

文章编号:1008-9926(2007)01-0017-05 中图分类号:R965 文献标识码:A

人参皂苷 R<sub>g1</sub> 对 MPTP 致帕金森病模型小鼠多巴胺能神经元保护作用研究<sup>①</sup>杨海东<sup>②</sup>, 姜 宏, 宋 宁, 王 俊, 谢俊霞

(②青岛大学医学院 生理学教研室 山东 青岛 266021)

**摘要:**目的 研究人参皂苷 R<sub>g1</sub> (Ginsenoside R<sub>g1</sub>, R<sub>g1</sub>) 对 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶 (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP) 致帕金森病小鼠黑质 (substantia nigra, SN) 多巴胺 (dopamine, DA) 能神经元变性的保护作用及其可能机制。方法 C<sub>57</sub>BL<sub>6</sub> 小鼠随机分为对照组 (NS, ip)、MPTP 组 (30mg·kg<sup>-1</sup> × 5d, ip) 及 R<sub>g1</sub> (5mg·kg<sup>-1</sup> × 8d, ip) 预处理组。应用逆转录-聚合酶链式反应 (RT-PCR)、免疫组织化学染色等技术观察了 SN Caspase-3 mRNA、Bcl-2 mRNA、Bax mRNA、酪氨酸羟化酶 (tyrosine hydroxylase, TH) mRNA 的表达水平和黑质致密带 (substantia nigra zona compacta, SNzc) TH 免疫反应阳性细胞数量等多项指标的变化,用高效液相色谱法检测小鼠纹状体 (striatum, Str) 内 DA 及其代谢物二羟基苯乙酸 (dihydroxyphenylacetic acid, DOPAC) 和高香草酸 (homovanillic acid, HVA) 含量。结果 MPTP 组 SN 内 TH 阳性细胞数量、Str 内 DA 及其代谢产物 DOPAC 和 HVA 的含量明显减少,应用 R<sub>g1</sub> 后可逆转上述改变 (P < 0.01)。MPTP 组 SN Bcl-2、TH mRNA 的表达明显降低 (P < 0.01); Caspase-3、Bax mRNA 的表达明显增加 (P < 0.01)。应用 R<sub>g1</sub> 后可逆转上述改变 (P < 0.05)。结论 R<sub>g1</sub> 对 MPTP 致帕金森病小鼠 SN DA 能神经元具有明显的保护作用,其机制可能与抗凋亡过程有关。

**关键词:**帕金森病;人参皂苷 R<sub>g1</sub>;1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶;多巴胺;细胞凋亡

Neuroprotective Effects of Ginsenoside R<sub>g1</sub> on the Dopaminergic Neurons in the Substantia Nigra in Mptp-Treated C<sub>57</sub>BL<sub>6</sub> Mice<sup>①</sup>YANG Hai-Dong<sup>②</sup>, JIANG Hong, SONG Ning, WANG Jun, XIE Jun-Xia

(②Department of Physiology, Medical College of Qingdao University, Qingdao 266021, Shandong China)

**ABSTRACT:** Aim To investigate whether ginsenoside R<sub>g1</sub> can prevent the degeneration of dopaminergic neurons in the substantia nigra (SN) in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) treated C<sub>57</sub>BL<sub>6</sub> mice. **Method** Mice were randomly divided into three groups: control group (NS, ip), MPTP group (30mg·kg<sup>-1</sup> × 5d, ip) and R<sub>g1</sub> (5mg·kg<sup>-1</sup> × 8d, ip) pretreatment group. Using RT-PCR, tyrosine hydroxylase (TH) immunohistochemistry and HPLC, the degeneration of dopaminergic neurons was measured in the SN of MPTP treated mice and assessed the effects of treatment with ginsenoside R<sub>g1</sub>. **Results** The number of TH-immunoreactive cells in the SN of MPTP treated mice, as well as the contents of dopamine and its metabolites in the striatum, decreased significantly. Treatment with ginsenoside R<sub>g1</sub> reversed these effects (P < 0.01). The expression of Bcl-2 and TH mRNA in the SN also decreased significantly in MPTP treated mice (P < 0.01), while the expression of Caspase-3 and Bax mRNA increased significantly (P < 0.01). Treatment with ginsenoside R<sub>g1</sub> reversed the above changes (P < 0.05). **Conclusion** Ginsenoside R<sub>g1</sub> is neuroprotective against the neurotoxin MPTP, possibly due to its anti-apoptosis activity. **KEY WORDS:** Parkinson's disease; Ginsenoside R<sub>g1</sub>; 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP); Dopaminergic neuron; Apoptosis

帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 是一种常见的中老年人中枢神经系统慢性退行性疾病,其主要

病理改变是中脑黑质致密带多巴胺能神经元进行性变性,引起黑质-纹状体 (striatum, Str) 通路上 DA 水

① 基金项目:山东省科技厅资助项目, No. 031070125; 青岛市科技局资助项目, No. 04-2-JS-136, 05-10-JC-97

② 作者简介:杨海东 (1976-), 男, 福建莆田人, 硕士。研究方向:神经退行性疾病的病因及防治对策。Tel: 13599006519; E-mail: yhd-zlx999890@sina.com

通讯作者:谢俊霞 (1956-), 女, 河南鄢陵人, 博士。研究方向:神经退行性疾病的病因及防治对策。Tel: (0532) 85955891; E-mail: jxi-axie@public.qd.sd.cn

平降低<sup>[1,2]</sup>。PD 的病因迄今未明,发病机制十分复杂。研究认为可能与氧化应激、兴奋性毒素、线粒体功能障碍、细胞凋亡等机制密切相关。

多年来,对 PD 的治疗主要是基于用左旋多巴来代替多巴的对症治疗。但是长期使用左旋多巴和其他的抗 PD 药常带来严重的副作用,没有一种药物表现出可以阻止 PD 中神经元的退行性变性过程。人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 是近年来研究较多的一种人参单体,药理研究表明它具有抗神经细胞凋亡、抗衰老、抗氧化、提高免疫力等作用。故实验检测指标旨在研究 Rg<sub>1</sub> 对 SNc DA 能神经元的保护作用并探讨其可能机制。

## 1 材料

**1.1 动物** 健康 C<sub>57</sub>BL<sub>6</sub> 小鼠,10~12 周龄,体重 (21±2)g,♂,36 只,[北京维通利华动物实验中心,动物合格证号:SCXK(京)2002-0003]。

**1.2 药物与试剂** 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶 (1-methy-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP)、DA、二羟基苯乙酸 (dihydroxyphenylacetic acid, DOPAC) 和高香草酸 (homovanillic acid, HVA)、酪氨酸羟化酶 (tyrosine hydroxylase, TH) 抗体 (均为 Sigma 公司),Rg<sub>1</sub> (LKT LABS 公司),DAB 底物显色试剂盒 (北京中杉试剂公司),TRIzol 试剂 (GIBCO 公司),逆转录试剂盒 (PROMEGA 公司),Tag DNA 聚合酶、DNA Marker DL2000 (TAKARA 公司)。

**1.3 仪器** 台式低温离心机 (德国 Eppendorf 公司); DNA thermal cycler (Peltier 公司);电泳仪 (Amersham pharmacia biotech 公司);紫外凝胶成像系统及分析软件 (上海天能 Tanon 公司);冰冻切片仪 (德国 Leitz 公司);高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司)。

## 2 方法

**2.1 分组与给药** 将小鼠随机分为 3 组,每组 12 只 (其中 6 只用于断头取脑 Str 和 SN 活组织,6 只用于脑灌注固定做脑切片)。置于室温 (19±2)℃,24h 昼夜循环光照条件下生活,自由饮水、取食。动物于实验前适应实验室环境 1 周。MPTP 组:于上午 8:00 先行 ip 等体积生理氯化钠溶液,连续 3d,其后于上午 8:00 ip 等体积生理氯化钠溶液及 10:00 ip MPTP (30mg·kg<sup>-1</sup>),连续 5d;Rg<sub>1</sub> 预处理组:上午 8:00 先行 ip Rg<sub>1</sub> (5mg·kg<sup>-1</sup>),连续 3d,其后于上午 8:00 ip Rg<sub>1</sub> (5mg·kg<sup>-1</sup>) 及 10:00 ip MPTP (30mg·kg<sup>-1</sup>),连续 5d;对照组:ip 等体积生理氯化钠溶液。

