

# 刺五加增强小鼠睡眠剥夺模型免疫功能和抗疲劳能力的实验研究

许光辉<sup>1\*</sup>, 吴艳萍<sup>2</sup>, 罗友华<sup>1</sup>, 黄亦琦<sup>1</sup>, 李廷利<sup>3</sup>

(1. 厦门市医药研究所, 福建 厦门 361008; 2. 福建中医药大学药学院, 福州 350000;  
3. 黑龙江中医药大学药学院, 哈尔滨 150040)

**[摘要]** **目的:**探讨刺五加对小鼠睡眠剥夺模型免疫功能和抗疲劳能力的影响。**方法:**将小鼠随机分为正常对照组、模型组和刺五加低、高剂量组。刺五加低、高剂量组分别按照 500, 1 000 mg·kg<sup>-1</sup> 的剂量 ig, 连续给药 10 d, 正常对照组和模型组每天 ig 等体积的蒸馏水。在第 11 d, 将模型组和刺五加低、高剂量组的小鼠采用单平台水环境法进行睡眠剥夺 (sleep deprivation, SD), 在 SD 期间, 继续给予实验药物。SD 连续 3 d 后, 采用炭粒廓清实验观察药物对 SD 小鼠免疫功能的影响, 通过负重游泳实验和转棒疲劳实验观察药物对 SD 小鼠抗疲劳能力的影响。**结果:**炭粒廓清实验中, 刺五加 500, 1 000 mg·kg<sup>-1</sup> 的 K 值和  $\alpha$  值为 (0.021 4 ± 0.008 3, 0.030 7 ± 0.005 9), (4.0 ± 0.2, 4.6 ± 0.2), 与 SD 组相比均显著增加; 抗疲劳实验中, 刺五加 500, 1 000 mg·kg<sup>-1</sup> 的游泳时间和转棒时间为 (828 ± 83), (990 ± 64) s, (330 ± 63), (665 ± 170) s, 与 SD 组相比均显著延长。**结论:**刺五加具有增强睡眠剥夺小鼠免疫功能和抗疲劳能力的作用。

**[关键词]** 刺五加; 睡眠剥夺; 免疫; 抗疲劳

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0173-03

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20121012.0933.016.html>

**[网络出版时间]** 2012-10-12 9:33

## Effects of *Acanthopanax senticosus* on Immune Function and Anti-fatigue Ability in Sleep Deprived Mice

XU Guang-hui<sup>1\*</sup>, WU Yan-ping<sup>2</sup>, LUO You-hua<sup>1</sup>, HUANG Yi-qi<sup>1</sup>, LI Ting-li<sup>3</sup>

(1. Xiamen Medical Research Institute, Xiamen 361008, China;

2. Fujian University of Chinese Medicine, Fuzhou 350000, China;

3. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effects of *Acanthopanax senticosus* (500, 1 000 mg·kg<sup>-1</sup>) on immune function and anti-fatigue ability in sleep deprived mice. **Method:** Sleep-deprived mice model was induced by single platform technique, the immune function of sleep-deprived mice was tested by the clearance rate of charcoal particles and the level of serum, and anti-fatigue ability was measured by the weight-loaded swimming method and the rotated performance test. **Result:** *A. senticosus* could significantly enhance the clearing index and the correction clearing index of sleep deprived mice, the time of loaded-swimming and the residence time on the rotated sticks deprivation mice were extended significantly. **Conclusion:** *A. senticosus* can increase immune functions and anti-fatigue ability of sleep deprived mice.

