

综上所述,金思维能明显改善 APP 转基因小鼠海马 CA1 区神经元与突触的损伤,能提高突触相关蛋白 Shank1 的表达。为金思维开发成为治疗 AD 的新药提供了新的思路。然而金思维对神经损伤保护作用的深入机制还不清楚,有待进一步研究。

参考文献:

[1] Hardy J A, Higgins G A. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis [J]. *Science*, 1992, 256(5054): 184-185

[2] 徐意,田金洲,盛树力,等. 金思维对老年性痴呆模型大鼠突触后致密区蛋白的影响 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2006, 26(1): 54-57

[3] Nelson T J, Alkon D L. Oxidation of cholesterol by amyloid precursor protein and  $\beta$ -amyloid peptide [J]. *Biol Chem*, 2005, 280(8): 7377-7387

[4] Hashimoto M, Rockenstein E, Crews L, et al. Role of protein aggregation in mitochondrial dysfunction and neurodegeneration in Alzheimer's and Parkinson's diseases [J]. *Neuromol Med*, 2003, 4(122): 21-36

[5] Giovannini M G, Scali C, Prospero C, et al.  $\beta$ -amyloid induced inflammation and cholinergic hypofunction in the rat

brain *in vivo*: involvement of the p38MAPK pathway [J]. *Neurobiol Dis*, 2002, 11(2): 257

[6] Lotz M, Ebert S, Esselmann H, et al. Amyloid beta peptide 1-40 enhances the action of Toll-like receptor-2 and -4 agonists but antagonizes Toll-like receptor-9-induced inflammation in primary mouse microglial cell cultures [J]. *Neurochemistry*, 2005, 94(2): 289-298

[7] 秦川,朱华,张兵林,等. 阿尔茨海默症转基因动物模型脑组织病理学及免疫组化研究 [J]. *中国实验动物学报*, 2000, 8(4): 213-217

[8] 秦川,朱华,常洋,等. 阿尔茨海默症转基因小鼠的初步行为学评价 [J]. *上海实验动物科学*, 2000, 20(4): 210-212

[9] Moechars D, Dewachter I, Lorent K, et al. Early phenotypic changes in transgenic mice that overexpress different mutants of amyloid precursor protein in brain [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(10): 6483-6492

[10] Iki J, Inoue A, Bito H, et al. Bi-directional regulation of postsynaptic cactactin distribution by BDNF and NMDA receptor activity [J]. *Eur J Neurosci*, 2005, 22(12): 2985-2994

## 灵芝孢子油对 N-甲基-N-亚硝脲诱导大鼠视网膜光感受器细胞损伤的影响

邓新国,林晓峰,高 杨,孙倩娜,钟志强\*

(中山大学中山眼科中心 中山大学眼科学国家重点实验室,广东 广州 510060)

**摘要:**目的 探讨灵芝孢子油对 N-甲基-N-亚硝脲(MNU)诱导的大鼠视网膜光感受器细胞变性动物模型的治疗作用,为防治视网膜变性提供一种有价值的现代化中药。方法 大鼠随机分为 5 组,对照组、灵芝孢子油治疗组、二十二碳六烯酸(DHA)治疗组、灵芝孢子油+DHA 治疗组和模型组,在造模前 2 d 用不同的药物 ig 给药,第 3 天采用 40 mg/kg MNU 单次剂量 ip 造模,造模后继续 ig 给药至第 10 天,造模后 1、3、5、7、10 d 进行视网膜电图(ERG)检查,并取眼球进行眼病理检查。结果 不同用药组各时间点的 b 波振幅明显高于模型组 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ );灵芝孢子油组的 a 波振幅明显高于模型组 ( $P < 0.05$ ),但与 DHA 组和灵芝孢子油+DHA 组相比较,无明显差异 ( $P > 0.05$ )。眼病理结果,不同用药组在各个时间点与相应的模型组比较,MNU 诱导的大鼠视网膜光感受器损伤均明显减轻 ( $P < 0.05$ )。结论 灵芝孢子油和 DHA 可减轻 MNU 对大鼠视网膜光感受器细胞的损伤程度,促进 MNU 诱导的大鼠视网膜光感受器细胞损伤的功能恢复。

**关键词:**灵芝孢子油;光感受器细胞;视网膜色素变性

中图分类号:R285.5 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2009)03-0415-06

### Effect of oil in *Ganoderma lucidum* spores on retina photoreceptor damage of rats induced by N-methyl-N-nitrosourea

DENG Xin-guo, LIN Xiao-feng, GAO Yang, SUN Qian-na, ZHONG Zhi-qiang

(State Key Laboratory of Ophthalmology, Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, China)

**Abstract: Objective** To approach the therapeutical effect of the oil in *Ganoderma lucidum* spores (OGLS) on the retina photoreceptor damage of rats induced by N-methyl-N-nitrosourea (MNU) and look

\* 收稿日期:2008-07-08

基金项目:教育部博士点基金新教师项目(20070558281)

作者简介:邓新国(1961-),男,河南郑州人,副研究员,博士,硕士生导师,研究方向为视网膜变性和干眼病的基础和临床研究。

Tel: (020) 87330289 E-mail: dengxg61@163.net

for a kind of effective modern Chinese materia medica for preventing and treating retinitis pigmentosa.

