

网络出版时间: 2017-4-10 14:40 网络出版地址: http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20170410.1440.004.html

# GLP-1 重组减毒沙门菌对 2 型糖尿病小鼠的血糖调控作用

田丽芳<sup>1</sup>, 刘尚全<sup>1,2</sup>, 李卫东<sup>2</sup>, 田晓丽<sup>2</sup>, 陈 蕾<sup>2</sup>, 任 斌<sup>2</sup>, 袁 媛<sup>2</sup>

**摘要** 目的 观察重组减毒沙门菌作为胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 的基因载体, 对 2 型糖尿病小鼠的血糖调控作用。方法 高脂饲料饲喂 4 周后予以链脲佐菌素 (STZ) 腹腔注射构建 KM 种小鼠 2 型糖尿病模型, 小鼠分为 4 组, 每组 10 只, 即: 正常组、模型组、空载组及治疗组, 分别予以: 5% NaHCO<sub>3</sub>、5% NaHCO<sub>3</sub>、同等剂量的空载减毒沙门菌及 GLP-1 重组减毒沙门菌灌胃治疗, 观察并记录治疗前后第 0、7、14、21、28 天的空腹血糖值及进食量、饮水量、体重变化, 分别于治疗后第 14 天及第 28 天行口服葡萄糖耐量试验 (OGTT)。取小鼠胰腺组织, 采用 HE 染色法观察各组小鼠的胰腺组织形态学变化。结果 GLP-1 重组减毒沙门菌灌胃治疗后, 模型组小鼠空腹血糖水平较正常组升高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 空载组空腹血糖与模型组比较, 差异无统计学意义, 治疗组空腹血糖与空载组比较降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 糖尿病小鼠体重变化有明显改善 ( $P < 0.01$ ), 多饮多食症状好转; 第 14 天及第 28 天 OGTT 示: 空载组血糖与模型组比较, 差异无统计学意义, 治疗组血糖较空载组降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。胰腺 HE 染色结果示, 空载组与模型组比较, 无明显变化, 治疗组与空载组比较有明显改善。结论 GLP-1 重组减毒沙门菌能够改善 2 型糖尿病小鼠多饮、多食、体重下降等症状, 降低血糖, 改善胰岛形态学变化, 对 2 型糖尿病小鼠具有一定的治疗作用。  
**关键词** GLP-1; 减毒沙门菌; 2 型糖尿病; 链脲佐菌素  
中图分类号 R 587.1; R 459.9  
文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)05-0639-06  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.05.004

胰高血糖素样肽-1 (glucagon like peptide-1, GLP-1) 是小肠 L 细胞分泌的一种激素, 能够作用于胰岛  $\beta$  细胞, 促进胰岛素的释放, 抑制体内胰高血糖素的水平<sup>[1-2]</sup>。GLP-1 能够改善炎症和氧化应激的损伤, 对胰岛细胞起到较好的保护作用, 并且能够抑制胰岛细胞的氧化和凋亡。目前, GLP-1 类药物

使用方法均为皮下注射, 患者在长期治疗过程中依从性较差。近年来, 基因治疗<sup>[3]</sup>作为一种新兴的治疗方式, 能够将编码某种蛋白质的重组表达载体通过口服灌胃的方式进入体内, 在宿主细胞内表达外源基因, 从而达到预防和治疗某种疾病的目的。由于减毒沙门菌<sup>[4]</sup>具有侵袭性, 通过肠壁上的 M 细胞到达 Peyer 淋巴结, 定居在肠系膜相关淋巴组织, 并经肠系膜 Peyer 淋巴结到达肝脏、脾脏等器官和肿瘤组织, 有刺激机体免疫、呈递基因等作用。既往研究<sup>[5-7]</sup>表明, 重组减毒沙门菌可用于治疗黑色素瘤、结肠癌、胃癌、肺癌等疾病, 该实验通过 GLP-1 重组减毒沙门菌灌胃治疗 2 型糖尿病小鼠, 观察其治疗作用, 并通过小鼠胰腺 HE 染色, 评价其对胰腺形态学的改善作用。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 健康 4 周龄小鼠 40 只 (北京联合利华实验动物有限公司), SPF 级, (20 ± 2) g。SPF 级实验环境下喂养, 自然采光, 室温 (25 ± 1) °C, 所有小鼠接受辐照后的啮齿类食物, 自由进食、饮水。

