

半夏泻心汤对衰老大鼠学习记忆能力的改善及分子机制*

彭旭 张晓梅 何学令 刘艳

(四川大学实验动物中心,成都 610041)

摘要:目的 以D-半乳糖致衰老大鼠为动物模型,研究半夏泻心汤(BXT)对衰老大鼠学习记忆能力的改善及大鼠海马区ACh、NE、DA、5-HT受体mRNA表达的影响,探究BXT对改善大鼠学习记忆能力的相关作用机制。方法 结合Y型水迷宫测试的大鼠逃避潜伏时间,通过注射D-半乳糖建立老龄大鼠模型;随后将动物分为老龄对照组、石杉碱甲组、壮年对照组、BXT低剂量组、BXT中剂量组、BXT高剂量组,按组别不同进行灌胃给药。连续给药6周后,再次通过Y型水迷宫测试大鼠学习记忆能力改善情况,检测ACh、NE、DA、5-HT受体mRNA及抗体的表达,观察海马区病理学变化,由此探究BXT对衰老大鼠学习记忆能力改善的分子机制。结果 与老龄对照组比较,在训练后24 h、48 h和96 h,各剂量BXT给药组均能明显缩短老龄大鼠逃避潜伏期。大鼠海马区组织HE染色显示,与老龄对照组相比,BXT高剂量组海马神经元损伤有所改善,但BXT中剂量组和低剂量组未见明显改善;免疫组化结果显示BXT高剂量组与老龄对照组相比,其椎体细胞染色数量多,排列紧密度好,细胞颜色较深。结论 本研究发现BXT能改善老龄大鼠学习记忆能力,尤其是高剂量BXT改善效果最为明显,可能与增加老龄模型大鼠海马CHRM1、DRD2、HTR1a、ADRA2a mRNA的表达有关。

关键词:半夏泻心汤;衰老;学习记忆;神经递质受体

中图分类号: R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-6179(2019)01-0055-07

DOI: 10.3969/j.issn.1006-6179.2019.01.012

人在自然衰老过程中,随着年龄的增长会出现记忆力减退、反应迟钝、认知功能下降等脑功能障碍症状。学习记忆是大脑的重要功能之一,而学习记忆的作用机制与中枢胆碱能神经系统、单胺类神经递质NE、DA、5-HT密切相关,它们之间相互制约且处于一种平衡状态^[1]。半夏泻心汤(BXT)源自张仲景《伤寒杂病论》,本方攻补兼施、升降并用,其辛开、苦降、甘补的组方配伍,一直以来是基础研究及临床应用的热点复方之一^[2]。在我们的前期研究中发现,BXT及其拆方可通过影响脾虚大鼠下丘脑中NE、DA、5-HT神经递质的水平,调节大鼠的脾胃功能^[3]。渡边雄泰^[4]等研究表明BXT对应激性溃疡不仅直接作用于消化系统,而且通过介导脑内情感系统的中枢抑制作用而发挥治疗效果。张忠等^[5]研究BXT及其拆方对应激性胃溃疡大鼠胆碱能神经元的影响,结果显示BXT全方组及各拆方组除作用于胃黏膜本身引起胃黏膜本身分泌改变之

外,还影响到脑的分泌功能。上述研究表明,BXT的作用机制与脑内的神经递质有一定的关系。此外,根据中医理论,BXT是辛开苦降的代表方剂,对梳理脾胃气机之升降,调节全身气机之运行,非常合乎老年人精气不足的体质特点,因此推测BXT对于抗衰老有一定的作用。本研究旨在分子水平上研究半夏泻心汤对衰老大鼠大脑海马区ACh、NE、DA、5-HT受体mRNA表达的影响,对其可能的作用机制进行探讨。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SD大鼠120只,SPF级,雌性,体质量(400±20)g,15月龄。另取10只SD大鼠,SPF级,雌性,体质量(200±100)g,6月龄,作为壮年对照组。实验动物均由四川省中医药科学院实验动物中心提供,

