

## • 药理与临床 •

杠柳苷对 H<sub>22</sub> 荷瘤小鼠的抑瘤作用及其机制研究张 静<sup>1</sup>, 杨 光<sup>2</sup>, 单保恩<sup>3</sup>, 张 超<sup>3</sup>, 赵瑞攀<sup>3</sup>, 刘江惠<sup>3\*</sup>

(1 河北医科大学第四医院 康复科, 河北 石家庄 050011; 2 河北医科大学第四医院 放射科, 河北 石家庄 050011;

3 河北医科大学第四医院 科研中心, 河北 石家庄 050011)

**摘 要:**目的 研究香加皮中杠柳苷体内抗肿瘤作用, 探讨其可能作用机制。方法 将小鼠肝癌 H<sub>22</sub> 细胞经体外培养并于 BALB/c 小鼠腹腔内传代后, 无菌接种于小鼠皮下, 建立荷瘤小鼠模型。采取不同剂量杠柳苷 (0.25、0.50、1.00 mg/kg) ip 给药, 每天 1 次, 连续 15 d, 观察荷瘤小鼠肿瘤生长情况, 测定抑瘤率, 应用流式细胞术检测杠柳苷对肿瘤细胞周期与凋亡的影响; 采用透射电镜观察荷瘤小鼠肿瘤细胞超微结构的变化。结果 杠柳苷对小鼠 H<sub>22</sub> 皮下移植瘤具有显著的抑制作用, 小鼠成瘤时间明显晚于模型组, 肿瘤生长缓慢, 低、中、高 3 个剂量组抑瘤率分别为 60.28%、68.09%、74.74%。流式细胞术分析结果显示, 不同剂量杠柳苷处理小鼠移植瘤细胞后, 处于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞明显增多, S 期和 G<sub>2</sub>/M 期细胞显著减少, 与模型组相比差异显著 ( $P < 0.05$ ), 其中 1.00 mg/kg 杠柳苷组 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞由对照组的 (46.90 ± 5.80)% 升高至 (83.80 ± 2.52)%, S 期和 G<sub>2</sub>/M 期细胞分别由对照组的 (38.30 ± 5.11)%、(14.80 ± 0.70)% 下降至 (5.33 ± 2.73)%、(10.87 ± 0.25)%; 而且杠柳苷各组小鼠肿瘤细胞的凋亡率均明显增加, 其中 1.00 mg/kg 组凋亡率高达 (32.35 ± 1.75)%, 并可见典型的凋亡峰。透射电镜观察可见, 杠柳苷各组小鼠肿瘤组织中出现大量典型的凋亡细胞, 而对照组瘤组织内多为富含线粒体与内质网的代谢旺盛的肿瘤细胞。结论 杠柳苷具有很强的体内抗肿瘤作用, 其作用机制可能与阻滞细胞周期和诱导肿瘤细胞凋亡有关。

**关键词:** 香加皮; 杠柳苷; 抗肿瘤; 细胞周期; 细胞凋亡

中图分类号: R730.5; R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)08-1307-05

### Antitumor effect of periplocin from *Periplocae Cortex* on H<sub>22</sub> tumor bearing mice and its mechanism

ZHANG Jing<sup>1</sup>, YANG Guang<sup>2</sup>, SHAN Bao'en<sup>3</sup>, ZHANG Chao<sup>3</sup>, ZHAO Rui'an<sup>3</sup>, LIU Jiang-hui<sup>3</sup>

(1 Department of Rehabilitation, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China;

