马尾藻粗多糖–铬(III)络合物对 *db/db* 小鼠糖代谢及肠道菌群的调控作用

尹谋潘[1]，高尚[1]，周春霞[1]，罗东辉[2]，贾瑞博[1*]

（1.广东海洋大学食品科技学院，广东湛江 524088）（2.广东海洋大学食品科学与工程学院，广东阳江 529500）

摘要：为探究马尾藻粗多糖-铬(III)络合物（*Sargassum* Crude Polysaccharide-Chromium (III)，ASP-Cr (III)）干预对糖尿病小鼠糖代谢的影响及肠道菌群调控作用。本研究以自发性 2 型糖尿病 *db/db* 小鼠（*Db/Db* Mouse，*db/db*）为模型，分为正常对照组（NC 组）、模型组（DC 组）、二甲双胍组（MET 组）、马尾藻粗多糖（*Sargassum* Crude Polysaccharide，ASP）组、$CrCl_3·6H_2O$（无机铬）组、ASP-Cr (III)低/高剂量组，灌胃干预 4 周。急性毒性实验表明，1 500 mg ·kg^{-1} d^{-1} 剂量 ASP-Cr (III)对小鼠无急性毒性。动物实验表明，模型组小鼠持续处于高血糖状态，4 周后血糖值达到 26.78 mmol ·L^{-1}。经过低剂量和高剂量的 ASP-Cr (III)干预后均可显著降低空腹血糖（Fasting Blood Glucose，FBG），血糖分别为 17.18 mmol ·L^{-1}和 19.6 mmol ·L^{-1}（P<0.05），与 DC 组相比，ASP-Cr (III)肾脏指数增加了 73.19%和 45.16%，ASP-Cr (III)肝脏指数降低了 26.34%和 17.81%，ASP-Cr (III)胰腺指数增加了 51.33%和 36.82%并减轻肝脏组织病变。蛋白免疫印迹（Western Blot，WB）表明，ASP-Cr (III)显著上调 AKT2 蛋白表达，下调 PI3K 与 PCK1 蛋白表达（P<0.05），其治疗效果也要优于 ASP 组与无机铬组。肠道菌群分析表明，ASP-Cr (III)能显著提升肠道菌群丰富度与多样性（P<0.05），调节厚壁菌门/拟杆菌门比值，改善菌群结构失衡。综上，本研究认为 ASP-Cr (III)可通过修复肝脏组织、调节胰岛素信号相关蛋白表达及调节肠道菌群改善糖代谢紊乱，为其作为新型抗糖尿病功能因子或铬补充剂提供依据。

关键词：马尾藻粗多糖-铬(III)络合物；*db/db* 小鼠；糖代谢；PI3K/AKT 信号通路；肠道菌群

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2027.7.0822

Effects of *Sargassum* Crude Polysaccharide-Chromium (III) Complex on Glucose Metabolism and Gut Microbiota in *db/db* Mice

YIN Moupan[1], GAO Shang[1], ZHOU Chunxia[1], LUO Donghui[2], JIA Ruibo[1*]

(1.College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

(2.College of Food Science and Engineering, Guangdong Ocean University, Yangjiang 529500, China)

Abstract: This study aimed to investigate the effects of *Sargassum* Crude Polysaccharide (III) complex (ASP-Cr (III)) on glucose metabolism and gut microbiota regulation in diabetic mice. Spontaneous type 2 diabetic *db/db* mice were selected as the experimental model and divided into seven groups: normal control group (NC), model group (DC), metformin group (MET), *Sargassum* Crude Polysaccharide group (ASP), inorganic chromium group, low-dose ASP-Cr (III) group, and high-dose ASP-Cr (III) group. All groups received intragastric intervention for 4 weeks. The acute toxicity test showed that ASP-Cr(III) at a dose of 1 500 mg ·kg^{-1} d^{-1} had no acute toxicity in mice. animal experiments indicated that mice in the model group remained in a persistent hyperglycemia state, with a blood glucose level of 26.78 mmol ·L^{-1} after 4 weeks. Both low-dose and high-dose ASP-Cr (III) interventions significantly reduced fasting blood glucose (FBG) to 17.18 mmol ·L^{-1} and 19.6 mmol ·L^{-1}, respectively (P<0.05). Compared with the DC group, ASP-Cr (III) treatment increased the renal index by 73.19% and 45.16%, decreased the hepatic index by 26.34% and 17.81%, and elevated the pancreatic index by 51.33% and 36.82%, along with alleviated pathological lesions of liver tissue.western blot (WB) analysis demonstrated that ASP-Cr (III) significantly upregulated the protein expression of AKT2 and downregulated the protein expression of PI3K and PCK1(P<0.05), with a therapeutic effect superior to that of the ASP group and inorganic chromium group. Intestinal microbiota analysis revealed that ASP-Cr (III) significantly enhanced the richness and diversity of gut microbiota (P<0.05), regulated the Firmicutes/Bacteroidetes ratio, and ameliorated the structural imbalance of intestinal microbiota. In

收稿日期：2026-05-28；修回日期：2026-09-11；接受日期：2026-09-11

基金项目：广东省自然科学基金面上项目（2024A1515010576）；广东海洋大学科研启动费资助项目（060302042304）

作者简介：尹谋潘（2001-），男，硕士，研究方向：海洋源功能因子的挖掘与应用，E-mail：y15873490146@163.com

通讯作者：贾瑞博（1990-），男，博士，博士后，副教授，研究方面：海藻多糖生物功能及多元化应用研究，E-mail：Jiaruibo@hotmail.com

conclusion, ASP-Cr(III) can ameliorate glucose metabolism disorder by repairing liver tissue, regulating the expression of insulin signaling-related proteins, and modulating gut microbiota. This study provides experimental evidence for the development of ASP-Cr (III) as a novel anti-diabetic functional factor or chromium supplement.

