

[文章编号] 1671-587X(2025)05-1251-09

DOI:10.13481/j.1671-587X.20250511

新型甜味剂赤藓糖醇对ICR小鼠糖脂代谢的影响及肝脏代谢物的代谢组学分析

董震¹, 吴月明², 高斌³, 高克威⁴, 于海涛⁵

(1. 海军第九七一医院超声诊断科, 山东 青岛 266000; 2. 海军军医大学第二附属医院儿科, 上海 200003; 3. 海军第九七一医院崂山医疗区外科, 山东 青岛 266000; 4. 中国人民解放军海军特色医疗中心消化内科, 上海 200003; 5. 海军第九七一医院消化内科, 山东 青岛 266000)

[摘要] **目的:** 探讨赤藓糖醇对机体糖脂代谢的影响, 并基于代谢组学研究赤藓糖醇影响肝脏代谢的作用机制。**方法:** 雄性ICR小鼠随机分为正常组、蔗糖组(2%蔗糖)、低剂量赤藓糖醇(1%赤藓糖醇)组、中剂量赤藓糖醇(2%赤藓糖醇)组和高剂量赤藓糖醇(4%赤藓糖醇)组, 每组10只。配制相应浓度蔗糖和赤藓糖醇溶液并置于水瓶中, 小鼠可自由饮用和进食, 连续观察12周, 测定各组小鼠体质量、进食量和饮水量。采用试剂盒检测各组小鼠血清甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)和血糖水平, 计算小鼠肝脏指数。采用超高效液相色谱-轨道阱高分辨质谱(UPLC-OE-MS)非靶标代谢组学检测正常组和高剂量赤藓糖醇组小鼠肝脏代谢物, 采用生物信息学以变量重要性投影(VIP)>1且校正后 $P<0.05$ 为条件筛选2组小鼠肝脏差异代谢物, 利用京都基因与基因组百科全书(KEGG)信号通路富集分析探讨肝脏差异代谢物的功能作用。**结果:** 与正常组比较, 其他各组小鼠体质量、进食量、肝脏指数和血脂水平差异均无统计学意义($P>0.05$), 高剂量赤藓糖醇组小鼠血糖水平明显升高($P<0.01$)。2组小鼠肝脏代谢组学分析共鉴定1144个代谢物, 主要包括脂质和脂类小分子(17.39%)、有机酸及衍生物(10.87%)、有机杂环化合物(5.80%)和有机氧化合物(5.07%)等。与正常组比较, 高剂量赤藓糖醇组小鼠共有138个肝脏差异代谢物, 其中112个代谢物上调, 26个代谢物下调。KEGG信号通路富集分析, 差异代谢物主要富集于代谢、类固醇激素生物合成、皮质醇合成与代谢和库欣综合征等通路; 进一步对代谢通路进行拓扑分析, 差异代谢物主要涉及鞘脂代谢、三羧酸循环、核黄素代谢、类固醇激素生物合成和嘌呤代谢等信号通路。**结论:** 长期摄入高剂量赤藓糖醇可引起小鼠血糖水平升高, 其机制可能是通过干扰核黄素代谢影响三羧酸循环和干扰鞘脂代谢, 导致血糖控制系统受损。

[关键词] 赤藓糖醇; 代谢组学; 血糖; 鞘脂代谢; 三羧酸循环; 核黄素代谢

[中图分类号] R151.2 **[文献标志码]** A

Effects of novel sweetener erythritol on glycolipid metabolism and metabonomic analysis of hepatic metabolites in ICR mice

DONG Zhen¹, WU Yueming², GAO Bin³, GAO Kewei⁴, YU Haitao⁵

(1. Department of Ultrasound Diagnosis, 971st Hospital of Navy, Qingdao 266000, China; 2. Department of

[收稿日期] 2025-02-18 [录用日期] 2025-04-06

[基金项目] 山东省卫健委医药卫生科技发展计划项目(202203080692)

[作者简介] 董震(1988-), 男, 山东省淄博市人, 住院医师, 主要从事临床内科和超声方面的研究。

[通信作者] 于海涛, 副主任医师(E-mail: canghai622@163.com)

©《吉林大学学报(医学版)》编辑部, 开放获取遵循CC BY-NC-ND协议。

© Editorial Board of Journal of Jilin University (Medicine Edition). Open access under CC BY-NC-ND license.

Pediatrics, Second Affiliated Hospital, Naval Medical University, Shanghai 200003, China; 3. Department of Surgery, Laoshan Medical District, 971st Hospital of Navy, Qingdao 266000, China; 4. Department of Gastroenterology, Navy Medical Center, People's Liberation Army of China, Shanghai 200082, China; 5. Department of Gastroenterology, 971st Hospital of Navy, Qingdao 266000, China)