**2.2 TH 免疫组织化学 (immunohistochemistry, IHC) 测定** 于末次注射 24h 后用水合氯醛将小鼠深度麻醉后断头取脑固定,修整中脑组织块进行冠状连续冰冻切片,参照试剂盒说明进行 TH 免疫组织化学染色。

**2.3 半定量逆转录聚合酶链反应法 (RT-polymerase chain reaction, RT-PCR) 检测脑内 caspase-3 mRNA、bcl-2 mRNA、bax mRNA、TH mRNA 在 SN 中的表达。**

**2.3.1 总 RNA 的提取** 于末次注射 24h 后断头处死快速取出 SN 组织,加入 TRIzol 试剂提取总 RNA。

**2.3.2 逆转录反应** 利用逆转录试剂盒要求的标准条件进行 RNA 逆转录。反应体系为 20μl,42℃ 反应 1h,99℃ 加热 5min,然后快速冷却到 4℃ 以灭活逆转录酶与 cDNA 结合,反转录得到的 cDNA 用作 PCR 反应模板,或暂放 -20℃ 保存。

**2.3.3 聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) PCR 引物** 分别参照文献设计,由上海生工生物工程技术服务有限公司合成,见表 1。采用 25μl 反应体系进行扩增,甘油酸-3-磷酸脱氢酶 (glyceric acid-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 2、Caspase-3 基因的扩增参数为 94℃ 预变性 4min,94℃ 变性 30s,48℃ 退火 30s,72℃ 延伸 1min,反应 35 个循环,72℃ 延伸 10min;GAPDH1、Bcl-2、Bax 基因的扩增参数为 94℃ 预变性 4min,94℃ 变性 30s,56℃ 退火 30s,72℃ 延伸 1min,反应 35 个循环,72℃ 延伸 10min;GAPDH1、TH 基因的扩增参数为 94℃ 预变性 4min,94℃ 变性 30s,52℃ 退火 30s,72℃ 延伸 1min,反应 35 个循环,72℃ 延伸 10min。

**2.3.4 PCR 产物定量分析** 取扩增产物于含溴化乙锭 (ethidium bromide, EB) (0.5μg·ml<sup>-1</sup>) 2% 的琼脂糖凝胶中电泳,80V,25min,运用软件对条带进行分析。每份样本分别得到 GAPDH2 和 Caspase-3、GAPDH1 和 Bcl-2、GAPDH1 和 Bax、GAPDH1 和 TH 基因的特异性扩增条带,用 Caspase-3、Bcl-2、Bax、TH 与 GAPDH 比值表示 Caspase-3、Bcl-2、Bax、TH 基因的表达水平。

**2.4 Str DA 及其代谢产物高效液相色谱电化学检测法 (high performance liquid chromatography-electrochemical detection, HPLC-ECD)**

**2.4.1 色谱柱条件** 流动相:柠檬酸 (H<sub>2</sub>O) (4.2028g);乙酸钠 (6.804g);EDTA·2Na (2H<sub>2</sub>O) (49.87mg);八烷基磺酸钠 (H<sub>2</sub>O) (OSA) (811.275mg);二正丁胺 (0.17ml);甲醇 50ml,用双蒸水 (ddH<sub>2</sub>O) 稀释至 1000ml。最大柱压 2500p,流速 1.0

表1 GAPDH TH Caspase-3 Bcl-2 和 Bax 基因的引物  
Tab1 The primers of Caspase-3 Bcl-2 Bax TH and GAPDH genes

基因	引物序列	核苷酸位点	PCR 产物	基因索引
TH	上游: AAAATCCACCACTTAGAGACC 下游: TAGCCACAGTACCGTTCC	No. 333-799	467 bp	NM 009377
Caspase-3	上游: TGATGAGGAGATGCCTTG 下游: TCTGTTCTTTGCGTGGA	No. 597-847	251bp	NM009810
Bcl-2	上游: GTCGCCCTCTTTCACCTT 下游: CCCACTCGTAGCCCCTCT	No. 749-1157	409bp	BC095964
Bax	上游: GCGGAATTGGAGATGAAC 下游: CCGAAGTAGGAGAGGAGG	No. 259-565	307bp	NM007527
GAPDH2	上游: TGTTCAGTATGATTCTACCCA 下游: GGTAGGAACACGGAAGGC	No. 161-735	575 bp	M 17701
GAPDH1	上游: TTCACCACCATGGAGAAGGC 下游: GGCATGGACTGTGTCATGA	No. 423-659	236bp	BC064681