Key words: *Sargassum* crude polysaccharide-chromium (III) complex; *db/db* mice; glucose metabolism; PI3K/AKT signaling pathway; gut microbiota

在全球范围内，糖尿病已成为重大的公共卫生挑战。世界卫生组织（WHO）指出，超过 4.2 亿人患有 2 型糖尿病，其发病率在全球各年龄层和地区均呈急剧上升趋势[1,2]。尽管二甲双胍和他汀类药物等可缓解症状，但长期服用会导致胃肠道不适、加重肝脏和肾脏负担以及其他不良反应[3]。因此，开发安全有效的天然活性物质以改善糖尿病，具有重要的研究和应用价值。

铬是人体必需的微量元素之一，具有调节机体糖脂代谢、蛋白质代谢、改善糖耐量和抗氧化应激等作用[4-7]。Cr (III)是葡萄糖耐量因子（Glucose Tolerance Factor，GTF）的核心组分，其可协同胰岛素提升降糖效率，维持糖脂代谢稳态[8]。当 Cr (III)摄入不足时，会出现糖脂代谢紊乱，胰岛素靶细胞敏感性减弱等问题，这与糖尿病的发生密切相关。因此适量补充 Cr(III)可以改善糖代谢异常[9]。与有机铬相比，无机铬生物吸收率低且毒性更强，而有机铬兼具吸收效率高、安全性高的优势[10]，应用价值更高。多糖与 Cr(III)络合协同作用，为新型降糖功能因子研发提供了新方向。

马尾藻多糖是一类具有多种生物活性的生物大分子[11]，也是其最主要的结构物质[12]。大量研究证实了马尾藻多糖在改善糖脂代谢、抗氧化、抗肿瘤、抗炎、调节肠道菌群等多种生理功能[13-17]。马尾藻多糖独特的化学结构使其可作为优良的有机配体与 Cr(III)发生络合，有望提升铬的生物利用度，降低无机铬的潜在毒性，又能通过多糖与铬的协同作用，提升对糖脂代谢的调控。目前，关于多糖-铬(III)络合物改善糖尿病的研究已有报道，其可通过协调作用显著提升对糖脂代谢的调控[18-21]。但马尾藻粗多糖-铬(III)络合物（ASP-Cr (III)）对 2 型糖尿病的干预作用及机制尚不明确，基于此，本研究以 *db/db* 小鼠为模型，探究 ASP-Cr(III)对小鼠空腹血糖、脏器指数及肝脏病理损伤的影响，从 PI3K/AKT 信号通路与糖异生关键蛋白层面揭示其分子调控机制，并结合 16S rRNA 基因高通量测序分析肠道菌群结构变化，为 ASP-Cr(III)作为新型抗糖尿病功能因子或铬补充剂提供实验依据。本研究的创新之处在于以马尾藻粗多糖-铬(III)络合物为研究对象，系统评价其对 *db/db* 小鼠糖代谢的改善作用，并结合 PI3K/AKT 信号通路调控与肠道菌群重塑两个层面阐明其协同降糖机制，为海藻多糖-铬络合物的开发利用及新型天然降糖功能因子和有机铬补充剂的研发提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验动物选用 6 周龄，并且体质量在 40 g 左右的 *db/db* 小鼠（SPF 级，雄性），购自广东省医学动物实验中心。实验动物许可证号 SYXK(粤)2024-0204。饲料：基因工程饲料，购自广东省医学动物实验中心。

1.1.1 主要仪器设备

590 型血糖仪和血糖试纸，江苏鱼跃医疗设备有限公司；AL204 型分析天平，梅特勒-托利多仪器有限公司；DHG-9620A 型电热鼓风干燥箱，上海一恒科技股份有限公司；Thermo Sorvall ST16R 型高速冷冻离心机，美国 Thermo 公司。

1.1.2 主要试剂

盐酸二甲双胍片，江苏默克制药有限公司；AR 级无水葡萄糖，广东光华科技股份有限公司；0.9% AR 级生理盐水，国药集团化学试剂有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 马尾藻粗多糖的制备

马尾藻多糖制备方法参照 Zhou 等[22]的实验方案。步骤如下：将马尾藻进行洗涤、风干和粉碎，通过 40 目筛网过筛以获得均匀粉末。将所得马尾藻粉末与 0.1 mol L^{-1} 氢氧化钠溶液以固液比 1:20（*m/V*）混合。随后置于 90 ℃

水浴中提取 2 h。粗提物用 200 目滤布过滤，调 pH 值至中性后进行浓缩。将浓缩溶液与无水乙醇按体积比 1:4 混合，并在 4 ℃静置 12 h。而后通过离心机以 8 000 r min^{-1} 在 4 ℃下离心 20 min。收集的沉淀物用超纯水重溶，冷冻干燥 72 h，从而获得马尾藻粗多糖样品，命名为 ASP。

前期研究表明，ASP 中碳水化合物的含量为 61.58 wt.%；总酚含量为 0.48 wt.%，蛋白质含量为 1.89 wt.%，硫酸盐含量为 3.35 wt.%。单糖组成的分析表明，ASP 由甘露糖醛酸、岩藻糖、半乳糖、葡萄糖醛酸、甘露糖、木糖、古洛糖醛酸和葡萄糖组成，其摩尔比为 32.32:25.17:11.07:13.32:9.52:5.61:1.95:1.03。

1.2.2 马尾藻粗多糖络合物的制备

将 ASP 溶液用去离子水配制成浓度为 10 mg mL^{-1} 的溶液。先置于 70 ℃水浴中加热。再按 1:1 体积比逐滴加入浓度为 2 mol L^{-1} $CrCl_3$ $6H_2O$ 溶液并持续搅拌，同步滴加浓度为 1 mol L^{-1} 氢氧化钠溶液以维持溶液 pH 值在 8 至 9 之间。滴加完成后，将反应溶液置于 70 ℃水浴 1 h。冷却至室温后，以 6 000 r min^{-1} 离心混合物 15 min，弃去沉淀并保留上清液，加入 4 倍体积 95%乙醇于 4 ℃醇沉过夜，以 6 000 r min^{-1} 离心 10 min 收集沉淀。沉淀重溶后经 3 000 Da 透析袋透析 72 h，期间每 6 h 更换一次超纯水进行透析，充分去除未反应的游离 Cr (III)及小分子杂质。随后冻干获得马尾藻粗多糖-铬(III)络合物（ASP-Cr (III)）用于后续研究。ASP-Cr (III)络合物中 Cr (III)的含量通过电感耦合等离子体质谱法（ICP-MS）检测为 16.2 mg g^{-1}。