ABSTRACT Objective: To discuss the effect of erythritol on glucose and lipid metabolism in the body, and to clarify the mechanism of erythritol affecting liver metabolism based on metabonomics. **Methods:** The male ICR mice were randomly divided into normal group, sucrose group (2% sucrose), low dose of erythritol (1% erythritol) group, medium dose of erythritol (2% erythritol) group, and high dose of erythritol (4% erythritol) group, with 10 mice in each group. The corresponding concentrations of sucrose and erythritol solutions were prepared and placed in water bottles, and the mice were allowed to drink and eat freely for 12 consecutive weeks; the body mass, food intakes, and water intakes of the mice in various groups were measured. Commercial kits were used to detect the serum triglyceride (TG), total cholesterol (TC), and blood glucose levels of the mice in various groups; the liver indexes of the mice were calculated. Ultra performance liquid chromatography-orbitrap exactive mass spectrometry (UPLC-OE-MS) non-targeted metabonomics was used to detect the liver metabolites of the mice normal group and high dose of erythritol group; bioinformatics analysis was used to screen the differential liver metabolites between the two groups with variable importance in projection (VIP) > 1 and adjusted $P < 0.05$; Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) signaling pathway enrichment analysis were performed to investigate the functional roles of the differential liver metabolites. **Results:** Compared with normal group, there were no significant differences in the body mass, food intake, liver index, and blood lipid levels of the mice in various groups ($P > 0.05$); compared with normal group, the blood glucose level of the mice in high dose of erythritol group was significantly increased ($P < 0.01$). The metabonomics analysis of the liver tissues of the mice in two groups identified 1 144 metabolites, mainly including lipids and lipid-like molecules (17.39%), organic acids and derivatives (10.87%), organic heterocyclic compounds (5.80%), and organic oxygen compounds (5.07%). Compared with normal group, there were 138 differential liver metabolites in the mice in high dose of erythritol group, among which 112 metabolites were up-regulated and 26 metabolites were down-regulated. The KEGG signal pathway enrichment analysis results showed that the differential metabolites were mainly enriched in metabolism, steroid hormone biosynthesis, cortisol synthesis and metabolism, and Cushing's syndrome pathways; the further topological analysis of the metabolic pathways results showed that the differential metabolites were mainly involved in sphingolipid metabolism, tricarboxylic acid cycle, riboflavin metabolism, steroid hormone biosynthesis, and purine metabolism signal pathways. **Conclusion:** Long-term intake of high dose of erythritol can increase the blood glucose level in the mice, and the mechanism may be that it affects the tricarboxylic acid cycle by interfering with riboflavin metabolism and interferes with sphingolipid metabolism, leading to impairment of the blood glucose control system.

KEYWORDS Erythritol; Metabonomics; Blood glucose; Sphingolipid metabolism; Tricarboxylic acid cycle; Riboflavin metabolism

糖是维持机体基础生理功能必不可缺的营养物质之一,但过度摄入可导致肥胖、糖尿病等多种代谢性疾病,并增加心血管疾病的发生风险。全球每年约有1 100万人因不健康饮食致死,其中过度摄入糖类是主要的危险因素^[1]。在糖尿病等多种慢性疾病的预防和治疗中,尤其强调减少糖类的摄

入^[2]。如何在满足口感的同时减少热量摄入,寻找安全有效的“代糖”已成为营养和食品科技领域日益关注的热点。赤藓糖醇是一种四碳多元醇,于1999年被联合国粮农组织/世界卫生组织食品添加剂联合专家委员会(Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA)批准用作

甜味剂,广泛应用于食品添加行业^[3]。赤藓糖醇具有热量低、口感好和吸湿性低等特点,甜度为蔗糖的70%~80%,热量仅为蔗糖的5%,由此被称为“零”热量甜味剂。赤藓糖醇具有较为独特的代谢途径,不直接升高血糖,成为糖尿病患者的理想甜味品^[4]。然而,研究^[5-7]表明:低热量并不代表健康,长期摄入代糖会导致糖耐量受损和代谢紊乱,甚至增加癌症发生风险。WITKOWSKI等^[8]研究表明:赤藓糖醇可能会加速血栓形成,增加中风和心脏病发作的风险。张荣欣等^[9]研究表明:单次口服赤藓糖醇并不影响血糖和胰岛素水平,但长期过量摄入赤藓糖醇是否会影响糖脂代谢尚不清楚。本研究分析不同剂量赤藓糖醇对ICR小鼠糖脂代谢的影响,采用代谢组学技术检测肝脏代谢物的变化,分析差异代谢物并结合生物信息学方法富集代谢通路,评价赤藓糖醇对肝脏代谢的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物、主要试剂和仪器

SPF级雄性ICR小鼠,体质量18~20 g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,动物生产许可证号:SCXK(京)2021-0006。小鼠饲养于湿度(50±5)%、温度(22±2)℃环境中,每日12 h光照,黑暗交替。

赤藓糖醇购自美国Supelco公司;蔗糖购自美国Sigma公司;甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)和葡萄糖试剂盒购自南京建成生物工程研究所;甲醇、乙腈、乙酸铵和乙酸均为色谱级,购自美国Thermo Fisher公司。UltiMate 3000超高效液相、Orbitrap Exploris 120高分辨质谱和Heraeus Fresco 17离心机购自美国Thermo Fisher公司, Spectra Max i3x多功能酶标仪购自美国Molecular Devices公司,超纯水机购自美国Millipore公司。

1.2 实验动物分组和处理

取50只小鼠,适应性喂养1周后,随机分为正常组、蔗糖组、低剂量赤藓糖醇组、中剂量赤藓糖醇组和高剂量赤藓糖醇组,每组10只。正常组小鼠饮用自来水。蔗糖组小鼠给予含2%蔗糖的自来水。低剂量、中剂量和高剂量赤藓糖醇组分别给予含1%、2%及4%赤藓糖醇的自来水。实验期间,小鼠可自由饮水和进食,连续12周。每周称量各组小鼠体质量,每日早晚对每组小鼠的食物和饮用水进行称质量,根据早晚食物和饮水的质量差确定