2. Department of Radiology, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China;

3. Research Center, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China)

**Abstract:** **Objective** To study the antitumor effect of periplocin from *Periplocae Cortex* and explore its possible mechanism *in vivo*. **Methods** Murine hepatocarcinoma H<sub>22</sub> cells were cultured *in vitro*, and then passaged in abdominal cavity of BALB/c mice. H<sub>22</sub> Cells were collected and sc injected into each BALB/c mice to establish animal model of tumor-bearing mice. Different doses of periplocin (0.25, 0.50, and 1.00 mg/kg) were ip administered to the tumor-bearing mice once a day for continuous 15 d. The kinetics of tumor formation and tumor growth were measured, tumor growth inhibition rate (IR) was calculated. The tumor samples were taken, the effects of periplocin on cell cycle and cell apoptosis were determined by flow cytometry, and the ultrastructural changes of tumor cells were observed by transmission electron microscopy in tumor-bearing BALB/c mice after treated with periplocin. **Results** Marked inhibition of periplocin on the hepatocarcinoma H<sub>22</sub> transplantation tumor was observed in BALB/c mice. The tumor formation was significantly retarded and tumor growth was inhibited in periplocin-treated groups compared with those in negative control mice. The inhibitory rates were 60.28%, 68.09%, and 74.47% in three groups treated with low, middle, and high dosages of periplocin, respectively. The proportion of tumor cells in the G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> phase was increased markedly, of which S and G<sub>2</sub>/M phase cells decreased, after treatment with different doses of periplocin, compared to control group, the difference was significant ( $P < 0.05$ ), in 1.00 mg/kg group, G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> phase cells increased from (46.90 ± 5.80)% to (83.80 ± 2.52)%, S and G<sub>2</sub>/M phase cells were decreased from (38.30 ± 5.11)% and (14.80 ± 0.70)% to (5.33 ± 2.73)% and (10.87 ± 0.25)%.

\* 收稿日期: 2009-11-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30772752)

作者简介: 张 静 (1972—), 女, 河北正定人, 博士, 副主任医师, 副教授, 主要从事抗肿瘤基础与临床研究及抗肿瘤中药研发工作, 已发表论文 20 余篇, 著作 5 部, 获省厅级科技奖 3 项。Tel: 13582340016 E-mail: zjing1201@yahoo.com.cn

2.73)% and (10.87±0.25)%. The apoptosis rate of tumor cells increased significantly in three periplocin groups ( $P < 0.01$  vs control group), the highest rate reached (32.35±1.75)% in 1.00 mg/kg group. Furthermore, typical subdiploid peaks were also detected in periplocin treated groups. Observing the ultra structure, many typical apoptosis cells were displayed in periplocin treated groups, whereas, many metabolism vigorous tumor cells with more mitochondrion and endoplasmic reticulum were seen in control group. **Conclusion** Periplocin has significant inhibition on tumor growth *in vivo*, which is probably related to blocking cell cycle and induction of apoptosis.

**Key words:** *Periplociae Cortex*; periplocin; antitumor; cell cycle; apoptosis

香加皮为萝藦科植物杠柳 *Periploca sepium* Bunge 的干燥根皮,含有强心苷类、萜类等多种化学成分,具有抗炎、强心、促进神经生长、兴奋神经系统、抗肿瘤等作用<sup>[1-3]</sup>。杠柳苷是从香加皮中分离提取的化合物。既往研究发现,香加皮醋酸乙酯提取物及杠柳苷均有明显的体外抗肿瘤作用,且其作用机制是多环节、多途径的<sup>[4-5]</sup>。本研究采用 H<sub>22</sub> 皮下移植瘤小鼠模型进行体内抗肿瘤试验,探讨杠柳苷的体内抗肿瘤作用及其可能的作用机制,为香加皮的进一步开发利用提供理论依据。

## 1 材料

1.1 细胞株与实验动物:腹水型小鼠肝癌细胞株 H<sub>22</sub> 由河北医科大学第四医院科研中心保存,清洁级纯系 BALB/c 小鼠,体质量 18~22 g,6~8 周龄,雌雄各半,购自河北省实验动物中心,实验动物使用许可证号:SCXK(冀)2003-F-003,实验室常规饲养。

1.2 药物与试剂:杠柳苷由华北制药集团新药研究开发中心分离纯化<sup>[6]</sup>。RPMI 1640 培养基为美国 Gibco 公司产品,胎牛血清(FCS)为杭州四季青生物工程公司产品,胰蛋白酶、噻唑蓝(MTT)、碘化丙啶(PI)为美国 Sigma 公司产品,顺铂为齐鲁制药有限公司产品。

1.3 主要仪器:TC2323 CO<sub>2</sub> 恒温培养箱(美国 Sheldon 公司),LH50A 倒置相差显微镜(日本 Olympus 公司),HT2 酶标仪(奥地利 Anthos 公司),Epics-XLII 流式细胞仪(美国 Beckman Coulter 公司),H-7500 透射电镜(日本日立公司)。