1.2.3 急性毒性实验

为了确定 ASP-Cr (III)是否对小鼠有毒性作用，本研究参考 Zhang 等[19]的实验方法，具体操作如下：将 10 只正常 C57 小鼠分为两组，每组 5 只，一组为对照组，另一组为实验组，对照组给予生理盐水灌胃，实验组给予 ASP-Cr(III)灌胃剂量 1500 mg kg^{-1} d^{-1}。两组小鼠均给予相同饲料和自由饮水。给药后 1 h 连续观察小鼠行为，24 h 内间断观察 4 h。

1.2.4 实验动物分组及给药剂量

所有小鼠都在 SPF 级动物房进行喂养，并自由接受指定的饮食和水。适应性饲养 1 周后，将实验小鼠分为 7 组，每组 5 只，其中 C57 小鼠为正常对照组（NC），将 *db/db* 小鼠分为 6 组：模型组（DC）、二甲双胍组（MET）、马尾藻粗多糖组（ASP）、ASP-Cr (III)低剂量组（ASP-Cr-L）、ASP-Cr (III)高剂量组（ASP-Cr-H）和无机铬组（Cr），NC 组和 DC 组每日灌胃等体积的生理盐水，ASP 每日灌胃 400 mg kg^{-1} d^{-1}，ASP-Cr-L 每日灌胃 200 mg kg^{-1} d^{-1}，ASP-Cr-H 每日灌胃 400 mg kg^{-1} d^{-1}。$CrCl_3$ $6H_2O$ 的灌胃剂量为 9 mg kg^{-1} d^{-1}[20]。所有实验操作均获得批准，实验过程遵循动物实验伦理委员会的动物福利指导原则(伦理批准号：GOU-LAE-2025-029)。

饲养期间所有小鼠自由饮食饮水，每周检测空腹血糖（FBG），每日更换垫料。每天上午 9 点灌胃，给药干预 4 周后，所有小鼠禁食 12 h，称重，收集粪便。眼球取血，冰浴放置 1 h，离心（4 ℃，4 000 r min^{-1}，10 min）收集血清，液氮冷冻，-80 ℃保存。部分组织用 10%多聚甲醛固定，其余在-80 ℃保存，待测。

1.2.5 脏器指数

所有 *db/db* 小鼠经颈椎脱臼处死后，将胰腺、肝脏和肾脏组织取出进行清洗，吸干水分后分别进行称重。脏器指数由公式（1）计算：

$$A=\frac{m_1}{m_0} \quad (1)$$

式中:

A——样品中脏器质量分数，%;

m_1——脏器质量，g;

m_0——小鼠体质量，g。

1.2.6 肝脏病理切片

取出组织固定液中的肝脏组织，按照常规方法制作石蜡块，并切片。切片脱蜡后，再进行染色，经脱水封片后，置于光学显微镜下观察并进行图像采集。

1.2.7 Western Blot 检测

称取 20 mg 小鼠肝脏组织，用 PBS 清洗，加入裂解液后进行破碎研磨，离心取上清液，用 BCA 蛋白试剂盒测定蛋白浓度。用各组蛋白进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳后，电转蛋白至 PVDF 膜上，封闭液封闭 1 h 后，分别

加兔抗 PI3K 多抗（1:1 000）、兔抗 AKT2 多抗（1:1 000）、山羊抗 *β-actin* 单抗（1:5 000）等一抗，4 ℃孵育过夜后，一抗稀释液清洗 5 遍，再加相应二抗，室温孵育 1 h 后，二抗稀释液清洗 5 遍，按照 ECL 超敏发光试剂盒的说明显色条带，凝胶成像。

1.2.8 肠道微生物分析

首先提取粪便微生物的 DNA，然后应用 16S rRNA 基因高通量测序技术，利用正向引物 338F（5’-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3’）和反向引物 806R（5’-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3’）进行 PCR 扩增细菌 V3-V4 区域的 16S rRNA 基因，高通量测序由苏州帕诺米克生物医药科技有限公司（苏州，中国）进行[23]。

1.3 数据分析

数据以平均值±标准差表示。组间差异采用单因素方差分析（ANOVA）进行评估，动物实验均设计为 5 个生物学重复，其中不同字母表示组间存在显著差异（P<0.05），相同字母表示无显著差异（P>0.05）。分析均使用 SPSS 27 统计软件完成。

2 结果与讨论

2.1 急性毒性实验

接受 1 500 mg kg^{-1} d^{-1} 高剂量 ASP-Cr(III) 1 d 后，连续观察期间所有实验小鼠均未出现死亡现象，整体存活率为 100%。各组动物在外观体征、精神状态、自主活动及对外界刺激的反应等方面均表现正常。急性毒性实验结果表明，ASP-Cr(III)在 1 500 mg kg^{-1} d^{-1} 剂量下对正常小鼠无毒性作用。

2.2 ASP-Cr (III)干预对 *db*/*db* 小鼠血糖的影响

如表 1 所示，NC 组的血糖在 0~4 周内稳定在 4.92~5.48 mmol L^{-1}，维持正常生理水平。而 DC 组的血糖在 0 周血糖即达 28.44 mmol L^{-1}，显著高于 NC 组（P<0.05），且 4 周内持续处于 26.78~30.96 mmol L^{-1} 的高血糖状态，证明 *db/db* 小鼠糖尿病模型稳定可靠。MET 组可显著降低血糖（P<0.05），进一步验证了实验体系的有效性。在各实验组中，ASP 和 $CrCl_3$ $6H_2O$ 组对血糖的改善作用较为有限。而 ASP-Cr-L/H 组展现出显著的协同降糖活性（P<0.05），其中 ASP-Cr-L 组在干预 4 周后可将血糖降至 17.18 mmol L^{-1}，降糖效果优于 ASP 组及 $CrCl_3$ $6H_2O$ 组（P<0.05）。综上可知，ASP-Cr(III)可协同改善糖尿病小鼠的高血糖症状。