**Methods** Sprague-Dawley (SD) rats (150) were randomly divided into five groups: normal group, OGLS group, docosahexaenoic acid (DHA) group, OGLS combined with DHA group, and model group. After two days of ig administration with different medicines, besides the rats in normal group, the rats in the other groups were received a single dose of MNU (40 mg/kg) by ip injection in day 5. At different times, 1, 3, 5, 7, and 10 d, six rats in the different groups were examined with electroretinogram and their eyes were enucleated after sacrificing rats for pathological examination.

**Results** The results from ocular electroretinogram showed that the b wave amplitude of different medical treated groups was obviously higher than those of MNU model group at various time points,  $P < 0.05$ , or  $P < 0.01$ . The a wave amplitude of OGLS group was higher than those of MNU model group,  $P < 0.05$ , but it was not significant by comparing with DHA group and OGLS combined with DHA group,  $P > 0.05$ . The results from ocular pathology showed that the retinal photoreceptor damage of rats induced by MNU was obviously relieved in the different groups at various time points, compared with MNU model group,  $P < 0.05$ .

**Conclusion** The final results suggest that OGLS and DHA could relieve retinal photoreceptor damage of rats induced by MNU and promote retinal functional recovery.

**Key words:** the oil in *Ganoderma lucidum* spores (OGLS); photoreceptor; retinitis pigmentosa

视网膜色素变性 (retinitis pigmentosa, RP) 是一组进行性的可致盲的单基因遗传性视网膜疾病,以视网膜光感受器和色素上皮功能进行性受损为主要特征,发病率约为 0.025%,全世界受累人数约为 100 余万人<sup>[1]</sup>。针对视网膜变性目前应用于研究的动物模型主要有 4 类,包括遗传性视网膜色素变性动物模型 (rd 小鼠、rds 小鼠和 RCS 大鼠)、基因敲除或转基因动物模型、光照损伤和化学物质致突变剂 *N*-甲基-*N*-亚硝脲 (*N*-methyl-*N*-nitrosourea, MNU) 所致的视网膜光感受器细胞变性动物模型<sup>[2~4]</sup>。以上视网膜变性发生机制均是通过光感受器细胞凋亡所引起的,钙超载、自由基和氧化损伤也起了关键的作用。对于 RP 的治疗至今未发现确切有效的方法和手段。目前从实验和临床上探索性治疗 RP 的方法主要有基因治疗、药物治疗、视网膜移植治疗、干细胞移植治疗和人工视网膜植入<sup>[5~7]</sup>。现已证实,单次剂量 ip MNU 可特异性导致视网膜光感受器细胞的损伤和死亡,该模型是用于实验研究较为理想的视网膜变性动物模型<sup>[4]</sup>。灵芝孢子油是采用 CO<sub>2</sub> 超临界萃取技术从灵芝孢子中提取的油状物质,含有三萜类、多糖类和核苷类等有效成分,具有免疫调节功能、降低化学性和免疫性肝损害、抗氧化和清除自由基、抗肿瘤等广泛的药理作用<sup>[8,9]</sup>。新近研究表明,灵芝孢子油对大脑神经元的损伤有保护作用<sup>[10]</sup>。因此,本研究拟探讨灵芝孢子油对视网膜光感受器细胞损伤的保护作用,期望找到一种防治 RP 的现代中药。

## 1 材料

1.1 实验动物: SD 大鼠 150 只,购于广州中医药

大学实验动物中心,动物合格证号为 SCXK(粤)2003-0001,体质量 110~130 g,饲养于中山大学中山眼科中心动物中心,SPF 饲养条件,温度 (22 ± 2) °C,循环光照 (光照 12 h,黑暗 12 h)。

1.2 药品和试剂: MNU 购于美国 Sigma 公司, -20 °C 冰箱保存;灵芝孢子油、二十二碳六烯酸 (docosahexaenoic acid, DHA) 和灵芝孢子油+DHA 购自 Holistal International Ltd.,批号分别是 B05060102、B05060040、B05060102。Methacarn 固定液由 60% 甲醛、30% 氯仿和 10% 冰醋酸组成,甲醛、氯仿和冰醋酸均为分析纯,广州化学试剂厂生产;美多丽为日本参天制药产品;氯胺酮购于福建古田药业有限公司;氯丙嗪购于江苏林海药业有限公司。

