

以大蟬花及其 N6-(2-羥基乙基)腺苷與多醣改善 D-半乳糖誘發大鼠記憶學習能力之研究

摘要

大蟬花 (*Cordyceps cicadae*) 在過去常被用來治療心悸和眼睛疾病的傳統中藥，近年研究證實大蟬花裡含有高濃度的腺苷、N6-(2-羥基乙基)腺苷 (N6-(2-Hydroxyethyl)-Adenosine, HEA)、多醣等活性成份，這些成分具有抗發炎、抗氧化、免疫調節、降膽固醇、改善神經損傷等多種功效。D-半乳糖注射能夠誘導生物體內抗氧化酵素的降低和自由基增加，與自然老化相似。因此本研究以皮下注射施打 D-半乳糖 (500 mg/kg/day) 誘發大鼠老化作為腦部損傷與記憶學習能力動物模式評估，實驗期間餵食液態培養之大蟬花發酵產物及其功效成份 HEA、多醣以治療改善腦部老化現象。結果顯示，以大蟬花發酵物作為試驗物質確實能有效改善老化大鼠記憶能力，也證實大蟬花發酵物也不具有肝腎毒性，不會對肝臟與腎臟功能造成負擔，能夠有效地被應用在保健食品開發當中。

關鍵詞：D-半乳糖、老化、大蟬花、N6-(2-羥基乙基)腺苷 (HEA)、多醣

前言

近年來全球人口不斷上升，隨著醫療及生活品質提高，全球的老年人口也相對增加，台灣內政部於 108 年統計 65 歲以上老年比率占全台人口 14.6% 也就是 344 萬人，已達到聯合國定義高齡社會。而「老化」的過程包括了基因遺傳、生活型態、慢性疾病等各方面因素影響而形成，這些都會造成身體外表、行為等造成影響，隨著時間的累積，身體的含氧自由基造成的氧化壓力傷害使人體器官、細胞無法修復時，就會形成不可逆的傷害加速老化的進行。大蟬花是一種中國傳統的中草藥，前人研究已證實大蟬花具有抗氧化、抗發炎 (Lu et al., 2015) 與神經保護 (Olatunji et al., 2016) 等多種保健功效，因此本研究進行為期 8 週的動物實驗，以皮下注射施打 D-半乳糖 (500 mg/kg/day) 誘發大鼠老化作為腦部損傷與記憶學習能力動物模式評估，以被動迴避試驗、水迷宮試驗來評估實驗大鼠記憶學習能力是否衰退，探討人工液態培養大蟬花發酵產物及其主要功效成分 HEA、多醣是否能有效改善老化大鼠記憶學習能力之效果。

材料方法

實驗動物之飼養、分組與劑量：

本研究使用之雄性 SD 品系大鼠購自樂斯科生物科技股份有限公司 (Taipei, Taiwan)，每組 12 隻。飼養於相對溼度 60%，室溫 23±1 °C，12 hr 光照循環 (8:00 ~ 20:00)，食物與水供給不予限制之環境。

餵食劑量之換算參考美國 FDA 公告，以 60 公斤成人為基準，人體每日每公斤體重之建議攝取量的 6.25 倍為大鼠之劑量。NOR 組為對照組，其餘 4 組每日固定時間皮下注射 D-galactose (500 mg/kg/day) 進行老化誘發。同時 UCC 組每日餵食依公式換算等量發酵液和菌絲體粉末，HEA 組每日餵食相同濃度之功效成份標準品，PS 組每日餵食培養之大蟬花發酵產物之菌液。