ml/min, ECD 设定电压 0. 65V, 每一样品检测 35min。

**2.4.2 组织样品的预处理** 样品转入 2. 0ml eppendorf tube 中, 准确称量, 加入冰冷的样品预处理 A 液[4. 6ml  $\text{HClO}_4$  ( $0.4\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) +  $\text{ddH}_2\text{O}$  至 200ml] 300 $\mu\text{l}$ , 冰浴中超声 10s (1Hz, 即振动 1s, 间歇 1s, 反复 4~5 次), 冰浴静置 1h,  $4^\circ\text{C}$  12 000r/min, 离心 20min, 取 240 $\mu\text{l}$  上清液转入另一 eppendorf tube 中再加入 120 $\mu\text{l}$  冰冷的预处理 B 液[柠檬酸钾 (1. 6g) + 磷酸二氢钾 (13. 06g) +  $\text{EDTA}\cdot 2\text{Na}$  (0. 185g) +  $\text{ddH}_2\text{O}$  至 250ml], 涡旋混匀, 冰浴静置 1h,  $4^\circ\text{C}$  12 000r/min, 离心 20min 后置  $-80^\circ\text{C}$  冷冻保存待测。

**2.5 统计学处理** 实验结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 应用 SPSS11. 0 软件包进行单因素方差分析 (one-way-ANOVA) 继以 Student-Newman-Keuls 法进行两两比较检验。

### 3 结果

**3.1  $\text{Rg}_1$  对 MPTP PD 模型小鼠 TH 免疫反应阳性神经元数目的影响** MPTP 模型组与对照组相比 SNpc 的 TH 免疫反应阳性神经元的数目缺失了 77. 29%, 有

显著性差异 ( $P < 0.01$ );  $\text{Rg}_1$  预处理组的 TH 阳性神经元的数目与 MPTP 模型组相比显著增多 ( $P < 0.05$ );  $\text{Rg}_1$  预处理组的 TH 阳性神经元的数目仍低于对照组, 有显著性差异 ( $P < 0.01$ )。见表 2。

**3.2  $\text{Rg}_1$  对 MPTP PD 模型小鼠 SN Caspase-3、Bcl-2、Bax、TH mRNA 表达的影响** 对照组与模型组相比, TH、Bcl-2 mRNA 扩增产物明显减少 ( $P < 0.01$ ), Caspase-3、Bax mRNA 扩增产物明显增多 ( $P < 0.01$ );  $\text{Rg}_1$  预处理组 TH、Bcl-2 mRNA 扩增产物较 MPTP 模型组明显增多 ( $P < 0.05$ ),  $\text{Rg}_1$  预处理组 Caspase-3、Bax mRNA 扩增产物较 MPTP 模型组明显减少 ( $P < 0.05$ );  $\text{Rg}_1$  预处理组扩增产物与对照组相比有显著性差异 ( $P < 0.01$ )。见表 3。

表2  $\text{Rg}_1$  对 MPTP PD 模型小鼠 SN 区 TH 免疫阳性神经元数目的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Tab2 Effect of  $\text{Rg}_1$  on the numbers of TH immunoreactive neurons in the SN of MPTP PD model mice ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	TH 免疫阳性神经元数目
对照组	41. 83 $\pm$ 2. 86
MPTP 模型组	9. 50 $\pm$ 2. 43 <sup>c</sup>
$\text{Rg}_1$ 预处理组	27. 00 $\pm$ 3. 35 <sup>e</sup>