## 1.2 实验方法

**1.2.1 质粒与菌株编码** GLP-1 蛋白的质粒 pcDNA3.3-GLP1、pcDNA3-flag 和减毒沙门菌菌株 Ty21a 均由合肥市滨湖医院中心试验室提供。

**1.2.2 试剂与仪器** 链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ) (美国 Sigma 公司); 血糖仪 (美国强生公司)。

**1.2.3 携带 GLP-1 的重组减毒沙门菌的构建<sup>[8-10]</sup>与鉴定** 将构建好的质粒 pcDNA3-GLP1 和 pcDNA3-flag 送上海生工进行基因测序, 测序验证成功后, 制备减毒沙门菌感受态。将 1  $\mu$ l 质粒和 50  $\mu$ l 减毒沙门菌感受态细胞置于电击杯中, 在电转仪中进行电转化, 参数: 2 399 V, 0.8 ms。电转成功后, 开始挑选菌种单克隆, 提取 DNA 并进行扩增, 行菌种鉴定。菌种鉴定成功后, 摇菌后涂板, 过夜挑选菌种, 鉴定阳性克隆菌中是否含 GLP-1 基因。

**1.2.4 小鼠造模<sup>[11-12]</sup>及分组** 所有小鼠适应性喂养 1 周后, 正常组 10 只小鼠和模型组 30 只小鼠分别给予: 10% 低脂对照饲料、60% 高脂饲料, 均为辐

2017-02-05 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 30840106)

作者单位: <sup>1</sup>安徽医科大学第三附属医院内分泌科, 合肥 230001<sup>2</sup>上海交通大学 Bio-x 研究院, 上海交通大学实验动物中心, 上海 200240

作者简介: 田丽芳, 女, 硕士研究生;

刘尚全, 男, 副主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: shangquanliu@yahoo.com.cn

照饲料,定时更换鼠笼、灭菌水、饲料,1个月后,小鼠过夜禁食,空腹时间 $\geq 12$  h,称量空腹体重并做好记录,按65 mg/kg腹腔注射STZ,72 h后,用微量血糖仪监测空腹血糖并记录,血糖值 $\geq 11.1$  mmol/L为造模成功。造模成功后,小鼠共分为4组:正常组、对照组、空载组、治疗组。

**1.2.5 重组减毒沙门菌干预** 小鼠造模成功后第5天,正常组、对照组、空载组、治疗组小鼠分别给予以下灌胃治疗:5% NaHCO<sub>3</sub> 溶液 100  $\mu$ l/只、5% NaHCO<sub>3</sub> 溶液 100  $\mu$ l/只、携带 pcDNA3 的减毒沙门菌 100  $\mu$ l/只(菌液浓度为 10<sup>9</sup>/ml)、携带编码 GLP-1 蛋白的 pcDNA3-GLP-1 的减毒沙门菌 100  $\mu$ l/只(菌液浓度为 10<sup>9</sup>/ml)。

**1.2.6 口服葡萄糖耐量试验(oral glucose tolerance test, OGTT)** 各组小鼠灌胃治疗后第14、28天行 OGTT 试验,空腹时间 $\geq 12$  h,至次日上午9点,在完成各组小鼠空腹血糖监测之后,开始体重并记录,以2 g/kg葡萄糖的标准,灌胃的体积为0.2 ml/g,灌胃各组小鼠,从灌胃开始计时,分别在30、60、90、120 min用血糖仪监测并记录各组小鼠的血糖值,G0、

G30、G60、G90、G120为各时间点的血糖值。

**1.2.7 小鼠胰腺标本制备** 第28天,所有小鼠称重,给予每100 g体重0.1 ml的水合氯醛麻醉,待麻醉到一定程度,迅速将小鼠断头处死,冰上分离小鼠胰腺组织,置于装有多聚甲醛的玻璃瓶内保存,并做相应的标记。采用 HE 染色法制备胰腺病理切片,高倍镜(40 $\times$ 100)下观察胰岛的形态学变化。

**1.3 统计学处理** 所有数据资料均采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,计数资料均以  $\bar{x} \pm s$  表示,分别采用独立样本 *t* 检验、单因素方差分析, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 质粒构建** 构建质粒测序成功,pcDNA3-GLP1 和 pcDNA3-flag 质粒图谱见图1。