表 1 ASP-Cr(III)对小鼠 FBG 的影响

Table 1 Effects of ASP-Cr(III) on FBG of Mice

Group	FBG/(mmol L^{-1})				
	0 周	1 周	2 周	3 周	4 周
NC	5.4±0.33	5.14±0.52^{a}	5.48±0.49^{a}	5.14±0.61^{a}	4.92±0.66^{a}
DC	28.44±0.98	30.96±1.23^{b}	28.96±1.67^{b}	26.6±3.15^{b}	26.78±2.51^{b}
MET	28.7±1.32	30.14±1.06^{b}	29.42±1.73^{b}	25.04±2.67^{bc}	21.6±5.58^{d}
ASP	29.46±1.39	29.68±2.51^{b}	31.78±0.89^{c}	27.68±1.85^{ab}	25.92±3.19^{d}
$CrCl_3$ $6H_2O$	30.42±1.91	30.6±1.74^{b}	32.02±1.07^{c}	30.42±1.33^{d}	27.74±3.51^{d}
ASP-Cr-L	30.58±2.77	29.32±2.96^{b}	28.14±3.19^{b}	22.32±2.55^{c}	17.18±3.08^{c}
ASP-Cr-H	27.48±1.28	30.22±3.87^{b}	28.74±3.06^{b}	22.74±4.29^{c}	19.6±4.27^{bc}

注：同指标不同小写字母代表组间差异显著（P<0.05），相同字母表示差异不显著（P>0.05）。

2.3 ASP-Cr (III)干预对 *db*/*db* 小鼠脏器指数的影响

脏器指数可在一定程度上反映 2 型糖尿病状态下器官的结构损伤与功能异常[24]。为了探究不同干预方式对 *db/db* 小鼠内脏的影响，本实验分别测定了各组小鼠胰腺、肝脏、肾脏的脏器指数。结果如图 1 所示，与 NC 组相比，DC 组的胰腺指数为 0.23%，肾脏指数为 0.72%，显著降低（P<0.05），表明 *db/db* 糖尿病小鼠可能存在胰腺和肾脏组织的损伤或萎缩，同时 DC 组的肝脏指数为 5.35%，显著高于 NC 组（P<0.05），表明 *db/db* 糖尿病小鼠

可能存在肝脏肿大，这可能与脂肪肝、炎症损伤等原因有关，在各实验组干预中，ASP 组的胰腺指数为 0.33%、肝脏指数为 4.81%、肾脏指数为 1.03%；$CrCl_3$ $6H_2O$ 组胰腺指数为 0.26%、肝脏指数为 5.28%、肾脏指数为 0.94%，仅能轻度缓解脏器损伤。而在 ASP-Cr (III)组中，尤其是 ASP-Cr-L 组，其胰腺指数为 0.35%、肝脏指数为 3.94%、肾脏指数为 1.24%。可显著恢复胰腺指数及肾脏指数（P<0.05），并有效降低肝脏指数，其改善效果优于 ASP 和 $CrCl_3$ $6H_2O$ 组（P<0.05）。该结果表明，ASP-Cr (III)可协同改善糖尿病小鼠的脏器损伤。

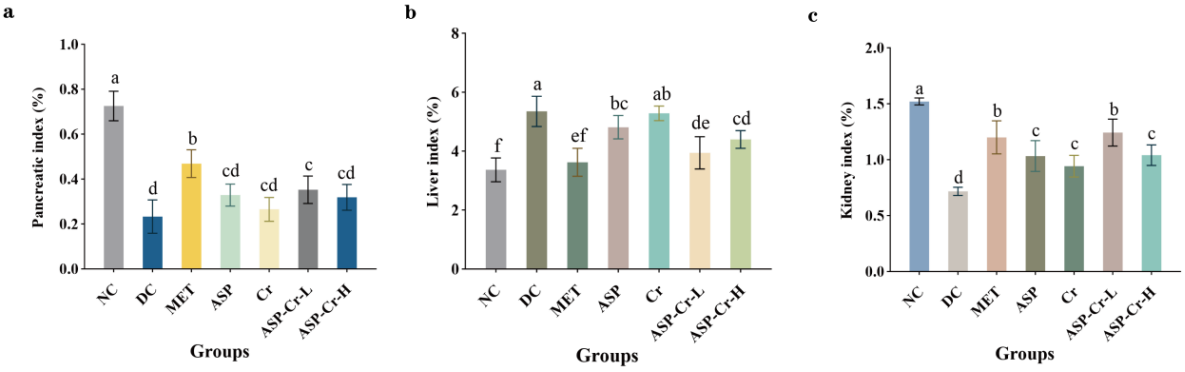


图 1 ASP-Cr（III）对小鼠组织的影响

Fig.1 Effects of ASP-Cr(III) on the tissues of mice

注：（a）胰腺指数；（b）肝脏指数；（c）肾脏指数。同指标不同小写字母代表组间差异显著（P<0.05），相同字母表示差异不显著（P>0.05）。

2.4 ASP-Cr (III)干预对 *db*/*db* 小鼠肝脏病理切片的影响

肝脏作为糖脂代谢核心器官，其结构损伤与脂肪变性是 2 型糖尿病的重要病理表现[25]。为系统评估络合物对 2 型糖尿病模型小鼠肝脏组织损伤的干预及改善效果，本实验采用 HE 染色制片，并在 50 倍光学显微镜下观察各实验组小鼠肝脏的组织形态的变化。如图 2 所示，NC 组小鼠肝脏整体组织结构完整、层次清晰，肝小叶轮廓规整，分界明显，肝细胞未出现明显脂肪变性、炎性浸润及坏死等病理改变。肝细胞以中央静脉为中心呈典型放射状、条索状有序排列，细胞边界清晰，形态规整，大小较为均一；细胞核呈圆形，多位于细胞中央位置，细胞质充盈饱满。DC 组小鼠肝脏则出现明显的病理损伤，主要表现为肝纤维组织异常增生，肝小叶结构紊乱，肝细胞发生广泛且明显的脂肪变性。大量肝细胞胞浆内出现大小不一的脂肪空泡，部分区域可见严重脂滴融合现象，细胞核受脂滴挤压明显偏向细胞一侧，细胞形态肿胀、排列紊乱。ASP-Cr (III)组与 ASP 组小鼠肝脏组织病理损伤均得到不同程度改善，肝细胞排列趋于规则，胞核位置向细胞中心靠近，脂肪空泡数量及体积明显减少，肝细胞形态较模型组显著恢复。其中 ASP-Cr (III)组虽仍存在少量细胞核固缩现象，但肝脏整体组织结构已明显趋近于正常对照组小鼠，肝小叶结构相对完整。$CrCl_3$ $6H_2O$ 组小鼠肝脏组织改善效果有限，肝细胞排列仍然紊乱，多数细胞肿胀，细胞质内有脂肪空泡，细胞核远离细胞中心，肝脏病理损伤未得到有效缓解。上述结果表明，ASP-Cr (III)络合物可改善 2 型糖尿病小鼠的肝组织病理损伤，有效减轻肝细胞脂肪变性、结构紊乱等异常改变。