1.3 仪器设备: 日本光电公司 Neuropack 一(⊕)型电生理仪,刺激系统为美国 LKC 公司 Grass PS-22 光刺激器和全视野刺激球;德国徕卡手动转轮切片仪;日本 Olympus 生物显微镜。

## 2 方法

2.1 动物分组和取材: 采用 50 日龄的雌性 SD 大鼠 150 只,饲养 2 d 后,随机分为 5 组,对照组 (ig 赋形剂)、灵芝孢子油治疗组 (ig 灵芝孢子油+赋形剂)、DHA 治疗组 (ig DHA+赋形剂)、灵芝孢子油+DHA 治疗组 (ig 灵芝孢子油+DHA+赋形剂) 和模型组 (ig 赋形剂)。在造模前 2 d 用不同的药物 ig 给药,每天 1 次,第 3 天采用 40 mg/kg 的 MNU 单次 ip 造模,造模当天和造模后继续 ig 给药,每天 1 次,至第 10 天。应用 0.5% 羟甲基纤维素作为赋形剂,给药体积为 1 mL,灵芝孢子油、DHA 用量为 2.0 g/kg,灵芝孢子油+DHA 用量为

各自 1.0 g/kg, 每天称大鼠体质量, 根据大鼠体质量计算药物用量。在造模后 1、3、5、7、10 d 各大鼠 ip 氯胺酮和氯丙嗪麻醉, 散瞳后做眼视网膜电流图检查 (ERG), 检查完后过量麻醉处死大鼠, 眼球灼烧做标记定位, 摘除眼球, 放入 Methacarn 液固定, 进行病理检查。

2.2 ERG 检查: 大鼠用美多丽眼液散瞳后, 暗适应 2 h, ip 氯胺酮 (50 mg/kg) 和氯丙嗪 (25 mg/kg) 麻醉, 再次散瞳, 滴 1% 卡因眼药水局麻和 0.5% 羟甲基纤维素钠眼液, 3 根电极分别放于大鼠尾部、舌下和眼表面, 采用 Neuropack 型电生理仪进行测定, 外部光刺激强度为 100 Hz, 同一眼球连续测定 2~4 次, 记录 a 波潜伏期、b 波潜伏期、a 波振幅、b 波振幅。

2.3 眼病理检查: Methacarn 液固定 24 h 后, 经角膜缘切开取出晶状体, 置于 50% 乙醇 1 h, 常规脱水包埋 (包埋时眼球水平放置), 切片厚度为 4 μm。通过视神经水平切片再经脱蜡, 苏木素染 10 min, 伊红复染 5 s 和中性树胶封片, 光学显微镜下观察视网膜光感受器细胞的损害程度, 并照相。

2.4 MNU 诱导视网膜外核层光感受器细胞损伤的分级: 视网膜外核层排列紊乱, 细胞核损伤, 但外核层厚度未见明显减少者为损伤 iv 级, 计 1 分; 视网

膜外核层排列紊乱、细胞核损伤程度小于外核层厚度的 1/2 者, 或外核层全层受损伤, 损伤范围约占整个外核层长度的 1/6 者, 为损伤 Ⅲ级, 计 2 分; 视网膜外核层全层受损伤, 损伤范围约占整个外核层长度的 1/4 者, 为损伤 Ⅳ级, 计 4 分; 视网膜外核层全层受损伤, 损伤范围约占整个外核层长度的 1/3 者, 为损伤 Ⅴ级, 计 8 分; 视网膜外核层全层受损伤, 损伤范围大于整个外核层长度的 1/2 者, 为损伤 Ⅵ级, 计 16 分。

2.5 大鼠熄灭型视网膜电图的判定: 大鼠眼视网膜电图呈直线, a 波振幅和 b 波振幅均为零。

2.6 统计学处理: 结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS 10.0 统计软件进行统计分析, 组间差异采用方差分析。

### 3 结果

3.1 对 MNU 诱导的大鼠视网膜光感受器细胞损伤 ERG 潜伏期的作用: 由表 1 可知, 除灵芝孢子油组的第 1 天和第 10 天外, 各组不同时间点与对照组比较, a 波潜伏期和 b 波潜伏期均明显缩短 ( $P < 0.05, 0.01$ ), 各组 a 波潜伏期和 b 波潜伏期在第 3、5 天缩短较为明显。不同用药组在不同时间点与模型组比较, a 波潜伏期和 b 波潜伏期无明显差异 ( $P > 0.05$ )。结果表明, 不同用药组对 MNU 所致的大鼠视网膜外核层光感受器细胞损伤的 ERG a