**[Key words]** *Acanthopanax senticosus*; sleep deprivation; immune function; anti-fatigue

睡眠剥夺 (sleep deprivation, SD) 是指因环境或自身的原因丧失了所需要的睡眠量的过程或状

**[收稿日期]** 20120514(007)

**[基金项目]** 福建省自然科学基金青年创新项目(2011D016)

**[通讯作者]** \* 许光辉, 博士, 助理研究员, 从事天然药物及复方生物活性的研究, Tel: 0592-5957216, E-mail: keerqin518@163.com

态<sup>[1]</sup>。流行病学研究及人体睡眠剥夺试验与动物睡眠剥夺实验结果均表明,长时间睡眠剥夺会使人或动物产生疲劳、免疫功能低下、激惹等不良的情绪状态<sup>[2-3]</sup>。因此,为了睡眠剥夺人员的安全与健康,提高睡眠剥夺条件下的工作效率,寻求减少睡眠剥夺对机体影响的防治措施具有十分重要的意义。

近年来用中药干预睡眠剥夺的研究多采用提高整体免疫力、抗应激能力和增强学习记忆的药物,由于其作用持久,毒副作用少,因此有较好的前景。大量研究发现,中药刺五加含有与人参相似的多种皂苷,有“适应原样”作用,能调节机体应激反应水平,且抗疲劳作用强于人参<sup>[4-7]</sup>。但刺五加对于睡眠剥夺造成的疲劳状态和免疫功能损害是否有改善作用尚未有所报道,因此本研究复制了小鼠睡眠剥夺模型,选用刺五加进行干预,探讨刺五加对抗睡眠剥夺损害免疫功能和疲劳状态的作用。

## 1 材料

**1.1 动物** 昆明种小鼠,雄性,体重 18~22 g,上海斯莱克实验动物有限公司,许可证号 SCXK(沪)2012-0006。

**1.2 药物** 刺五加喷雾干燥粉(哈尔滨仁皇药业股份有限公司,批号 20100801),水分含量 4.7%;总灰分含量 5.3%;浸出物含量 66.06%;紫丁香苷含量 1.1%。实验时以蒸馏水配制成不同浓度的溶液。

**1.3 试剂** 碳酸钠(分析纯,广东汕头市西陇化工厂,批号 050302),印度墨汁(北京笃信精细制剂厂,批号 0051024),生理盐水(福建天泉药业股份有限公司,批号 1001291)。

**1.4 仪器** 电子分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司],UV-2501PC 紫外分光光度计(日本岛津),小鼠水平台睡眠剥夺箱(自制),YLS-4C 型转棒式疲劳仪(山东省医学科学院设备厂)。

## 2 方法

**2.1 实验环境控制** 温度(24±1)℃;湿度 50%~60%;光照 12 h 自动亮-暗循环(设定 ZT0=7:00 开灯,ZT12=19:00 关灯)。

**2.2 小鼠睡眠剥夺模型复制<sup>[8-9]</sup>** 本研究中小鼠睡眠剥夺模型的制作采用了单平台水环境法(SPM),即在每个鼠笼中央设置一个直径约为 2.5 cm,高约为 4.0 cm 的平台,鼠笼内注水,水面低于平台 1 cm。将一只小鼠放置在平台上,小鼠可以在平台上站立,也可进入正相睡眠即非快速眼球运动睡眠(NREM)。但当小鼠进入异相睡眠即快速眼球运动

睡眠(REM)时,全身骨骼肌张力明显降低,颈部肌张力降低引起节律性低头、触水、清醒,从而无法进入 REM,就此达到睡眠剥夺的目的。

**2.3 动物分组、给药** 40 只小鼠,随机分为 4 组,分别为正常对照组,睡眠剥夺组,刺五加低、高剂量组,每组 10 只。刺五加低、高剂量组分别按照 500,1 000 mg·kg<sup>-1</sup> 的剂量 ig,连续给药 10 d,正常对照组和睡眠剥夺组每天 ig 等体积的蒸馏水。在第 11 d,将睡眠剥夺组和刺五加低、高剂量组的小鼠采用单平台水环境法进行睡眠剥夺,连续 3 d。在睡眠剥夺期间,继续给予实验药物。