各组小鼠每日进食量(g)和饮水量(mL)。

1.3 试剂盒检测各组小鼠血清中TG、TC和血糖水平及计算肝脏指数

空腹12 h后,取各组小鼠进行眼眶后静脉丛采血,4 000 r·min⁻¹离心收集血清,采用试剂盒检测血清中TG、TC和血糖水平。用剪刀垂直切断各组小鼠颈部以处死小鼠。冰上分离小鼠肝脏组织,称量各组小鼠肝质量,计算肝脏指数。肝脏指数=(肝质量/体质量)×100%。

1.4 2组小鼠肝脏代谢物非靶向代谢组学分析

取正常组和高剂量赤藓糖醇组小鼠肝组织进行分析,超高效液相色谱-轨道阱高分辨质谱(ultra performalnce liquid chromatography-orbitrap exactive mass spectrometry, UPLC-OE-MS)非靶向代谢组学委托上海百趣生物医学科技有限公司进行检测。

1.4.1 样本制备 每只小鼠称取25 mg肝组织,加入500 μL提取液(甲醇:水=3:1,含同位素标记内标混合物);35 Hz研磨处理4 min,冰水浴中超声5 min;重复2~3次后,-40℃静置1 h。将样品于4℃、12 000 r·min⁻¹离心15 min。取上清,进样上机检测,所有样本均另取等量上清混合成质量控制(quality control, QC)样本上机检测。

1.4.2 色谱条件 采用Vanquish超高效液相色谱仪,通过Waters ACQUITY UPLC HSS T3(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)液相色谱柱对目标化合物进行色谱分离。液相色谱A为水相,含5 mmol·L⁻¹乙酸铵和5 mmol·L⁻¹乙酸, B相为乙腈。样品盘温度为4℃,进样体积为2 μL。

1.4.3 质谱条件 采用Orbitrap Exploris 120质谱仪在控制软件(Xcalibur,版本4.4, Thermo)控制下进行一级、二级质谱数据采集。设定参数:鞘层气体流速50 Arb;辅助气体流速15 Arb;离子传输管温度320℃;全MS分辨率为60 000;多级质谱MS/MS分辨率为15 000;碰撞能量标准化(normalized collision energy, NCE)模式碰撞能量:10/30/60;喷射电压:3.8 kV(正)或-3.4 kV(负)。

1.4.4 数据处理 原始数据经ProteoWizard转换后,使用基于XCMS的流程进行峰识别、峰对齐和峰积分,得到一个包含所有代谢特征(m/z-RT对)的特征表,其内容为峰面积强度。随后,进行代谢物注释。首先,将实验采集的二级质谱(MS/MS)数据与含有标准品信息的自建数据库BiotreeDB(V2.1)进行匹配(匹配得分阈值设为

0.3)。对于未匹配到的代谢特征,进一步将其MS/MS谱图与人类代谢组数据库(Human Metabolome Database, HMDB)进行匹配(得分阈值为0.3)。基于注释结果,将矩阵中未匹配或匹配得分低的特征过滤掉,保留可信的代谢物进行后续分析。

使用SIMCA-P软件(版本13.0.3)进行正交偏最小二乘法判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA),并通过置换检验验证模型有效性。使用R语言ropls包(1.40.0)计算OPLS-DA模型中的变量重要性投影(variable importance in the projection, VIP)值。差异代谢物的筛选标准为VIP>1且经错误发现率(false discovery rate, FDR)校正后 t 检验 P 值<0.05。使用R语言clusterProfiler包(4.16.0)对差异代谢物进行京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)信号通路富集分析。

1.5 统计学分析

采用SPSS 25.0统计软件进行统计学分析。各组小鼠体质量、进食量和饮水量及血清中TG、TC、血糖水平和肝脏指数均符合正态分布,以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间样本均数比较采用单因素方差分析,组间样本均数两两比较采用LSD- t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠体质量、每日进食量、饮水量和肝脏指数

各组小鼠体质量、每日进食量和肝脏指数比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。与正常组比较,蔗糖组小鼠饮水量明显增加($P<0.05$),低、中和高剂量赤藓糖醇组小鼠饮水量比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

2.2 各组小鼠血清中TG、TC和血糖水平

各组小鼠血清中TG和TC水平比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。与正常组比较,高剂量赤藓糖醇组小鼠血糖水平明显升高($P<0.01$)。见表2。

表1 各组小鼠体质量、进食量、饮水量和肝脏指数

Tab. 1 Body mass, food intakes, water intakes, and liver indexes of mice in various groups ($n=10, \bar{x}\pm s$)

Group	Body mass (m/g)	Food intake (m/g)	Water intake (V/mL)	Liver index ($\eta/\%$)
Normal	39.9 \pm 5.3	5.71 \pm 0.87	8.23 \pm 1.02	3.47 \pm 0.34
Sucrose	40.4 \pm 5.9	6.02 \pm 0.69	9.96 \pm 1.13*	4.01 \pm 0.42
Erythritol				
Low dose	38.3 \pm 4.7	5.15 \pm 0.73	7.18 \pm 0.89	3.68 \pm 0.37
Medium dose	39.1 \pm 5.6	5.32 \pm 0.56	7.74 \pm 0.87	3.79 \pm 0.41
High dose	39.3 \pm 4.8	5.43 \pm 0.68	8.32 \pm 0.95	3.97 \pm 0.39

* $P<0.05$ vs normal group.

