

# 大剂量牛磺酸 对小鼠自主活动能力的影响

陈文, 张静, 张艳贞, 郭月逸

(北京联合大学应用文理学院, 生物活性物质与功能食品北京市重点实验室, 北京 100191)

**摘要:**探讨了大剂量牛磺酸对小鼠自主活动能力的影响。将8周龄雄性BALB/C小鼠分为3组:对照组、牛磺酸1组(250mg/kg·bw)、牛磺酸2组(500mg/kg·bw),每日灌喂水和相应剂量的牛磺酸。连续灌喂10d后用Smart小动物行为活动记录分析系统进行旷场和高架十字迷宫实验,用BIOSEB小鼠悬尾自动分析系统进行尾悬挂实验。旷场实验结果显示,与对照组相比较,牛磺酸1组和2组小鼠在周边、中央区域的活动性都明显提升( $p<0.05$ ),不动时间百分率都显著降低( $p<0.05$ ),慢速和快速移动时间百分率则都显著升高( $p<0.05$ );高架十字迷宫实验结果显示,牛磺酸1组小鼠在开臂的滞留时间比对照组明显延长( $p<0.05$ ),牛磺酸2组小鼠在开臂的滞留时间和移动距离百分比都较对照组显著增加( $p<0.05$ );尾悬挂实验结果显示,各组小鼠的活动能力等指标无明显变化。以上结果提示,大剂量牛磺酸能够提高小鼠的自主活动与探究能力,在一定程度上缓解焦虑状态,但不能缓解抑郁模型中小鼠的“行为绝望”状态。

**关键词:**牛磺酸, 旷场实验, 高架十字迷宫实验, 尾悬挂实验, 小鼠

## Effect of large-dose taurine on locomotor activity of mice

CHEN Wen, ZHANG Jing, ZHANG Yan-zhen, GUO Yue-yi

(College of Arts & Science of Beijing Union University, Beijing Key Laboratory of Bioactive Substances and Functional Foods, Beijing 100191, China)

**Abstract:** In order to study the effect of large-dose taurine on locomotor activity of mice, 8-weeks-old male BALB/C mice were divided into 3 groups: control group, taurine group 1 (250mg/kg·bw), and taurine group 2 (500mg/kg·bw) based on their body weights. 10d later, open-field test, elevated plus-maze test and tail suspension trial were conducted. Open-field test results: compared with control group, taurine group 1 and 2 had more locomotive activity in both of periphery and central area ( $p<0.05$ ), and had less immobility time (%) ( $p<0.05$ ), and had prolonged slow-moving and fast-moving time (%) ( $p<0.05$ ). Elevated plus-maze test results: compared with control group, the percentage of time in open arms was markedly increased in taurine group 1 ( $p<0.05$ ), and both of the percentage of time and moving distance in open arms were significantly improved in taurine group 2 ( $p<0.05$ ). Tail suspension trial results: there were no differences on immobility time, and total energy and power of movement among three groups. All the above data suggested taurine improved the locomotive activity and exploring ability of mice, and showed some anxiolytic effect but no antidepressant effect.

**Key words:** taurine; open-field test; elevated plus-maze test; tail suspension trial; mice

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)24-0403-04

牛磺酸(2-氨基乙磺酸),是一种含硫的非蛋白氨基酸,富含于海鱼、贝类等海产品中。多年来的研究表明牛磺酸具有广泛的生物学功能,不仅参与维持机体内环境的稳定,而且具有调节中枢神经系统及消化、心血管、免疫等系统的生理功能<sup>[1]</sup>。因此,牛磺酸已广泛应用于医药、食品领域。日本曾率先推出了牛磺酸保健饮料,每100mL饮料中牛磺酸含量达1000mg。本实验的目的也是探讨大剂量牛磺酸的生物学作用。有研究报道<sup>[2-3]</sup>,在高架十字迷宫实验中,一定量的牛磺酸能够延长小鼠在开臂的停留时

