

栝樓根 엑기스가 白鼠에서의 Alloxan 誘發 糖尿에 미치는 影響

白秉杰* · 姜錫均** · 安丙浚***

*全北大學校 獸醫學科, ** 大田漢方病院, ***忠南大學校 藥學大學

(Received April 28, 1985)

Antidiabetogenic Activity of *Trichosanthes kirilowii* on the Alloxan-treated Mouse

Byeong Kirl Baek*, Sok Kyun Kang** and Byung Zun Ahn***

*Dept. of Vet. Med., Jeonbug National University, Chunju 520, Korea, **Tae Jon Hospital in Oriental Medicine, Daejun 300-31, Korea and ***College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejun 300-31, Korea

Abstract—In order to investigate the antidiabetogenic activity of *T. kirilowii* on the alloxan-treated mice, the effects of the oral administration of the methanol extract on the blood glucose, the survival rate and the histological changes of the Langerhans' islet were observed. The blood glucose was reached at the highest levels of 265.03 ± 15.07 and 186.41 ± 10.16 mg/dl at 30 min after alloxan injection, and at the lowest levels of 43.35 ± 5.28 at 4 hour and 20.40 ± 3.26 mg/dl at 10. hour in experimental and control group, respectively. 57.15% of the experimental group and 4.2% of the control group were survived more than 24 hours. The life spans of the mice, which were dead within 24 hours, were 631.45 ± 60.17 for the experimental group and 414.60 ± 36.24 min for the control group. The mice from the control group, which were dead within 10 hours, showed totally necrotized α - and β -cells. However, 3 of the 10 mice from the experimental group, which were survived until 24 hours, showed a normal histological feature of the Langerhans' islet.

栝樓(*Trichosanthes kirilowii*)는 막과에 屬하며 우리나라 全域에서 自生하고 있는 多年生 植物이다. 그 乾燥한 塊根의 粉碎한 것을 天花粉이라 하여 漢方에서는 消渴, 黃疸, 便秘 등에 使用하고 있으며, 抗茵 및 抗癌作用에 대한 研究가 있다.²³⁾

栝樓根은 漢方에서 “治消渴之神藥也”라고 하여 消渴症, 즉 糖尿에 卓越한 效果를 보이는 것으로 되어 있다.⁷⁾ 著者 등은 栝樓根의 抗糖尿作用을 研究하려는 計劃의 一環으로 우선 栝樓根의 alloxan糖尿 誘發 抑制效果에 對한 實驗을 行하였다. 栝樓根을 MeOH로 抽出, 白鼠에게 經口投與한 後 alloxan을 注入한 다음 血糖值의 經時的 變化, 斃死率 그리고 胰島(Langerhan's islet)의 組織學的 所見을 觀察하였던 바 栝樓根을 投與하였던 白鼠에서 alloxan에 의한 胰島의 損傷 抑制效果를 觀察하였기에 報告하는 바이다.

실 험 방 법

栝樓根의 抽出—乾燥한 栝樓根 1kg을 細切, 還流冷却 抽出器에 넣고 3l의 methyl alcohol을 加하여 60°C에서 24時間 抽出한 다음, rotary evaporater로서 減壓 濃縮 約 45g의 抽出液을 얻어 이에 45ml의 蒸溜水(以下 栝樓根抽出液이라 칭함)를 加하여 震盪, 實驗에 供하였다.

白鼠의 alloxan 糖尿症 誘發—ICR白鼠(體重 20~25g)를 12時間 絶食시킨 다음 alloxan(Merck

社製品)을 體重 kg當 200mg을 腹腔內 注入, 人爲的으로 糖尿症을 誘發시켰다.^{10,19)} 栝樓根의 alloxan糖尿 誘發 抑制 效果를 觀察하기 위하여 白鼠를 2個群으로 區分하였다. 즉 alloxan投與前에 栝樓根 抽出液 1ml를 카테타를 이용, 絶口的으로 投藥한 28頭의 白鼠群(以下 實驗群이라 稱함)과 栝樓根 대신에 生理的 食鹽水 1ml를 投與한 24頭의 白鼠群(以下 對照群이라 稱함)으로 區分하였다.