表2 各组小鼠血清中TG、TC和血糖水平

Tab. 2 Levels of blood lipids and blood glucose of mice in various groups [$n=10, \bar{x}\pm s, c_B/(mmol\cdot L^{-1})$]

Group	TG	TC	Glucose
Normal	1.49 \pm 0.32	4.47 \pm 0.67	4.51 \pm 0.31
Sucrose	1.37 \pm 0.39	5.21 \pm 0.64	4.62 \pm 0.35
Erythritol			
Low dose	1.29 \pm 0.27	4.38 \pm 0.73	4.35 \pm 0.37
Medium dose	1.42 \pm 0.29	4.52 \pm 0.58	5.23 \pm 0.41
High dose	1.65 \pm 0.26	4.77 \pm 0.39	6.65 \pm 0.57*

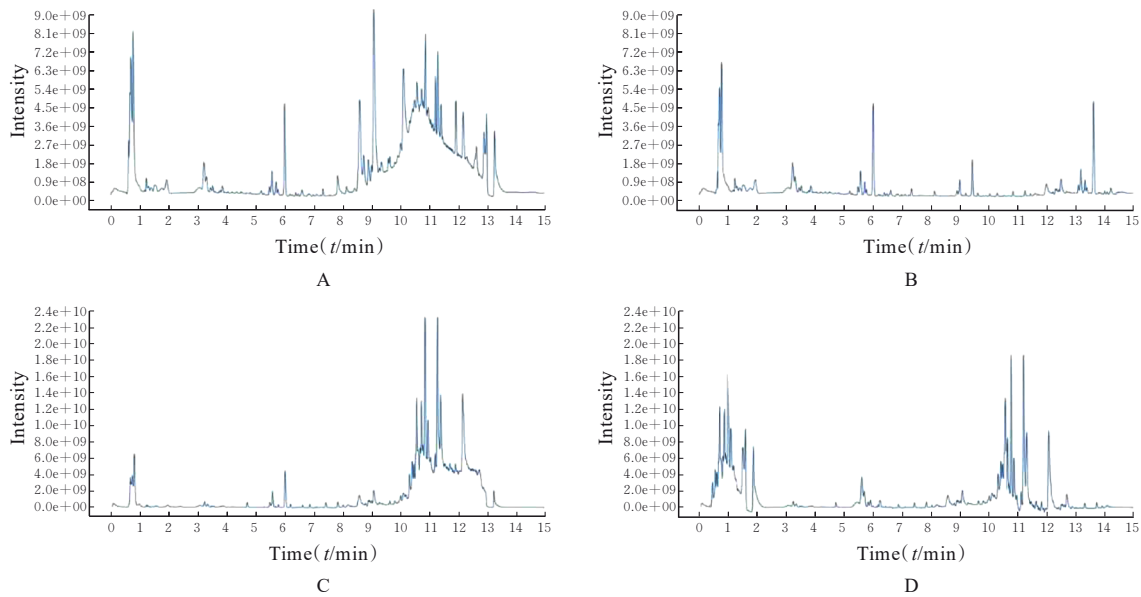
* $P<0.01$ vs normal group.

2.3 2组小鼠肝脏代谢物的定性分析

采用UPLC-OE-MS分析正、负离子模式下

2组小鼠肝脏代谢物的非靶向代谢组学,总离子流图(total ion chromatogram, TIC)见图1。为验证实验系统的稳定性,采用二维主成分分析(principal component analysis, PCA)对QC样品和2组待测样品进行处理,可见2组样本点分别紧密聚集,表明检测系统和方法稳定可靠。见图2。

2组小鼠肝组织样品共检测到34 731个特征峰,通过对原始数据进行偏离值过滤、缺失值过滤和填补及归一化等一系列处理后,共得到23 470个物质峰。通过自建数据库BiotreeDB和HMDB数据库对物质峰进行定性,共鉴定到1 144个代谢物。对鉴定到的代谢物进行分类鉴定,主要包括脂质和脂类小分子(17.39%)、有机酸及衍生物



A, B: Representative samples of high dose of erythritol group; C, D: Representative samples of normal group; A, C: Positive ion pattern; B, D: Negative ion pattern.

图1 UPLC-OE-MS分析正、负离子模式下2组小鼠肝脏组织总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatograms of liver tissue of mice in two groups in positive and negative ion modes analyzed by UPLC-OE-MS

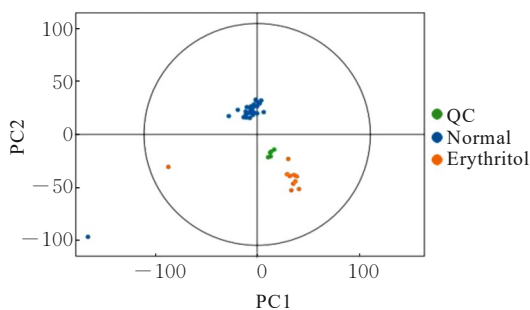


图2 QC样本的二维PCA得分图

Fig. 2 Two-dimensional PCA score plots of QC samples

(10.87%)、有机杂环化合物(5.80%)和有机氧化物(5.07%)等。见图3。

2.4 2组小鼠肝脏代谢物PCA分析和OPLS-DA分析

对2组小鼠肝脏代谢物进行主成分分析,结果显示:样本基本处于95%置信区间内。进一步采用OPLS-DA模型进行分析,结果显示:累积 R^2Y 值为0.988,累积 Q^2 值为0.493,2组样本分别聚类为一类,且完全分离,表明2组小鼠肝脏代谢物存在明显差异。见图4。