## 2 方法

2.1 小鼠肝癌 H<sub>22</sub> 细胞的培养及传代:将腹水型小鼠肝癌 H<sub>22</sub> 细胞,于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱,用含 10% FCS 的 RPMI 1640 完全培养基悬浮培养。取最佳生长状态的小鼠肝癌 H<sub>22</sub> 细胞,浓度调为 5×10<sup>6</sup>/mL,以 0.2 mL/只(1×10<sup>6</sup> 个细胞/只)无菌注入 BALB/c 小鼠腹腔进行接种传代,于接种 7 d 左右,小鼠腹部膨隆,出现血性腹水,可用于小鼠皮下移植瘤的接种。

2.2 小鼠肝癌皮下移植瘤模型的建立<sup>[7]</sup>:于无菌条件下抽取 H<sub>22</sub> 腹水瘤小鼠的腹水,以 D-Hank's 液稀释后,1 000 r/min 离心 5 min,洗涤细胞 2 次,调整 H<sub>22</sub> 细胞浓度为 5×10<sup>6</sup>/mL,于 BALB/c 小鼠右股部行皮下无菌接种,接种量为每只 0.2 mL (1×10<sup>6</sup> 个细胞/只)。

2.3 分组及处理:小鼠皮下接种 H<sub>22</sub> 细胞 24 h 后称体质量,随机分为 6 组,每组 15 只,分别为模型组,顺铂阳性对照组(2.00 mg/kg),0.5% 乙醇溶剂对照组,杠柳苷低、中、高剂量(0.25、0.50、1.00 mg/kg)组,各组 ip 给药,每天 1 次,连续给药观察 15 d。

2.4 对荷瘤小鼠肿瘤体积和质量的影响:每日观察荷瘤小鼠的生长情况,并记录各组小鼠的精神状态、一般活动、皮毛、饮食及粪便等情况。观察期间隔日称体质量,并用游标卡尺测量皮下移植瘤体的长径与宽径,计算肿瘤体积<sup>[8]</sup>(肿瘤体积=长径×宽径<sup>2</sup>×1/2)绘制肿瘤生长曲线。于末次给药后次日处死小鼠,称体质量后,剥取瘤组织,称质量,计算抑瘤率[抑瘤率=(模型组瘤质量-给药组瘤质量)/模型组瘤质量×100%]。

2.5 流式细胞仪检测荷瘤小鼠肿瘤细胞的周期分布和凋亡:取溶剂对照组和杠柳苷各剂量组小鼠新鲜肿瘤组织,制备肿瘤单细胞悬液,以预冷的 70% 乙醇固定,加入 PI 染色液,4℃ 避光反应 30 min,应用流式细胞仪进行单参数检测(波长 488 nm),用 Expo 32 ADC 和 Muticycle AV 对细胞周期和细胞凋亡进行分析,以百分率记录二倍体峰细胞数及细胞周期各时相比比例。

2.6 荷瘤小鼠肿瘤组织超微结构观察:取溶剂对照组和杠柳苷各剂量组荷瘤小鼠的皮下移植瘤组织,剪成约 1 mm×1 mm×1 mm 小块,浸入预冷的 4% 戊二醛中固定过夜,再用 1% 锇酸后固定 3 h,经乙醇-丙酮梯度脱水,环氧树脂渗透包埋,制成超薄切片(60 nm),铀铅双重染色后,采用透射电镜观察、照像。

2.7 统计学分析: 应用 SPSS 11.5 软件对所有数据进行统计学处理, 结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间均数比较用  $t$  检验, 多组间均数比较采用单因素方差分析。

### 3 结果

3.1 对荷瘤小鼠肿瘤生长的影响: 于皮下接种瘤细胞后第 4 天, 模型组和溶剂对照组小鼠可触摸到颗粒状肿瘤, 生长迅速, 于实验后期由于肿瘤过大而活动受限, 个别出现瘤块坏死穿破皮肤现象。从荷瘤小鼠的肿瘤生长曲线 (图 1) 可以看出, 杠柳苷各剂量组和顺铂组小鼠皮下瘤块出现的时间普遍晚于模型组和溶剂对照组, 于接种后第 6 天或以后才出现肿瘤, 且生长速度也较模型组明显缓慢, 部分小鼠经连续给予杠柳苷后, 瘤体较原来逐渐缩小。杠柳苷各剂量组小鼠一般状态良好, 外观、毛色、活动及进食、饮水、粪便等均无明显变化, 体质量有所增加。而顺铂组小鼠普遍表现为体质量下降、精神不振、活动减少、脱毛等现象, 并有 3 只小鼠死亡。