血糖值 測定—12時間 絶食시킨 白鼠에게 栝樓根 抽出液의 稀釋液은 實驗群에, 生理的 食鹽水는 對照群에 各各 1ml를 카테타를 이용, 經口的으로 投與한 後 30分에 白鼠의 尾端을 切斷하여 血液 1滴을 取하여 glucose oxidase법에 근거를 둔 hemoscope(Kyoto Daichi Kagaku Co. 日本)로 서 血糖을 測定한 다음, alloxan을 投與하였다. 곧 이어서 30分, 2時間, 4時間, 6時間, 8時間, 10時間 그리고 24時間제에 血糖值을 測定하였다.

組織學的 觀察—Alloxan을 投與한 後 10時間 以內에 斃死한 對照群과 實驗群에서 各各 10頭의 白鼠와 24時間 以上 生存하고 있었던 實驗群의 10頭 白鼠를 犧牲시켜 臍藏을 滴出한 다음 Lunac (1968)方法²⁰⁾에 의하여 Bouin's液에 固定한 後 paraffin에 包埋하여 6 μ 두께로 切片, Gomoris chrome alum hematoxylin染色하여 臍島內의 α 와 β 細胞의 變性狀態를 觀察하였다.

實驗 結果

栝樓根 MeOH抽出物質이 alloxan投與 白鼠의 血糖值과 斃死率에 미치는 影響—Alloxan投與 白鼠에 있어서 栝樓根의 MeOH抽出液이 血糖과 斃死率에 미치는 影響을 經時的으로 觀察하였던 바 Table I, II와 같은 結果를 얻었다. 즉 生理食鹽水만을 投與한 對照群에 있어서 alloxan投與前 30分의 血糖值은 68.45 \pm 3.74 mg/dl이었으며, alloxan投與 30分 後에는 186.41 \pm 10.10 mg/dl로 最高의 血糖值를 보여주었으나 2시간제(95.79 \pm 14.36mg/dl)부터 低下되기 始作하여 10時間제에는 最低血糖值 20.40 \pm 3.26mg/dl를 나타내었으며, 24時間제는 1頭만이 生存하고 있었으며 이의 血糖值는 32.00 \pm 0.00mg/dl이었다. 그러나 栝樓根 抽出液을 單一回 投與한 實驗群에 있어서(alloxan投與 30分前) 血糖值는 對照群에 比하여 높은 血糖值(95.71 \pm 6.08mg/dl)를 가져왔으며, alloxan投與한 30分제의 血糖值는 265.03 \pm 15.07mg/dl로 上昇되었으며 對照群과 같이 2時間제부터 下降되었으나 10時間제에는 다시 上昇, 81.00 \pm 17.07mg/dl이었으며, 24시간제에는

Table I—Effect of *Trichosanthes kirilowii* extract on blood glucose in alloxan-injected mice.

Groups	Control group (saline admin.)	Experimental group (<i>T. kirilowii</i> admin. 1ml)
Number of mouse	24	28
30 min. before alloxan injection	68.45 \pm 3.74(mg/dl)	95.71 \pm 6.08(mg/dl)*
After injection of alloxan		
30 min.	186.41 \pm 10.16	265.03 \pm 15.07***
2 hrs.	95.79 \pm 14.36	177.78 \pm 14.64***
4 hrs.	29.40 \pm 2.23	43.35 \pm 5.28**
6 hrs.	28.45 \pm 2.06	50.95 \pm 9.85**
8 hrs.	26.00 \pm 3.67	54.63 \pm 12.38**
10 hrs.	20.40 \pm 3.26	81.00 \pm 17.17***
24 hrs.	32.00 \pm 0.00	193.87 \pm 25.17***

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001

Table II—Effect of *Trichosanthes kirilowii* extract on mortality of the alloxan injected mice.