2.5 2组小鼠肝脏差异代谢物筛选

以 $VIP > 1$ 且校正后 $P < 0.05$ 为筛选条件,得到

2组小鼠肝脏差异代谢物共138个,其中高剂量赤藓糖醇组上调112个,下调26个。聚类分析结果显示:按照差异倍数排名,排名靠前的上调代谢物包括3-酮基-二氢鞘氨醇、乙酰磷酸、琥珀酰肉毒碱、异亮氨酸丙氨酸和3-脱氧鞘氨醇等,排名靠前的下调代谢物包括黄苷素、塞多庚糖-7-磷酸、丙酰左卡尼汀、磷泛酰巯基乙胺和 γ -谷氨酰缬氨酸等。见图5。

2.6 2组小鼠差异代谢物通路富集分析

2组小鼠肝脏差异代谢物KEGG通路分析结果显示:这些差异代谢物主要富集于物质代谢、类固醇激素生物合成、皮质醇合成与代谢和库欣综合征等通路。进一步对代谢通路进行富集分析,结果显示:差异代谢物主要涉及鞘脂代谢、核黄素代谢、嘌呤代谢(包括黄苷素)和三羧酸循环(包括异柠檬酸)等代谢途径。与正常组比较,高剂量赤藓糖醇组小鼠肝脏差异代谢物3-脱氧鞘氨醇、O-磷酸乙醇胺、异柠檬酸、腺苷酸和鸟苷酸水平均明显升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),差异代谢物黄素单核苷酸(flavin mononucleotide, FMN)和黄嘌呤核苷水平均明显降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。见图6和7。

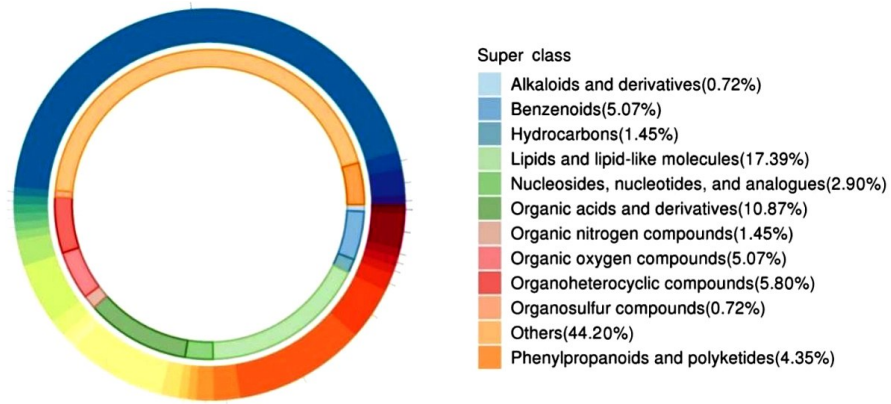


图3 2组小鼠肝组织代谢物的分类和鉴定

Fig. 3 Classification and identification of liver metabolites of mice in two groups

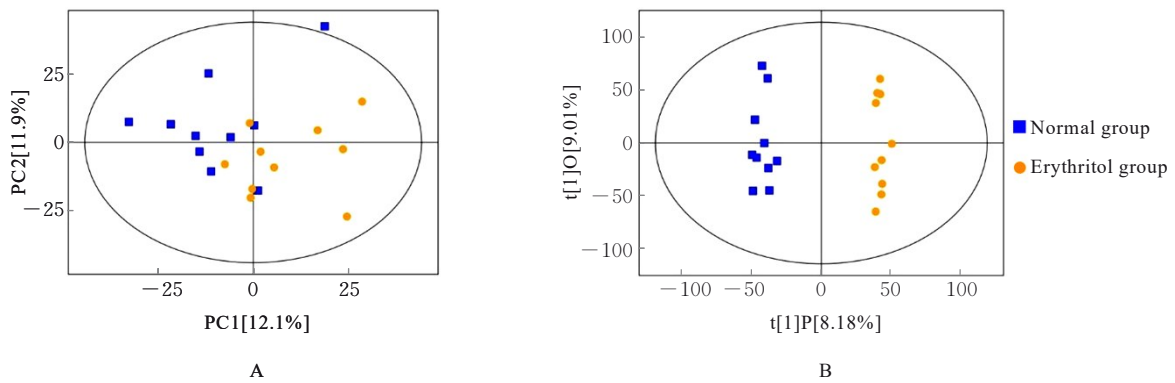


图4 2组小鼠肝脏代谢物PCA主成分分析(A)和OPLS-DA得分图(B)

Fig. 4 PCA principal component analysis(A) and OPLS-DA score plot(B) of liver metabolites of mice in two groups