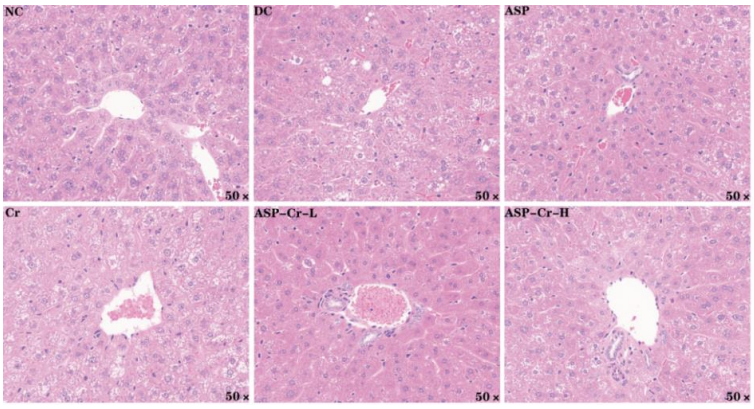


图 2 小鼠肝脏 H&E 染色（放大倍数：50×）

Fig.2 H&E staining of the liver in mice (Magnification: 50×)

2.5 ASP-Cr (III)干预对 *db/db* 小鼠肝脏 PI3K/AKT 信号通路及糖异生相关蛋白表达的影响

胰岛素信号通路异常与糖异生是导致胰岛素抵抗、持续高血糖的核心分子机制[26]，其中 PI3K/AKT 信号轴及糖异生关键酶的表达变化，直接反映机体对葡萄糖的利用与生成调控能力[27]。结果如图 3 和图 4 所示，与 NC 组相比，DC 组小鼠肝脏组织中 AKT2 蛋白表达水平显著下调（P<0.05），而 PI3K 及 PCK1 的蛋白表达水平显著升高（P<0.05），表明糖尿病状态下胰岛素信号通路相关蛋白表达异常，糖异生关键酶 PCK1 表达上调，这可能与胰岛素抵抗及高血糖的发生密切相关。与 DC 组相比，单独 ASP 或 $CrCl_3$ $6H_2O$ 干预可显著下调 PI3K 及 PCK1 表达（P<0.05），但进一步降低了 AKT2 表达。而 ASP-Cr(III)干预可显著上调 AKT2 表达，并降低 PI3K 及 PCK1 的表达水平（P<0.05），且其调控效应显著优于 ASP 和 $CrCl_3$ $6H_2O$ 组（P<0.05）。上述结果表明，ASP-Cr (III)可调节胰岛素信号相关蛋白表达，并降低糖异生关键酶 PCK1 表达，推测其可能通过该途径改善糖尿病模型动物的糖代谢紊乱，且调控效果优于单一 ASP 与无机铬组分。

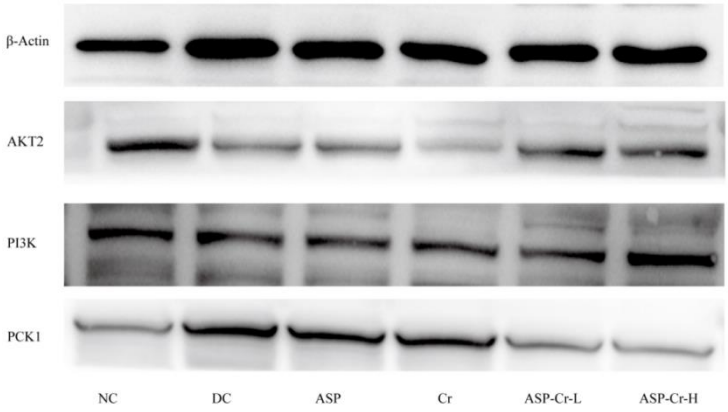


图 3 AKT2、PI3K 和 PCK1 的蛋白质印迹条带

Fig.3 Western blot bands of AKT2, PI3K, and PCK1

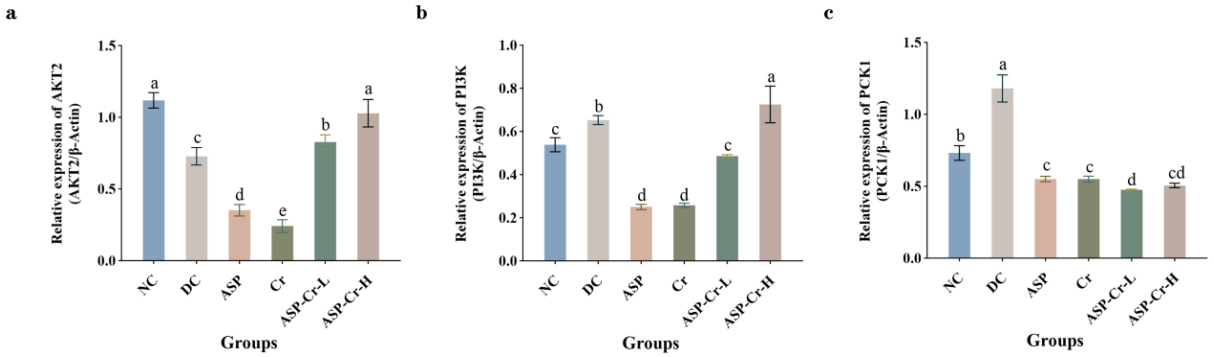


图 4 各组小鼠肝脏中 AKT2、PI3K、PCK1 蛋白相对表达水平

Fig.4 Relative expression levels of AKT2, PI3K, and PCK1 proteins in the livers of mice from each group