Groups	Control group	Experimental group
Number of mouse	24	28
No. of dead mice after injection of alloxan		
2 hrs.	—	—
4 hrs.	7(29.16)	—
6 hrs.	15(62.5)	4(14.8)
8 hrs.	18(75)	9(32.14)
10 hrs.	20(83)	10(35.71)
24 hrs.	23(95.8)	12(42.85)
Average survival time until 24. hr.	414.60±36.24 min.	631.45±60.17 min***
Blood glucose value at the 24. hr.	27.30±2.62mg/dl**	20.75±1.75mg/dl

Remarks: **:p<0.01, ***:p<0.001, Number in parenthesis: Percentage of the dead mice

193.87±25.17mg/dl의 고혈당値를 나타내었고, 28頭중 生存하고 있었던 16頭는 80~250mg/dl로써 正常的인 血糖値와 非正常的인 血糖値를 나타내는 白鼠들이 있었다.

Alloxan投與에 따른 白鼠의 斃死率은 對照群과 實驗群 사이에 있어서 현저한 차이를 보여주고 있어 4時間제에는 實驗群에서는 28頭중 斃死한 例가 없었으나, 對照群에서는 24頭중 7頭(29.16%)가 斃死되었다. 6時間제에는 對照群은 15頭(62.5%)가 그리고 實驗群은 28頭중 4頭(14.8%)가 斃死되었다. 10時間제에는 對照群은 20頭(83%)가 斃死되는데 반하여 實驗群은 10頭(35.71%)만이 斃死되었으며 24時間이 經過한 後에는 對照群에서는 1頭가 生存하고 있었으나 實驗群에서는 16頭가 生存하였다.

Alloxan投與 後 24時間 以內에 斃死한 白鼠의 平均生存時間은 對照群과 實驗群에 있어서 各各 414.60±36.24分과 631.45±60.17分으로서 桔梗根 抽出液의 投與群에서 生存시간이 더 연장되었음을 觀察할 수 있었다. 이들 白鼠의 斃死 前에 있어서 血糖値는 對照群과 實驗群에서 各各 27.30±2.62mg/dl와 20.75±1.75mg/dl이었다. 즉 實驗群에서의 生存時間은 對照群에 比하여 연장되었을 뿐만 아니라 血糖値도 현저히 低下된 以後 즉 20.75±1.75mg/dl에 達하였을 때 斃死됨을 觀察할 수 있었다.

組織學的 觀察所見—實驗群과 對照群內의 10時間 以內에 斃死한 白鼠의 胰島(Langerhan's islet)

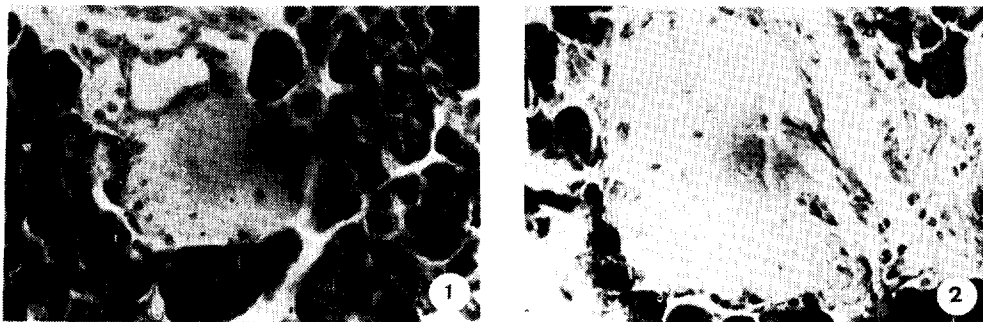


Fig. 1 and 2—Totally necrotized cells of the Langerhans' islet from the mice, which were dead within 10 hours, in both groups.

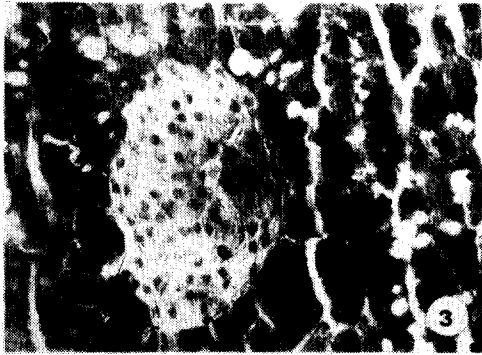


Fig. 3—The Langerhans' islet of the mice, which were administered with the methanol extract. The islet is almost normal.

