

何純誼¹ 孫舜國² 陳淑德^{1*}

* E-mail: sdchen@niu.edu.tw

¹國立宜蘭大學食品科學系 ²光輝生命醫學股份有限公司

摘要

猴頭菇(*H. erinaceum*)是藥膳兩用真菌，其中的猴頭素(Erinacines)可促使類神經細胞(PC12)產生神經生長因子(NGF)的效果。本研究先以85%乙醇進行微波萃取猴頭菌的固態發酵產物(HEE)和子實體(FBE)，再以10 ppm萃取物濃度添加於PC12，兩者皆顯著較空白組促進NGF的生成。在預加藥保護模式中，先將斑馬魚胚胎浸泡於HEE和FBE 24 hr後，再置換成浸泡於1%乙醇浸泡24 hr，發現200 ppm的HEE較FBE能顯著減少斑馬魚腦神經細胞因乙醇所造成之死亡數目。在後加藥修復模式中，先將已發育24 hr斑馬魚胚胎以1%乙醇浸泡傷害不同時間(1、2、4、8和12 hr)，再置換成浸泡於200 ppm的HEE至發育48 hr，則HEE可修復預先以1~4 hr乙醇浸泡斑馬魚胚胎腦神經細胞所造成的傷害，且200 ppm的HEE與FBE具有相近之修復效果。

前言

猴頭菌是中國傳統的菇蕈類，為著名藥膳兼用菌。近年來發展出以液態深層發酵及固態發酵等方式進行培養。猴頭菌及其菌絲含有猴頭素及猴頭酮，研究指出猴頭素可有效刺激神經細胞產生神經生長因子(NGF)，且效果較猴頭酮佳，有保護神經細胞，治療智力衰退、神經衰弱及抗阿茲海默症、帕金森氏症等效果。故本研究之目的為探討猴頭菌菌絲體及子實體乙醇萃取物對斑馬魚腦神經之保護及修復作用。