收稿日期:2018-06-20

* 基金项目:Wnt5a/PCP信号通路对软骨分化调节机制的研究(No. 2015SZ0075)

作者简介:彭旭(1987—),男,实验师,研究方向:模式实验动物的开发.E-mail: pengxu87@126.com

通信作者:刘艳(1981—),女,助理研究员,研究方向:实验动物学.E-mail: 13804416@qq.com

生产许可证号:SCXK(川)2013-19;动物实验在四川大学实验动物中心完成,实验动物使用许可证号:SYXK(川)2015-185。

1.2 药品与试剂

根据《伤寒论》BXT 全方组成为半夏 12 g,干姜 9 g,黄芩 9 g,黄连 3 g,人参 9 g,炙甘草 9 g,大枣 4 枚。以上中药饮片均购于四川省中药饮片有限责任公司,大枣自配。用蒸馏水常规煎煮 2 次,加热浓缩成每 1 mL 提取液中含 1 g 生药,置 4 °C 冰箱储存备用。石杉碱甲片(河南太龙药业股份有限公司,批号:130904)使用前用 0.5% 羧甲基纤维素钠配成 0.3% 的溶液备用。D-半乳糖(上海金穗生物科技有限公司);Trizol(Ambion 公司)、逆转录试剂盒(Thermo);CHRM1、DRD2、HTR1a、ADRA2a 基因引物(成都宝信生物有限公司);一抗,二步法抗兔/鼠通用型免疫组化检测试剂盒[基因科技(上海)有限公司]。

1.3 仪器设备

MultiGene Optimax PCR 仪(Labnet);JY600C 电泳仪(北京君意东方电泳设备有限公司);超纯水系统(Milipore);显微镜及图像采集系统(Olympus);切片机(Leica);Autostainer 480 s 全自动免疫组化仪(Thermo);Y 型水迷宫(自制)。

1.4 实验方法

1.4.1 大鼠衰老模型建立:将 120 只 15 月龄大鼠进行 Y 型水迷宫测试,记录大鼠平均逃避潜伏期(从入水起点至寻找到阶梯出水的时间)和正确反应次数(以 10 s 内直接抵达平台为正确反应)^[6],每次测定时间为 2 min,2min 后仍未找到安全通道者以 120 s 计算。每只大鼠每天训练 2 次,共训练 2 d。获得性训练结束后,正式进行测试,每只鼠每天测试 1 次,共 3 d。

根据大鼠的逃避潜伏时间由高到低,筛选出学习记忆能力明显较弱的动物 50 只,随后在大鼠颈部皮下注射 D-半乳糖 125 mg/kg 体质量^[7],每天 1 次,连续给药 4 周。4 周后再次进行 Y 型水迷宫测试,未通过测试大鼠,即为老龄模型大鼠。

1.4.2 实验动物分组及给药:将老龄模型大鼠随机平均分为 5 组,根据治疗药物类型和剂量,分别为老龄对照组(生理盐水)、石杉碱甲组(作为药物治疗的阳性对照组)、BXT 高剂量组、BXT 中剂量组、BXT 小剂量组。另选 10 只 6 月龄正常大鼠作为壮年对照组。

BXT 组大鼠根据不同 BXT 剂量进行灌胃给药,BXT 高剂量组 10 mL/kg、中剂量组 5 mL/kg、低剂量组 2.5 mL/kg,石杉碱甲组 30 mg/kg 体质量,壮年对照组和老龄对照组灌胃生理盐水 10 mL/kg。大鼠每周测体质量一次,按体质量调整给药剂量,连续给药 6 周。