表 1 灵芝孢子油对 MNU 诱导的大鼠视网膜光感受器细胞损伤 ERG 潜伏期的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 11$ )

Table 1 Effect of OGLS on latent periods of electroretinogram in retinal photoreceptor damage of rats induced by MNU ( $\bar{x} \pm s, n = 11$ )

组别	剂量/ (g · kg <sup>-1</sup> )	不同时间点的 ERG 潜伏期/ms					
		第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 10 天	
对照	-	a 波	17.23 ± 2.69	17.16 ± 2.30	17.38 ± 2.67	17.26 ± 1.91	17.10 ± 2.44
		b 波	75.16 ± 5.84	75.72 ± 6.04	74.76 ± 6.68	73.96 ± 7.20	73.85 ± 6.23
灵芝孢子油	2	a 波	14.16 ± 7.65	10.46 ± 9.20*	10.35 ± 9.13*	10.45 ± 9.23*	12.43 ± 8.69
		b 波	57.63 ± 31.49	43.28 ± 37.61*	42.92 ± 37.46*	43.46 ± 38.81*	51.52 ± 36.15
DHA	2	a 波	10.35 ± 9.02*	8.64 ± 9.91*	8.30 ± 8.81**	9.01 ± 9.56*	10.42 ± 9.10*
		b 波	43.92 ± 38.08*	35.10 ± 37.34**	34.92 ± 36.97**	36.24 ± 38.45**	43.23 ± 37.88*
灵芝孢子油+ DHA	1+1	a 波	10.35 ± 9.05*	8.37 ± 8.93**	6.47 ± 8.98**	8.52 ± 9.15**	10.22 ± 8.88*
		b 波	43.59 ± 37.90*	35.33 ± 37.72**	35.94 ± 38.12*	36.58 ± 38.75**	41.92 ± 36.39*
模型	-	a 波	6.21 ± 8.17***	3.33 ± 7.03***	3.02 ± 6.37***	3.62 ± 7.64***	6.76 ± 8.73**
		b 波	28.70 ± 37.64**	13.59 ± 28.67**	14.04 ± 29.84***	14.44 ± 30.47***	27.77 ± 36.17***

与对照组比较: \*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$  \*\*\*  $P < 0.001$

\*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$  \*\*\*  $P < 0.001$  vs control group

波潜伏期和 b 波潜伏期无明显影响。

3.2 对 MNU 诱导的大鼠视网膜光感受器细胞损伤 ERG 振幅的作用: 由表 2 可知, 不同用药组各时间点与对照组相比较, a 波振幅和 b 波振幅均明显下降 ( $P < 0.05, 0.01$ ); 不同用药组各时间点的 b 波振幅明显高于模型组 ( $P < 0.05, 0.01$ ); 灵芝孢子油组的 a 波振幅和 b 波振幅与 DHA 组和灵芝孢子

油+ DHA 组相比较, 无明显差异 ( $P > 0.05$ )。各组 a 波振幅和 b 波振幅在第 3、5 天降低较为明显。降低强度为灵芝孢子油组+ DHA 组或 DHA 组 > 灵芝孢子油组。结果表明, 灵芝孢子油和 DHA 对 MNU 诱导的大鼠视网膜外核层细胞损伤 ERG 的 a 波振幅和 b 波振幅的降低, 有不同程度的阻抑作用。

3.3 各组大鼠熄灭型 ERG 出现频率比较: 由表 3

表 2 灵芝孢子油对 MNU 诱导的大鼠视网膜光感受器细胞损伤 ERG 振幅的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=11$ )

Table 2 Effect of OGLS on amplitudes of electroretinogram in retinal photoreceptor damage of rats induced by MNU ( $\bar{x} \pm s, n=11$ )