材料與方法

H. erinaceum BCRC 36470 預活化

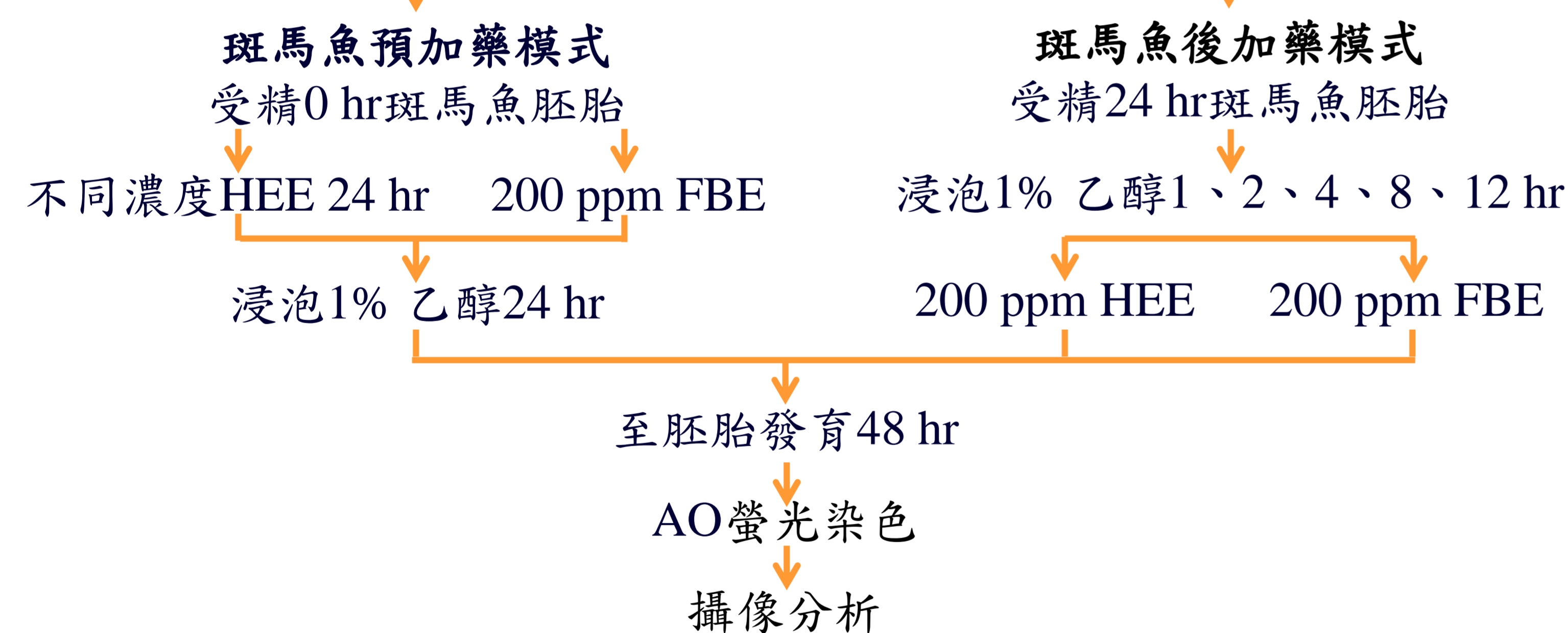
猴頭菌小麥固態發酵 25°C 培養

乾燥磨粉，85%乙醇微波萃取

減壓濃縮，蒸餾水回溶



PC12 細胞培養
10 ppm HEE 與 FBE
PC12 細胞培養 72 hr
NGF 含量檢測



結果與討論

由圖1之PC12細胞實驗可發現，以HEE及FBE培養72 hr後，可顯著地促使PC12細胞產生NGF，其含量約為控制組的2倍。斑馬魚動物模式之驗證中，經由螢光染色後，凋亡的腦神經細胞會被染色呈現螢光(亮點)；如圖2為預加藥模式之染色攝像圖。進一步經由圖3統計計數圖2之亮點數目可發現，單純浸泡1%乙醇傷害之組別平均螢光點數為30，預先浸泡於HEE 10 ppm的組別，螢光點數減少為20有下降的趨勢；HEE 100、150和200 ppm進行保護之組別，平均螢光點數則分別顯著降為13、10和7點，又以200 ppm之組別最能有效保護神經細胞並減少其死亡數量。

圖4為後加藥模式，單純以1%乙醇不同浸泡時間之組別，其腦神經細胞死亡數量有隨之增加的情形，在浸泡時間2 hr時螢光點數提升為17，浸泡4 hr則可顯著提升死亡數至23。而以200 ppm HEE進行修復之組別，可發現斑馬魚胚胎在1%乙醇浸泡1-4 hr的組別，200 ppm HEE能有效修復因乙醇所造成之損傷，使螢光點數分別降至7-10間恢復與控制組相同程度。

FBE與HEE分別於兩種模式中比較，圖5可發現在預處理模式上，FBE保護的組別螢光亮點數仍高達25，與1%乙醇組別無顯著差異，顯示保護效果並不顯著。在後加藥處理則發現，對於浸泡1%乙醇4 hr後，200 ppm FBE可顯著降低螢光點數至14點，具有修復神經細胞的效果，並與控制組無顯著差異，但其神經細胞死亡數目仍較HEE組別稍高。