注：（a）肝脏中 AKT2 蛋白相对表达量；（b）PI3K 蛋白相对表达量；（c）PCK1 蛋白相对表达量。同指标不同小写字母代表组间差异显著（P<0.05），相同字母表示差异不显著（P>0.05）。

2.6 ASP-Cr (III)干预对 *db/db* 小鼠肠道菌群多样性的影响

通过 Alpha 多样性分析肠道微生物的丰富度和多样性。如图 5 所示，所有组的 Good's coverage>0.97，表明测序深度充足，结果可靠。DC 组小鼠的菌群丰富度（Chao1、Observed species）、多样性（Simpson、Shannon）及均匀度（Pielou_e）均低于 NC 组，证实 *db/db* 小鼠存在肠道菌群 Alpha 多样性下降、菌群结构失衡[28]。在各干预组中，ASP 组与 $CrCl_3$ $6H_2O$ 组仅能轻度缓解菌群多样性与丰富度的降低，而在 ASP-Cr 组中，其能提升菌群丰富度、多样性及均匀度，其效果优于 ASP 组与 $CrCl_3$ $6H_2O$ 组，且部分指标（如 Chao1、Observed species）接近正常对照组水平。上述结果表明，ASP-Cr (III)可改善糖尿病小鼠的肠道菌群失衡，所以其降糖作用可能与调控菌群物种丰富度、多样性及均匀度密切相关[29]。

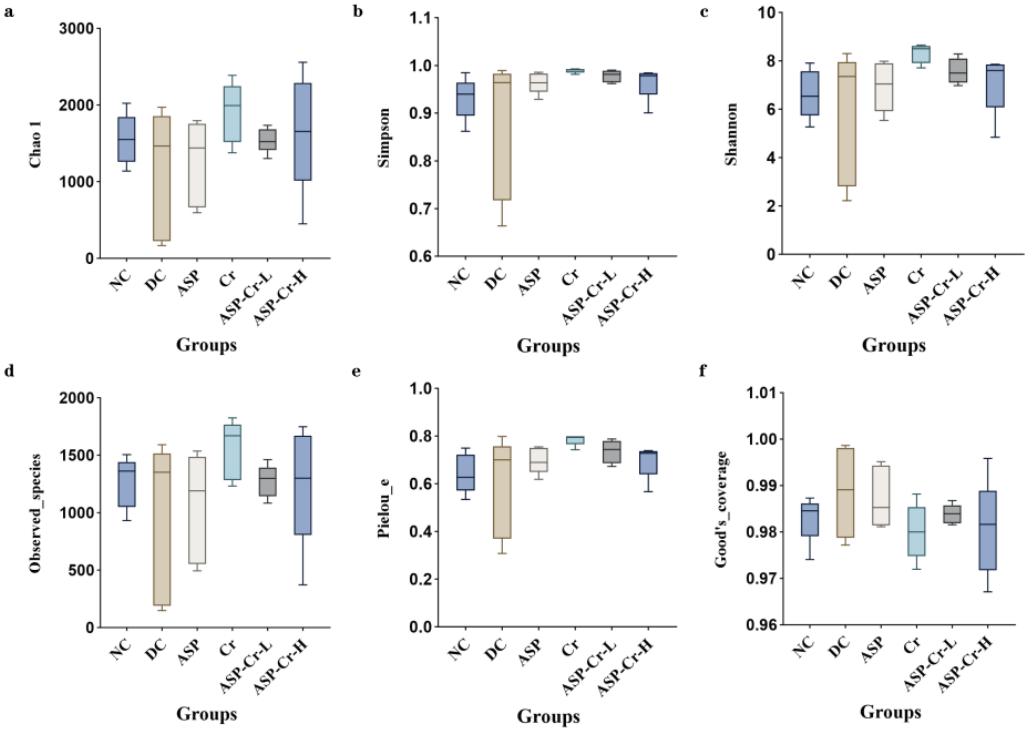


图 5 小鼠肠道菌群 Alpha 多样性分析

Fig.5 Analysis of Alpha Diversity of Gut Microbiota in Mice

注:（a）Chao1 指数;（b）Simpson 指数;（c）Shannon 指数;（d）观测物种数;（e）Pielou 均匀度指数;（f）测序覆盖度。

2.7 ASP-Cr (III)干预对 *db/db* 小鼠肠道菌群组成的影响

为了研究各试验组之间的微生物组成，对所有样本进行 OTU 聚类。如图 6a 所示，小鼠肠道微生物在门水平的主要类型包括 Firmicutes（厚壁菌门）、Bacteroidota（拟杆菌门）、Actinobacteria（放线菌门）和 Proteobacteria（变形菌门）。与 NC 组相比，DC 组小鼠厚壁菌门相对丰度为 0.66，呈现出过度增殖的特征，、拟杆菌门相对丰度为 0.20，呈现出减少的趋势、F/B 比值由 1.45 升高至 3.27，表现出明显的菌群失衡特征。而 ASP 和 $CrCl_3$ $6H_2O$ 组仅能轻度改善菌群失衡，经过 ASP-Cr-L 干预后，厚壁菌门的相对丰度降低至 0.57，拟杆菌门的相对丰度升高至 0.38，使 F/B 比值降低至 1.49，同时改善放线菌门、变形菌门等菌群丰度。此外，ASP-Cr-H 组同样能够改善糖尿病小鼠肠道菌群组成，厚壁菌门/拟杆菌门比值降低至 2.01，呈恢复趋势，但改善程度低于 ASP-Cr-L 组，说明高剂量 ASP-Cr (III)虽具有调节肠道菌群的作用，但效果不及低剂量组。