组别	剂量/ (g · kg <sup>-1</sup> )		不同时间点的 ERG 振幅/ $\mu$ V				
			第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 10 天
对照	2	a 波	45.87 ± 7.97	46.42 ± 8.92	45.40 ± 5.98	45.28 ± 7.75	44.91 ± 7.35
		b 波	243.00 ± 42.97	240.50 ± 40.55	235.60 ± 39.71	240.30 ± 41.07	242.80 ± 45.69
灵芝孢子油	2	a 波	28.08 ± 18.68* <sup>△</sup>	20.23 ± 19.92** <sup>△</sup>	16.83 ± 14.95*** <sup>△</sup>	19.70 ± 22.94*** <sup>△</sup>	22.16 ± 18.16*** <sup>△</sup>
		b 波	94.91 ± 69.19*** <sup>△△</sup>	76.10 ± 67.61*** <sup>△△</sup>	67.78 ± 55.18*** <sup>△△</sup>	72.62 ± 65.12*** <sup>△</sup>	86.95 ± 63.5*** <sup>△△</sup>
DHA	2	a 波	18.43 ± 17.94***	14.13 ± 15.71***	10.27 ± 11.15***	16.61 ± 18.95***	19.70 ± 17.97**
		b 波	66.90 ± 61.16*** <sup>△</sup>	59.43 ± 65.22*** <sup>△</sup>	47.85 ± 52.05*** <sup>△</sup>	53.93 ± 58.06*** <sup>△</sup>	64.71 ± 57.60*** <sup>△</sup>
灵芝孢子油+ DHA	1+1	a 波	16.79 ± 15.67***	12.80 ± 14.31***	9.11 ± 10.02***	12.06 ± 13.26***	16.43 ± 14.77**
		b 波	63.99 ± 57.55*** <sup>△</sup>	48.29 ± 51.77*** <sup>△</sup>	44.73 ± 47.7*** <sup>△</sup>	49.87 ± 53.02*** <sup>△</sup>	61.47 ± 53.49*** <sup>△</sup>
模型	-	a 波	9.41 ± 12.34***	3.71 ± 7.84***	3.49 ± 7.38***	4.23 ± 9.00***	9.34 ± 12.38***
		b 波	21.43 ± 27.97***	10.09 ± 21.62***	9.90 ± 21.00***	11.17 ± 23.55***	20.98 ± 27.31***

与对照组比较: \* P < 0.05 \*\* P < 0.01 \*\*\* P < 0.001; 与模型组比较: <sup>△</sup> P < 0.05 <sup>△△</sup> P < 0.01

\* P < 0.05 \*\* P < 0.01 \*\*\* P < 0.001 vs control group; <sup>△</sup> P < 0.05 <sup>△△</sup> P < 0.01 vs model group

表 3 MNU 诱导的大鼠光感受器细胞损伤的熄灭型 ERG 在不同药物治疗组的反应 ( $\bar{x} \pm s, n=11$ )

Table 3 Responses of rat extinguishable electroretinogram induced by MNU in different drugs therapeutic groups ( $\bar{x} \pm s, n=11$ )

组别	剂量/ (g · kg <sup>-1</sup> )	熄灭型 ERG(眼数)				
		第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 10 天
对照	-	0	0	0	0	0
灵芝孢子油	2	2	4	4	4	3
DHA	2	4	5	5	5	4
灵芝孢子油+ DHA	1+1	4	5	5	5	4
模型	-	6	8	8	8	6

可知,在不同时间点,大鼠熄灭型 ERG 出现的眼数,灵芝孢子油组最少,DHA 组和灵芝孢子油+ DHA 组相同,模型组最多。

3.4 眼病理结果:由表 4 和图 1 所知,除 DHA 组和灵芝孢子油+ DHA 组的第 1 天外,不同用药组与模型组比较,MNU 诱导的大鼠视网膜光感受器细胞损伤均明显减轻 (P < 0.05, 0.01)。结果表明,灵芝孢子油和 DHA 可阻抑 MNU 诱导的大鼠视网膜光感受器细胞的病理损伤。

### 4 讨论

MNU 引起视网膜外核层损伤的机制是特异性

表 4 灵芝孢子油对 MNU 诱导的大鼠视网膜光感受器细胞病理损伤的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=11$ )

Table 4 Effect of OGLS on retinal photoreceptor cell pathologic damage of rats induced by MNU ( $\bar{x} \pm s, n=11$ )

组别	剂量/ (g · kg <sup>-1</sup> )	光感受器细胞损伤的病变程度				
		第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 10 天
对照	0	0	0	0	0	0
灵芝孢子油	2	1.00 ± 0.67**	1.80 ± 1.40*	2.60 ± 2.37*	2.40 ± 2.55*	2.20 ± 2.70*
DHA	2	1.40 ± 0.84*	2.20 ± 1.32*	2.90 ± 2.85*	2.80 ± 2.97*	2.60 ± 2.95*
灵芝孢子油+ DHA	1+1	1.40 ± 1.58	2.30 ± 1.34	3.00 ± 2.26*	2.80 ± 2.49*	2.70 ± 2.54*
模型	-	2.20 ± 1.03	4.60 ± 3.10	7.80 ± 6.13	7.60 ± 6.29	7.40 ± 6.45