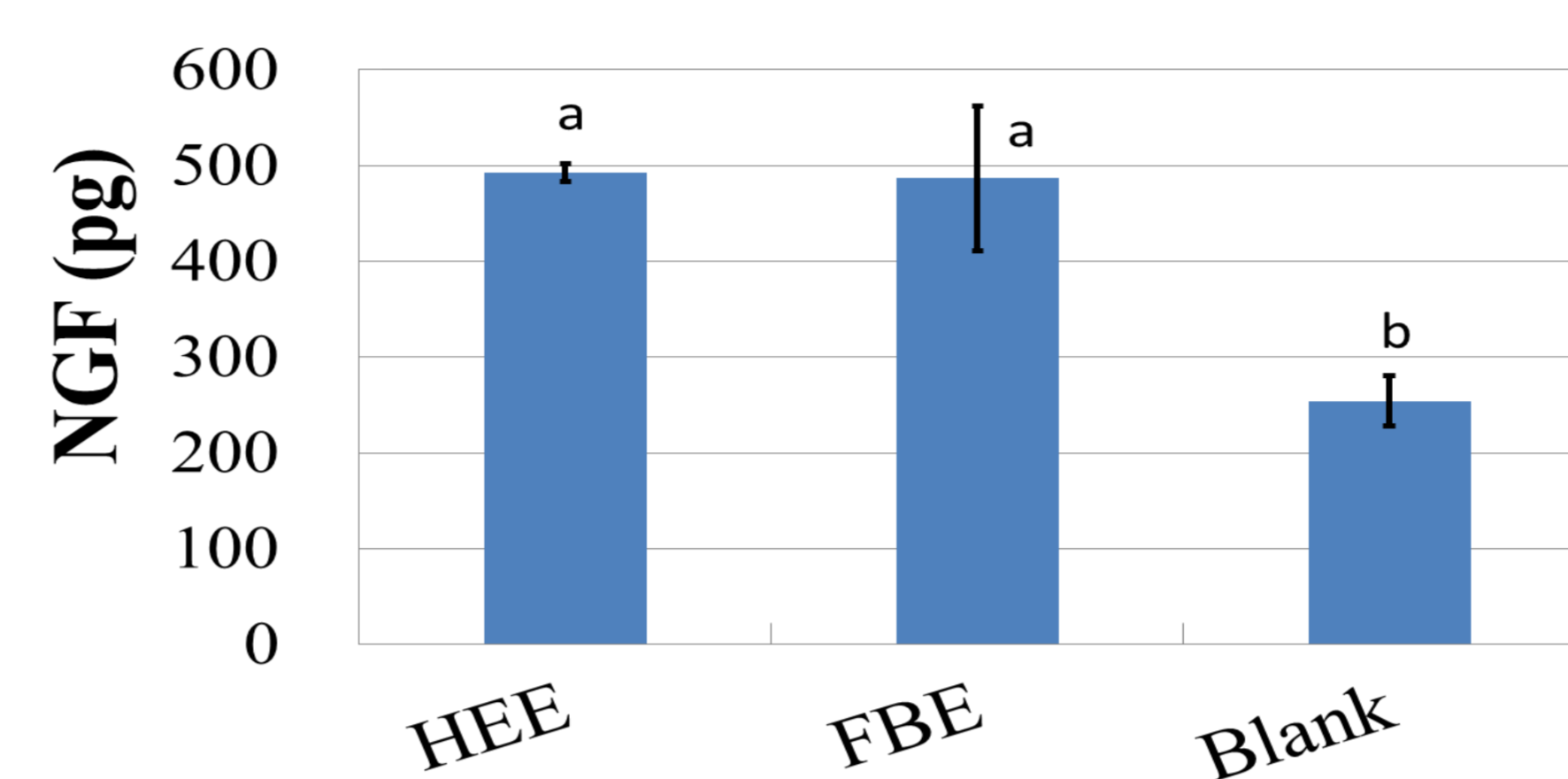


圖1、添加10 ppm HEE及FBE促使PC12細胞產生NGF之影響。

Fig. 1. Effect of adding 10 ppm HEE and FBE on PC12 cells producing NGF after 72 h cultivation. (Data are expressed as mean \pm S.D. (n = 3))