1.4.3 病理学及免疫组化检测:行为学检测结束后,各组大鼠放入 4% 异氟烷的诱导盒中进行诱导麻醉。大鼠进入麻醉状态后迅速取出,并行眼眶放血处死,打开头盖骨,迅速取出脑组织,于冰上剥离左侧大脑皮层和海马,置于 4% 多聚甲醛中固定。将脑组织块冠状位连续切片,片厚 5 μm。每隔 5 张取 1 张,每例动物相邻切片分为 3 套,每套各 5 张,选取其中一套进行常规 HE 染色,树脂封片,进行组织病理学检测。另一套采用 Envision 二步法进行免疫组织化学染色。

1.5 Real-time PCR 检测 Ach、NE、DA、5-TH 受体 mRNA 表达

根据 GenBank 的序列,用 Goldkey 软件分别设计 CHRM1、DRD2、HTR1a、ADRA2a 基因的引物。根据 RNA 提取试剂盒说明书提取 RNA,然后根据 Thermo 的逆转录试剂盒合成 cDNA,最后进行 PCR 扩增。引物序列如下:

CHRM1 上游引物 5'-ATACAGTCAAGAGGCCACCC-3';

下游引物 5'-AGGAACACAGTCCTTGCAGA-3', 产物长度 218 bp;

DRD2 上游引物 5'-AAACCCGGACCTCCCTTAAG-3';

下游引物 5'-AGAGGACTGGTGGGATGTTG-3', 产物长度 113 bp;

HTR1a 上游引物 5'-ACCTCTCTGTTGCTGGGTAC-3';

下游引物 5'-CGATAAACAGGTCCGAGGTG-3', 产物长度 719 bp;

ADRA2a 上游引物 5'-TTGGCCTTGTCGCGATATTG-3';

下游引物 5'-CCAGGGGACAGTTACCAGTT-3', 产物长度 75 bp;

1.6 图像分析及数据处理

使用 Olympus 显微镜及图像采集系统对海马区 Ach、NE、DA、5-TH 受体阳性细胞进行采图。应用凝胶成像分析软件 Gel-Pro-analyzer4.0 分析受体和

内参 β -Actin 的灰度值,并用 GraphPad Prism 软件做柱状图进行比较。

2 结果

2.1 Y 型水迷宫检测各组大鼠学习记忆能力

造模后,老龄对照组大鼠在 Y 型水迷宫中的逃避潜伏期较壮年对照组明显延长;与老龄对照组比较,在训练后 24 h、48 h 和 96 h,各剂量 BXT 给药组均能明显缩短衰老大鼠逃避潜伏期,结果见图 1。

2.2 海马区病理形态学观察

对各组大鼠海马区组织进行 HE 染色,结果如图 2 所示。壮年对照组海马组织各区显示清晰,神经元细胞丰富,数量较多,排列整齐,细胞形态正常,核大而圆,核仁明显,可见少量小胶质细胞,神经纤维清晰;老龄对照组可见海马各区神经元细胞不同

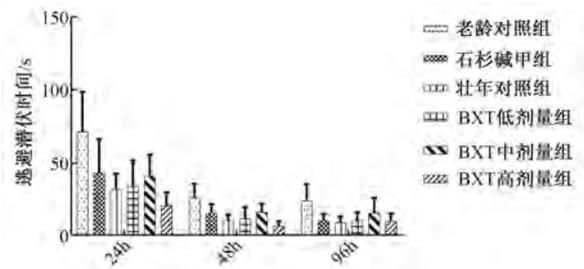


图 1 BXT 对大鼠逃避潜伏期的影响
Fig.1 Effect of BXT on escape latency of rats

程度减少,出现神经元萎缩(红色神经元),小胶质细胞增生、血管套以及噬神经现象;BXT 高剂量组和石杉碱甲组海马神经元损伤均有所改善,改善程度基本相同,但 BXT 中剂量组和低剂量组同老龄对照组相比未见明显改善。