如图 6b 所示，各组间肠道微生物属水平存在差异。各组在属水平上主要包括乳杆菌属（*Lactobacillus*）、双歧杆菌属（*Bifidobacterium*）、苏黎世杆菌属（*Turicibacter*）、颤螺旋菌属（*Oscillospira*）、拟杆菌属（*Bacteroides*）、阿克曼菌属（*Akkermansia*）等组成，乳杆菌属和双歧杆菌属是典型的肠道有益菌，有研究表明乳杆菌属、双歧杆菌属丰度的上调，可有效改善糖尿病小鼠的糖代谢紊乱[30]。与 NC 组相比，DC 组小鼠呈现出乳杆菌属（*Lactobacillus*）和双歧杆菌属（*Bifidobacterium*）丰度的相对丰度分别为 0.22 和 0.12，呈现出降低、菌群失衡的特征。与 DC 组相比，经过 ASP-Cr (III)干预后，低、高剂量组小鼠菌群中乳杆菌属（*Lactobacillus*）相对丰度提高至 0.21 和 0.372，且占主导地位，同时在各实验组中，ASP 和 $CrCl_3$ $6H_2O$ 组中均能提高乳杆菌属（*Lactobacillus*）相对丰度，但效果均弱于 ASP-Cr (III)组。以上结果表明，ASP-Cr (III)可通过调控肠道菌群结构改善糖尿病相关代谢紊乱，其中低剂量干预后厚壁菌门/拟杆菌门比值降至 1.49，更接近对照组的 1.45，对糖尿病诱导的菌群结构失衡的回调效果优于高剂量组。ASP 作为不可消化海藻多糖，可作为肠道有益菌的发酵底物，促进有益菌增殖并改善肠道微生态；同时，Cr (III)改善糖代谢后可进一步优化肠道环境，两者协同作用可能是 ASP-Cr (III)调节肠道菌群的重要原因。

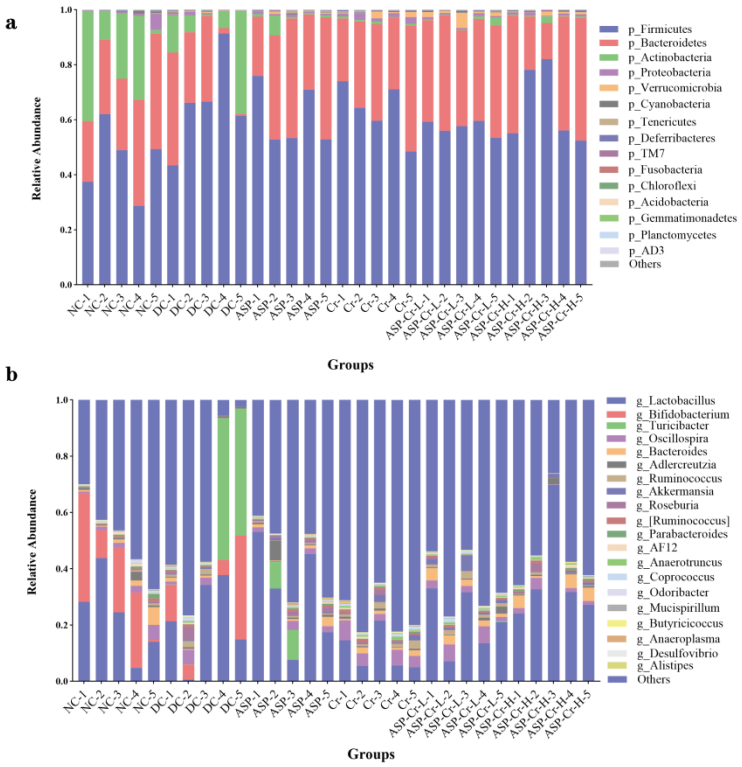


图 6 各组小鼠肠道菌群门、属分类组成分析

Fig.6 Analysis of phylum and genus composition of the intestinal microbiota in mice across different treatment groups

注:（a）门水平;（b）属水平。

3 结论

本研究结果表明，ASP-Cr (III)络合物在 1500 mg kg^{-1} d^{-1} 剂量下未表现出明显急性毒性，且能够显著降低 *db/db* 小鼠空腹血糖，改善肝脏、胰腺及肾脏脏器指数，减轻肝组织病理损伤。这可能与马尾藻多糖的抗氧化、抗炎活性及 Cr(III)增强胰岛素敏感性的协同作用有关。进一步研究发现，ASP-Cr (III)可调节 PI3K/AKT 信号通路相关蛋白及下调糖异生关键酶 PCK1 的表达，表明其可能通过恢复胰岛素信号传导、抑制肝脏糖异生，从而改善糖代谢紊乱。此外，ASP-Cr (III)提高了肠道菌群多样性，调节厚壁菌门/拟杆菌门比值，说明其可能通过改善肠道微生态环境，增强宿主代谢稳态，与胰岛素信号通路共同发挥降糖作用。值得注意的是，低剂量组较高剂量组表现出更好的降糖效果，可能与其更有利于维持肠道菌群稳态有关。本研究中，ASP-Cr-L 组在调节厚壁菌门/拟杆菌门比例及提高菌群多样性方面均优于 ASP-Cr-H 组，表明适宜剂量更有利于发挥马尾藻多糖的益生元作用，并协同 Cr (III)改善胰岛素信号转导，而高剂量未能进一步增强上述效应。综上，ASP-Cr (III)可能通过调节 PI3K/AKT 信号通路、抑制糖异生及重塑肠道菌群等多重机制协同改善糖代谢紊乱。

本研究仍存在一定局限性。首先，本研究主要围绕 PI3K/AKT 信号通路及肠道菌群变化探讨 ASP-Cr (III)的降糖机制，但尚未进一步验证上下游关键靶点及肠道菌群代谢产物在其中的作用，因此其分子调控机制仍需进一步深入研究。其次，ASP 的提取及络合工艺尚未针对得率、铬络合率等关键指标进行系统优化，不利于后续产业化开发。此外，本研究仅开展了短期动物实验，尚未进行长期毒理学、安全性评价及药代动力学研究，其长期应用效果及体内作用规律仍有待进一步验证。未来可结合代谢组学、转录组学及粪菌移植等技术，进一步阐明 ASP-Cr (III)改善糖代谢的作用机制，并优化制备工艺，为其开发成为降糖功能食品或候选药物提供更加全面的理论依据

参考文献

[1] BIZEREA-MOGA T O, MOGA T V, STROESCU R, et al. Associations between birth characteristics, weaning practices, and the metabolic syndrome in children: a descriptive study [J]. Metabolites, 2025, 15(3): 148.

[2] LU K Y, DASS K T P, TSAI S F, et al. Clinical application potential of small molecules that induce brown adipose tissue thermogenesis by improving fat metabolism [J]. Cell Transplantation, 2020, 29: 7394.

