

银耳提取物抗抑郁活性研究

金亚香¹, 张研², 刘天戟^{1*}

(1. 吉林大学中日联谊医院, 吉林长春, 130033; 2. 吉林大学第二临床医
院, 长春 130041)

摘要: 目的: 研究银耳提取物对大鼠抗抑郁活性的影响。方法: 采用雄性 Wistar 大鼠 (体重 180~220g) 建立慢性应激抑郁症大鼠模型, 建模成功大鼠随机分为 4 组, 分别为模型组 (生理盐水 2.0ml/kg), 银耳提取物低剂量组 (0.5 g/kg), 银耳提取物中剂量组 (1.0 g/kg), 银耳提取物高剂量组 (1.5 g/kg), 取空白未建模大鼠作为空白组, 给予等体积的生理盐水, 五组大鼠连续灌胃给药 28d, 观察大鼠悬尾不动时间和游泳不动时间, 并测定大鼠血浆及下丘脑神经递质多巴胺 (DA)、去甲肾上腺素 (NE) 含量变化。结果: 1.5g/kg 银耳提取物可以显著提高抑郁大鼠体重 ($P<0.01$), 增加大鼠蔗糖偏爱度 ($P<0.01$), 同时 1.0~1.5g/kg 银耳提取物剂量依赖性的减少大鼠悬尾不动时间和游泳不动时间 ($P<0.05$), 增加大鼠血浆及下丘脑多巴胺 (DA) 含量 ($P<0.05$)。1.5g/kg 银耳提取物显著提高大鼠血浆及下丘脑去甲肾上腺素 (NE) 含量 ($P<0.01$)。结论: 银耳提取物具有显著的抗抑郁活性, 其作用可能与其增加大鼠血浆及下丘脑神经递质含量相关。

关键词: 银耳; 慢性应激; 抗抑郁; 去甲肾上腺素; 多巴胺

中图分类号:

文献标识码:

文章编号:

收稿日期:

*通讯作者: 刘天戟, 男, 吉林大学中日联谊医院急救医学科, 研究方向: 急救医学

*Corresponding author: Liu Tianji, E-mail:liu_w14@126.com

作者简介: 金亚香 (1962), 女 (汉), 吉林长春, 本科生, 护师, 研究方向: 康复保健与活性物质研究

Studies on the anti-depression effect of *Tremella extract*

JIN Ya-xiang *, ZHANG Yan, LIU Tian-ji

(China-Japan union Hospital of Jilin University, Changchun, Jilin 130033, China)

Abstract :**Objective:** *Tremella*, a famous medical fungus, possesses anti-hypertension, anti-fatigue and antioxidant effects. The present study aims to investigate the antidepressive effect of *Tremella* extract. **Method:** Chronic unpredictable mild stress was used to induce depression in wistar male rats and the depressive rats were randomly divided into four groups: the model group (orally treated with 2.0ml/kg sterile saline), *Tremella* extract treatment groups (orally treated with 0.5g/kg, 1.0g/kg, 1.5g/kg *Tremella extract*). Moreover, normal rats orally treated with 2.0 ml/kg sterile saline were served as control group. The behavior and neurotransmitter were analysed. **Results:** 4 weeks *Tremella* extract (1.5g.kg) administration significantly decreased the immobility time in the FST and TST, increased sucrose preference of the model rat ($P<0.01$). *Tremella* extract altered the abnormal concentration of dopamine (DA) and norepinephrine (NE) in hypothalamus and plasma in model rat ($P<0.01$). **Conclusions:** *Tremella* extract displays anti-depressant-like effect which may be related to its regulation on dopaminergic system. Our study provides experimental evidence in supporting the clinical use of *Tremella* extract as an effective agent against depression.