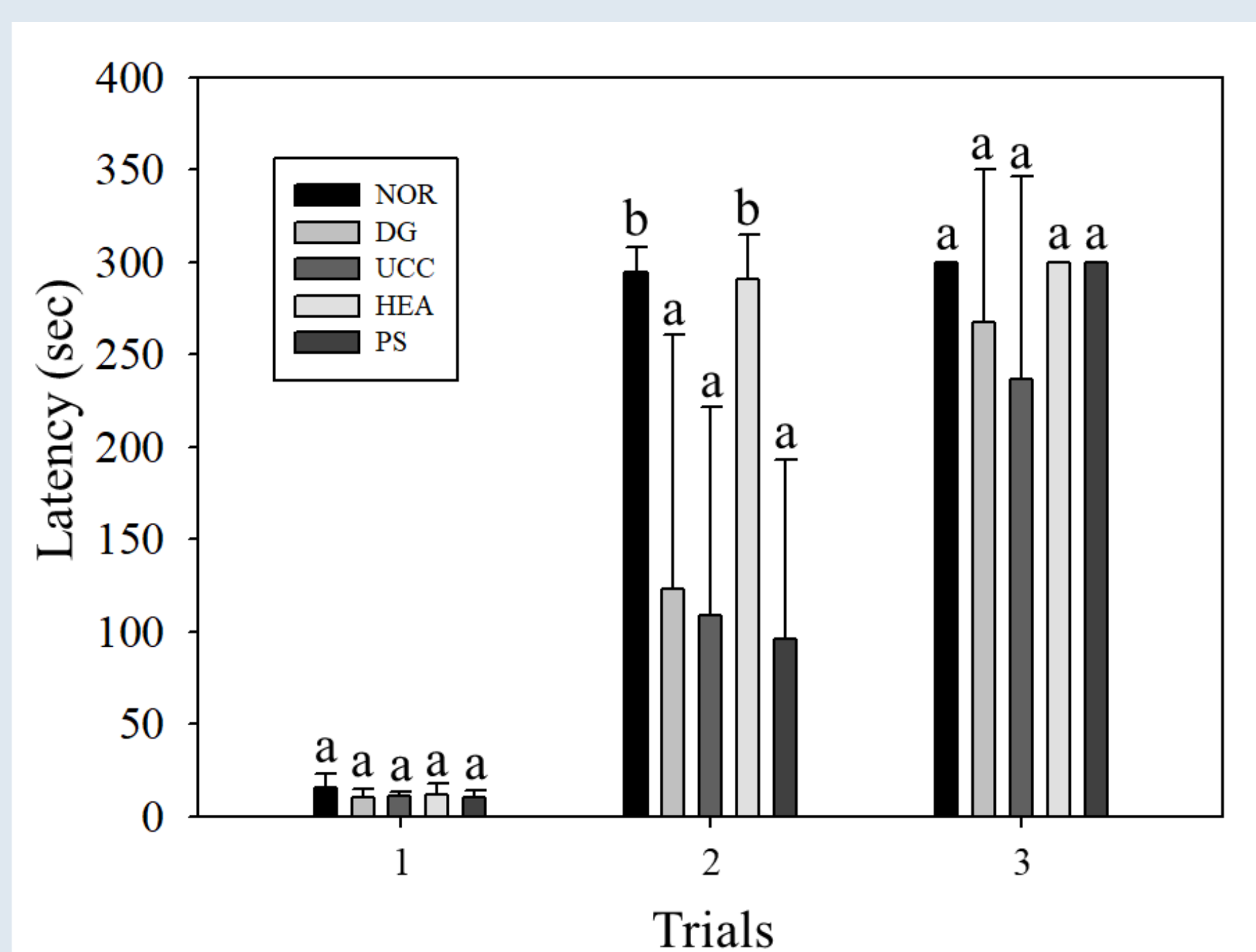
實驗為期 8 週，最後第 8 週以被動迴避試驗、水迷宮試驗來評估實驗大鼠記憶學習能力是否衰退。並犧牲採集集血液，分析肝臟功能指標 (AST、ALT 和 Albumin) 及腎臟功能指標 (BUN、Creatinine 和 Uric acid)。

表一、實驗動物分組

組別	施打 D-galactose (500 mg/kg/day)	餵食試驗物質
NOR	-	-
DG	+	-
UCC	+	<i>Cordyceps cicadae</i> 發酵液和菌絲體粉末
HEA	+	HEA 標準品
PS	+	<i>Cordyceps cicadae</i> 發酵液