[3] RUZE R, LIU T T, ZOU X, et al. Obesity and type 2 diabetes mellitus: connections in epidemiology, pathogenesis, and treatments [J]. Frontiers in Endocrinology, 2023, 14: 1161521.

[4] 马新航,张俊杰,颜丽霞,等.有机铬的功效与用途——黑小麦治疗糖尿病[J].引文版:社会科学,2015,9:150.

[5] ZHANG Y Y, LUO J X, ZHU T T, et al. Dietary chromium could improve growth, antioxidant capacity, chromium accumulation in tissues and expression of genes involved into glucose and lipid metabolism in juvenile mud crab Scylla paramamosain [J]. Aquaculture Reports, 2022, 23: 101088.

[6] BERNAO A, MESEGUER I, AGUILAR M V, et al. Effect of different doses of chromium picolinate on protein metabolism in infant rats [J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2004, 18(1): 33-39.

[7] CIBUK S, SARIKAYA M, ULEMA M S, et al. Antioxidant effect of chromium picolinate on chronic exercise-induced oxidative stress in male rats [J]. Scientific Reports, 2025, 15(1): 39583.

[8] 杨朝菊,董春霞,王树松.微量元素铬与代谢综合征相关疾病的研究进展[J].疑难病杂志,2015,14(1):93-96.

[9] 蒋骞玮.三价铬离子对酵母脂质代谢的影响及机制的探索[D].上海:华东理工大学,2021.

[10] 李倩,袁勇敢,张燕青,等.铬(III)参与调控机体糖脂代谢的作用机制研究进展[J].食品工业科技,2024,45(22):397-405.

[11] SHUI J M, YANG S H, ZHAO Y L, et al. Advances and prospects of targeting research for polysaccharide based drugs: a review [J]. Carbohydrate Polymer Technologies and Applications, 2025, 9: 100735.

[12] 周乾云,欧阳月红,李勇,等.马尾藻海藻多糖生物活性研究新进展[J].现代农业科技,2019,12:211-214,218.

[13] CAO C L, LI C, CHEN Q, et al. Physicochemical characterization, potential antioxidant and hypoglycemic activity of polysaccharide from *Sargassum* pallidum [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 139: 1009-1017.

[14] JIA R B, WU J, LI Z R, et al. Structural characterization of polysaccharides from three seaweed species and their hypoglycemic and hypolipidemic activities in type 2 diabetic rats [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 155: 1040-1049.

[15] SHAO P, LIU J, CHEN X X, et al. Structural features and antitumor activity of a purified polysaccharide extracted from *Sargassum* horneri [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 73: 124-130.

[16] YAO W Z, KONG Q H, YOU L J, et al. Polysaccharides from brown seaweed: physicochemical properties, absorption in the intestine, and beneficial effects on intestinal barrier [J]. Food Frontiers, 2023, 4(4): 1547-1560.

[17] TELLES C B S, MENDES-AGUIAR C, FIDELIS G P, et al. Immunomodulatory effects and antimicrobial activity of heterofucans from *Sargassum* filipendula [J]. Journal of Applied Phycology, 2018, 30(1): 569-578.

[18] GUO W L, SHI F F, LI L, et al. Preparation of a novel Grifola frondosa polysaccharide-chromium(III) complex and its hypoglycemic and hypolipidemic activities in high fat diet and streptozotocin-induced diabetic mice [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 131: 81-88.

[19] ZHANG C, HUANG M, HONG R, et al. Preparation of a Momordica charantia L. polysaccharide-chromium(III) complex and its anti-hyperglycemic activity in mice with streptozotocin-induced diabetes [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 122: 619-627.

[20] GUO W L, CHEN M, PAN W L, et al. Hypoglycemic and hypolipidemic mechanism of organic chromium derived from chelation of Grifola frondosa polysaccharide-chromium(III) and its modulation of intestinal microflora in high fat-diet and STZ-induced diabetic mice [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 145: 1208-1218.

[21] LI P S, WANG Y L, LU L R, et al. Preparation of a hydrolyzed yeast beta-glucan chromium(III) complex and evaluation of its hypoglycemic activity and sub-acute toxicity [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 275: 133425.

[22] ZHOU C X, HE S S, GAO S, et al. Effects of ultrasound-assisted treatment on physicochemical properties and biological activities of polysaccharides from *Sargassum* [J]. Foods, 2024, 13(23): 3941.

[23] GAO S, LI T T, LI Z R, et al. Gradient ethanol extracts of Coreopsis tinctoria buds: chemical and in vitro fermentation characteristics [J]. Food Chemistry, 2025, 464: 141894.

[24] LI P S, CAO Y J, SONG G, et al. Anti-diabetic properties of genistein-chromium(III) complex in *db/db* diabetic mice and its sub-acute toxicity evaluation in normal mice [J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2020, 62: 126606.

[25] CHEN R B, WANG Q Y, WANG Y Y, et al. Feeding-induced hepatokines and crosstalk with multi-organ: a novel therapeutic target for type 2 diabetes [J]. Frontiers in Endocrinology, 2023, 14: 1094458.

[26] LEE S H, PARK S Y, CHOI C S. Insulin resistance: from mechanisms to therapeutic strategies [J]. Diabetes & Metabolism Journal, 2022, 46(1): 15-37.

[27] HUANG X J, LIU G H, GUO J, et al. The PI3K/AKT pathway in obesity and type 2 diabetes [J]. International Journal of Biological Sciences, 2018, 14(11): 1483-1496.

[28] ZHANG J W, ZHANG Y X, YUAN Y, et al. Gut microbiota alteration is associated with cognitive deficits in genetically diabetic (*db/db*) mice during aging [J]. Frontiers in Aging Neuroscience, 2022, 13: 815562.

[29] GUO S, LI Y Y, YANG Y N, et al. Novel probiotic Lactobacillus helveticus WIS02 alleviates diabetes through multi-pronged regulation of glycolipid metabolism, pancreatic protection and gut microbiota remodeling [J]. Frontiers in Microbiology, 2026, 16: 1735605.

[30] WANG H, SHEN Q, ZHANG F, et al. Heat-treated foxtail millet protein delayed the development of pre-diabetes to diabetes in mice by altering gut microbiota and metabolomic profiles [J]. Food & Function, 2023, 14(10): 4866-4880.