內細胞의 變性 程度는 대부분이 類似하여 β細胞가 選擇的으로 壞死, 消失되어 胰島內的細胞數가 현저히 減少되었음을 觀察할 수 있었으며 栝樓根 抽出液을 投與하지 않았던 對照群의 몇 例에서는 Fig. 1과 2에서 보는 바와 같이 심한 退行性 變化에 따른 α와 β細胞가 壞死, 消失된 後 胰島의 輪廓만이 觀察되고 있었다. 24時間 以上 生存하고 있었던 實驗群의 10頭의 白鼠중 3頭에서는 Fig. 3에서 보는 바와 같이 胰島內的細胞들의 形態가 比較的 正常的인 細胞構造라고 認定되는 α細胞와 β細胞가 觀察되었으며, 나머지 例에 있어서는 β細胞가 退行性 變化를 取하고 있든가 壞死·消失되어 α細胞만이 觀察되고 있든가 하였다.

考 察

糖尿病의 人爲的 誘發試驗에 alloxan^{1,2,4,6,10,11,12,19,24,25}, streptozotocin^{5,13,14} 그리고 RH-787^{28,29} 과 같은 物質이 이용되고 있었으며, 최근에는 biobreeding rat와 같은 形質의으로 糖尿症이 잘 發生되는 白鼠가 이용되고 있다.^{9,17,18,22}

漢藥中에서 糖尿症이라고 볼 수 있는 消渴症의 治療 目的으로 栝樓根, 人蔘, 山稔(*Rhodomyrtus tomentosa*), 小麥(*Triticum aestvum*), 石榴(*Punia granatum*) 그리고 白僵蠶(*Bombyx mori*) 등이 빈번히 使用되고 있다.⁷ 著者 등은 이들 生藥 중 栝樓根을 擇하여 alloxan에 의한 糖尿 誘發 抑制 效果를 觀察하고자 栝樓根의 MeOH抽出液을 經口投與한 白鼠에게 alloxan을 注射한 다음 血糖值의 經時的 變化, 斃死率 그리고 組織學的으로 胰島內 細胞 變性 狀態 등을 觀察함으로써 栝樓根의 alloxan糖尿 發生 抑制效果를 實驗的으로 立證하였다. Alloxan과 streptozotocin投與에 따른 糖尿의 發生을 抑制시키기 위한 物質들로서는 BAL², ethanol⁶, epinephrine¹¹, 3-4-diaminotoluene²⁶, iproniazid¹⁵, nicotinamide¹⁴, nialamide²¹, mecamlamine¹⁶, nicotinic acid⁵, glutathione¹⁰, orthophenylenediamine²⁶, sulfonyleurea^{3,11}, cysteine¹⁰, glucocorticoides^{9,16} 그리고 cyclosporin A^{9,16} 등이 있다. 그러나 이들 物質의 血糖 上昇 抑制作用은 alloxan投與量에 좌우되어, glucose 일지라도 alloxan의 量에 따라 血糖의 上昇 效果는 다르다. 즉 glucose를 白鼠에게 體重 100g當 50~75mg을 投與할 경우, alloxan을 體重 100g當 4mg을 投與時에는 糖尿症의 發生을 抑制시킬 수 있으나 8mg/100g으로 增量하면 上記 glucose量으로는 糖尿症의 發生을 抑制시킬 수 없다고 한다.²⁷

本 例에 있어서는 栝樓根 엑기스를 投與한 30分 後의 血糖은 95.71±6.08mg/dl로서 對照群에 比하여 40% 정도 높게 나타났는 데 이는 白鼠의 血糖을 上昇시키는 物質이 함유되어 있기 때문이라 하겠다. 그후 alloxan을 投與한 30分後에는 對照群 186.41±10.16mg/dl 인데도 불구하고 栝樓根 엑기스 投與群에서는 265.03±15.07mg/dl로써 무려 70%가 더 上昇되었다. 이는 아마도 血糖을 上昇시킬 수 있었던 物質의 吸收에 따른 上昇과 alloxan에 의한 糖尿性血糖 上昇의 作用을 받았기 때문이 아닌가 추측되어진다. 이는 2時間제에서도 거의 비슷한 패턴을 보여주고 있다. 물론

alloxan을 體重 kg당 200mg을 투여함으로써, Zawalichen 등²⁷⁾이 제시한 glucose(50~70mg/100g) 투여시 alloxan(8mg/100g)의 투여가 糖尿病을 誘發을 抑制시킬 수 없다고 報告한 量보다 높은 本例의 投與量은 脾島細胞의 壞死을 誘發시키기 위한 充分한 中毒量에 해당된다고 생각한다.^{4,27)}