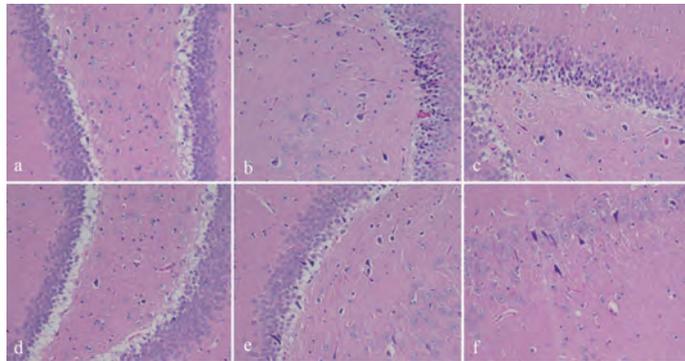


图 2 海马区 HE 染色观察 ($\times 200$)

注:a:老龄对照组;b:石杉碱甲组;c:壮年对照组;d:BXT 低剂量组;e:BXT 中剂量组;f:BXT 高剂量组

Fig.2 HE staining of hippocampus ($\times 200$)

Note:a:aging control group;b:huperzine A group;c:strong control group; d:BXT low dose group,e:BXT medium dose group;f:BXT high dose group

2.3 免疫组织化学染色结果

对大鼠海马区组织进行免疫组化染色,各组大鼠海马区 DRD2、CHRM1、HTR1 α 、ADRA2 α 的表达和分布情况如图 3~6 所示。椎体细胞的细胞膜和细胞质内出现了深棕色的阳性细胞染色反应,而椎体细胞周围未见其他细胞有着色。从形态结构看,壮年对照组海马区椎体细胞染色数量多且颜色深,排列紧密整齐,层次结构明显;老龄对照组海马区椎体细胞染色数量少且颜色很浅,排列疏松,细胞间隙较大,层次结构不明显;BXT 高剂量组和石杉碱甲组椎体细胞染色数量和颜色以及排列紧密度介于壮年对照组和老龄对照组之间,对受体的表达有明显的增强作用,结构层次也有改善,这说明高剂量 BXT

对海马区的损伤有一定的保护作用,保护程度与石杉碱甲组类似,但中剂量组和低剂量组椎体细胞的阳性反应程度与老龄对照组相比未见明显差异。

2.4 BXT 对大鼠海马区 CHRM1、DRD2、HTR1 α 、ADRA2 α mRNA 表达的影响

mRNA 表达结果显示,BXT 低剂量组和中剂量组的 CHRM1、DRD2、ADRA2 α mRNA 相对表达量均低于大剂量组,而 HTR1 α mRNA 相对表达量在 BXT 各组中表达量差异不明显;壮年对照组的 CHRM1、DRD2、HTR1 α 、ADRA2 α mRNA 相对表达量均高于其余五组,而老龄对照组偏低,尤其在 CHRM1 和 HTR1 α mRNA 表达量上显著低于其它组。见图 7 和图 8。

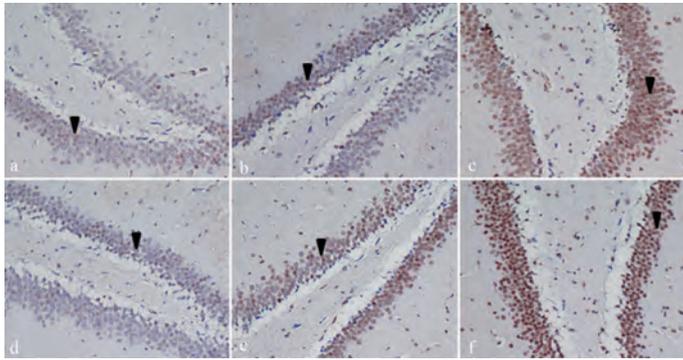


图 3 海马区 DRA2 表达情况 (深棕色, ×200)

注: a: 老龄对照组; b: 石杉碱甲组; c: 壮年对照组; d: BXT 低剂量组; e: BXT 中剂量组; f: BXT 高剂量组

Fig.3 Expression of DRA2 in hippocampus

(dark brown, ×200)

Note: a: Aging control group; b: Huperzine A group; c: Strong control group; d: BXT low dose group; e: BXT medium dose group; f: BXT high dose group