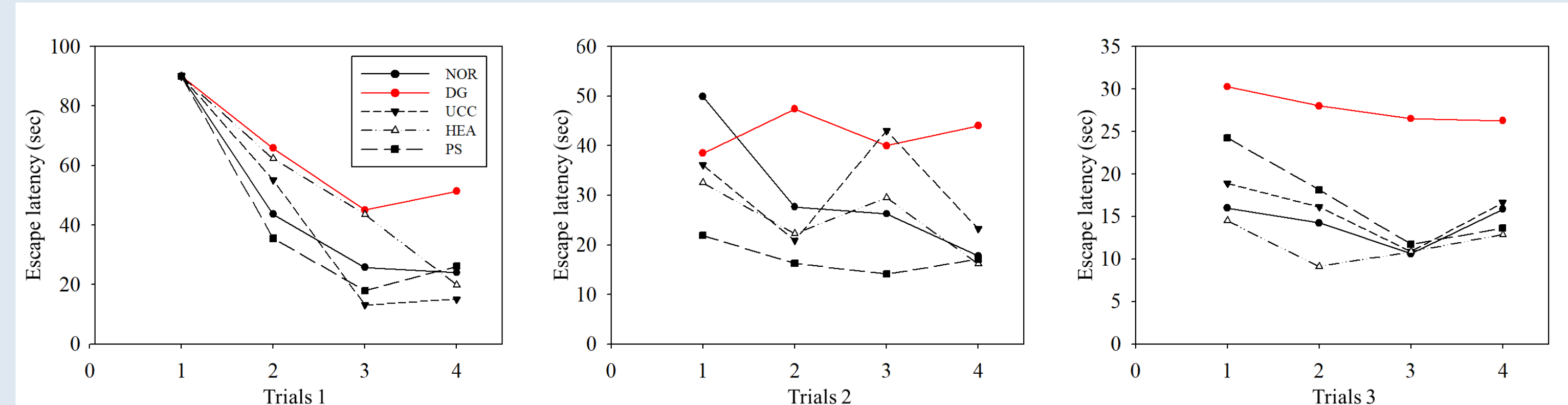
結果與討論

被動迴避試驗：以老鼠本身趨暗習性，連續 3 天進行測試，探討老鼠滯留明室時間，若老鼠停留在明室時間越長，代表其學習記憶力越佳。結果如圖一顯示，在第二天時，HEA 組跟 DG 負控制組有明顯差異 ($p < 0.05$)，而第三天所有組別經兩天學習後記憶能力並沒有顯著差異。