著者 등은 栝樓根을 MeOH로 抽出 그 엑기스를 alloxan投與前 30분에 經口投與하여 白鼠의 脾島 β 細胞의 變性 壞死 程度와 血糖의 變化를 觀察한 바, alloxan投與前의 血糖値는 68.45 ± 3.74 mg/dl로 絶食에 따른 正常 血糖値이었으며, 栝樓根 抽出物을 投與한 後 30分の 血糖値는 95.71 ± 6.08 mg/dl로 上昇되었으며, alloxan投與 30分後에 있어서는 兩群 共히 最高의 血糖値를 나타낸 다음 2時間째부터 低下되었으나 對照群에서의 低下가 현저하였다. 對照群에서는 10時間째에 20.40 ± 3.26 mg/dl 그리고 實驗群에서는 4時間째에 43.35 ± 5.28 mg/dl로서 最低의 血糖値와 最低血糖에 達한 時間이 달랐다. 그런데 實驗群에 있어서 最低血糖値는 對照群의 것보다 약 2倍가 됨은 물론 斃死率도 낮았다. 즉 對照群의 白鼠는 alloxan投與 4時間째부터 斃死되기 始作, 10時間째에는 무려 24頭중 20頭(83%)가 斃死되었으나 實驗群에 있어서는 4時間째에 最低血糖値 43.35 ± 5.28 mg/dl를 나타낸 後 上昇, 10時間째에는 81.00 ± 17.17 mg/dl이었으며, 24時間 後에는 個體間的 差異는 심하였으며 生存하고 있었던 16頭의 血糖値는 193.87 ± 25.17 mg/dl로써 糖尿病의 血糖値를 보여주고 있었다.

以上의 血糖値 變化는 栝樓根 엑기스에는 alloxan에 의한 中毒性 昏睡의 覺醒을 促進시키거나 解毒시킬 수 있는 物質을 含有하고 있음을 暗示하여 주고 있는 셈이다. 즉 24時間 以內에 斃死하였던 白鼠의 生存時間이 對照群의 414.60 ± 36.24 分에 比하여 實驗群은 631.45 ± 60.17 分으로서 有意의으로 延張시킬 수 있는 物質이 含有하고 있음을 알 수 있었다($p < 0.001$). alloxan投與에 따른 斃死率 역시 alloxan의 量에 좌우되는 데 50mg/kg을 靜脈注入 後 10時間 以內에 14頭중 10頭(71%)가 斃死되었으며, 抗糖尿劑인 nilamide를 投與하면 35頭中 8頭(22.8%)가 斃死하였으며, 糖尿 發生率은 26%에 불과하다는 報告²¹⁾와 比較하면 栝樓根 엑기스를 投與하지 않은 白鼠의 83%가 斃死하였으며, 投與한 白鼠에서는 斃死率이 35.7%로써 비슷한 生命 延張 效果를 나타내었다.