注: 与对照组比较, <sup>c</sup> $P < 0.01$ ; 与 MPTP 模型组比较, <sup>e</sup> $P < 0.01$

表3  $\text{Rg}_1$  对 MPTP PD 模型小鼠 SN TH Caspase-3 Bcl-2 和 Bax mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )  
Tab3 Effect of  $\text{Rg}_1$  on TH caspase-3 and bcl-2 and bax gene expression in SN of MPTP PD model mice ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	caspase-3/GAPDH2 mRNA 比值	bcl-2/GAPDH1 mRNA 比值	bax/GAPDH1 mRNA 比值	TH/GAPDH1 mRNA 比值
对照组	0. 281 $\pm$ 0. 066	0. 960 $\pm$ 0. 215	0. 471 $\pm$ 0. 247	0. 911 $\pm$ 0. 162
MPTP 模型组	0. 638 $\pm$ 0. 123 <sup>c</sup>	0. 467 $\pm$ 0. 083 <sup>c</sup>	0. 978 $\pm$ 0. 273 <sup>c</sup>	0. 442 $\pm$ 0. 172 <sup>c</sup>
$\text{Rg}_1$ 预处理组	0. 431 $\pm$ 0. 049 <sup>ef</sup>	0. 895 $\pm$ 0. 198 <sup>ef</sup>	0. 588 $\pm$ 0. 241 <sup>ef</sup>	0. 775 $\pm$ 0. 142 <sup>ef</sup>

注: 与对照组比较, <sup>c</sup> $P < 0.01$ ; 与 MPTP 模型组比较, <sup>f</sup> $P < 0.05$ , <sup>e</sup> $P < 0.01$

**3.3  $\text{Rg}_1$  对 MPTP PD 模型小鼠 Str 内 DA 及其代谢产物含量的影响** MPTP 模型组 DA 及其代谢产物

DOPAC、HVA 的含量与对照组相比分别下降了 72. 51%、43. 85%、65. 89%, 有显著性差异 ( $P < 0.01$ );

Rg<sub>1</sub> 预处理组 DA、DOPAC 和 HVA 的含量较 MPTP 模型组均明显增加,有显著性差异( $P < 0.05$ );Rg<sub>1</sub> 预处理组 DA、DOPAC 和 HVA 的含量仍低于对照组,有显著性差异( $P < 0.01$ )。见表4。

表4 Rg<sub>1</sub> 对 MPTP PD 模型小鼠 Str 内 DA 及其代谢产物含量的影响( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Tab 4 Effect of Rg<sub>1</sub> on the contents of DA and its metabolites in the Str of MPTP PD model mice ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	DA (ng·mg <sup>-1</sup> )	DOPAC (ng·mg <sup>-1</sup> )	HVA (ng·mg <sup>-1</sup> )
对照	17.671 ± 1.095	2.148 ± 0.137	1.202 ± 0.115
MPTP 模型	4.856 ± 0.549 <sup>c</sup>	1.206 ± 0.071 <sup>c</sup>	0.410 ± 0.048 <sup>c</sup>
Rg <sub>1</sub> 预处理	12.025 ± 1.161 <sup>ac</sup>	1.638 ± 0.403 <sup>ac</sup>	0.911 ± 0.086 <sup>ac</sup>

注:与对照组比较,<sup>c</sup> $P < 0.01$ ;与 MPTP 模型组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$

#### 4 讨论

PD 是一种常见的中枢神经系统退行性疾病,主要病理改变是 SNzc DA 能神经元进行性变性缺失。到目前为止国内外已建立了众多的动物模型来研究 PD,其中应用最为广泛的是 MPTP 小鼠模型<sup>[3]</sup>。MPTP 是近二十多年来神经科学家们所知并公认的可以诱发小鼠 SN-Str 通路 DA 能神经元变性,可模拟出人类 PD 症状的神经毒性物质<sup>[4,5]</sup>。MPTP 穿过血脑屏障后被单胺氧化酶 B(MAO-B)转化为相应的二氢吡啶(MPDP<sup>+</sup>),MPDP<sup>+</sup>随之氧化为 1-甲基-4-苯基吡啶(MPP<sup>+</sup>),MPP<sup>+</sup>可抑制 TH 的活性而减少 DA 的合成,通过抑制活性复合体(NADH 脱氢酶)I,增加自由基的生成及氧化应激,进而促进 Bax 的表达、抑制 Bcl-2 的表达及其在线粒体外膜上的分布,从而改变线粒体膜的通透性,使膜内的某些蛋白,如细胞色素 C 等进入细胞质,继而激活 caspases 级联反应,启动凋亡过程<sup>[6,7]</sup>。