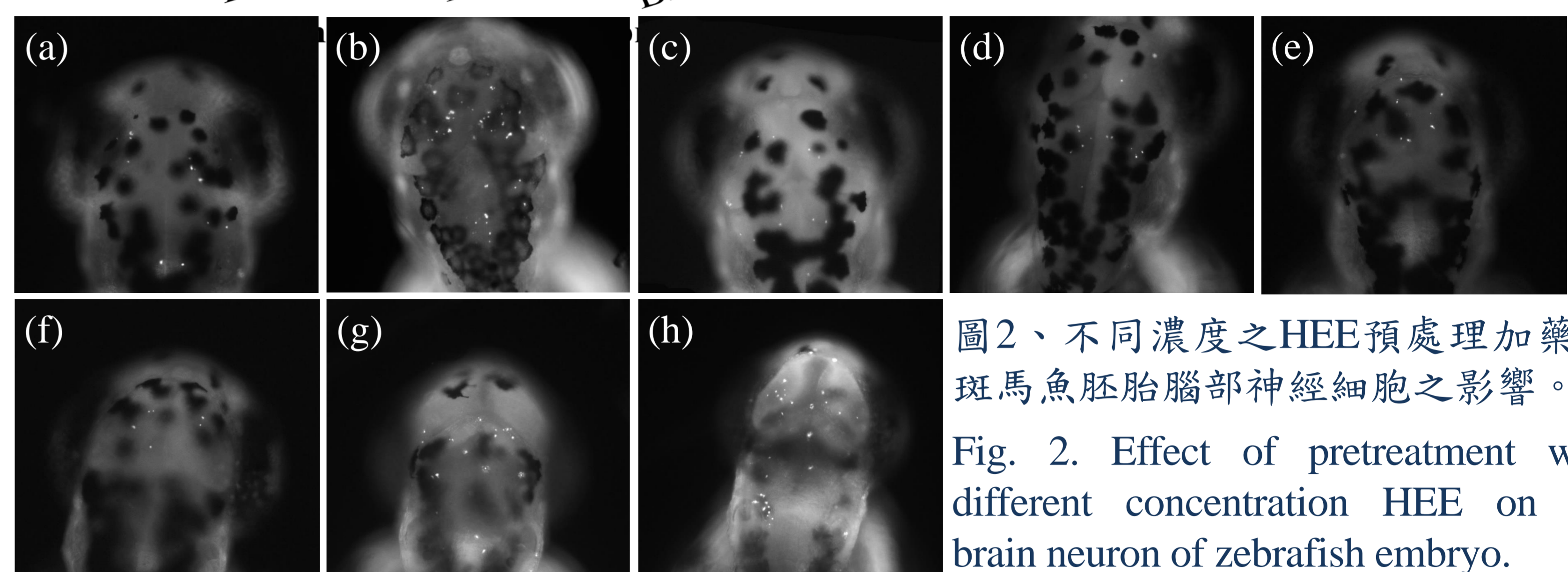


圖2、不同濃度之HEE預處理加藥對斑馬魚胚胎腦部神經細胞之影響。

Fig. 2. Effect of pretreatment with different concentration HEE on the brain neuron of zebrafish embryo.

(a) control (b) 1% EtOH (c) 10 ppm HEE 1% EtOH (d) 100 ppm HEE 1% EtOH (e) 150 ppm HEE 1% EtOH (f) 200 ppm HEE 1% EtOH (g) 250 ppm HEE 1% EtOH (h) 300 ppm HEE 1% EtOH.