alloxan이 血糖値에 미치는 影響은 현저하여, alloxan投與 1時間 後에는 $130 \sim 240$ mg%로 上昇, 4~6時間 後에는 正常 또는 그 以下(52mg%)로 下降한다는 報告¹²⁾와 비슷한 패턴을 本例에서 取하고 있었다. 本例에 있어서 alloxan만을 投與한 白鼠에서는 10時間째에 이미 모두 斃死되므로 이들의 血糖値를 測定할 수 없었으나 實驗群에서는 16頭가 生存, 平均 193.87 ± 25.17 mg/dl의 血糖値를 보여줌으로써 組織學的 觀察 所見에서 言及한 바와 같이, 栝樓根의 投與에 따라서 脾島內의 α 및 β 細胞가 거의 正常的인 例와 β 細胞가 壞死, 消失된 例가 觀察됨으로써 個體間的 血糖値의 심한 差異를 보여준 原因이 되지 않았나 생각한다. 또한 alloxan을 投與하면 脾島는 8時間 以內에 壞死 또는 水泡性 變性을 가져오든지 그 숫자가 減少된다고 하였는데, 本例에 있어서의 組織學的 變化는 Fig. 3에서 보는 바와 같이 栝樓根 抽出液을 投與한 몇 例의 脾島에 있어서는 對照群의 所見과는 달리 處處에서 β 細胞가 殘存, 觀察되었다. 그러나 alloxan投與 後 10時間 以內에 犧牲된 白鼠들에 있어서는 對照群뿐만 아니라 實驗群에서도 거의 모든 β 細胞가 消失되었다. 對照群의 몇 例의 脾島內에는 α 細胞마저 消失, 觀察할 수 없었다(Fig. 1. 및 2 參照). 實驗群에서 24時間 以上 生存하고 있었던 10頭의 白鼠중 3頭는 比較的 正常的이라고 생각되는 β 細胞가 觀察되었다.

結論의으로 本 實驗에서는 栝樓根 엑기스가 alloxan의 β 細胞를 選擇의으로 破壞시키는 作用을 일률적은 아니지만 다소 抑制시킬 수 있음을 實驗的으로 觀察하였다.

結 論

漢方에서 사용되어 온 消渴症 治療 藥材인 栝樓根의 效驗을 實驗的으로 糾明하고자 白鼠(體重 20~25g)에 그 MeOH抽出物을 카테타를 이용, 經口投與한 後 30分에 alloxan(200mg/kg)을 腹腔 注入한 다음, 血糖值, 斃死率 그리고 組織學的 變化를 觀察한 바 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 栝樓根의 MeOH抽出液을 投與하였던 實驗群에 있어서 alloxan投與 後 24時間 以內에 觀察된 斃死率과 斃死되기까지의 生存時間은 42.85%와 631.45±60.17分으로 對照群의서의 95.8%와 414.60±36.24分에 比하여 有意的으로 斃死率이 낮았으며 生存時間도 길었다($p < 0.001$).

2. 最高의 血糖值는 兩群 公히 alloxan投與 30分이었으며 이때의 實驗群과 對照群의 血糖值는 265.03±15.07mg/dl와 186.41±10.16mg/dl이었으며, 最低의 血糖值를 나타낸 時間과 最低血糖值는 實驗群에서는 4時間째로써 43.35±5.28mg/dl이었으며, 對照群에서는 10時間째로써 20.40±3.26mg/dl이었다.

3. Alloxan投與에 따른 組織學的 變化는 對照에群서는 臍島內의 α 細胞 및 β 細胞가 모두 消失된 例와 β 細胞만이 壞死된 例가 觀察되고 있었으나 實驗群에 있어서는 10時間 以內에 斃死한 例는 대체적으로 對照群의 組織所見과 類似하였으나 24時間 以上 生存하였던 白鼠 10頭중 3頭는 거의 正常的이라고 思料되는 組織所見을 나타내었다.

結論的으로 本 實驗을 通하여 栝樓根의 엑기스는 alloxan을 投與한 白鼠에 있어서 生存時間을 延長시켜 주며, 臍島內의 β 細胞의 壞死, 消失을 抑制시킬 수 있다는 사실을 밝혔다.