人参是我国传统名贵中药,具有广泛的药理作用和医疗用途。人参皂苷是人参的主要有效成分之一,可分三类:二醇型、三醇型、齐墩果酸型,其中二醇型和三醇型皂苷占人参皂苷的大多数,被认为是人参的最主要活性成分,具有很强的生物活性。Rg<sub>1</sub> 属于三醇型人参皂苷物质,药理学研究表明,Rg<sub>1</sub> 具有抗衰老、抗氧化、提高免疫力和增强记忆力等作用<sup>[8]</sup>。

本实验结果表明,MPTP 可导致小鼠 Str 中 DA 及其代谢产物 DOPAC、HVA 的含量分别下降 72.51%,43.85%,65.89%;同时本实验也发现 MPTP 造成小鼠 SN 内 TH 免疫反应阳性神经元的数目缺失了 77.29% 及 THmRNA 的表达下降。应用 Rg<sub>1</sub> 处理后上述指标有所改善,说明 Rg<sub>1</sub> 对 DA 神经

元具有保护作用。

Bcl-2 家族蛋白可分为两类,一类具有促进凋亡的作用,如 Bax 促进细胞色素 C 的释放;另一类具有抗凋亡作用,如 Bcl-2 阻止线粒体释放细胞色素 C<sup>[9]</sup>。Caspases 家族可以分为两类:起始 Caspases (Caspase-8、-9 和-12)和效应 Caspases (Caspase-3、-6 和-7),其中 Caspase-3 在大脑神经细胞的凋亡中起主要作用<sup>[10]</sup>。本实验结果显示,MPTP 可以引起小鼠 SN 内 Caspase-3、Bax mRNA 表达上调,Bcl-2 mRNA 表达水平下降,说明 MPTP 是通过 Bcl-2 家族蛋白来调控线粒体细胞色素 C 的释放,进而通过封闭或启动 Caspase,主要是涉及以 Caspase-3 激活为终点的信号通路的活化来调控细胞凋亡过程。表明 SN 神经元凋亡与 Bcl-2 mRNA 表达减少及 Bax mRNA 表达增加有关。

本研究应用 Rg<sub>1</sub> 处理后观察到小鼠 Str 中 DA 及代谢物含量、SN 内 TH 活性均比 MPTP 组明显升高,小鼠 SN 内 Bcl-2 mRNA 表达水平增加,而 Caspase-3、Bax mRNA 表达下调。我们可推测 Rg<sub>1</sub> 可能是通过增加 Bcl-2 mRNA 表达和减少 Bax mRNA 表达来抑制 Caspase-3 活性进而对抗 SN DA 神经元凋亡,起到保护 SN DA 神经元的作用。

以上结果和讨论均证实,MPTP 可导致 SN DA 神经元凋亡,Rg<sub>1</sub> 对 MPTP 致 SN DA 能神经元的损伤具有一定的保护作用,其机制可能与抗凋亡过程有关。

#### 参考文献:

- [1] Dawson TM, Dawson VL. Molecular pathways of neurodegeneration in Parkinson's disease[J]. *Science*, 2003, 302(5646): 819
- [2] Reena Haobam, Kizhakke M. Sindhu, Goutam Chandra, et al. Swim-test as a function of moto impairment in MPTP model of Parkinson's disease: A comparative study in two mouse strains [J]. *Behavioural Brain Research*, 2005, (163): 159
- [3] 姜宏,谢俊霞,钱忠明. MPTP 诱导小鼠黑质区铁摄取和 DMT1 表达增加[J]. *生理学报*, 2003, 55(5): 571
- [4] Marina E. Emborg. Evaluation of animal models of Parkinson's disease for neuroprotective strategies[J]. *Journal of Neuroscience Methods*, 2004, (139): 121
- [5] O. von Bohlen und Halbach, A. Schober, K. Krieglsten. Genes, proteins, and neurotoxins involved in Parkinson's disease [J]. *Progress in Neurobiology*, 2004, (73): 151
- [6] Richard Jay Smeys, Vernice Jackson-Lewis. The MPTP model of Parkinson's disease[J]. *Molecular Brain Research*, 2005, (134): 57
- [7] Reed JC. Double identity for proteins of the bcl-2 family [J]. *Nature*, 1997, 387(6635): 773
- [8] Zhang JT. Retrospect and prospect of ginseng research [J]. *Acta pharm Sin*, 1995, 30(5): 321