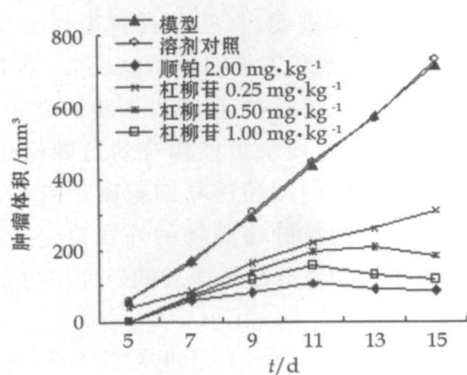


图 1 杠柳苷对  $H_{22}$  荷瘤小鼠肿瘤生长的影响

Fig. 1 Effects of periplocin on tumor growth in  $H_{22}$  tumor bearing mice

3.2 对荷瘤小鼠的抑瘤作用: 杠柳苷 (0.25、0.50、1.00 mg/kg) 各组抑瘤率均大于体内抑瘤试验实体瘤疗效判定标准的 40%, 其中 1.00 mg/kg 组抑瘤率高达 74.47%, 杠柳苷各剂量组与模型组和乙醇溶剂对照组相比, 差异显著 ( $P < 0.05$ ), 表明杠柳苷对小鼠  $H_{22}$  移植瘤有明显抑瘤效应。但杠柳苷各组抑瘤率低于顺铂组 (2.00 mg/kg, 84.04%,  $P < 0.05$ ), 考虑可能与杠柳苷用药剂量较小有关。而乙醇溶剂对照组与模型组相比, 差异无显著性 ( $P > 0.05$ ), 说明以 0.5% 乙醇为杠柳苷溶剂对本实验结果无影响, 结果见表 1。

3.3 对荷瘤小鼠肿瘤细胞周期的影响: 结果显示, 杠柳苷各剂量组小鼠移植瘤细胞中, 处于  $G_0/G_1$  期者明显增多, 而 S 期和  $G_2/M$  期细胞显著减少, 与

表 1 杠柳苷对  $H_{22}$  荷瘤小鼠的抑瘤作用

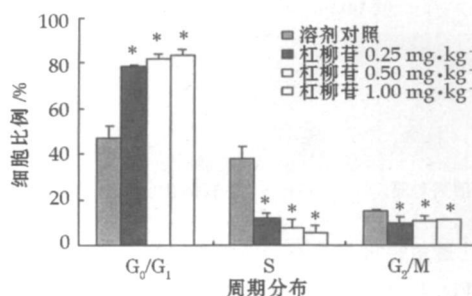
Table 1 Antitumor activity of periplocin on  $H_{22}$  tumor bearing mice

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	动物/只		肿瘤质量/ g	抑瘤率/ %
		开始	结束		
模型	—	15	15	2.82±0.13	—
溶剂对照	—	15	15	2.83±0.10	0.35
顺铂	2.00	15	12	0.45±0.07*	84.04
杠柳苷	0.25	15	15	1.12±0.08*	60.28
	0.50	15	15	0.90±0.02*	68.09
	1.00	15	15	0.72±0.06*	74.47

与模型组或溶剂对照组比较: \*  $P < 0.05$

\*  $P < 0.05$  vs model group or ethanol control group

溶剂对照组相比, 差异显著 ( $P < 0.05$ ), 且随药物剂量的增加上述变化越明显, 其中高剂量 (1.00 mg/kg) 组的  $G_0/G_1$  期细胞由溶剂对照组的 (46.90±5.80)% 升高至 (83.80±2.52)%, S 期和  $G_2/M$  期细胞分别由溶剂对照组的 (38.30±5.11)%、(14.80±0.70)% 下降至 (5.33±2.73)%、(10.87±0.25)%, 见图 2。说明杠柳苷可引起小鼠  $H_{22}$  移植瘤细胞  $G_0/G_1$  期阻滞。