**2.2 菌种鉴定结果** 阳性单克隆菌提取质粒鉴定结果与原测序结果符合,菌种 DNA 测序结果序列见表1,经 Blast 菌种鉴定结果为沙门菌,非杂菌生长。

**2.3 各组小鼠的血糖水平及一般情况** 监测各组小鼠第0、7、14、21、28天的空腹血糖、进食量、饮水

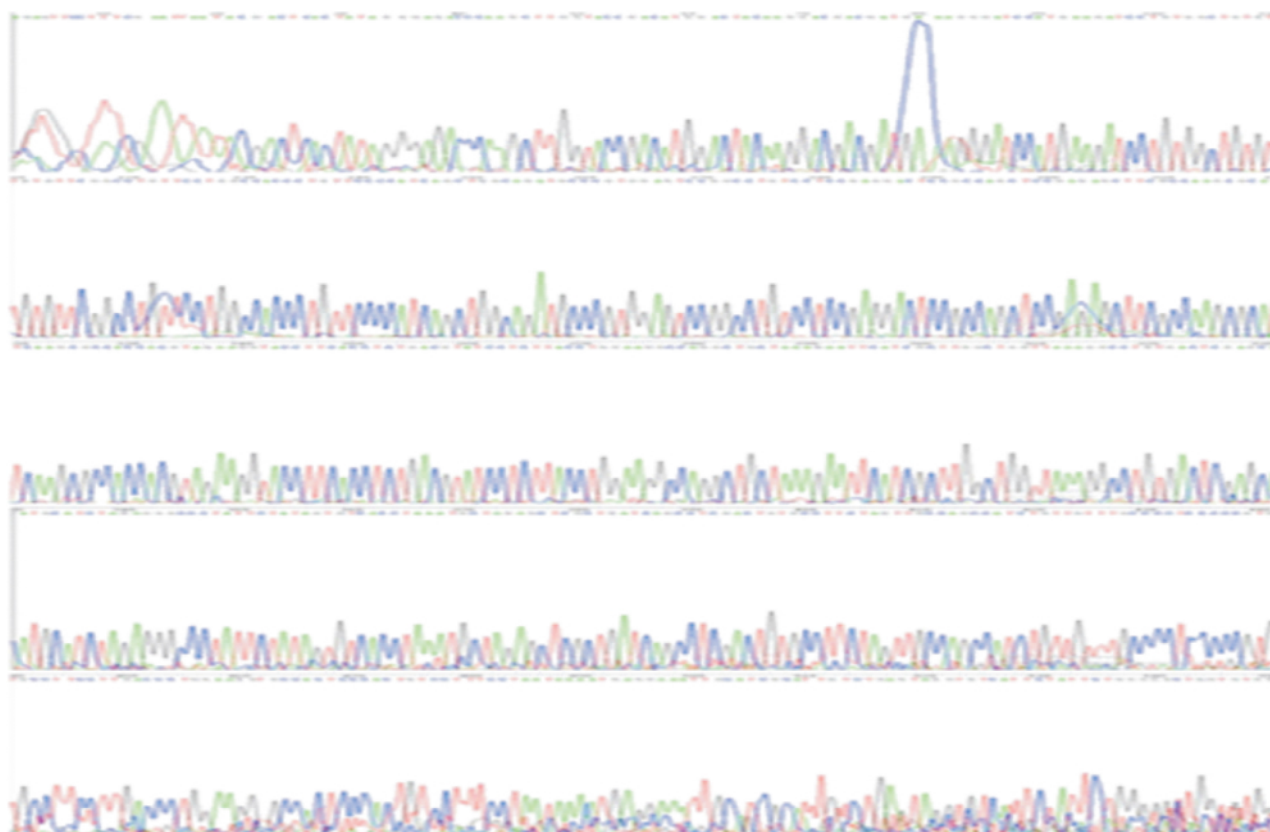


图1 质粒 pcDNA3-GLP1 及 pcDNA3-flag 基因测序图

量及体重变化并记录。结果示糖尿病小鼠多饮多食、体重减轻等症状有所改善。不同时间段各组小鼠空腹血糖水平数值见表2,第14天和第28天OGTT结果见表3、4。图2~5分别为不同时间段各组小鼠空腹血糖随时间变化情况、第14天及28天OGTT实验结果、不同时间段各组小鼠体重变化情况。