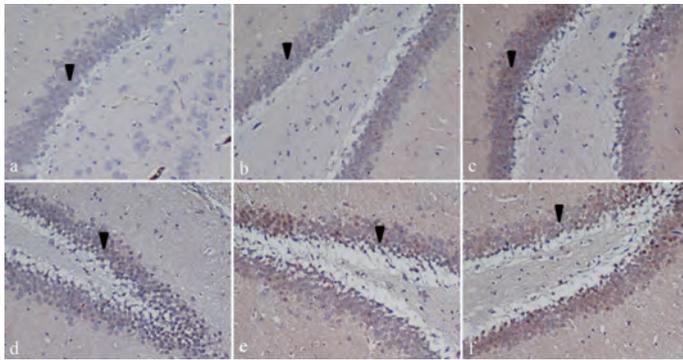


图 4 海马区 CHRM1 表达情况 (×200)

注: a: 老龄对照组; b: 石杉碱甲组; c: 壮年对照组; d: BXT 低剂量组; e: BXT 中剂量组; f: BXT 高剂量组

Fig.4 Expression of CHRM1 in hippocampus (×200)

Note: a: Aging control group; b: Huperzine A group; c: Strong control group; d: BXT low dose group; e: BXT medium dose group; f: BXT high dose group

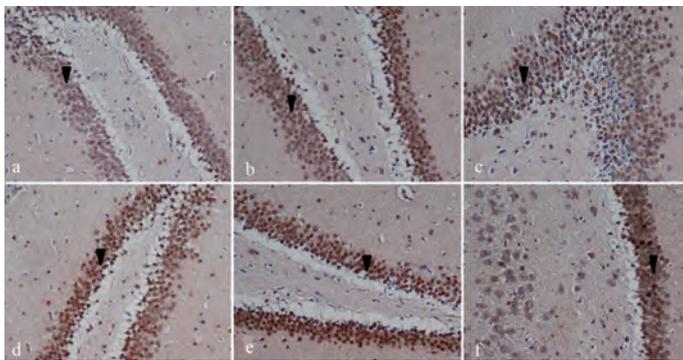


图 5 海马区 ADRA2α 表达情况 (×200)

注: a: 老龄对照组; b: 石杉碱甲组; c: 壮年对照组; d: BXT 低剂量组; e: BXT 中剂量组; f: BXT 高剂量组

Fig.5 Expression of ADRA2α in hippocampus

(dark brown, ×200)

Note: a: Aging control group; b: Huperzine A group; c: Strong control group; d: BXT low dose group; e: BXT medium dose group; f: BXT high dose group

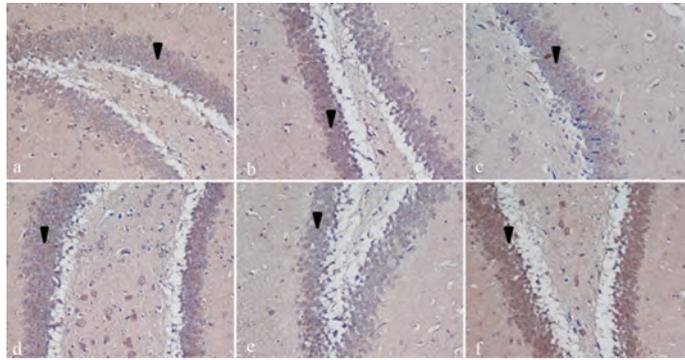


图 6 海马区 HTR1 α 表达情况 ($\times 200$)

注:a:老龄对照组;b:石杉碱甲组;c:壮年对照组;d:BXT 低剂量组;e:BXT 中剂量组;f:BXT 高剂量组

Fig.6 Expression of HTR1 α in hippocampus ($\times 200$)

Note:a;Aging control group;b;Huperzine A group;c;Strong control group; d;BXT low dose group;e;BXT medium dose group;f;BXT high dose group