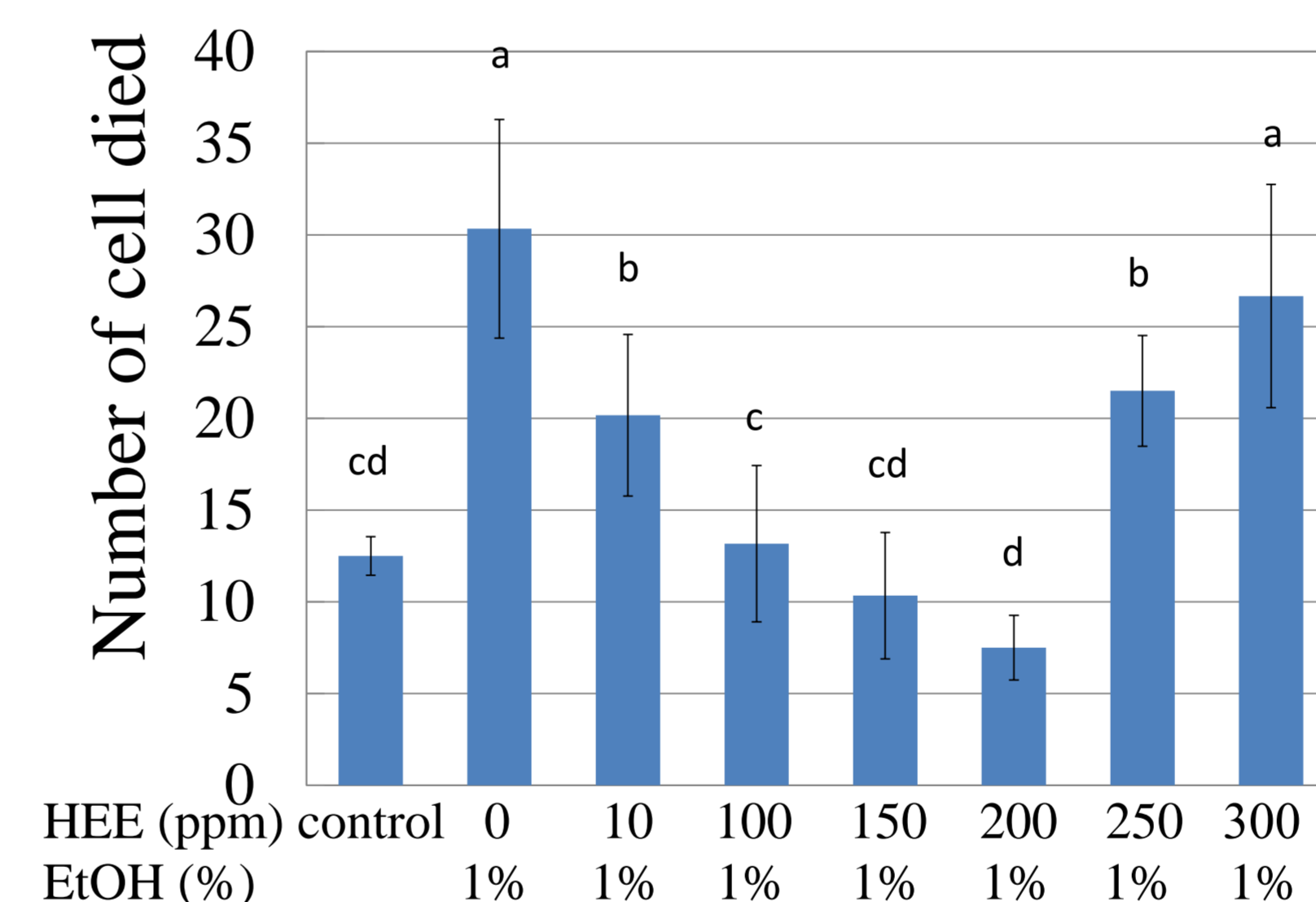


圖3、不同濃度之HEE預處理加藥對斑馬魚胚胎腦部神經細胞之影響。

Fig. 3. Effect of pretreatment with different concentration HEE on the brain neuron of zebrafish embryo. (n=6)