문 헌

1. R. Carrasco-Formiguera, Suppressive action of epinephrine on the diabetogenic effect of alloxan. *Diabetes* 16, 130(1967).
2. A. Chesler and R. Tislow, Oral efficacy of BAL in protecting rats against alloxan diabetes. *Science* 105, 345(1947).
3. A.R. Collwell and J.A. Colwell, Pancreatic action of the sulfonylureas. *J. Lab. Clin. Med.* 53, 376 (1959).
4. G.L. Duff, G.C. McMillan and D.C. Willson, Hydropic changes in pancreatic ductules and islets in alloxan diabetes in the rabbit. *Pro. Soc. Exper. Biol. and Med.* 64, 251(1947).
5. W.E. Dulin and B.M. Wyse, Studies on the ability of compounds to block the diabetogenic activity of streptozotocin. *Diabetes*, 18, 459(1969).
6. R.E. Heikkia, H. Barden and G. Cohen, Prevention of alloxan induced diabetes by ethanol administration. *J. Pharm. Exp. Ther.* 190, 501(1940).
7. *Jiangssushineishueyien Encyclopedia of Chinese Rawdrugs*, Hong Kong Ssanwuinsugwan, 1781(1977).
8. A. Jounod, A.E. Lambert, L. Orci, R. Piciet, A.E. Gonet and A.E. Renold, Studies of the diabetogenic action of streptozotocin. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 126, 201(1967).
9. A. Laupacis, C.R. Stiller, C. Gardell, P. Keown, J. Durre and A. C. Wallace, Cyclosporin prevents diabetes in BB Wister rats. *The Lancet* 1/8, 10(1983).
10. A. Lazarow, Protective effect of glutathione and cysteine against alloxan diabetes in the rat. *Pro. Soc. Exp. Biol. Med.* 61, 441(1946).
11. A. Lazarow, Further studies of effect of sulphur compounds on production of diabetes with alloxan. *Pro. Soc. Exp. Biol. Med.* 16, 4(1947).
12. S.S. Lazarus, H. Barden and M. Bradshaw, Pancreatic beta cells and alloxan toxicity. *Arch. Pathol.* 73, 310(1962).
13. S.S. Lazarus and S.H. Shapiro, Streptozotocin-induced diabetes and Islet cell alterations in rabbits. *Diabetes* 21, 129(1972).

14. S.S. Lazrus and S.H. Shapiro, Influence of nicotinamide and pyridine nucleotides on streptozotocin and alloxan— induced pancreatic B cell cytotoxicity. *Diabetes* 22, 449(1973).
15. D. Leak and T.H. Dormandy, Possible relations of hypoglycaemia induced by mono-amine oxidase inhibition and angina pectoris. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 108, 597(1961).
16. A.A. Like, V. Dirodi, S. Thomas, D.L. Guberski and A.A. Rossini, Prevention of diabetes mellitus in the BB/W rat with cyclosporin A. *Am. J. Pathol.* 117, 92(1984).
17. A.A. Like, E. Kislaukis, R.M. William and A.A. Rossini, Neonatal thymectomy prevents spontaneous diabetes mellitus in the BB/W rat. *Science* 216, 664(1982).
18. A.A. Like, A.A. Rossio, D.L. Guberski and M.C. Appel, Spontaneous diabetes mellitus: Reversal and prevention in the BB/W rat with antiserum to rat lymphocytes, *Science* 206, 1421(1979).
19. F.D.W. Lukens, Alloxan diabetes. *Physiol. Rev.* 28, 304(1948).
20. L.G. Luna, *Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology.* McGraw-Hill Book Co., 106(1968).
21. P. Mordujovich, H.O. Bushiazzo, R. Bosch and R.R. Rodriguez, Preventive action of the monoamine oxidase inhibitor, Nilamide, on experimental diabetes in rats. *Diabetes* 15, 686(1968).
22. A. Najji, W.K. Silvers, D. Bellgrau and C.F. Barker, Spontaneous diabetes in rats: destruction of islet is prevented by immunological tolerance. *Science* 213, 1390(1981).
23. Q.C. Pan, L. J. Xian and H.W. Yeung, In international symposium on Chinese medicinal materials research, Hong-Kong, 25(1984).
24. L. Rachmiel, History of etiology of diabetes mellitus. *Archives of Pathology* 78, 405(1964).
25. W.E. Toreson, Glycogen infiltration (so-called hydropic degeneration) in the pancreas in human and experimental diabetes mellitus. *Am. J. Pathol.* 27, 327(1951).
26. A.R. Weinglass, E.G. Frame and R.H. Williams, Inhibition of diabetogenic action of alloxan. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 58, 216(1945).
27. W.S. Zawalich and L.M. Beidler, Glucose and alloxan interactions in the pancreatic islets. *Am. J. Physiol.* 224, 963(1973).