2.4 各组小鼠胰腺组织 HE 染色结果 正常组:胰

腺小叶结构正常,小叶内胰岛数量正常,组成单个胰岛的细胞数量正常,胰岛形态规则,边界清楚。模型组及空载组:胰腺小叶结构正常,小叶内胰岛萎缩,数量明显减少,且单个胰岛的细胞数量也明显减少,部分区域内胰岛难以察见,个别胰岛可见融合,形态不规则,边界欠清晰。治疗组:胰腺小叶结构正常,小叶腺泡发育正常;小叶内胰岛数量未见显著减少,组成单个胰岛的细胞数量正常,胰岛形态规则,边界

表1 菌种质粒 DNA 测序结果

菌种质粒测序结果

```

GGCCAGATAGCGATGCATGTCGTACGGTGCAGGAAGCAGCTTGCTGCTTTGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATG
GAGGGGATAACTACTGAAACGGTGGCTAATACCCGATAACGTCGCAAGACCAAAAGAGGGGGACCTTCGGGCTCTTCCATCAGATGTGCCGAGA
TGGGATTAGCTTGTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGCGCAGCATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGAACACGGTCC
AGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATGACAAATGGGCGCAAGCCTGATGACCCATGCCCGCTGTATGAAGAAGGCCCTTCGGGTTGTA
GTACTTTCAGCGGGGAGGAAGGCTTGTGGTTAAGAACCGCAGCAATTGACGTTACCCGCACAACAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAACAGCCTCG
GTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCCGAATTACTGGGCGTAAACCGCACCGAGGCGGTCTGTCAAGTCCGATGTGAAATCCCTGGCTCAACCTGG
GAACTGCATTGCAAACTGGCATGCTTGTAGTCTTGTACAAGGGGTAGAATTCGGGTGTATCCTTGAAATGCGTATAGATCTGGGAGGAATACCTATA
GGAGAAATCGTCCCTCTGCAAAAAATGAGGCTCAGATGAAAATCGTTTGTGAGCCGGGGGATGTATACCCCGCTGCTCCATACCAGTAACAATGT
CTACTTGGAGGTTGTTGGCTAAGTCTGCCGTCCTCAGATGACACCTTCATGGCATCGTCCGATAGGATFCCCAGTGGTGGGTAGGGTCAATTCCT
TCACAGTGGGCCGACCGCCAGTGGTACTTTTTACTTTTATCAATACGAGGAGACTACTTTCCTGCGGTGCGTCCGAAATGTGATATCAAGT
TGTGTTTTTGTGGGAGAAAAGATACAATGGACGGTGAACACACAACGTCTTCTGCAGTGTAGAATTCGTTTCAGTCCGAGC
    
```

表2 不同时间段各组小鼠空腹血糖水平(n = 10 μmmo/L,  $\bar{x} \pm s$ )

时间(d)	正常组	模型组	空载组	治疗组	F 值
0	5.01 ± 0.30	14.97 ± 0.74	14.72 ± 1.03	14.68 ± 1.03	348.446
7	4.97 ± 0.26	15.76 ± 0.75	15.20 ± 0.71	15.65 ± 0.94	620.573
14	5.07 ± 0.27	16.82 ± 0.59	16.04 ± 1.11	10.63 ± 1.46	325.531
21	4.93 ± 0.40	18.21 ± 0.94	17.61 ± 1.8	6.54 ± 0.78*	383.839
28	5.08 ± 0.25	20.06 ± 1.01	19.71 ± 1.81	6.27 ± 0.63*	569.230

与空载组比较: \* P < 0.01

表3 第14天 OGTT 各组小鼠血糖水平(n = 10 μmmo/L,  $\bar{x} \pm s$ )

项目	正常组	模型组	空载组	治疗组	t <sup>a</sup> 值	t <sup>b</sup> 值
G0	5.07 ± 0.27	16.82 ± 0.59	16.40 ± 1.11	10.63 ± 1.46*	1.059	9.591
G30	12.14 ± 1.31	31.10 ± 0.65	30.51 ± 0.86	20.31 ± 1.15*	1.723	22.414
G60	7.34 ± 0.65	29.37 ± 1.12	28.93 ± 0.66	17.62 ± 0.88*	1.073	32.474
G90	6.42 ± 0.48	25.35 ± 0.75	25.65 ± 0.37	13.1 ± 0.99*	1.133	37.678
G120	6.05 ± 0.42	22.02 ± 1.27	22.62 ± 0.80	11.20 ± 1.2*	1.264	24.884

注: t<sup>a</sup> 表示空载组与模型组比较, t<sup>b</sup> 表示治疗组与空载组比较; 与空载组比较: \* P < 0.01

表4 第28天 OGTT 各组小鼠血糖水平(n = 10 μmmo/L,  $\bar{x} \pm s$ )