Key words: *Tremella*; chronic stress; Antidepressant; Norepinephrine (NE);
Dopamine (DA)

前言抑郁症是一组高患病、高复发、高自杀、易致残的重性精神障碍^[1]，资料显示，我国高中生抑郁症状发生率为 25.8%^[2]，大学生抑郁症状检出率在 20%~60%，患病率高于国内其他职业人群及国外水平^[3]。WHO 已将抗抑郁药列为 21 世纪最需迫切开发的药物之一^[4]。

抑郁症的病因目前尚未阐明，普遍接受的是生物胺假说，即抑郁症患者脑内神经递质中的生物胺类等水平下降导致抑郁症发生^[5]。临床使用的抗抑郁西药多据此开发，这些药物的疗效肯定，同时也存在巨大的副作用，且价格昂贵，药物依赖性强^[6]，巴戟天提取物^[7]、姜黄素^[8]等中药均被证明具有很好的抗抑郁活性。银耳又称作白木耳、雪耳，研究证明银耳提取物具有保肝抗肿瘤等活性，但是未见关于银耳抗抑郁活性的报道。

本研究建立大鼠慢性应激抑郁症模型^[11]，在动物体内中证明银耳提取物的抗抑郁活性，并考察银耳的抗抑郁活性是否同其增强单胺类神经递质分泌相关。

1 实验材料

1.1 动物

健康成年雄性 Wistar 大鼠，180~220 g，购自长春生物制品所，实验动物生产许可证号为：SCXK (辽)2013-0003，实验动物使用许可证号为 SYXK(吉)2014-0004，饲养期间给予大鼠标准颗粒饲料及纯净饮水，饲养条件：室温（23±1）℃，湿度 52%~58%，保持 12 小时昼夜节律（白昼时间为：7:00-19:00 h），自由饮水进食，实验前大鼠适应性喂养 7 天。

1.2 实验试剂

Rat DA Elisa kit, Rat NE Elisa kit, 购买自上海源叶生物试剂有限公司。其

他试剂均为分析纯，购买自国药集团化学试剂有限公司。

1.3 仪器

多功能酶标仪，购买自美国伯腾；恒温培养箱，购买自黄石市医疗器械厂。恒温水浴，购买自江苏金坛医疗仪器厂；RE-52E 旋转蒸发器，购买自上海雅荣公司。

2 实验方法

1.4.1 银耳多糖粗提物的制备

干燥银耳 100g，按液料比 10: 1 (ml/g) 的比例加入去离子水，80℃水浴提取 3 h，冷却至室温，8000 r/min 离心 10min，收集上清，得银耳水提液，提取重复一次，合并两次提取液，冻干，得银耳提取物，采用苯酚硫酸法测定多糖含量为 14.67%，备用。

1.4.2 大鼠抑郁症模型的建立

实验采用改性慢性不可预知应激模型（CUMS）建立抑郁症大鼠模型，空白组大鼠不给于任何刺激；每组 16 只大鼠，实验组大鼠单笼饲养，并在实验周期（8 周）内给予模型大鼠 7 种不同的慢性应激原刺激，慢性应激原包括①24h 潮湿垫料、②0℃冰水浴强迫游泳 5min、③悬挂 5 min、④夹尾 1 min、⑤50℃烘箱烘烤 5 min、⑥24 h 禁食，12 h 禁水、⑦昼夜颠倒。上述刺激，每 7 天为一周期，顺序随机但同一刺激原不得连续使用，具体方案见表 1。

	第一天	第二天	第三天	第四天	第五天	第六天	第七天
一周	潮湿垫料	强迫游泳	昼夜颠倒	悬挂	禁食禁水	烘箱	夹尾
二周	强迫游泳	潮湿垫料	悬挂	禁食禁水	夹尾	昼夜颠倒	烘箱

三周	悬挂	夹尾	潮湿垫料	强迫游泳	烘箱	禁食禁水	昼夜颠倒
四周	强迫游泳	烘箱	禁食禁水	潮湿垫料	昼夜颠倒	夹尾	悬挂
五周	悬挂	昼夜颠倒	夹尾	烘箱	潮湿垫料	禁食禁水	强迫游泳
六周	强迫游泳	禁食禁水	悬挂	昼夜颠倒	夹尾	潮湿垫料	烘箱
七周	悬挂	夹尾	强迫游泳	烘箱	潮湿垫料	昼夜颠倒	禁食禁水
八周	夹尾	烘箱	悬挂	禁食禁水	强迫游泳	昼夜颠倒	潮湿垫料

1.4.3 大鼠分组及给药

慢性应激四周后,大鼠随机分为 5 组,分别为:

空白组(Control): 空白未建模大鼠, 第 5-8 周灌胃给予 2.0 ml/kg 生理盐水;

模型组: 8 周慢性不可预知应激, 第 5-8 周灌胃给予 2.0 ml/kg 的生理盐水;

银耳提取物低剂量组: 8 周慢性不可预知应激, 第 5-8 周灌胃给予 0.5 g/kg 的生理盐水;

银耳提取物中剂量组: 8 周慢性不可预知应激, 第 5-8 周灌胃给予 1.0 g/kg 的生理盐水;

银耳提取物高剂量组: 8 周慢性不可预知应激, 第 5-8 周灌胃给予 1.5 g/kg 的生理盐水。大鼠连续灌胃给药 28 d, 给药期间继续给予刺激。实验期间动物自由取食和饮水。

1.4.4 蔗糖水消耗实验

给药结束后, 大鼠适应性的饮用 1%的蔗糖溶液 3 d 后饮用正常饮用水 1 d, 测试前 2 h, 单笼饲养大鼠, 正常摄食, 分别为大鼠供应 1%蔗糖溶液和自来水, 此过程需要保持各试验组蔗糖水的位置均衡。1 h 后, 测定液体饮用量。蔗糖水偏爱度 1%蔗糖水的消耗量占总消耗量的百分比。

$$SP = \frac{\text{蔗糖水摄入量 (g)}}{\text{总水摄入量(g)}} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

1.4.5 悬尾实验

第 27 d 给药 1 h 后，在大鼠尾部距尾尖端 1cm 处用医用胶布粘缚，将其倒吊于距离地面 15 cm 左右的横杆上，观察 6 min，记录大鼠后 5 min 内的不动时间，大鼠之间采用白板遮挡，避免相互干扰。

1.4.6 强迫游泳实验

第 28 d 给药 1 h 后，将大鼠放于直径约 20 cm，水深 17 cm，水温 22 ℃±1 ℃的塑料桶中，实验观察 6 min，记录后 5 min 内大鼠累积不动时间。

1.4.7 组织收集及 DA、NE 含量测定

实验结束后，大鼠断头取血，收集血浆。快速摘取大鼠下丘脑组织，采用双蒸水匀浆后，用于含量测定。

1.4.8 统计学方法

利用SPSS统计软件进行统计分析，数据采用Mean±S.D. 表示，采用单因素方差分析（ANOVA）统计。**检验水准α=0.05(双侧)。**

2 结果

2.1 银耳提取物对大鼠体重的影响

与空白组相比，模型组大鼠体重显著降低（ $P<0.01$ ），与模型组相比，1.5 g/kg 银耳提取物可以显著提高慢性应激抑郁大鼠体重（ $P<0.01$ ）（图 1）。