文章编号:1008-9926(2007)01-0021-04

中图分类号:R944、R965

文献标识码:A

链霉素聚氰基丙烯酸正丁酯纳米粒小鼠体内抗结核菌活性的研究<sup>①</sup>桂 卉<sup>②</sup>, 邹 龙, 范学工

(湖南中医学院 药剂教研室 湖南 长沙 410007)

**摘要:**目的 观察链霉素纳米粒的小鼠体内抗结核作用。方法 以被结核分枝杆菌感染的小鼠为实验动物,以小鼠的体重变化、死亡率、心、肝、脾、肺等重要脏器的重量指数变化及病理改变为评判指标,对链霉素纳米粒的体内抗结核作用进行了观察,并与非纳米化的普通链霉素进行了对比。结果 链霉素纳米粒在降低结核感染模型动物死亡率及减轻肺脏病变程度的作用方面均较普通链霉素有较大的增强。结论 链霉素纳米化后抗结核作用增强。

**关键词:**链霉素;纳米粒;结核分枝杆菌

Study on Antituberculosis Activity of Streptomycin Nanoparticles in Vivo<sup>①</sup>GUI Hui<sup>②</sup>, ZOU Long, FAN Xue-Gong

(Department of Pharmacy, Hunan College of TCM, Changsha 410007, Hunan China)

**ABSTRACT:** Aim To explore the antituberculosis activity of streptomycin nanoparticles in vivo. **Methods** Mice tuberculosis models were used to study streptomycin nanoparticles' antituberculosis activity in vivo that was compared with streptomycin. The curative effect were evaluated by mice's body weight changes and mortality, weight and histopathology changes in the lung, liver and spleen tissues. **Results** The mortality and histopathology changes in lungs of the streptomycin nanoparticles group were lower compared with the non-nanoparticle drug. **Conclusion** The streptomycin's in vivo antimicrobial activity to mycobacterium tuberculosis was enhanced after being nanoparticlized.

**KEY WORDS:** Streptomycin; Nanoparticles; Mycobacterium Tuberculosis

链霉素是使用最早的抗结核药物,其作用的主要部位在细菌核糖体,通过干扰结核杆菌的酶活性而阻碍其蛋白质合成,对结核分枝杆菌具有较强的抑菌作用。但结核分枝杆菌是胞内寄生致病菌,主要寄生在巨噬细胞内<sup>[1~4]</sup>,而链霉素主要分布于细胞外液,胞内药物浓度低。因此,结核分枝杆菌难以全部清除,这也是链霉素易产生耐药性的原因之一。已有研究证明,将抗菌药物吸附或包裹到纳米载体中制成载药纳米粒,可提高感染细胞内药物浓度,实现胞内给药,有效清除胞内致病菌<sup>[5]</sup>。我们的前期研究结果证明,链霉素纳米化后,其胞内渗透能力增强,进入细胞内的链霉

素的量增加。在前期研究基础上,我们以被结核分枝杆菌感染的小鼠为实验动物,以小鼠的体重变化、死亡率、心肝脾肺等重要脏器的重量指数变化及病理改变为评判指标,对链霉素纳米粒的体内抗结核作用进行了观察,并与非纳米化的普通链霉素进行了对比。

## 1 材料与方法

**1.1 菌种** 结核分枝杆菌 H37Rv 株(中国医学科学院结核病防治所,ATCC27294)。

**1.2 培养基及药物** 改良罗氏培养基<sup>[6]</sup>;链霉素(华北制药有限公司生产,批号 030306);链霉素纳

[9] Esther B. E. Becker, Azad Bonni. Cell cycle regulation of neuronal apoptosis in development and disease [J]. *Progress in Neurobiology*, 2004, (72): 1

[10] A. Nicotra, S. H. Parvez. Apoptotic molecules and MPTP-induced cell

death[J]. *Neurotoxicology and Teratology*, 2002, (24): 599

(收稿日期:2006-10-08;修回日期:2006-12-15)

(本文编辑 魏 萍)

① 基金项目:国家“863”子项目, No. 2001AA218011;湖南省教育厅科研基金资助项目, No. 湘教通(2001)207

② 作者简介:桂 卉(1967-),女,湖南衡阳人,博士,副教授。研究方向:新药与开发。Tel: (0731)5546990;E-mail:guihui1967@hotmail.com