项目	正常组	模型组	空载组	治疗组	t <sup>a</sup> 值	t <sup>b</sup> 值
G0	5.08 ± 0.25	20.81 ± 1.50	19.71 ± 1.80	5.72 ± 0.63*	1.481	22.226
G30	14.80 ± 1.39	30.76 ± 1.49	32.31 ± 0.89	23.69 ± 1.75*	2.811	13.843
G60	11.30 ± 1.32	23.46 ± 1.48	23.60 ± 1.18	14.80 ± 1.50*	0.234	14.568
G90	6.90 ± 0.69	17.50 ± 1.29	17.80 ± 1.26	10.30 ± 1.26*	0.526	13.300
G120	5.60 ± 0.58	15.58 ± 1.74	15.30 ± 1.34	8.36 ± 1.35*	0.355	11.534

注: t<sup>a</sup> 表示空载组与模型组比较, t<sup>b</sup> 表示治疗组与空载组比较; 与空载组比较: \* P < 0.01

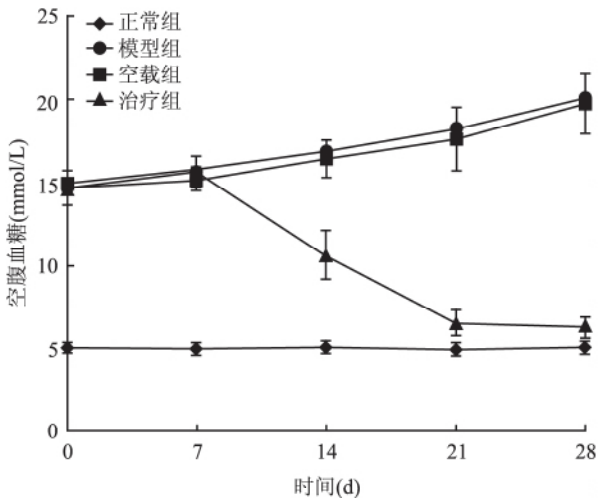


图2 GLP-1 重组减毒沙门菌对 2 型糖尿病小鼠空腹血糖的影响

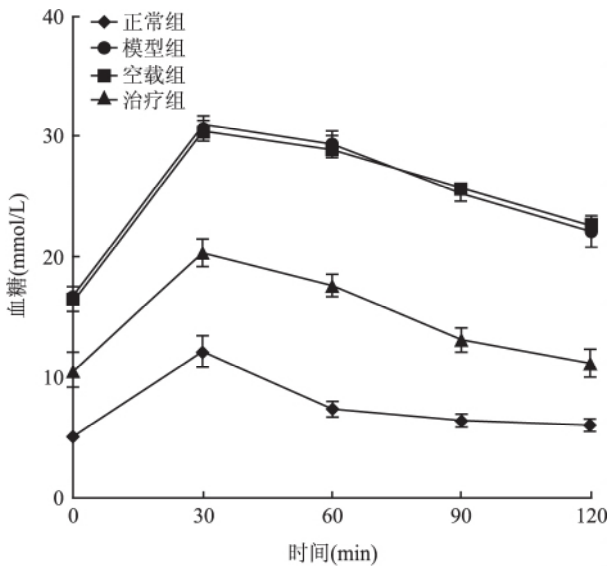


图3 各组小鼠第 14 天 OGTT 实验结果

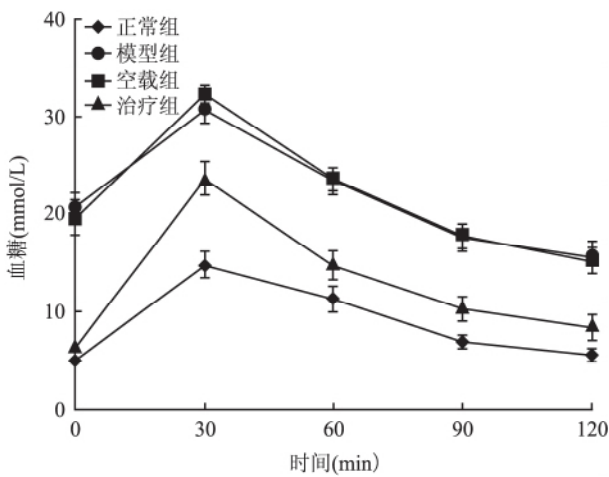


图4 各组小鼠第 28 天 OGTT 实验结果

清楚。与正常组相比,空载组胰腺小叶内胰岛萎缩,数量明显减少,且组成单个胰岛的细胞数量也明显减少,部分区域内胰岛难以察觉,而治疗组小鼠胰腺形态学较模型组和空载组则有明显改善,见图 6。