与模型组比较: \* P < 0.05 \*\* P < 0.01

\* P < 0.05 \*\* P < 0.01 vs model group

靶向视网膜光感受器细胞,限制了该细胞核 DNA 的内旋,最终导致光感受器细胞的凋亡,同时表现为 Bax 上调、Bcl-2 下调和 Caspase-3、6、8 的激活<sup>[11]</sup>。通过前期的研究结果表明,40 mg/kg 的 MNU 用量是诱导大鼠视网膜光感受器细胞发生最大损伤的初始剂量,光感受器细胞的损伤发生在造模后第 1 天,第 3~5 天即达最大损害<sup>[12]</sup>。

ERG 可以反映视网膜光感受器细胞(视杆细胞和视锥细胞)的功能,a 波主要反映了视杆细胞的

功能,b 波主要反映了视锥细胞的功能。本研究结果显示,灵芝孢子油组、DHA 组和灵芝孢子油+ DHA 组在各时间点可明显提高大鼠 ERG 的 b 波振幅,灵芝孢子油组在各时间点可明显提高大鼠 ERG 的 a 波振幅。同时,不同用药组在各个时间点可明显减轻 MNU 诱导的大鼠视网膜光感受器的损伤 (P < 0.05)。结果表明,灵芝孢子油和 DHA 可不同程度减轻 MNU 诱导的大鼠视网膜光感受器细胞的损伤,促进光感受器细胞损伤的功能恢复。

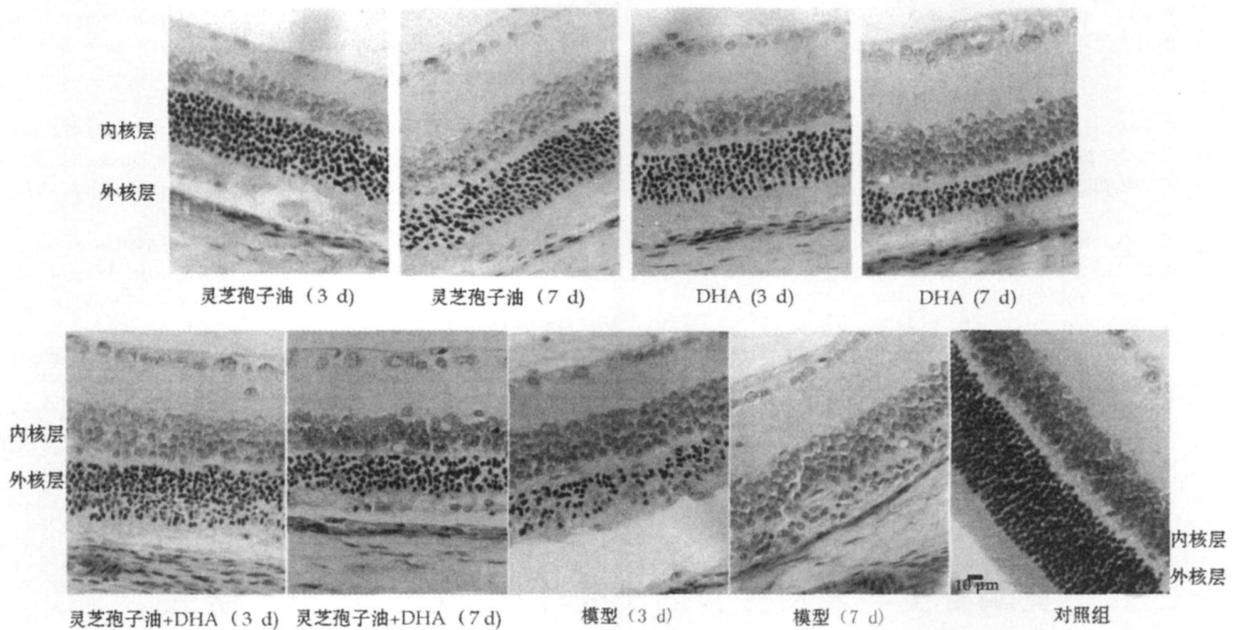


图 1 不同药物对 MNU 诱导的大鼠视网膜光感受器细胞损伤大鼠眼病理改变的影响

Fig. 1 Effect with different drugs on eye pathologic change of photoreceptor cell damage of rats induced by MNU