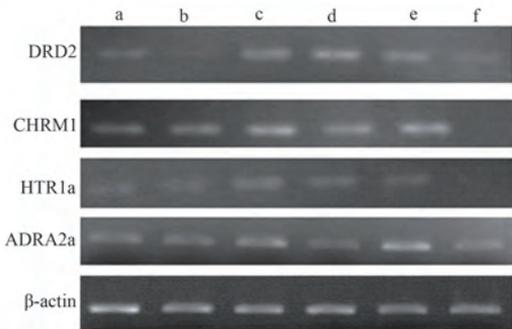


图 7 海马区 DRD2、CHRM1、HTR1 α 、ADRA2 α mRNA 表达的影响

注:a:BXT 低剂量组;b:BXT 中剂量组;c:BXT 高剂量组;d:石杉碱甲组;e:壮年对照组;f:老龄对照组

Fig.7 Expression of DRD2、CHRM1、HTR1 α 、ADRA2 α mRNA in hippocampus

Note: a;BXT low dose group; b;BXT medium dose group; c;BXT high dose group;d; Huperzine A group; e; Strong control group;f: Aging control group

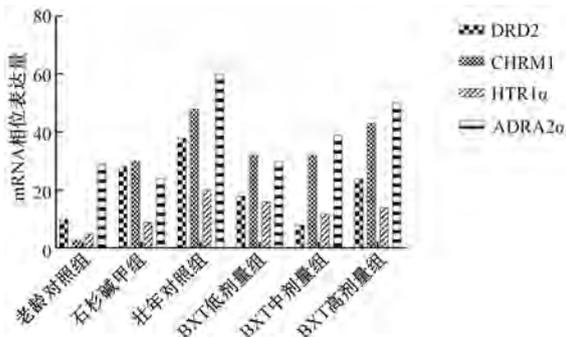


图 8 海马区 DRD2、CHRM1、HTR1 α 、ADRA2 α mRNA 相对表达量

Fig.8 Relative expression of DRD2、CHRM1、HTR1 α 、ADRA2 α mRNA in hippocampus

3 讨论

哺乳动物随着年龄的增加,海马区的形态结构、功能以及一些相关蛋白质分子发生改变,被认为是海马功能衰退的基础。在本次实验中通过大鼠行为学试验,我们发现经高剂量 BXT 治疗过的老年大鼠能够明显缩短逃避潜伏期,与老龄对照组相比,差异极显著($P < 0.01$)。HE 染色和免疫组化染色结果都显示,BXT 大剂量组的海马区受损的神经元也有所改善。这提示 BXT 对老年鼠的海马区受损部位有一定程度的改善作用。

NE 在记忆保持方面起重要作用,而改善记忆与促进 DA 的释放有关,5-HT 则与精神活动、感觉体温调节、高级认知功能有关。当机体逐渐衰老后,脑内单胺类神经递质亦发生代谢紊乱,表现为 NE、DA 和 5-HT 含量下降,其含量下降是造成学习记忆能力减退的重要原因^[6,8]。陈乔等用放射自显影方法研究表明,老年大鼠大脑皮质及海马部位 CHRM1 密度显著低于壮年对照鼠,并提出这 3 个脑区 CHRM1 受体密度的降低可能是衰老时学习、记忆、联想、认知等功能障碍的重要机制之一^[9]。Wilkerson and Levin^[10] 研究发现,腹侧海马注入 DRD2 激动剂可提高大鼠工作记忆的能力,相反注入 DRD2 受体拮抗剂则降低工作记忆的能力,故提示了 DRD2 参与记忆功能。梁发权和吕宝璋^[11] 采用放射性配基结合分析法发现老年大鼠(36 月龄)大脑皮质中 5-HT 受体的数目较成年大鼠(3 月龄)明显减少,提示老年鼠中枢 5-HT 系统的功能降低,