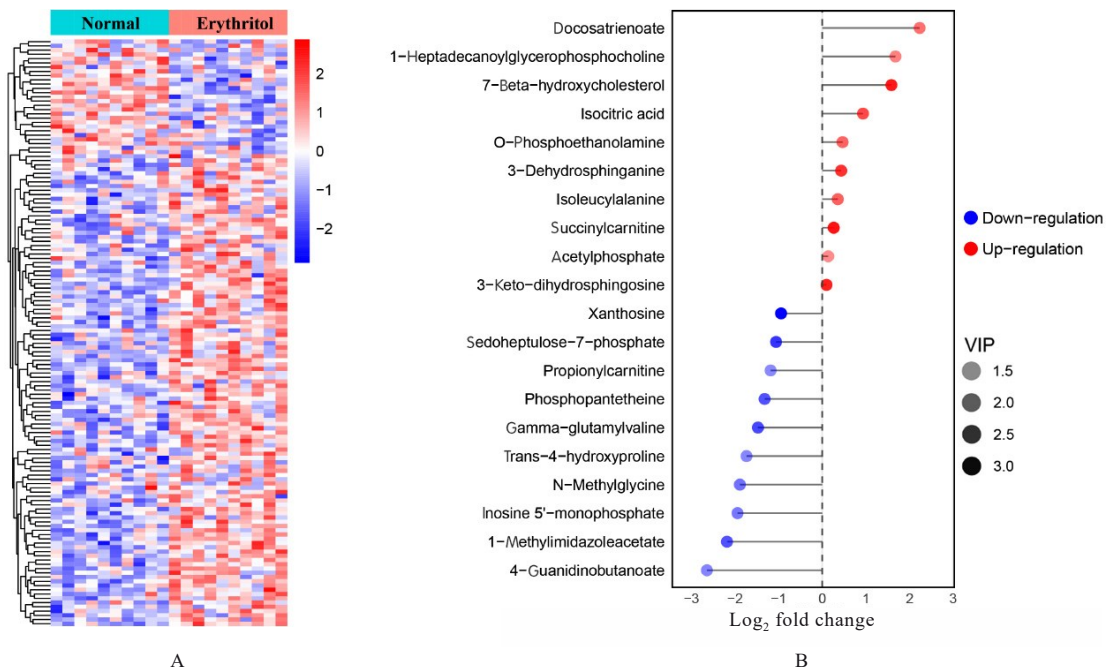
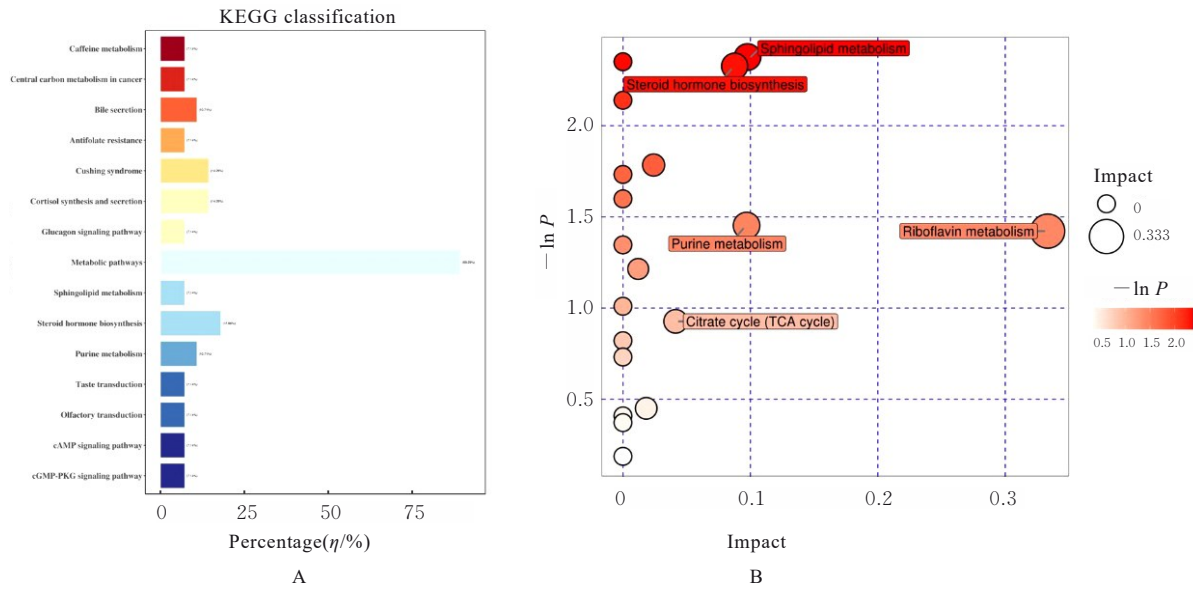


图5 2组小鼠肝脏代谢物的差异分析

Fig. 5 Differential analysis of liver metabolites of mice in two groups



A: KEGG signaling enrichment analysis; B: Metabolic pathway enrichment analysis.

图6 2组小鼠肝脏差异代谢物KEGG通路信号富集分析

Fig. 6 KEGG signaling pathway enrichment analysis of differential liver metabolites of mice in two groups

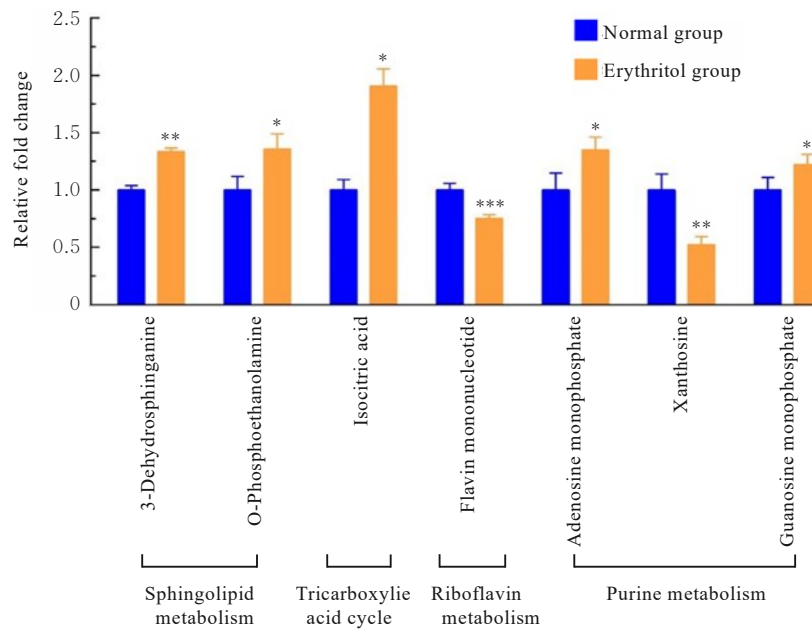
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs normal group.

