

猴头菌提取物对老年痴呆小鼠的作用

刘阳, 姜殿君

(沈阳医学院, 辽宁沈阳 110034)

猴头菌(HEP)系担子菌纲, 多孔菌目, 啮菌科, 猴头属真菌。其性平, 味甘, 能利五脏, 助消化, 滋补, 抗癌, 治疗神经衰弱^[1]。国内已经广泛用于医治消化不良、胃溃疡、食道癌、胃癌、十二指肠癌等消化系统的疾病与肿瘤。本实验采用 D-半乳糖制备老年痴呆模型小鼠的方法^[2], 观察猴头菌提取物对该模型小鼠的保护作用。

1 材料与方法

1.1 材料

D-半乳糖为上海试剂二厂产品; 猴头菌提取物由本研究室自制; 兔抗 A β (1-40) 抗体购自武汉博士德生物工程有限公司; 超敏 SP 浓缩试剂盒购自北京中杉金桥有限公司; 避暗自动测试仪为成都泰盟科技有限公司产品。

1.2 实验方法

1.2.1 老年痴呆模型小鼠的建立: 取昆明系小鼠 40 只, 随机分成 4 组: 对照组、模型组、猴头菌治疗组及 VE 治疗组。每组 10 只小鼠。模型组、猴头菌治疗组及 VE 治疗组小鼠每日按 120mg/kg 腹腔注射 D-半乳糖, 连续注射 4 周。猴头菌治疗组小鼠每天按 2g/kg 灌胃猴头菌提取物一次, 对照组和模型组小鼠灌胃等量的双整水。

1.2.2 避暗实验行为学检测: 避暗自动测试仪的活动箱分明暗两室, 两室之间有一洞口, 箱底通以铜栅。正式实验前对各组小鼠进行训练, 将小鼠头背着洞口放入明室, 先适应环境 3min, 然后给暗室铜栅通 36V 电流, 小鼠进入暗室后受到电击即逃到明室, 铜栅持续通电 5min, 此为训练过程。24h 后进行小鼠的记忆测验, 记录小鼠第一次进入暗室的时间 (避暗潜伏期),

若小鼠 5min 内仍未进入暗室, 其潜伏期计作 300s。

1.2.3 免疫组织化学染色: 将各组小鼠麻醉后取全脑, 置 4% 的甲醛溶液中固定 24h, 石蜡包埋切片, 常规程序进行免疫组化染色^[3,4], 一抗 A β (1-40) 的浓度为 1:100, DAB 显色, 苏木素复染, 脱水, 透明, 封片。同步设空白, 特异对照。

1.3 统计学方法

实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS 11.5 软件包进行统计分析, 采用 ANOVA 和 LSD' s post hoc test 进行统计学分析, 以 $P < 0.05$ 表示有显著性差异。

2 结果

2.1 猴头菌提取物对老年痴呆模型小鼠避暗实验的影响

从表 1 可见, 与对照组小鼠比, 模型组小鼠的避暗潜伏期明显缩短 ($P < 0.01$), 表明模型组小鼠出现了记忆障碍; 而猴头菌治疗组及 VE 治疗组小鼠与模型组小鼠比, 避暗潜伏期明显延长 ($P < 0.05$), 表明猴头菌可明显改善痴呆模型小鼠的记忆障碍。

表 1 猴头菌提取物对老年痴呆模型小鼠避暗潜伏期的影响

组别	列数	避暗潜伏期 (s)
对照组	10	83.23 \pm 58.62
模型组	9	22.47 \pm 14.28*
猴头菌治疗组	10	104.55 \pm 62.35#
VE 治疗组	9	97.43 \pm 50.77#

注: 与对照组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.01$

2.2 A β (1-40) 免疫组织化学染色结果

从表 2 各组小鼠脑内 A β (1-40) 蛋白阳性细胞的整合光密度值可见, 与对照组比, 模型组小鼠的 A β (1-40) 的整合光密度值显著增加 ($P < 0.05$), 表明 D-半乳糖可增加小鼠脑内 A β (1-40) 的表达; 猴头菌治疗组及 VE 治疗组小鼠与模型组小鼠比, 脑内 A β (1-40) 蛋白阳性细胞的整合光密度值显著降低 ($P < 0.05$), 表明猴头菌抑制了模型小鼠脑内 A β (1-40) 的表达。