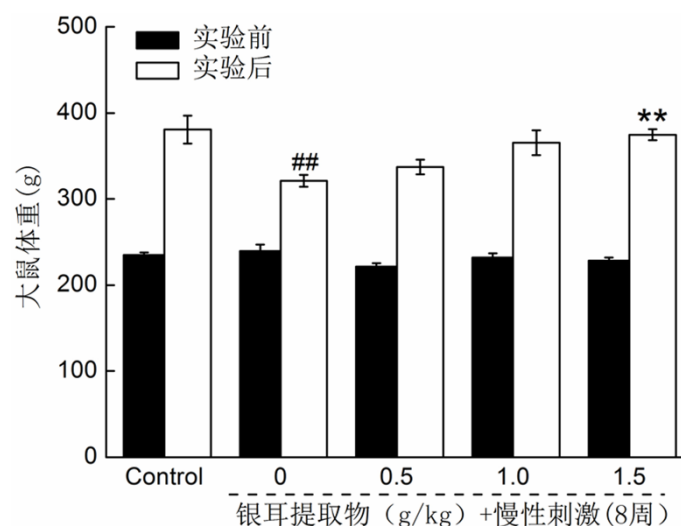


图 1. 银耳提取物对大鼠体重的影响。

注：与空白组相比， $##P<0.01$ ；与模型组相比， $**P<0.01$ （ $n=16$ ）

2.2 银耳提取物对大鼠蔗糖偏爱的影响

如图 2 所示。与空白组相比，模型组大鼠蔗糖偏爱度显著下降， $P<0.01$ 。

1.5 g/kg 银耳提取物显著提高大鼠的糖水偏爱度（ $P<0.01$ ）。

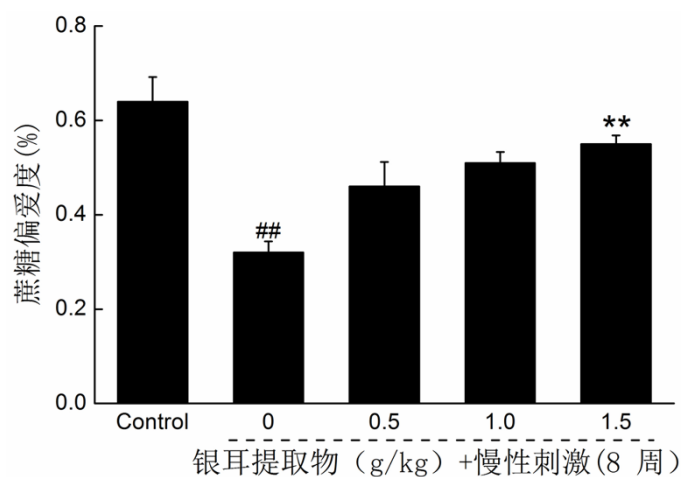


图 2. 银耳提取物对大鼠蔗糖偏爱的影响。

注：与空白组相比， $\#P<0.05$, $##P<0.01$ ；与模型组相比， $*P<0.05$, $**P<0.01$ （ $n=16$ ）

2.3 银耳提取物降低大鼠不动时间

与空白组相比，模型组大鼠 5min 内悬尾不动时间均显著上升（ $P<0.01$ ，

图 3A)，1.0 g/kg、1.5 g/kg 的银耳提取物显著降低 5 min 大鼠悬尾不动时间 ($P<0.05$)。

与大鼠悬尾不动时间相同，与模型组大鼠相比，1.0 g/kg、1.5 g/kg 银耳提取物显著降低 5min 内大鼠游泳不动时间 ($P<0.01$ ，图 3B)。

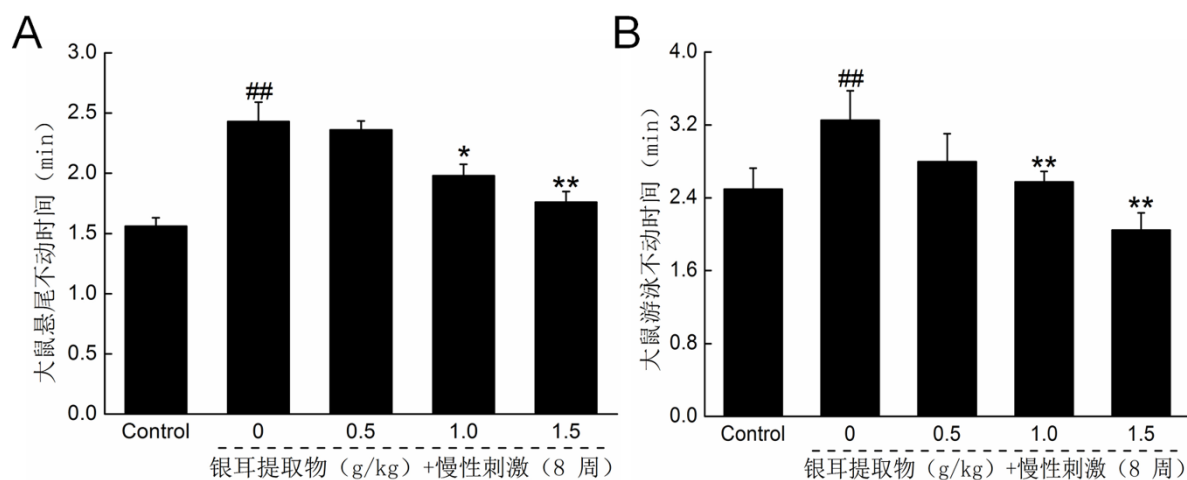


图 3. 银耳提取物对大鼠不动时间的影响。(A) 减少大鼠悬挂不动时间；(B) 降低大鼠游泳不动时间。注：与空白组相比， $##P<0.01$ ；与模型组相比， $*P<0.05$, $**P<0.01$ ($n=16$)