图7 2组小鼠代谢途径相关的差异肝脏代谢物水平

Fig. 7 Levels of differential liver metabolites associated with metabolic pathways of mice in two groups

3 讨论

2022年中国食品科学技术学会《赤藓糖醇的科学共识》强调：赤藓糖醇作为食品添加剂的安全性虽获国内外权威机构认可，但仍需加强科学研究以推动科学认知^[10]。作为一种新型优质甜味剂，赤藓糖醇具有众多优点，但长期过量摄入是否会引

起代谢紊乱尚不明确。我国标准《GB 2760—2014》批准赤藓糖醇作为食品添加剂，可按生产需要适量使用，未规定具体限量数值^[11]。JECFA于1999年批准赤藓糖醇作为食用甜味剂，且未规定每日允许摄入量（allowable daily intake, ADI）值。2001年，美国食品药品监督管理局（Food and Drug

Administration, FDA) 规定赤藓糖醇的成年人每日最大耐受剂量为 $780 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ [12]。本研究结果显示: 高剂量赤藓糖醇组小鼠连续饮用12周含4%赤藓糖醇饮用水后, 血脂水平无明显变化, 但血糖水平明显升高。以小鼠每日平均饮水量为8.32 mL计算, 该组小鼠赤藓糖醇每日摄入量为 $8468 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 以体表面积系数为9.1折算为人体等效剂量 $930.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 高于美国FDA规定的最大耐受剂量。这表明长期摄入过量赤藓糖醇可能干扰糖代谢, 导致血糖控制系统紊乱, 血糖升高。

肝脏在调控机体糖代谢平衡和维持血糖稳定方面发挥重要作用。为了观察赤藓糖醇对肝脏代谢的影响, 本研究采用UPLC-OE-MS非靶向代谢组学检测了2组小鼠肝脏代谢物的变化, 共鉴定到1144个代谢物, 主要包括脂质和脂类小分子、有机酸及衍生物、有机杂环化合物和有机氧化合物等; PCA和OPLS-DA模型分析结果表明正常组和高剂量赤藓糖醇组小鼠肝脏代谢物具有明显差异; 差异代谢物分析共得到138个差异代谢物, KEGG信号通路富集分析发现差异代谢物主要涉及鞘脂代谢、三羧酸循环、核黄素代谢、类固醇激素生物合成和嘌呤代谢等途径。

鞘脂代谢包含细胞内神经酰胺的合成与分解及其向复杂鞘脂转化的过程。研究 [13-15] 表明神经酰胺与胰岛素抵抗密切相关。研究 [16-18] 显示: 神经酰胺可抑制胰岛素信号通路中蛋白激酶B (protein kinase B, AKT) 磷酸化, 抑制葡萄糖转运蛋白4 (glucose transporter 4, GLUT4) 表达和移位; 降低细胞对葡萄糖的摄取, 诱导胰岛素抵抗; 通过激活 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK), 磷酸化胰岛素受体底物1 (insulin receptor substrate-1, IRS-1) 丝氨酸位点, 从而抑制其酪氨酸位点磷酸化, 阻碍胰岛素信号通路。此外, 神经酰胺可直接抑制线粒体呼吸链复合物I和III, 增加线粒体外膜通透性, 损伤线粒体结构和呼吸链功能 [19]。YUN等 [20] 研究表明: 14种鞘脂水平升高可导致胰岛 β 细胞功能受损, 增加2型糖尿病的发生风险; 调节鞘脂代谢可明显改善胰岛素抵抗, 降低糖尿病模型小鼠的血糖水平 [21-22]。本研究结果显示: 赤藓糖醇引起肝脏鞘脂代谢异常, 具体表现为肝脏中O-磷酸乙醇胺和3-酮基-二氢鞘氨醇含量明显升高, 表明赤藓糖醇可能通过干扰鞘脂代谢, 阻碍肝脏胰岛素信号传导, 进而导致机体血糖控制系统紊乱。

统紊乱。

三羧酸循环是糖类物质在有氧条件下代谢分解的主要途径, 中间产物包括柠檬酸、异柠檬酸、琥珀酸和延胡索酸等多种有机酸。本研究结果显示: 高剂量赤藓糖醇组小鼠肝脏中异柠檬酸水平明显升高, 提示赤藓糖醇可能造成异柠檬酸生成增多或进一步转化受阻。在三羧酸循环中, 异柠檬酸在异柠檬酸脱氢酶的作用下发生脱氢脱羧反应, 生成 α -酮戊二酸, 该反应需要烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺) 作为辅酶催化完成。核黄素, 即维生素B₂, 是细胞中多种脱氢酶的重要辅酶, 包括异柠檬酸脱氢酶、黄嘌呤氧化酶和NADH脱氢酶等, 参与三羧酸循环、呼吸链电子传递、脂类氧化、嘌呤代谢及类固醇激素合成等过程 [23]。本研究结果显示: 高剂量赤藓糖醇组小鼠肝脏中黄素单核苷酸水平明显降低, 表明赤藓糖醇干扰了核黄素代谢, 进而导致辅酶NAD⁺减少, 阻碍了三羧酸循环中异柠檬酸的转化。