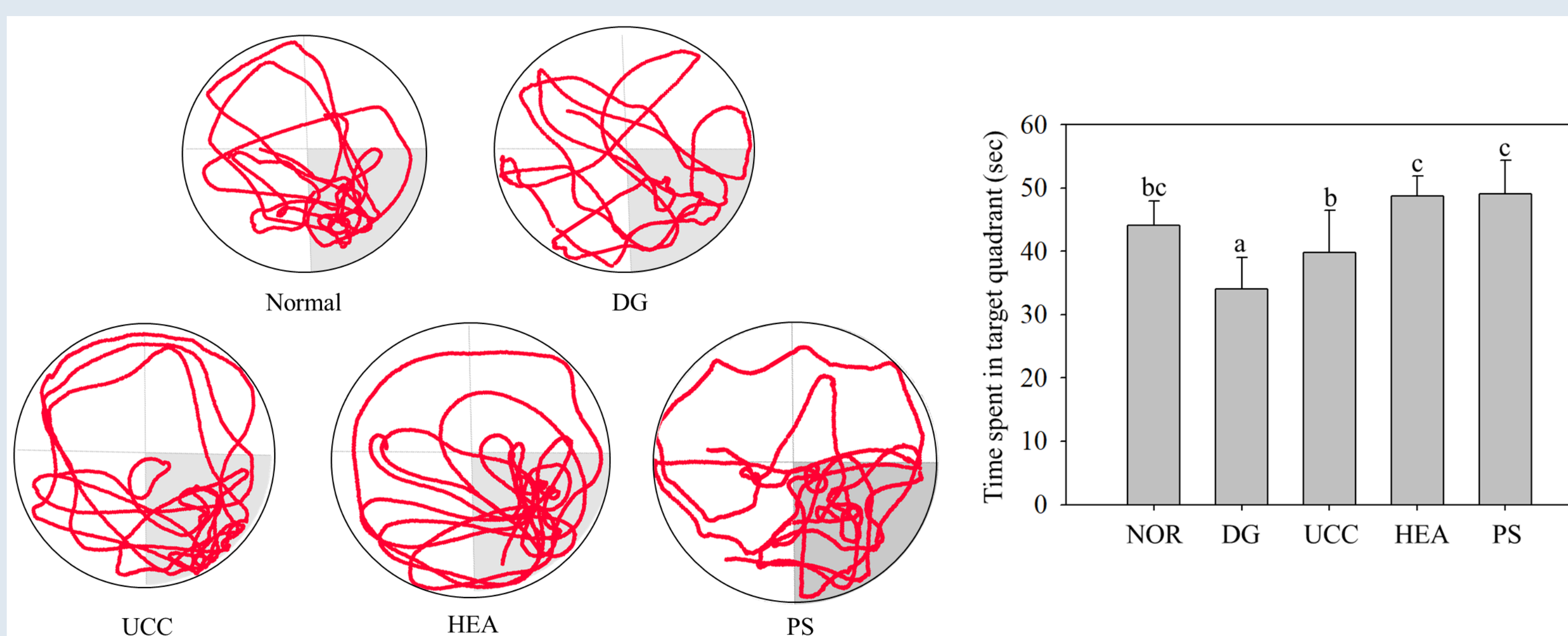
圖一、大蟬花發酵物對 D-半乳糖誘發老化大鼠於被動迴避試驗中處於明室時間

參考記憶試驗：藉由實驗動物每次尋得休息平台的時間視為評估參考記憶試驗之指標，作為大鼠長期記憶能力之標準。大蟬花發酵物對 D-半乳糖誘發老化大鼠的參考記憶學習能力損傷之影響如圖二所示，分為 3 天共 12 次訓練，隨著訓練次數增加，各組搜尋平台時間明顯減少，在第三天訓練中，DG 組跟其他組相比花費較長時間尋得平台，顯示餵食試驗物質大鼠長期記憶能力有獲得改善。