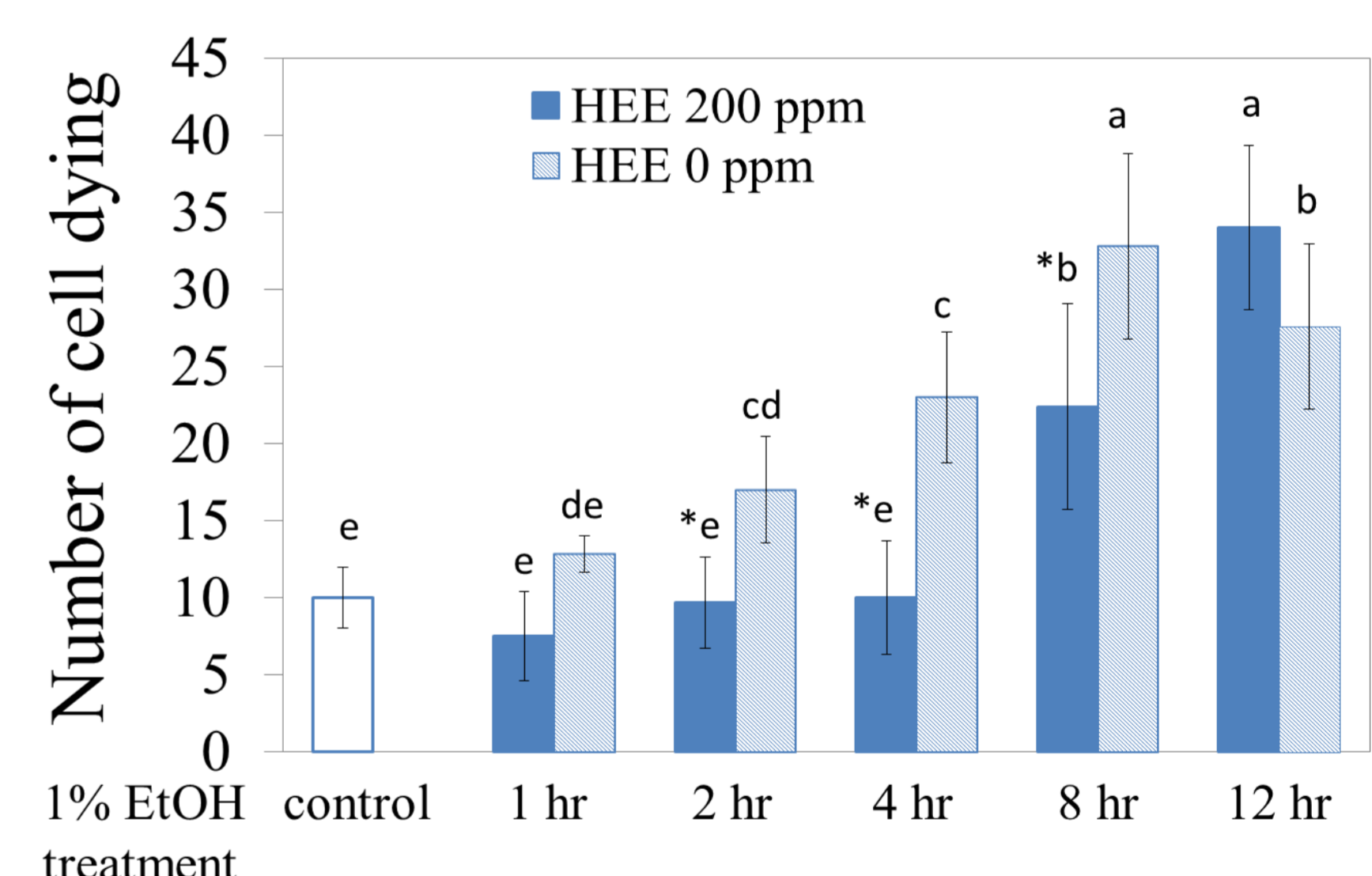


圖4、200 ppm HEE後加藥處理對斑馬魚胚胎神經之影響。

Fig. 4. Effect of post-treatment with 200 ppm HEE on the neuron of zebrafish embryo. (n=6)