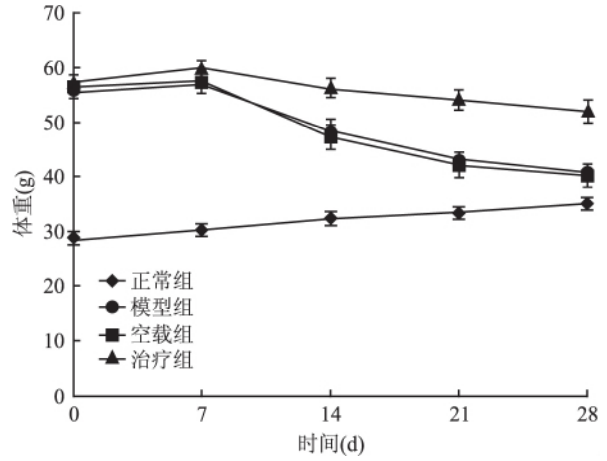


图5 GLP-1 重组减毒沙门菌对各组小鼠体重变化的影响

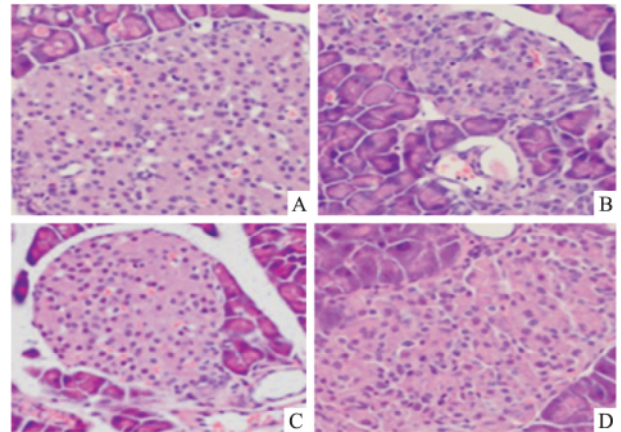


图6 各组小鼠的胰腺组织形态学表现 HE × 400

A: 正常组; B: 模型组; C: 空载组; D: 治疗组

### 3 讨论

随着老龄化程度加重、生活水平改善和膳食结构的改变,我国 2 型糖尿病人群不断增加,还有许多糖尿病前期患者,2 型糖尿病防治形势日趋严峻。其病理生理学机制是胰岛素抵抗和胰岛素功能障碍,发病过程伴随着胰岛细胞持续性损害、凋亡和胰岛功能的衰退。传统治疗方法主要侧重于降低血糖,对糖尿病的多种症状和并发症并没有有效的治疗作用,不能从根本上缓解胰岛细胞数量持续性减少和胰岛功能渐进性降低的病理过程及抑制胰岛细胞凋亡,促进胰岛细胞增殖,长期使用易引发低血

糖、胰岛细胞功能衰竭和体重增加等一系列不良反应。防治 2 型糖尿病的最佳途径,是能够在降低血糖的同时,保护胰岛功能,促进  $\beta$  细胞增殖,抑制其凋亡。

研究<sup>[13]</sup>显示,与口服降糖药和胰岛素相比, GLP-1 类似物的优点主要有: ① 刺激胰岛  $\beta$  细胞增殖,使之免受高糖和炎症的损害; ② 提高外周组织对胰岛素的敏感性,有助于改善胰岛素抵抗; ③ 抑制食欲,延缓胃排空,减少能量物质吸收,有助于血糖和体重的控制; ④ 显著改善糖化血红蛋白等中长期生化指标; ⑤ 促胰岛素分泌作用依赖于血糖水平,不易发生低血糖,可长期安全使用; ⑥ 抗炎、神经营养,通过中枢、外周双重机制减少并发症的发生。目前国内外的 GLP-1 类药物大多采用化学合成,工艺复杂、纯化困难、生产成本低、价格昂贵,需皮下注射,用药不便,导致患者依从性较差。为此急需研制高效、价廉的 GLP-1 类药物来满足 2 型糖尿病的防治需求。

