发生发展过程中代谢异常引起的组织损伤。因此, COS 可能通过调节血脂异常、抵抗血糖异常引起的体内氧化应激、保护组织等途径延缓自发性糖尿病发生发展的进程,但是否还存在其它作用机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] Jong-Gwan Kim, Sung-Hoon Jo, Kyoung-Soo Ha, et al. Effect of long-term supplementation of low molecular weight chitosan oligosaccharide (GO2KA1) on fasting blood glucose and HbA1c in db/db mice model and elucidation of mechanism of action [J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 14: 272-278
- [2] 陈晓丽,计仁军.糖尿病病因与发病机理[J].中国现代药物应用,2008,2(24):189-190
CHEN Xiao-li, JI Ren-jun. Etiology and pathogenesis of diabetes mellitus [J]. *Chinese Journal of Modern Drug Application*, 2008, 2(24): 189-190
- [3] 张俊.NOD 鼠I型糖尿病的发病机理及免疫治疗[D].合肥:中国科学技术大学,2011
ZHANG Jun. The pathogenesis and immunotherapy for type 1 diabetes in NOD mice [D]. Hefei: University of Science and Technology of China, 2011
- [4] 付方明.新诊断标准下糖尿病前期人群代谢状况及胰岛素抵抗与胰岛功能研究[D].济南:山东大学,2010
FU Fang-ming. Metabolic profiles and insulin resistance and insulin secretion in subjects with the new criteria for impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance [D]. Jinan: Shandong University, 2010
- [5] C Muanprasat, V Chatsudhipong. Chitosan oligosaccharide: biological activities and potential therapeutic applications [J]. *Pharmacol Ther*, 2017, 170: 80-97
- [6] XIA Wen-shui, LIU Ping, ZHANG Jia-li, et al. Biological activities of chitosan and chitooligosaccharides [J]. *Food Hydrocolloids*, 2011, 25(2): 170-179
- [7] G Lodhi, Y S Kim, J W Hwang, et al. Chitooligosaccharide and its derivatives: preparation and biological applications [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 1-13
- [8] F Liaqat, R Eltem. Chitooligosaccharides and their biological activities: a comprehensive review [J]. *Carbohydr Polym*, 2018, 184: 243-259
- [9] K Li, R Xing, S Liu, et al. Advances in preparation, analysis and biological activities of single chitooligosaccharides [J]. *Carbohydr Polym*, 2016, 139: 178-90
- [10] S Liang, Y Sun, X Dai. A review of the preparation, analysis and biological functions of chitooligosaccharide [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(8): 2197-2215
- [11] 郑亚光,闫素梅,史彬林,等.壳聚糖及其衍生物的抗氧化应激和抗炎作用机制[J].动物营养学报,2018,30(5):1633-1638
ZHENG Ya-guang, YAN Su-mei, SHI Bin-lin, et al. Anti-oxidative stress and anti-inflammatory mechanism of chitosan and its derivatives [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2018, 30(5): 1633-1638
- [12] S Jeong, J Min Cho, Y I Kwon, et al. Chitosan oligosaccharide (GO2KA1) improves postprandial glycemic response in subjects with impaired glucose tolerance and impaired fasting glucose and in healthy subjects: a crossover, randomized controlled trial [J]. *Nutr Diabetes*, 2019, 9(1): 31-39
- [13] Y R Kang, H Y Choi, J Y Lee, et al. Effect of supplementation of low-molecular-weight chitosan oligosaccharide, GO2KA1, on postprandial blood glucose levels in healthy individuals following bread consumption [J]. *Food Sci Biotechnol*, 2016, 25(3): 911-914
- [14] S H Jo, K S Ha, K S Moon, et al. Molecular weight dependent glucose lowering effect of low molecular weight chitosan oligosaccharide (GO2KA1) on postprandial blood glucose level in SD rats model [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(7): 14214-14224
- [15] 鞠传霞.壳寡糖抗 2 型糖尿病的作用及机制[D].青岛:青岛大学,2011
JU Chuan-xia. Antidiabetic effect and mechanism of chitooligosaccharides [D]. Qingdao: Qingdao University, 2011
- [16] 刘冰,秦贞奎,林祥梅,等.不同分子量壳寡糖对促胰岛细胞增殖、胰岛素分泌及调节餐后血糖的作用[J].世界华人消化杂志,2009,17(1):36-42
LIU Bing, QIN Zhen-kui, LIN Xiang-mei, et al. Antidiabetic effects of chitooligosaccharides with different molecular weights on pancreatic islet cells in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *World Chinese Journal of Digestology*, 2009, 17(1): 36-42

(下转第 236 页)