2.3 银耳提取物提高大鼠下丘脑及血浆 NE、DA 含量

与空白大鼠相比，模型组大鼠下丘脑及血浆中 DE、NE 水平显著下降 ($P<0.05$ ，图 4)，1.0 g/kg、1.5 g/kg 银耳提取物可以显著提高大鼠下丘脑及血浆 DA 含量 ($P<0.05$)。同时银耳提取物剂量依赖性的增强大鼠下丘脑 NE 含量 ($P<0.01$ ，图 4B)。

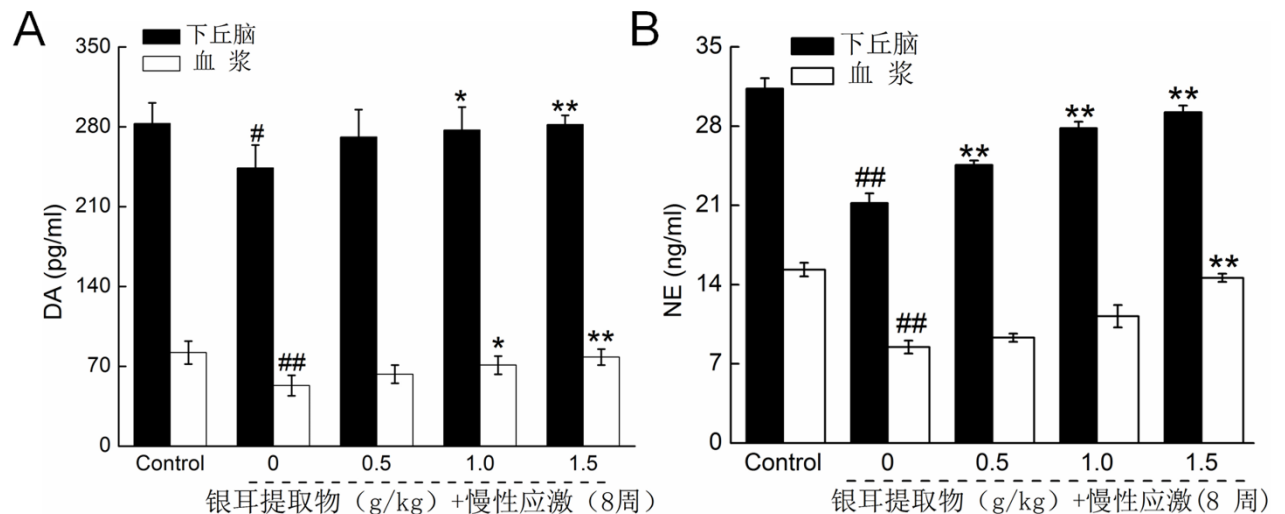


图 4. 银耳提取物对大鼠血浆及下丘脑激素水平的影响。（A）增加大鼠下丘脑及血浆

DA 水平；（B）增加大鼠下丘脑及血浆 NE 水平。注：与空白组相比，

$P<0.05$, ## $P<0.01$ ；与模型组相比，* $P<0.05$, ** $P<0.01$ （ $n=16$ ）

3 结论

慢性应激抑郁大鼠的一个非常重要的抑郁样的表型就是对蔗糖偏爱度的下降^[12]。在本研究中，与空白组相比，模型组大鼠蔗糖偏爱度显著下降，而银耳提取物显著增加抑郁症大鼠蔗糖偏爱度（图 2），推断 1.5g/kg 银耳提取物具有抗抑郁活性。

强迫游泳和悬尾实验分别由 Porsolt^[13]和 Steru^[14]提出，是目前常用的抗抑郁药物筛选的行为学检测方法，其原理均为将动物置于不可逃避的环境中，动物会拼命挣扎，企图逃跑，在经过努力不能脱困后，出现间断性不动，表现为“行为绝望”状态^[15]，与抑郁症类似，绝多大数抗抑郁药均可缩短动物的不动时间^[16]。研究发现，1.0 g/kg，1.5 g/kg 银耳提取物显著提高 5min 内抑郁大鼠行为不动时间（ $P<0.05$ ，图 3），因此推断银耳提取物具有一定的抗抑郁活性。