STZ 诱导的小鼠糖尿病模型广泛应用于 2 型糖尿病治疗的研究<sup>[14]</sup>。GLP-1 类药物能够改善 STZ 诱导的胰岛损伤<sup>[15-17]</sup>控制血糖。本实验通过构建编码 GLP-1 序列的质粒,电转进入减毒沙门菌,灌胃治疗 2 型糖尿病。治疗结果显示 GLP-1 重组减毒沙门菌有较好的降糖效果,且对糖尿病小鼠的多饮多食、体重变化有改善作用。与化学合成的 GLP-1 及其类似物相比,以减毒沙门菌为宿主菌,人体肠道作为生物反应器来表达 GLP-1 及其类似物,具有以下几个突出优点: ① 生产工艺简单、成本低、价格低廉; ② 用药方便,毒副作用低; ③ 药物浓度平稳,不易产生中和抗体; ④ 适用范围广,基层医疗机构和家庭病床均可适用。GLP-1 重组减毒沙门菌口服治疗 2 型糖尿病,解决了 GLP-1 类药物生产成本低、价格昂贵,用药不便的缺点,降低治疗费用,缓解社会和家庭经济压力是社会发展的必然趋势, GLP-1 重组减毒沙门菌有望成为 2 型糖尿病新的治疗方式。

但在应用于临床之前,还有很多问题需要解决,更多的实验有待进一步研究,如: 重组减毒沙门菌口服进入体内后的分布情况; 胃肠道环境对重组菌的影响,或许可以考虑肠溶制剂来保护重组菌对抗严峻的胃肠道环境; 此类药物吸收增加的具体机制; 可以考虑优化重组菌的剂量,来维持适当的血糖水平; 此外,重组减毒沙门菌从体内排出后对周围环境的

潜在污染,也是一个不可回避的问题。

## 参考文献

- [1] Kodama S, Toyonaga T, Kondo T, et al. Enhanced expression of PDX-1 and Ngn3 by exendin-4 during  $\beta$  cell regeneration in STZ-treated mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 327(4): 1170-8.
- [2] Yoshino Y, Ishisaka M, Tsujii S, et al. Glucagon-like peptide-1 protects the murine hippocampus against stressors via Akt and ERK1/2 signaling [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 458(2): 274-9.
- [3] Agarwal P, Khatri P, Billack B, et al. Oral delivery of glucagon like peptide-1 by a recombinant *Lactococcus lactis* [J]. *Pharm Res*, 2014, 31(12): 3401-14.
- [4] 侯晓丽, 葛尔宁. 减毒沙门菌载体在肿瘤基因治疗中的研究进展 [J]. *浙江中医药大学学报*, 2010, 34(5): 790-2.
- [5] 姜宏华, 杨宝仁, 周辉, 等. 营养缺陷型鼠伤寒沙门菌对结肠癌裸鼠模型的治疗研究 [J]. *外科理论与实践*, 2010, 15(6): 651-4.
- [6] 何永林, 杨春, 张黎, 等. 携带颗粒溶素活性肽基因的减毒沙门菌对小鼠黑色素瘤的治疗作用 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2011, 24(12): 1469-72.
- [7] 武建毅, 刘崇, 唐亮, 等. 异种 EGFR 口服 DNA 疫苗抑制小鼠 Lewis 肺癌生长 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2010, 17(5): 505-9.
- [8] 胡明泰, 哈小琴, 高鹏, 等. 携带 NK4 与 IL-2 基因真核表达载体的减毒沙门菌的构建 [J]. *第四军医大学学报*, 2008, 29(8): 727-9.
- [9] 吴冬, 刘尚全, 袁媛, 等. 不同信号肽对重组胰岛素样肽-1 载体表达效率的影响 [J]. *安徽医科大学学报*, 2013, 48(7): 764-8.
- [10] 江中明, 殷新民, 俞越, 等. 荷瘤小鼠口服重组减毒鼠伤寒沙门菌后瘤体内富集效果的观察 [J]. *第二军医大学学报*, 2013, 34(4): 382-7.
- [11] Bansal P, Paul P, Mudgal J, et al. Antidiabetic, antihyperlipidemic and antioxidant effects of the flavonoid rich fraction of *Pilea microphylla* (L.) in high fat diet/streptozotocin-induced diabetes in mice [J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2012, 64(6): 651-8.
- [12] Li Y G, Ji D F, Zhong S, et al. Cooperative anti-diabetic effects of deoxyojirimycin-polysaccharide by inhibiting glucose absorption and modulating glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e65892.
- [13] Guo C, Huang T, Chen A, et al. Glucagon-like peptide 1 improves insulin resistance *in vivo* through anti-inflammation of macrophages [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2016, 49(12): e5826.
- [14] Burns N, Gold B. The effect of 3-methyladenine DNA glycosylase-mediated DNA repair on the induction of toxicity and diabetes by the  $\beta$ -cell toxicant streptozotocin [J]. *Toxicol Sci*, 2007, 95(2): 391-400.
- [15] Shao W, Wang Z, Jp W, et al. GLP-1(28-36) improve  $\beta$ -cell mass