**2.4 炭粒廓清实验<sup>[10-12]</sup>** 40 只小鼠,按 2.3 动物分组、给药方法进行分组、给药处理。在末次给药 1 h 后,将以上 4 组小鼠按 100 mL·kg<sup>-1</sup> 的剂量,分别由尾静脉准确注入用 0.9% 生理盐水稀释按 1:4 稀释的印度墨汁,于注入墨水 2 min( $t_1$ )及 10 min( $t_2$ ),分别自眼眶后静脉丛取血 0.02 mL,立刻吹入 0.1% 碳酸钠溶液 2 mL 中,充分混匀。取血完毕以 0.02 mL 正常小鼠血溶于 2 mL 0.1% 碳酸钠溶液校正,于紫外分光光度计在 600 nm 处测定吸光度(A)(λ),解剖小鼠,取肝脏和脾脏衡量质量,计算廓清指数(K)值和校正廓清指数(α)值。

$$K = \frac{\log(\lambda)_1 - \log(\lambda)_2}{t_1 - t_2}$$
$$\alpha = \frac{\text{体质量}}{\text{肝脾重}} \times K^{1/3}$$

**2.5 小鼠负重游泳实验<sup>[13]</sup>** 40 只小鼠,按 2.3 动物分组、给药方法进行分组、给药处理。在末次给药 1 h 后,将小鼠尾根部负荷 10% 体重的铅块,放置于水温为(25±1)℃,水深不低于 30 cm 游泳箱中游泳,记录小鼠开始游泳至力竭沉入水面下 8 s 不能浮出水面为止的时间,记录小鼠自游泳开始至死亡的时间(常温)。

**2.6 小鼠转棒疲劳实验<sup>[14]</sup>** 40 只小鼠,按 2.3 方法进行分组、给药处理。在正式进行转棒测试前 3 d,每天将各组小鼠置于转棒疲劳仪中的转速为 40 r·min<sup>-1</sup> 转棒上,进行适应性训练 10 min。于末次给予受试药 1 h 后,将各组小鼠置于 40 r·min<sup>-1</sup> 转棒上,至小鼠从转棒掉下为止,记录各组小鼠的疲劳转棒时间。

**2.7 统计方法** 所有实验结果的数值以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 17.0 分析软件进行数据分析,组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$  有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对小鼠睡眠剥夺模型免疫功能的影响** 与正

常对照组比较,模型组廓清指数和吞噬指数显著降低( $P < 0.05$ ),表明模型复制成功。与模型组比较,刺五加低、高剂量组廓清指数和吞噬指数均显著增加( $P < 0.05$ ),说明刺五加低、高剂量均能提高睡眠剥夺小鼠的非特异性免疫功能,且呈现一定量-效关系。见表1。

表1 刺五加提取物对小鼠睡眠剥夺模型非特异性免疫功能的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	K	$\alpha$
正常对照	-	0.031 6 ± 0.006 8 <sup>1)</sup>	4.4 ± 0.3 <sup>1)</sup>
睡眠剥夺	-	0.014 6 ± 0.005 1	3.6 ± 0.3
刺五加	500	0.021 4 ± 0.008 3 <sup>1)</sup>	4.0 ± 0.2 <sup>1)</sup>
	1 000	0.030 7 ± 0.005 9 <sup>1)</sup>	4.6 ± 0.2 <sup>2)</sup>

注:与模型组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ (表2同)。

3.2 对小鼠睡眠剥夺模型抗疲劳能力的影响 与睡眠剥夺组比较,刺五加低、高剂量组能明显延长睡眠剥夺小鼠的负重游泳时间,刺五加低、高剂量组有极显著性差异( $P < 0.01$ )。与睡眠剥夺组比较,刺五加低、高剂量组能明显延长睡眠剥夺小鼠的转棒时间( $P < 0.01, P < 0.05$ )。见表2。

表2 刺五加提取物对小鼠睡眠剥夺模型抗疲劳能力的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	游泳时间	转棒时间
正常对照	-	1 308 ± 211 <sup>2)</sup>	1 098 ± 395 <sup>2)</sup>
睡眠剥夺	-	462 ± 69	108 ± 42
刺五加	500	828 ± 83 <sup>2)</sup>	330 ± 63 <sup>1)</sup>
	1 000	990 ± 64 <sup>2)</sup>	665 ± 170 <sup>2)</sup>