与对照组比较: \*  $P < 0.05$

\*  $P < 0.05$  vs control group

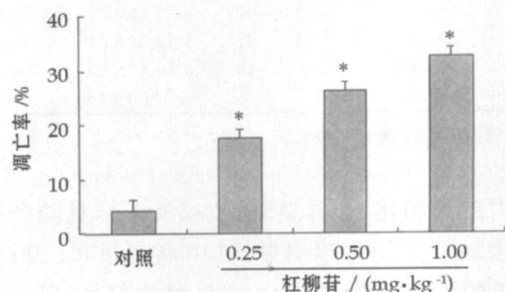
图 2 杠柳苷对荷瘤小鼠肿瘤细胞周期分布的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

Fig. 2 Effects of periplocin on cell cycle of tumor cells in vivo ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

3.4 对荷瘤小鼠肿瘤细胞凋亡的影响: 结果发现, 杠柳苷各剂量组小鼠移植瘤细胞的凋亡率均明显升高, 与对照组相比, 差异均有显著性 ( $P < 0.05$ ), 其中 1.00 mg/kg 组凋亡率高达 (32.35±1.75)%, 见图 3。提示杠柳苷可诱导小鼠  $H_{22}$  移植瘤细胞凋亡。

3.5 荷瘤小鼠肿瘤组织超微结构变化: 对照组瘤组织中多数肿瘤细胞边界清楚, 胞膜完整, 细胞器形态结构正常, 内质网丰富, 线粒体数量较多, 呈圆形或卵圆形, 线粒体嵴完整, 表明细胞代谢旺盛, 核内染色质分布均匀, 核仁清晰明显, 未见典型凋亡细胞, 可见分裂相的肿瘤细胞。而杠柳苷各组的小鼠  $H_{22}$  移植瘤组织中均可见较多处于不同时期的凋亡细

胞,表现为细胞皱缩,体积变小,细胞器多碎裂,内质网扩张,线粒体数量明显减少,嵴架溶解,细胞质密度增高或呈空泡状,核内染色质凝聚,边集于核膜处,或呈新月状,有的出现核固缩、核碎裂,见图4。该结果同样提示,杠柳苷可诱导小鼠H<sub>22</sub>移植瘤细胞凋亡。



与对照组比较: \*  $P < 0.05$

\*  $P < 0.05$  vs control group

图3 杠柳苷对荷瘤小鼠肿瘤细胞凋亡率的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

Fig. 3 Effects of periplocin on apoptotic rate of tumor cells ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

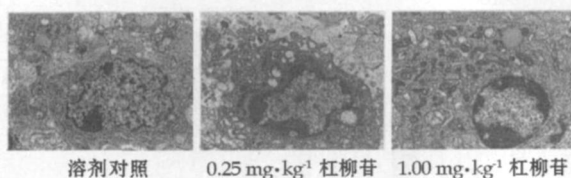


图4 透射电镜下荷瘤小鼠肿瘤细胞的超微结构变化

Fig. 4 Ultrastructure of tumor cells observed by transmission electron microscope

#### 4 讨论

动物移植性肿瘤模型是目前抗癌药物研究的重要方法之一。本研究选用BALB/c小鼠肝癌H<sub>22</sub>皮下移植瘤模型,研究不同剂量杠柳苷对小鼠实体瘤的影响,结果显示,0.25、0.50、1.00 mg/kg剂量的杠柳苷ip给药15 d,均能明显抑制荷瘤小鼠肿瘤的生长,各剂量组抑瘤率均达60%以上,且其抑瘤效应随药物剂量的增加而增强,说明杠柳苷具有很强的体内抗肿瘤作用。

顺铂是临床上常用的化疗药物,抗肿瘤作用强大,但作为一种免疫抑制剂,其不良反应明显。在本实验中也观察到,顺铂组小鼠体重下降、精神差、少活动,甚至出现死亡,而杠柳苷组荷瘤小鼠用药后体重、毛色、饮食、活动等一般情况尚好,无明显不良反应出现。表明杠柳苷在本实验条件下具有良好的用药安全性。

阻滞细胞周期是抗肿瘤药物抑制肿瘤细胞生长

的重要机制之一<sup>[9]</sup>。本研究结果显示,3个不同剂量杠柳苷组小鼠移植瘤中G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期细胞显著增多,而S期和G<sub>2</sub>/M期细胞明显减少,以高剂量组变化最明显。表明杠柳苷可将荷瘤小鼠肿瘤细胞阻滞于G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期。提示杠柳苷抗肿瘤机制可能与阻滞肿瘤细胞周期有关。