- and glucose disposal in streptozotocin-induced diabetic mice and activates cAMP/PKA/ $\beta$ -catenin signal in  $\beta$ -cells *in vitro* [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013, 304( 12) : E1263 – 72.
- [16] Bansal P , Paul P , Mudgal J , et al. Antidiabetic , antihyperlipidemic and antioxidant effects of the flavonoid rich fraction of *Pilea microphylla* ( L. ) in high fat diet/streptozotocin-induced diabetes in mice [J]. *Exp Toxicol Pathol* 2012, 64( 6) : 651 – 8.
- [17] Agarwal P , Khatri P , Billack B , et al. Oral delivery of glucagon like peptide-1 by a recombinant *Lactococcus lactis* [J]. *Pharm Res* , 2014, 31( 12) : 3404 – 14.

## Effect of glucagon like peptide-1 by a recombinant attenuated *Salmonella* on blood glucose control in type 2 diabetes mice

Tian Lifang<sup>1</sup> , Liu Shangquan<sup>1, 2</sup> , Li Weidong<sup>2</sup> , et al

(<sup>1</sup>Central Laboratory Binhu Hospital of Hefei City Hefei 230001; <sup>2</sup>Bio-x Research Institute of Shanghai Jiaotong University , Laboratory Animal Center of Shanghai Jiaotong University , Shanghai 200240)

**Abstract Objective** To observe the oral administration of glucagon like peptide-1( GLP-1) by a recombinant attenuated *Salmonella* as GLP-1 gene carrier ,for the blood glucose control of type 2 diabetes in mice. **Methods** After 4 weeks of HFD feeding type-2 diabetes model were induced by intraperitoneal injection of low-dose streptozotocin( STZ) in mice. The mice were divided into four groups: the normal group ,the model group ,the non-loading group and the treatment group ,ten mice in each group. Following which mice were given respectively: the vehicle ( 5% NaHCO<sub>3</sub>) ,the vehicle( 5% NaHCO<sub>3</sub>) , recombinant attenuated *Salmonella* without GLP-1 ,recombinant attenuated *Salmonella* with GLP-1. The fasting blood glucose ,water consumption and body weight before and after 7 ,14 , 21 ,28 day after oral administration were observed and recorded. Subsequently ,OGTT was performed at 14 and 28 day. Mice were sacrificed and pancreas were isolated to observe pancreas panmorphological characteristics through HE staining. The blood glucose in the diabetic mice increased significantly. Compared with the non-loading group , the fasting plasma glucose of the treatment group decreased(  $P < 0.01$ ) ,and insulin sensitivity improved. HE staining in the treatment group demonstrated that the pancreas of mice morphological characteristics improved. **Results**

After oral administration of GLP-1 by the recombinant attenuated *Salmonella* ,there was no statistical significance of fasting blood glucose between the non-loading and model group ,the difference of the treatment and non-loading group was statistically significant. Body weight changes of mice had obvious improvement. Symptom of polydipsia and polyphagia were improved. OGTT after 14 and 28 day of oral administration showed that there was no statistical significance of blood glucose between the non-loading and model group ,the blood glucose of treatment group was lowered compared to non-loading group. HE staining of pancreas showed that there was no significant change between the non-loading group and model group and treatment group had distinct improvement compared to the non-loading group. **Conclusion** Oral administration of GLP-1 by the recombinant attenuated *Salmonella* can improve the symptoms of type-2 diabetes in mice ,reduce blood ,improve the morphological of pancreas islet. GLP-1 by a recombinant attenuated *Salmonella* may have a certain therapeutic effect on the type-2 diabetes mice.

**Key words** glucagon like peptide-1; recombinant attenuated *Salmonella*; type 2 diabetes; STZ