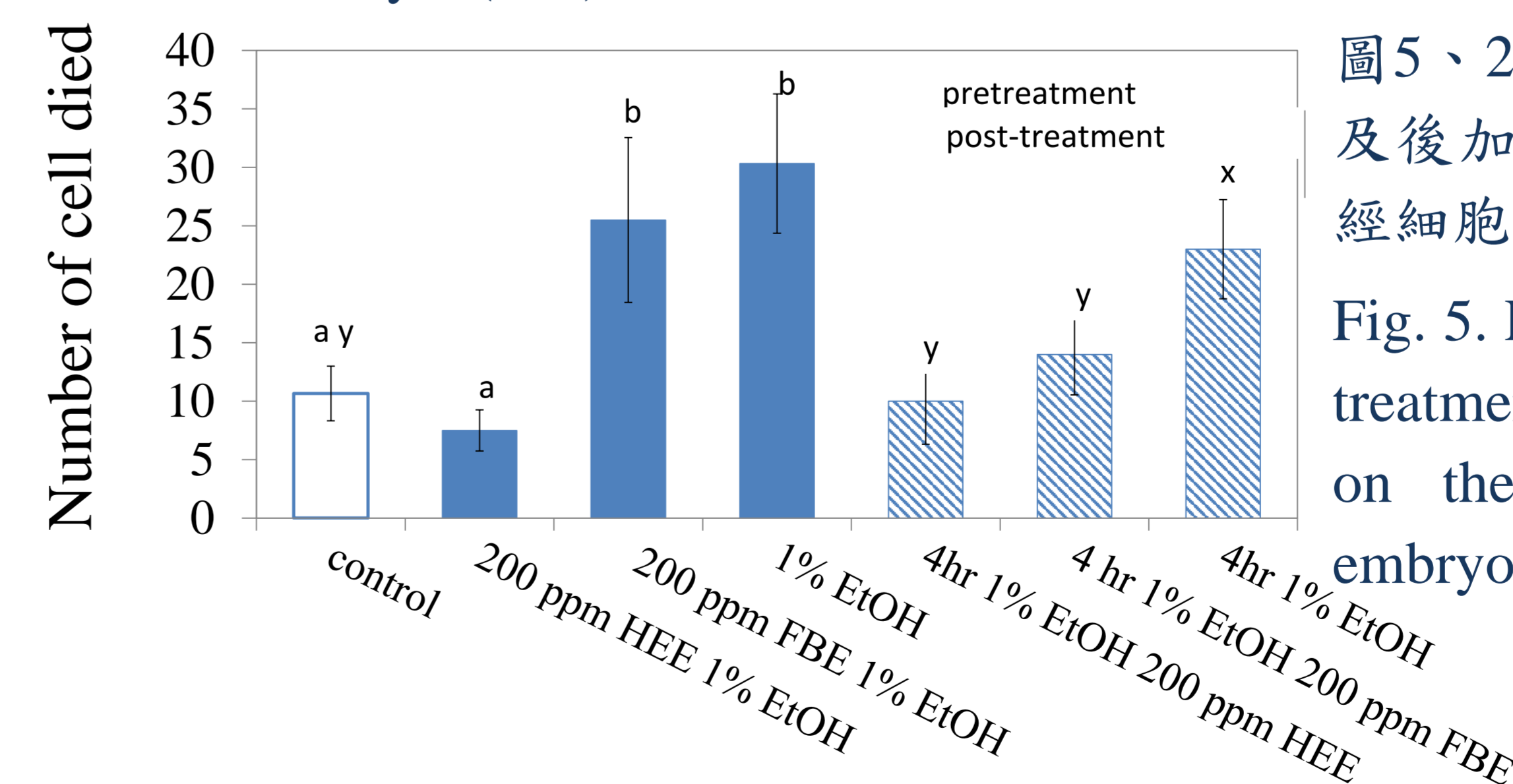


圖5、200 ppm HEE與FBE在預加藥及後加藥處理對斑馬魚胚胎腦部神經細胞之影響。

Fig. 5. Effect of pretreatment and post-treatment with 200 ppm HEE and FBE on the brain neuron of zebrafish embryo.

結論

HEE及FBE均可顯著促使PC12細胞產生NGF。斑馬魚模式中顯示，200 ppm HEE最有效保護神經細胞減少其死亡數量；在修復效果中，可修復4 hr內乙醇所造成之神經損傷，且兩者效果均以HEE較同濃度之FBE佳。