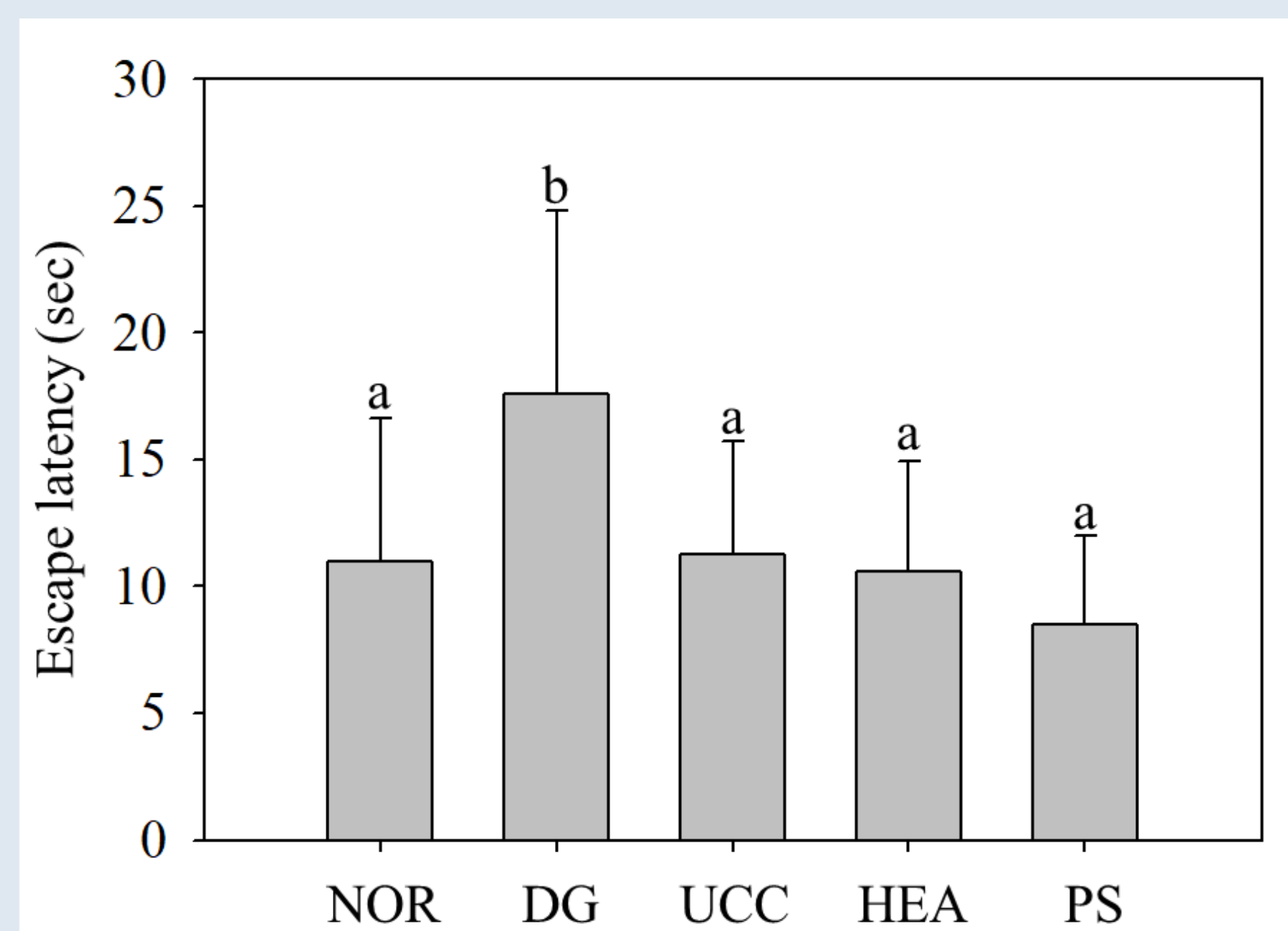
圖二、大蟬花發酵物對 D-半乳糖誘發老化大鼠於參考記憶試驗中搜尋平台之時間

空間探測試驗：於參考記憶試驗結束後，立即移除平台進行試驗，其游泳路徑有助於辨別實驗動物於空間探測試驗中學習與記憶能力表現得真實性。結果如圖三所示，DG 組在該空間中無目標性及無方向性尋找目標象限，且游泳軌跡遍佈整個泳池。相反地，UCC、HEA 和 PS 組會長時間徘徊於目標象限內，統計顯示 UCC、HEA 和 PS 組在目標象限內與 DG 組相比分別提高 16.9%、42.9% 及 44% ($p < 0.05$)，因此餵食試驗物質有助於改善老鼠於空間性記憶學習能力。



圖三、大蟬花發酵物對 D-半乳糖誘發老化大鼠於空間探測試驗中於目標象限之游泳軌跡與時間圖

工作記憶試驗：為探討實驗動物短期記憶能力測試，結果如圖四所示，DG 組在短期記憶測試中尋找平台時間與 Normal 組及其他餵食試驗物質組相比有顯著增加 ($p < 0.05$)，然而，經由餵食試驗物質後，UCC、HEA 和 PS 組尋找平台時間明顯降低統計結果上跟 Normal 並無差異。



圖四、大蟬花發酵物對 D-半乳糖誘發老化大鼠於工作試驗中尋找平台時間

血清肝腎功能指標：於結果表二顯示，肝臟功能方面 DG 組跟 Normal 組相比 AST 與 ALT 活性顯著升高 ($p < 0.05$)，而餵食試驗物質後皆呈現無明顯差異 ($p > 0.05$)。Albumin 部分 Normal、DG、UCC 與 HEA 組並無差異，而 PS 組含量相較 Normal 組卻降低。腎功能 DG 組跟 Normal 組相比 BUN 含量明顯升高，而其他餵食試驗物質組別並跟 Normal 組無差異。Creatinine 與 Uric acid 部分 DG 組跟 Normal 組則無差異，餵食試驗物質部分組別則有降低趨勢。

表二、肝腎功能相關血清分析

Groups	Serum					
	AST (U/L)	ALT (U/L)	Albumin (g/dL)	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	Uric acid (mg/dL)
Normal	118.38 ± 13.88 ^a	64.5 ± 12.07 ^a	5.04 ± 0.17 ^b	17.96 ± 1.06 ^a	0.62 ± 0.05 ^{ab}	10.39 ± 1.15 ^{ab}
DG	164.25 ± 31.44 ^b	136.38 ± 33 ^b	5.01 ± 0.25 ^b	20.89 ± 1.89 ^b	0.58 ± 0.05 ^{ab}	10.51 ± 1.63 ^{ab}
UCC	123.63 ± 9.59 ^a	69.88 ± 9.64 ^a	5.11 ± 0.16 ^b	18.38 ± 1.3 ^a	0.63 ± 0.05 ^b	10.99 ± 1.8 ^b
HEA	116.25 ± 23.76 ^a	60.38 ± 14.56 ^a	5.16 ± 0.17 ^b	18.54 ± 1.6 ^a	0.55 ± 0.06 ^a	9.03 ± 1.17 ^a
PS	107.25 ± 30.21 ^a	58.13 ± 10.97 ^a	4.85 ± 0.23 ^a	17.7 ± 1.44 ^a	0.62 ± 0.08 ^b	9.8 ± 1.34 ^{ab}

結論

本研究證實大蟬花發酵物能有效改善老化大鼠記憶能力，也證實大蟬花發酵物不具有肝腎毒性，不會對肝臟與腎臟功能造成負擔。能夠有效地被應用在保健食品開發當中。