#### 4 讨论

印度墨汁中的微小炭粒进入小鼠血液循环后,可迅速被单核细胞清除,主要为肝脏和脾脏中的巨噬细胞所吞噬。当炭粒量恒定时,其血流中炭粒的清除率就可以反映单核细胞的吞噬功能<sup>[15]</sup>。因此通过炭粒廓清功能指标的变化,可以衡量刺五加对睡眠剥夺小鼠非特异免疫功能的影响,在本研究中,发现在给予小鼠睡眠剥夺模型刺五加后,廓清指数和吞噬指数均显著升高,表明刺五加增强睡眠剥夺小鼠的免疫功能。

疲劳最主要的表现是运动耐力的下降,小鼠负重游泳实验和转棒疲劳实验是强迫性全身消耗运动,剧烈运动消耗大量的能量和氧气,运动时间的长短,是衡量疲劳的一个指标,间接反映了机体组织、脏器的健康状况和疲劳程度<sup>[16]</sup>。小鼠负重游泳实验和转棒疲劳实验可以从整体上反映刺五加提取物对动物耐力的影响,是对各个系统综合作用的反映。本实验通过考察小鼠负重游泳和转棒时间,研究刺五加提取物对睡眠剥夺小鼠的抗疲劳作用,结果表

明刺五加提取物能明显延长小鼠负重游泳和转棒时间,具有增强睡眠剥夺小鼠抗疲劳的作用。

总之,刺五加可以提高睡眠剥夺小鼠的炭粒廓清指数、吞噬指数,延长睡眠剥夺小鼠的负重游泳时间和转棒时间,具有增强睡眠剥夺小鼠非特异性免疫功能和运动耐力的作用,说明刺五加可以缓解睡眠剥夺对机体产生的不良影响,具体机制还有待于进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] 赵翠霞,谢韬,袁雪芬,等.睡眠剥夺对机体神经行为机能的损害[J].中国慢性病预防与控制,2010,19(5):541.
- [2] 赵莲,赵凤.睡眠剥夺影响机体生理功能[J].青海医药杂志,2006,(01):62.
- [3] 徐健,颜崇淮,沈晓明.睡眠剥夺损害学习记忆能力的研究[J].中华预防医学杂志,2004,38(2):134.
- [4] 张晶,刘芳芳,陈彦池,等.刺五加化学成分及药理学研究进展[J].中国野生植物资源,2008,27(2):6.
- [5] 张茹.刺五加改善睡眠剥夺大鼠学习记忆能力的机制研究[D].哈尔滨:黑龙江中医药大学,2010.
- [6] 金爽,张迎,李月.刺五加的研究进展[J].黑龙江中医药,2011,40(01):54.
- [7] 王浴生,邓文龙,薛春生,等.中药药理与应用[M].2版.北京:人民卫生出版社,1998:646.
- [8] 熊雅婷,黄芳,徐丽华,等.五味子提取物对小鼠睡眠剥夺后脑组织自由基和一氧化氮的影响[J].中国药科大学学报,2006,37(3):255.
- [9] 邹慧莉,赵广宇,宿长军,等.快速眼动睡眠剥夺对中枢5-羟色胺缺失小鼠 orexin 阳性神经元活性的影响[J].神经解剖学杂志,2009,25(3):312.
- [10] 张泽生,杨超慧,史坤,等.桦褐孔菌多糖对小鼠免疫调节作用的影响[J].食品研究与开发,2008,29(7):35.
- [11] 何飞,苏华,韦桂宁.生宝颗粒对免疫功能低下小鼠免疫功能的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(21):224.
- [12] 吴晓刚,张琨,邹梅,等.玉米粗多糖对小鼠免疫功能的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,16(17):187.
- [13] 王永新,詹皓,魏日胞,等.复方红景天醇提取物提高运动耐力(抗疲劳)的作用[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(13):172.
- [14] 陈衍智,林飞,李萍萍.人参养荣汤的急性毒性及抗疲劳抗应激的研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(8):225.
- [15] 薛明,胡建华.两参芪胶囊对小鼠免疫功能影响的实验研究[J].江苏中医药,2011,43(12):78.
- [16] 张林,韦坚义,韩德刚,等.地黄疲劳汤对小鼠抗疲劳作用的实验研究[J].泰山医学院学报,2009,30(3):161.

[责任编辑 聂淑琴]