综上所述, 长期摄入高剂量赤藓糖醇可引起小鼠血糖水平升高, 其机制可能涉及赤藓糖醇通过干扰核黄素代谢影响三羧酸循环, 并通过干扰鞘脂代谢导致血糖紊乱。本研究为合理规定赤藓糖醇安全用量标准及促进其科学使用提供参考。

利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献声明:

董震参与实验设计和实验操作, 吴月明参与数据分析, 高斌和高克威参与论文撰写, 于海涛参与论文审阅和修改。

[参考文献]

- [1] GUPTA R, WOOD D A. Primary prevention of ischaemic heart disease: populations, individuals, and health professionals[J]. Lancet, 2019, 394(10199): 685-696.
- [2] Chinese Diabetes Society. 中国2型糖尿病防治指南(2020年版)(上)[J]. 中国实用内科杂志, 2021, 41(8): 668-695.
- [3] WITKOWSKI M, WILCOX J, PROVINCE V, et al. Ingestion of the non-nutritive sweetener erythritol, but not glucose, enhances platelet reactivity and thrombosis potential in healthy volunteers-brief report [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2024, 44(9): 2136-2141.
- [4] 杨远志, 李发财, 帅斌, 等. 天然健康糖醇—赤藓糖

- 醇在低能量食品中的应用[J]. 中国食品添加剂, 2013, 24(1): 181-185.
- [5] SUEZ J, COHEN Y, VALDÉS-MAS R, et al. Personalized microbiome-driven effects of non-nutritive sweeteners on human glucose tolerance[J]. *Cell*, 2022, 185(18): 3307-3328.
- [6] LOHNER S, KUELLENBERG DE GAUDRY D, TOEWS I, et al. Non-nutritive sweeteners for diabetes mellitus[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2020, 5(5): CD012885.
- [7] LOHNER S, TOEWS I, MEERPOHL J J. Health outcomes of non-nutritive sweeteners: analysis of the research landscape[J]. *Nutr J*, 2017, 16(1): 55.
- [8] WITKOWSKI M, NEMET I, ALAMRI H, et al. The artificial sweetener erythritol and cardiovascular event risk[J]. *Nat Med*, 2023, 29(3): 710-718.
- [9] 张荣欣, 徐庆, 刘英华, 等. 芭尔糖及其组分对小鼠餐后血糖和胰岛素的影响[J]. 军医进修学院学报, 2012, 33(2): 127-129.
- [10] 中国食品科学技术学会. 赤藓糖醇的科学共识[J]. 中国食品学报, 2022, 22(12): 405-412.
- [11] 国家卫生计生委. 关于发布《食品安全国家标准食品添加剂使用标准》(GB2760—2014)等37项食品安全国家标准的公告[J]. 中国食品卫生杂志, 2015, 27(1): 98.
- [12] BAUDIER K M, KASCHOCK-MARENDAS D, PATEL N, et al. Erythritol, a non-nutritive sugar alcohol sweetener and the main component of *truvia*[®], is a palatable ingested insecticide[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e98949.
- [13] XIA Q S, LU F E, WU F, et al. New role for ceramide in hypoxia and insulin resistance [J]. *World J Gastroenterol*, 2020, 26(18): 2177-2186.
- [14] ROSZCZYC-OWSIEJCZUK K, ZABIELSKI P. Sphingolipids as a culprit of mitochondrial dysfunction in insulin resistance and type 2 diabetes [J]. *Front Endocrinol*, 2021, 12: 635175.
- [15] 曾龙海, 卜路芳, 熊艳, 等. 阿尔茨海默病和2型糖尿病共同发病机制和干预措施的研究进展[J]. 中风与神经疾病杂志, 2024, 41(8): 692-697.
- [16] HAGE HASSAN R, BOURRON O, HAJDUCH E. Defect of insulin signal in peripheral tissues: Important role of ceramide[J]. *World J Diabetes*, 2014, 5(3): 244-257.
- [17] 吴云冲, 杨颜颜, 李川, 等. 炎症细胞因子在肝硬化患者糖代谢紊乱中的作用[J]. 临床肝胆病杂志, 2024, 40(9): 1886-1890.
- [18] MOHAMMADTAGHVAEI N, TAHERIPAK G, TAGHIKHANI M, et al. Palmitate-induced PTP1B expression is mediated by ceramide-JNK and nuclear factor κ B (NF- κ B) activation[J]. *Cell Signal*, 2012, 24(10): 1964-1970.
- [19] DI PAOLA M, COCCO T, LORUSSO M. Ceramide interaction with the respiratory chain of heart mitochondria[J]. *Biochemistry*, 2000, 39(22): 6660-6668.
- [20] YUN H, SUN L, WU Q Q, et al. Associations among circulating sphingolipids, β -cell function, and risk of developing type 2 diabetes: a population-based cohort study in China[J]. *PLoS Med*, 2020, 17(12): e1003451.
- [21] HOLM L J, HAUPT-JORGENSEN M, GIACOBINI J D, et al. Fenofibrate increases very-long-chain sphingolipids and improves blood glucose homeostasis in NOD mice[J]. *Diabetologia*, 2019, 62(12): 2262-2272.
- [22] CHAURASIA B, TIPPETTS T S, MAYORAL MONIBAS R, et al. Targeting a ceramide double bond improves insulin resistance and hepatic steatosis[J]. *Science*, 2019, 365(6451): 386-392.
- [23] 项昭保, 戴传云, 朱鑫庆. 核黄素生理生化特征及其功能[J]. 食品研究与开发, 2004, 25(6): 90-92, 95.