表 1 猴头菌取物对老年痴呆模型小鼠脑内 A β (1-40)的影响

组别	列数	避暗潜伏期 (s)
对照组	10	33.82 \pm 10.43
模型组	9	85.94 \pm 27.36*
猴头菌治疗组	10	46.98 \pm 21.75#
VE 治疗组	9	50.23 \pm 23.84#

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, # $P < 0.05$

3 讨论

老年痴呆是一种进行性退行性神经病变, 是老年人的多发病和常见病。其主要的临床表现为进行性学习记忆、认知功能减退、行为异常、日常生活能力下降及情感、思维障碍等, 主要的病理改变是痴呆患者脑内大量的老年斑及神经原纤维缠结的出现^[5]。关于老年痴呆的发病机制目前尚未完全阐明, 存在许多学说。其中主要的为自由基损伤学说和细胞凋亡学说。目前用于老年痴呆研究的动物模型很多, 其中给小鼠腹腔注射 D-半乳糖是一种常见的制备方法。有研究发现, D-半乳糖可诱导小鼠出现学习记忆力减退、氧化应激增强、抗氧化酶活性减弱等老化相关的改变^[6]。因此本实验以 D-半乳糖按 120mg/kg 给小鼠腹腔注射 4 周以制备老年痴呆小鼠模型, 利用避暗行为学实验观察 D-半乳糖对小鼠记忆能力的影响。结果发现, 模型组小鼠的避暗潜伏期明显缩短, 显示

出记忆障碍。通过免疫组化检测了小鼠脑内 A β (1-40) 蛋白表达水平, 结果发现模型组小鼠的 A β (1-40) 的整合光密度值显著增加, 显示出脑部病理改变的现象。

猴头菌在民间被称为“山珍”, 是著名的药食兼用菌, 国内已经广泛将其用于消化系统的疾病与肿瘤等的研究^[3,4]。本实验观察了猴头菌对 D-半乳糖诱导的老年痴呆小鼠模型的影响。结果发现, 在避暗行为学实验中, 猴头菌治疗组小鼠与模型组小鼠比较避暗潜伏期明显延长, 显示了猴头菌可明显改善痴呆模型小鼠的记忆障碍。而免疫组化结果显示, 与模型组比, 猴头菌治疗组小鼠脑内 A β (1-40) 蛋白阳性细胞的整合光密度值显著降低, 表明猴头菌抑制了模型小鼠脑内 A β (1-40) 的表达。因此, 本实验初步证实了猴头菌有明显的改善老年痴呆小鼠的学习记忆能力及对脑部病理改变有明显的保护作用, 至于猴头菌的其他作用机制有待于进一步的研究。

参考文献

- [1] 貂润翌, 朱平. 猴头菌及其菌丝提取物的药理与临床研究进展 [J]. 华西药学杂志, 2009, 24(5): 555-557.
- [2] 罗焕敏. 一种新的老年痴呆动物模型 [J]. 中国老年学杂志, 2003, 23(3): 179-182.
- [3] 何苗. 小刺猴头菌醇提物防治化学诱导的阿尔茨海默病小鼠的作用与机制初探 [J]. 中国医科大学学报, 2008, 37(2): 184-186.
- [4] 王晓丽. 谓葆猴头菌颗粒辅助治疗小儿幽门螺杆菌相关性慢性胃炎 45 例 [J]. 医药导报, 2010, 29(3): 319-320.
- [5] Multhaup G. Amyloid precursor protein and BACE function as oligomers [J]. Neurodegener Dis, 2006, 3: 270-274
- [6] Wei HF, Li L, Song QJ, et al. Behavioural study of the d-galactose induced aging model in C57BL/6J mice [J]. Behav Brmn Res, 2005, 157: 245-251.