可能与老年期的一些表现如记忆力衰退、睡眠障碍有关。本实验观察到,模型组的 CHRM1、DRD2、HTR1 α 、ADRA2 α mRNA 表达明显弱于壮年组,甚至出现一些无表达现象,这与其他学者的研究结果是一致的,衰老时会出现中枢学习、记忆力以及认知等功能的下降,这与大脑海马区 Ach、NE、DA、5-TH 受体 mRNA 表达下降的现象有密切关系。

石杉碱甲是一种强效的可逆性胆碱酯酶抑制剂,并可增强大鼠海马 CA1 锥体神经元的兴奋性突触传递,其增强突触传递作用与 M 型乙酰胆碱受体激动有关^[12]。BXT 高剂量组与石杉碱甲组的 CHRM1、DRD2、ADRA2 α mRNA 表达趋于一致性,这说明高剂量 BXT 对海马区的损伤有一定的保护作用,保护程度与石杉碱甲组类似。另外,有研究报告表明胆碱酯酶抑制剂通过 M1 型胆碱能受体能够使行为大鼠 CA1 区的长时程增强^[13-14]。在我们之前的研究中发现,半夏泻心汤给药组可明显上调脑组织胆碱能受体 M1 的表达^[15-16],故我们推测 BXT 抗衰老的作用机制与 CHRM1、DRD2、HTR1 α 、ADRA2 α 基因表达有关,BXT 可以激活其 mRNA 的表达,从而对衰老大鼠脑组织中 Ach、NE、DA、5-TH 起到一定的调节作用。由于中药的作用是多靶点、多效应作用的结果,因此在接下来的工作中还要再进一步对 BXT 参与机体抗衰老的作用机制进行研究。

参 考 文 献

[1] 厚华刚,库保善.胆碱系统和其他神经递质/调质系统在学习记忆中的作用及相互作用[J].包头医学院学报,1998,14(3):79-81.

[2] 崔丽君,张艳,郑志娟,等.近六十年半夏泻心汤相关研究文献分析[J].西部中医药,2015,28(7):43-46.

[3] 张吉仲,李利民,黄利,等.半夏泻心汤及其拆方对脾虚大鼠下丘脑中多巴胺、去甲肾上腺素和 5-羟色胺的影响[J].华西药理学杂志,2014,29(3):286-288.

[4] 渡边泰雄,李璟,刘力,等.半夏泻心汤对水浸拘束诱发大鼠胃溃疡的抑制作用及对脑和胃的单胺调节.汉方最新治疗[J].1997,6(2):167-172.

[5] 张忠,司银楚,吴海霞,等.半夏泻心汤及其拆方对应激性胃溃疡大鼠胆碱能神经元的影响[J].中国中医基础医学杂志,2005,11(4):283-287.

[6] Li Y K. Experimental methodology of TCM pharmacology [M]. Shanghai: Shanghai science and Technology Publishing House, 1986:174.

[7] 朱亚珍,朱虹光.D-半乳糖致衰老动物模型的建立及其检测方法[J].复旦学报(医学版),2007,34(4):617-619.

[8] 龚国清,徐赓本.小鼠衰老模型研究[J].中国药科大学学报,1991,22(2):101-103.

[9] 陈乔,李征峰,李青,等.六味地黄丸对老年大鼠学习记忆及脑内 M1 胆碱受体阳性神经元的影响[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(3):205-208.

[10] Wilkerson A, Levin E D. Ventral hippocampal dopamine D1 and D2 systems and spatial working memory in rats[J]. Neuroscience, 1999, 89(3):743-749.

[11] 梁发权,吕宝璋.大鼠脑中 5-HT 受体的检定及其在衰老时的变化[J].中国应用生理学杂志,1991(2):113-116.

[12] 吴小未,王邦安,王萌芽.石杉碱甲增强大鼠海马脑片 CA1 锥体神经元的兴奋性突触传递[J].中国临床药理学与治疗学,2012,17(10):1091-1097.

[13] Doralp S, Leung L S. Cholinergic modulation of hippocampal CA1 basal-dendritic long-term potentiation [J]. Neurobiol Learn Mem, 2008, 90(2):382-388.