抑郁症的发病率正在逐步攀升，预计到 2020 年，可能成为仅次于心脏病的

第二大疾病，抑郁症发病机制至今未明，但大量实验研究表明 NE、DA 等单胺类神经递质含量改变与抑郁症有密切关系^[17]。随着对抗抑郁症发病机制的深入了解，天然抗抑郁药物的研究和开发也成了新的热点和发展趋势^[18]。

本研究通过慢性应激建立抑郁症大鼠模型^[19]，在大鼠体内实验，证明了银耳提取物的抗抑郁症活力，其作用与增加大鼠血浆及下丘脑 DA、NE 含量直接相关。本研究为银耳作为抗抑郁保健食品及药品的广泛应用提供了科学依据。

参考文献

- [1] 顾桂英，曾德志，樊学文，等. 抑郁症患者入院初期睡眠障碍的多因素分析[J]. 实用预防医学，2013, 20(4):503-504.
- [2] 李丽华，何贵兰，王海成，等. 郴州市高中生抑郁现状调查[J]. 实用预防医学，2006,13(2): 230-231.
- [3] 高广胜，王学良，吕国强，等. 网络与大学生抑郁症状的关系[J]. 实用预防医学，2008, 15(2):301-303.
- [4] 李朋云，董文心. 抗抑郁药物的研究概况[J]. 中国医药工业杂志，2006, 37(11): 779-783.
- [5] 孟秀君，曲蕾，马燕，等. 新型抗抑郁药物的研究进展[J]. Chinese Journal of New Drug, 2011, 20(18): 1766-1774.
- [6] 姚李吉，沈洪. 抗抑郁中医方药的实验研究进展[J]. 光明中医，2008,23(5): 696-698.
- [7] 崔承彬，杨明，姚志伟，等. 中药巴戟天中抗抑郁活性成分的研究[J]. 中国中药杂志，1995,20(1): 36-63.
- [8] 陈文星，刘乐平，李璘，等. 姜黄素抗抑郁作用及其机理研究[J]. 中药新药与临床药理，2006,17(5): 317-320.
- [9] 薛莉. 银耳提取物对酒精性肝损伤辅助保护作用[M]. 菌物学报，2014. 33(5): 1112-

1118.

- [10] 鲍晓梅, 耿丽华, 吴献礼. 银耳免疫增强与抗肿瘤作用概述[M]. 安徽中医学院学报, 1999, 18(1): 58-59.
- [11] 张中启. 抗抑郁药与抑郁动物模型[J]. 军事医学科学院院刊, 2001, 25(4): 302-305.
- [12] 唐晓伟, 李伟, 林圣斌, 等. 刺五加对抑郁症大鼠行为学的影响[J]. Chin J Appl Physiol, 2010, 26(3): 333-353.
- [13] Porsolt R D, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a Primary screening test for antidepressants [J]. Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie, 1977, 229:327-336.
- [14] John F. Cryan, Andrew Holmes. The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety [J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2005, 4:775-790.
- [15] 郑子敏, 韦健全, 罗莹, 等. 芒果苷对行为绝望小鼠的抗抑郁作用研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(4): 978-979.
- [16] 尚颖, 曹东平, 贾海英, 等. 慢性疲劳综合症的特征与评价. 中国临床康复, 2005, 9(24): 176-177.
- [17] 马荣, 钱瑞琴, 姚海燕, 等. 解郁丸抗抑郁作用机制的初步研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(10): 168-172.
- [18] 孙秀萍, 李腾飞, 石哲, 等. 人参总皂苷和远志总苷配伍对小鼠抗抑郁作用[J]. 中国比较医学杂志, 2012, 22(6): 30-36.
- [19] 赵志宇, 王卫星, 郭洪祝, 等. 甘草苷对慢性应激抑郁模型大鼠的抗抑郁作用[J]. 中国临床康复, 2006, 10(27): 69-72.