许多包括中药<sup>[10-11]</sup>在内的抗肿瘤药物均可通过诱导细胞凋亡而发挥抗肿瘤作用<sup>[12-13]</sup>。本研究流式细胞分析结果显示,杠柳苷各剂量组小鼠肿瘤细胞的凋亡率均显著升高,并可见典型的亚二倍体凋亡峰。透射电镜下对H<sub>22</sub>移植瘤小鼠肿瘤组织的超微结构观察发现,杠柳苷各剂量组小鼠肿瘤中均可见大量细胞呈现凋亡细胞的特征性形态,如细胞缩小,胞质空泡化,染色质呈新月状边集于核膜,核固缩、核碎裂等。而对照组瘤组织则见线粒体、内质网丰富的代谢旺盛的肿瘤细胞,未见典型凋亡细胞。提示杠柳苷可诱导荷瘤小鼠肿瘤细胞凋亡。

以上研究结果表明,杠柳苷具有很强的体内抗肿瘤活性,在有效剂量下无明显不良反应,是不同于常规化疗药物的优势所在,值得进一步研究和开发。同时,本研究还初步揭示了杠柳苷的抗肿瘤作用机制可能与阻滞细胞周期和诱导细胞凋亡有关,这一结果为香加皮作为抗肿瘤药物的开发奠定了基础,其确切的分子机制尚有待更深入的研究探讨。

#### 参考文献

- [1] 单保恩,赵连梅,艾军,等. 香加皮羽扇豆烷乙酸酯对外周血淋巴细胞免疫调节功能的影响[J]. 中草药, 2008, 39(7): 1035-1039
- [2] 单保恩,李俊新,张静. 香加皮水提取物诱导人胃癌细胞BGC-823凋亡及其作用机制[J]. 中草药, 2005, 36(8): 1184-1188
- [3] 刘晓霞,刘红珍,陈剑华,等. 宝藿苷I对人食管癌细胞Eca109增殖及细胞周期的影响[J]. 中草药, 2009, 40(10): 1590-1593
- [4] 张静,单保恩,刘刚三,等. 香加皮乙酸乙酯提取物诱导人乳腺癌MCF7细胞凋亡的研究[J]. 肿瘤, 2006, 26(5): 418-421
- [5] 赵连梅,单保恩,艾军,等. 香加皮杠柳苷对人食管癌细胞TE-13生长抑制作用[J]. 肿瘤, 2008, 28(3): 203-206
- [6] 陈书红,杨峻山,任风芝,等. 香加皮的抗肿瘤活性成分研究(II)[J]. 中草药, 2006, 37(4): 519-520
- [7] Bohle A, Jurczok A, Ardelt P, et al. Inhibition of bladder carcinoma cell adhesion by oligopeptide combinations *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Urol*, 2002, 167(1): 357-363
- [8] Naumovski L, Ramos J, Sirisawad M, et al. Sapphyrins induce apoptosis in hematopoietic tumor-derived cell lines and show *in vivo* antitumor activity [J]. *Mol Cancer Ther*, 2005, 4(6): 968-976
- [9] Plotnikova O V, Golemis E A, Puqacheva E N. Cell cycle

- dependent ciliogenesis and cancer [J]. *Cancer Res*, 2008, 68 (7): 2058-2061.
- [10] 季宇彬, 高世勇, 杨红丹, 等. 甜菜碱对人肝癌细胞周期及凋亡的影响 [J]. 中草药, 2008, 39(6): 884-886.
- [11] 李翠玲, 张玲, 顾洪涛, 等. 淫羊藿苷体内抑瘤作用及其机制 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2007, 14(2): 137-142.
- [12] Kim W, Yoon J H, Jeong J M, *et al.* Apoptosis inducing activity and efficacy of hexokinase II inhibitor in hepatocellular carcinoma [J]. *Mol Cancer Ther*, 2007, 6(9): 2554-2562.
- [13] Singh R P, Deep G, Blouin M J, *et al.* Silibinin suppresses *in vivo* growth of human prostate carcinoma PC-3 tumor xenograft [J]. *Carcinogenesis*, 2007, 28(12): 2567-2574.