[14] 赵乔,焦守怒,王钜.阿尔茨海默病动物模型和治疗的相关进展[J].实验动物科学,2009,26(3):39-45.

[15] 李利民,宁楠,刘洁,等.半夏泻心汤对衰老大鼠学习记忆能力及乙酰胆碱酯酶的影响[J].中药药理与临床,2015,(4):9-11.

[16] 白杨,辛随成.阿尔兹海默病动物模型的研究进展[J].实验动物科学,2013,30(6):61-65.

Improvement of Learning and Memory Ability of BXT on Aging Rats and it's Molecular Mechanism

PENG Xu, ZHANG Xiaomei, HE Xueling, LIU Yan

(Laboratory Animal Center Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: Objective Using D-galactose-induced aging rats as animal model to study the effect of Banxia Xiexin Decoction (BXT) on aged rat's learning and memory ability and the expression of Ach, NE, DA, 5-HT receptor mRNA in the hippocampus of the brain, explore the mechanism of BXT to improve the aged rat's learning and memory ability. **Method** According to Rat escape latency by Y water maze test, and D-galactose injection to establish aging rat model; Then the animals divided into Aging control group, Huperzine A group, Strong control group, BXT low dose group, BXT medium dose group, BXT high dose group, intragastric administration by different group. After 6 weeks of treatment, the learning and memory abilities of rats were tested by Y-type water maze again, and detect NE, DA, 5-HT receptor mRNA and antibody expression, observe the pathologic changes of hippocampus, therefore explore the molecular mechanism of BXT on aging rat's learning and memory ability.

Result The mean escape latency in the Y-type water maze test was shortened in BXT-treated group. The HE staining of the hippocampus showed that the damage of the hippocampus neurons in the high dose BXT group was improved compared with the model control group, but there was no significant improvement in the immunohistochemical result in medium and low dose BXT group. The result of immunohistochemistry showed that the BXT high dose group had more chromosomes than the model control group, and the cells were darker.

Conclusion This study found that BXT can improve aging rat's learning and memory ability, especially the high-dose BXT group. The possible mechanism is to increase the aging model hippocampus expression of CHRM1, DRD2, HTR1a, ADRA2a mRNA.

Key words: Banxia Xiexin Decoction; aging; learning ability; neurotransmitter receptor

(上接第 54 页)

Study on Antitumor Effect of Recombinant Human Interferon Endothelial Peptide Fusion Protein

LIU Heyu¹, WANG Ying², LIU Jinhui¹, JIANG Yuanyuan², HUANG Yan², LI Huicheng¹

(1. Harbin Pharmaceutical Group Bioengineering Co., Ltd, Harbin 150020, china)

(2. Harbin Pharmaceutical Group R&D Center, Harbin. 150020, China)

Abstract: Objective To investigate the antitumor effect of I30 peptide, and to provide experimental result for the further development of I30 peptide. **Method** Using NIH mouse, 4 mice were injected intraperitoneally with H₂₂ tumor strain, and all mice were sacrificed at 1 week, and ascites was extracted. Another 40 mice were injected with 0.2 mL ascitic fluid, and the cell concentration was 1×10^6 个/mL. At 4 h after inoculation mice were treated in different groups. The mice were divided into 4 groups randomly, IFN group, subcutaneous injection of interferon 9×10^5 IU/mL; I30 high dose group, subcutaneous injection of 80 μ g/I30; I30 low dose group, subcutaneous injection of 30 μ g/I30; negative control group, subcutaneous injection of normal saline. Mice were continuous administrated for 16 d. After 2 h, all animals were sacrificed, and the subcutaneous tumor mass was dissected.

Result The treatment group had obvious therapeutic effect, and the difference was significant ($P < 0.05$).

Conclusion I30 has anti-tumor effect.

Key words: Interferon; Endothelial peptide; Fusion protein; anti-tumor