作用强度为灵芝孢子油 > DHA > 灵芝孢子油 + DHA。

DHA 是一种存在于生物膜系统的  $\omega$ -3 长链不饱和脂肪酸, 在视网膜尤其是视杆/视锥细胞、外节盘膜的量最为丰富, 对视网膜的发育和功能起重要作用。DHA 的前体是  $\alpha$ -18 碳三烯酸 ( $\alpha$ -亚麻酸), 在体内不能合成, 需从食物中摄取。一些研究发现 RP 动物模型及 RP 患者体内 DHA 降低。Moriguchi 等<sup>[13]</sup>对 MNU 诱导的 SD 大鼠视网膜光感受器凋亡动物模型通过饮食补充 DHA, 结果显示, DHA 可抑制该大鼠光感受器细胞的凋亡。Mizota 等<sup>[14]</sup>对卡英酸 (结构类似 L-谷氨酸) 诱导的视网膜损伤通过饮食补充 DHA 后, 大鼠视网膜和血清中的 DHA 水平升高, ERG 的 b 波提高, 同时神经节细胞和内核层的细胞数明显增加。通过饮食补充 DHA 存在大鼠饮用量不准确和 DHA 易氧化等缺点, 本实验采用 ig 给予补充 DHA 克服了以上缺点。本实验结果与以上学者的结果相类似, DHA 可保护 MNU 诱导大鼠视网膜的视功能和光感受器细胞的损害, 但保护效果稍低于灵芝孢子油。

田戈夫等<sup>[8]</sup>应用 SFE-GG-MS 对灵芝孢子油的成分进行了测定, 结果显示, 灵芝孢子油富含多种不饱和脂肪酸, 不饱和脂肪酸占总量的 68.42%, 其中亚油酸占 18.82%, 油酸占 43.63%。饱和脂肪酸以棕榈酸和硬脂酸为主。Semenova 等<sup>[15]</sup>报道视网

膜光感受器基质富含油酸, 并且, 油酸与光感受器维生素 A 结合蛋白 IRBP (interphotoreceptor retinoid-binding protein, IRBP) 的结合力强于 DHA。油酸是一种单不饱和脂肪酸, 具有调血脂、降低血糖、降低胆固醇、保护心脏和维持神经元细胞的完整性等作用<sup>[16, 17]</sup>。油酸可能在参与光子传递、盘膜的形成和维持盘膜的完整性方面起重要作用。灵芝孢子油的抗自由基和抗氧化作用可能对 MNU 诱导的大鼠视网膜光感受器细胞损伤也具有重要的保护作用, 但灵芝孢子油减轻 MNU 诱导的大鼠视网膜光感受器细胞损伤的具体作用机制仍有待深入研究。

参考文献:

- [1] Kalloniatis M, Fletcher E L. Retinitis pigmentosa: understanding the clinical presentation, mechanisms and treatment options [J]. *Clin Exp Optom*, 2004, 87(2): 65-80.
- [2] Chader G J. Animal models in research on retinal degeneration: past progress and future hope [J]. *Vision Res*, 2002, 42(4): 393-396.
- [3] 邓新国, 张清炯, 胡世兴, 等. Rd 小鼠出生后 5 周内视网膜外核层细胞及其外段的光镜和电镜观察 [J]. *眼科研究*, 2006, 24(1): 30-32.
- [4] Yoshizawa K, Tsubura A. Characteristics of N-methyl-N-nitrosourea-induced retinal degeneration in animals and application for the therapy of human retinitis pigmentosa [J]. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi*, 2005, 109(6): 327-337.
- [5] Delyfer M N, Leveillard T, Mohand Said S, et al. Inherited retinal degeneration: Therapeutic prospects [J]. *Biol Cell*, 2004, 96: 261-269.
- [6] Wenzel A, Grimm C, Samardzija M, et al. Molecular mechanisms of light-induced photoreceptor apoptosis and neuroprotection for retinal degeneration [J]. *Prog Retin Eye Res*,