间,也有增加小鼠进入开臂次数的趋势。本研究旨在从旷场实验、高架十字迷宫实验、尾悬挂实验等多方面来综合探讨大剂量牛磺酸对小鼠活动能力的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

8周龄雄性BALB/C小鼠 SPF级,购于军事医学科学院实验动物中心;小鼠旷场箱、高架十字迷宫、Smart小动物行为活动记录分析系统 西班牙, PanLab; 小鼠悬尾自动分析系统 法国BIOSEB; 牛磺酸 国药集团化学试剂有限公司。

### 1.2 实验动物及分组

将小鼠在光-暗周期为12h、温度20~22℃的环境

收稿日期: 2012-09-17

作者简介: 陈文(1966-),女,博士,教授,研究方向:营养与功能食品。

下适应饲养一周后,按体重随机分成3组:对照组、牛磺酸1组(250mg/kg·bw)、牛磺酸2组(500mg/kg·bw),自由摄食饮水,各组小鼠每天分别灌喂水、相应剂量的牛磺酸。连续喂饲10d后,进行旷场、高架十字迷宫、尾悬挂实验。

### 1.3 旷场实验

旷场箱是一个单边长为27.5cm、总边长为110cm的正方形,在图形上将该正方形区分为周边、中央两个区域。中央区为套在大正方形中的一个单边长为13.75cm、总边长为55cm的小正方形,此小正方形到大正方形各边的距离相等。小正方形与大正方形之间的区域即为周边区。在旷场箱正上方安装好摄像机,调整好影像画面。

将小鼠置于旷场箱的中央,开始计时,用西班牙Smart小动物行为活动记录分析系统记录并分析小鼠在旷场箱内5min的自主探究行为,包括小鼠分别在周边区、中央区内的自主活动性、小鼠的不动时间、慢速移动时间、以及快速移动时间等。每实验完1只小鼠用75%酒精擦洗旷场箱并挥干,再进行下一只小鼠的实验。

### 1.4 高架十字迷宫实验

小鼠高架十字迷宫由两个开臂(长×宽:30cm×5cm)和两个闭臂(长×宽×高:30cm×5cm×15cm)组成,1个连接4只臂的中央平台(5cm×5cm),开放臂与封闭臂二者互相垂直成为十字状。在迷宫正上方安装好摄像机,调整好影像画面,将4臂与中央平台划分为5个区域。

将小鼠置于十字迷宫的中央平台,开始计时,用西班牙Smart小动物行为活动记录分析系统记录并分析小鼠在迷宫内5min的探究行为,包括小鼠进入4臂的总次数、进入2个闭臂的次数、进入2个开臂的次数、在开臂的活动时间、在开臂移动距离的百分比等。每实验完1只小鼠用75%酒精擦洗迷宫并挥干,再进行下一只小鼠的实验。

### 1.5 尾悬挂实验

将小鼠尾端0.5cm处环绕粘贴上小胶条,胶条钩在悬尾仪上,使动物呈倒挂状态,头部离台面约5cm,悬挂6min,记录小鼠后4min内的不动时间。结束后用75%酒精擦拭悬尾仪箱体并挥干,再进行下一只小鼠的实验。

### 1.6 统计学分析

数据以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,用SPSS统计软件进行t检验, $p<0.05$ 表示差异有显著性。

## 2 实验结果

经过10d的实验后,各组小鼠间体重无显著性差异。

### 2.1 牛磺酸对小鼠旷场自主活动性的影响

Smart小动物行为活动记录分析系统通过小鼠在旷场箱中的移动运行时间、速度、以及活动轨迹等不同参数来综合给出小鼠在不同区域的自主探究活性数据。

由表1可见,与对照组相比较,牛磺酸1组和2组

小鼠在中央和周边区域的活动性都显著提高( $p<0.05$ )。特别是2组小鼠在中央和周边区域的活动性分别显著提高了86%和29%,提示大剂量牛磺酸能够明显增加小鼠的自主探究活动性、缓解焦虑状态。