## 中国被毛孢发酵物对 NOD 小鼠 1 型糖尿病的预防作用

寿旗扬<sup>1,3</sup>, 傅惠英<sup>2</sup>, 陈方明<sup>3</sup>, 周卫民<sup>3</sup>, 张才乔<sup>1</sup>, 陈民利<sup>3\*</sup>

(1 浙江大学动物科学学院, 浙江 杭州 310029; 2 浙江大学医学院, 浙江 杭州 310058; 3 浙江中医药大学动物实验研究中心, 浙江 杭州 310053)

**摘要:**目的 观察中国被毛孢发酵物对自发性 1 型糖尿病 NOD 小鼠的预防作用。方法 利用 NOD 小鼠 1 型自发性糖尿病模型, 连续 10 周 ig 给予 1 g/kg 中国被毛孢发酵物后, 观察 NOD 小鼠的体质量、血糖、发病率、谷氨酸脱羧酶 (GAD) 抗体水平、胰岛病变和胰腺纤维化的变化。结果 NOD 小鼠给予 1 g/kg 中国被毛孢发酵物后, 第 6~10 周时血糖和发病率明显降低 ( $P < 0.05, 0.01$ ), 小鼠血清中 GAD 抗体明显降低 ( $P < 0.01$ ), 小鼠胰岛病变和胰腺纤维化评分值显著降低 ( $P < 0.05, 0.01$ ), 胰腺结构较为清晰, 胰岛有少量炎症细胞浸润, 胰岛  $\beta$  细胞未见异常。结论 中国被毛孢发酵物有较好的预防 NOD 小鼠 1 型糖尿病发生的作用。

**关键词:** 中国被毛孢发酵物; NOD 小鼠; 1 型糖尿病

中图分类号: R286.71 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)08-1311-05

## Prevention of strain fermentation in *Hirsutella sinensis* on type 1 diabetes of non obese diabetic mice

SHOU Qi-yang<sup>1,3</sup>, FU Hui-ying<sup>2</sup>, CHEN Fang-ming<sup>3</sup>, ZHOU Wei-min<sup>3</sup>,  
ZHANG Cai-qiao<sup>1</sup>, CHEN Min-li<sup>3</sup>

(1 College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; 2. School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 3. The Research Center of Laboratory Animal Science, Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, China)

**Abstract:** **Objective** To observe the prevention of strain fermentation in *Hirsutella sinensis* on spontaneous type 1 diabetes of nonobese diabetic (NOD) mice. **Methods** The NOD mice with spontaneous type 1 diabetes were administrated by 1 000 mg/kg strain fermentation in *H. sinensis* for 10 weeks. The index including body weight, blood glucose, incidence, GAD antibody, the islet pathological change, and pancreas fibrillation were tested. **Results** The levels of blood glucose and incidence decreased significantly after treatment by strain fermentation in *H. sinensis* (1 g/kg) for 6—10 weeks ( $P < 0.05$  and  $0.01$ ). GAD Antibody was depressed obviously ( $P < 0.01$ ) and the islet pathological change and pancreas fibrillation grade decreased remarkably ( $P < 0.05$  and  $0.01$ ). The construction of pancreas was vivid, the inflammatory cell infiltration accident in islet and the  $\beta$  cell showed no abnormality. **Conclusion** The strain fermentation in *H. sinensis* has obvious prevention in spontaneous type 1 diabetes of NOD mice.

**Key words:** strain fermentation in *Hirsutella sinensis* X. J. Liu, Y. L. Guo; non obese diabetic (NOD) mice; type 1 diabetes

1 型糖尿病是一种遗传易感个体通过自身抗原介导的免疫反应所引起胰岛  $\beta$  细胞破坏的自身免疫

性疾病, 由于自身免疫的损害造成胰岛细胞破坏, 引起胰岛素绝对缺乏, 出现高血糖症状<sup>[1]</sup>。非肥胖型

\* 收稿日期: 2009-11-11

基金项目: 浙江省科技计划项目 (2004C17001); 浙江省卫生高层次创新人才培养工程项目资助

作者简介: 寿旗扬 (1979—), 男, 浙江湖州人, 在读硕士, 助理研究员, 主要从事实验动物和动物实验的科研工作。

Tel: (0571) 86613643 E-mail: sqy133@126.com

\* 通讯作者 陈民利 E-mail: minlichen01@yahoo.com.cn