- 2005, 24(2): 275-306
- [7] 邓新国, 胡世兴, 贾小云, 等. 川芎嗪对 *rd* 和 *rds* 小鼠视网膜光感受器细胞干预作用的光镜观察 [J]. 中草药, 2006, 37(6): 891-894
- [8] 田戈夫, 李金华, 余德顺. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取灵芝孢子油的 GC/MS 分析 [J]. 中国油脂, 2003, 28(9): 44-46
- [9] 梁 坚, 杨俊峰, 何为涛, 等. 灵芝孢子油软胶囊对小鼠免疫功能调节的研究 [J]. 中国热带医学, 2005, 5(6): 1189-1191
- [10] 张 伟, 曾园山, 陈小君, 等. 萌动激活灵芝孢子促进大鼠受损伤的脊髓运动神经元轴突再生的作用 [J]. 中草药, 2006, 37(5): 734-737
- [11] Yoshizawa K, Nambu H, Yang J, *et al.* Mechanisms of photoreceptor cell apoptosis induced by *N*-methyl-*N*-nitrosourea in Sprague-Dawley rats [J]. *Lab Invest*, 1999, 79(11): 1359-1367
- [12] 邓新国, 葛 坚, 何梅凤, 等. 不同 MNU 剂量诱导大鼠视网膜外层核层损伤的视网膜电图和病理形态的改变 [J]. 中国病理生理杂志, 2008, 24(4): 828-832
- [13] Moriguchi K, Yoshizawa K, Shikata N, *et al.* Suppression of *N*-methyl-*N*-nitrosourea-induced photoreceptor apoptosis in rats by docosahexaenoic acid [J]. *Ophthalmic Res*, 2003, 36(2): 98-105
- [14] Mizota A, Sato E, Taniai M, *et al.* Protective effects of dietary docosahexaenoic acid against kainate-induced retinal degeneration in rats [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001, 42(1): 216-221
- [15] Semenova E M, Converse C A. Comparison between oleic acid and docosahexaenoic acid binding to interphotoreceptor retinoid-binding protein [J]. *Vision Res*, 2003, 43: 3063-3067
- [16] 张伟敏, 钟 耕, 王 炜. 单不饱和脂肪酸营养及其生理功能研究概况 [J]. 粮食与油脂, 2005, 3: 13-16
- [17] 朱蔚文, 刘焯霖, 徐浩文, 等. 灵芝孢子油对 MPTP 处理小鼠行为学及黑质区病理变化的影响 [J]. 第一军医大学学报, 2005, 25(6): 667-671

## 黄酮苷类与表皮生长因子受体结合模式的理论研究

王晶晶<sup>1,2</sup>, 刘 巍<sup>2</sup>, 徐为人<sup>2\*</sup>, 刘 鹏<sup>2</sup>, 刘冰妮<sup>2</sup>, 汤立达<sup>3</sup>

(1. 天津医科大学 基础医学院, 天津 300070; 2. 天津药物研究院 天津市新药设计与发现重点实验室, 天津 300193; 3. 天津药物研究院 天津药代动力学与药效动力学省部共建国家重点实验室, 天津 300193)

**摘要:**目的 利用对接方法对黄酮苷类与表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 结合模式和能力进行理论研究。方法 从 RCSB Protein 数据库检索 EGFR 晶体结构为受体, 收集黄酮苷类配体, 用 Schrodinger 8.0 软件对受体和配体进行对接计算, 分析其作用模式和对接分数。结果 EGFR 和黄酮苷类配体能够较好对接, 其作用模式大致分为 iv、㉔和 ㉕ 种, 3 位和 2' 位的取代对结合模式的影响较大, 3、5、7、4 位取代的变化对结合能力影响较大。结论 黄酮苷类化合物存在与 EGFR 较好的结合, 其中可能有选择性和多靶标的 EGFR 抑制剂存在, 其取代位置和方式可以影响结合模式和能力, 对于研究黄酮苷类抗肿瘤药物具有参考价值。

**关键词:** 黄酮苷; 表皮生长因子受体; 对接计算; 结合模式

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2009)03-0420-04

## Theoretic studies on binding model between flavonoid glycosides and epidermal growth factor receptor

WANG Jing-jing<sup>1,2</sup>, LIU Wei<sup>2</sup>, XU Wei-ren<sup>2</sup>, LIU Peng<sup>2</sup>, LIU Bing-ni<sup>2</sup>, TANG Li-da<sup>3</sup>

(1. Basic Medical College, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Tianjin Key Laboratory of Molecular Design and Drug Discovery, Tianjing Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China; 3. Tianjin State Key Laboratory of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China)

**Abstract: Objective** To study binding model and capacity between flavonoid glycosides and epidermal growth factor receptor (EGFR) with docking calculation. **Methods** Crystal structures of EGFR were downloaded from RCSB Protein Data Bank. Flavonoid glycosides were collected as the ligands. The software Schrodinger 8.0 was employed to dock the ligands into the receptors, and the binding models and docking scores were analyzed. **Results** Flavonoid glycosides and EGFR could bind well. The binding model could be classified into types iv, ㉔, and ㉕. Substitutions at position 3 and 2' mostly affect the binding model, and at position 3, 5, 7 and 4' mostly affect the binding capacity. **Conclusion** Among flavonoid glycosides, there might be selective EGFR inhibitors and multiple targeted PTKs inhibitors. The binding

\* 收稿日期: 2008-08-22

基金项目: 科技部支撑项目 (项目编号 2007BA141B00, 课题编号 2007BA141B01); 天津市支撑项目 (07ZCKFSH00300)

作者简介: 王晶晶, 女, 山东人, 硕士研究生, 研究方向为新药设计和筛选。E-mail: jessicasnow77@yahoo.cn

\* 通讯作者 徐为人 T el: (022) 23003529 E-mail: xwrtj@yahoo.com.cn