表1 牛磺酸对小鼠旷场自主活动性的影响( $\bar{x}\pm s$ , n=13)

Table 1 Effect of taurine on locomotion activity in mice

| ( $\bar{x}\pm s$ , n=13) |             |             |
|--------------------------|-------------|-------------|
| 组别                       | 小鼠在周边区域的活动性 | 小鼠在中央区域的活动性 |
| 对照组                      | 44.3±12.7   | 8.8±5.5     |
| 牛磺酸1组                    | 55.4±13.2*  | 12.9±3.6*   |
| 牛磺酸2组                    | 57.2±15.0*  | 16.4±7.9*   |

注:\*,与对照组比较有显著性差异( $p<0.05$ );表2~表4同。

### 2.2 牛磺酸对小鼠旷场自主活动时间与移动速度的影响

小鼠在旷场箱中的移动分为三种情况,小鼠不动或移动速率小于2.04cm/s时计为不动,移动速率介于2.04~8.16cm/s时计为慢速移动,移动速率大于8.16cm/s时计为快速移动。

实验结果(表2)显示,连续喂饲10d后,与对照组相比较,牛磺酸1组和2组小鼠的不动时间百分率都显著降低( $p<0.05$ ),慢速移动时间百分率和快速移动时间百分率均明显上升( $p<0.05$ ),提示大剂量牛磺酸能够有效缩短小鼠在旷场中的不动时间、提高慢速和快速移动时间,提高了小鼠的活动能力。

表2 牛磺酸对小鼠旷场自主活动时间与移动速度的影响

( $\bar{x}\pm s$ , n=13)

Table 2 Effect of taurine on locomotion time and speed in mice

| ( $\bar{x}\pm s$ , n=13) |             |               |               |
|--------------------------|-------------|---------------|---------------|
| 组别                       | 不动时间的百分率(%) | 慢速移动时间的百分率(%) | 快速移动时间的百分率(%) |
| 对照组                      | 45.6±13.2   | 54.3±13.1     | 0.10±0.11     |
| 牛磺酸1组                    | 30.8±11.1*  | 68.9±11.0*    | 0.29±0.19*    |
| 牛磺酸2组                    | 28.7±14.0*  | 71.0±13.9*    | 0.28±0.32*    |

### 2.3 牛磺酸对小鼠高架十字迷宫实验入臂次数的影响

实验结果(表3)显示,连续喂饲10d后,各组小鼠的入臂次数与比例无明显变化,提示牛磺酸对高架十字迷宫实验中小鼠的入臂次数无显著影响。

表3 牛磺酸对小鼠高架十字迷宫实验入臂次数的影响

( $\bar{x}\pm s$ , n=13)

Table 3 Effect of taurine on entries into open and closed arms

| in mice ( $\bar{x}\pm s$ , n=13) |          |          |         |             |
|----------------------------------|----------|----------|---------|-------------|
| 组别                               | 入臂总次数    | 入闭臂次数    | 入开臂次数   | 入开臂次数的比例(%) |
| 对照组                              | 27.5±5.8 | 21.5±6.7 | 6.0±3.2 | 2.7±13.2    |
| 牛磺酸1组                            | 30.2±6.0 | 23.0±4.3 | 7.2±4.8 | 23.7±10.8   |
| 牛磺酸2组                            | 28.2±4.6 | 20.3±5.1 | 7.9±3.6 | 26.9±12.2   |

### 2.4 牛磺酸对小鼠高架十字迷宫实验开臂活动性的影响

由表4可见,与对照组相比较,牛磺酸1组小鼠在开臂的滞留时间明显延长( $p<0.05$ ),牛磺酸2组小鼠

在开臂的滞留时间和移动距离百分比都显著增加 ( $p<0.05$ ), 表示大剂量牛磺酸能够增强小鼠在开臂的探究活动性、缓解焦虑状态。

表4 牛磺酸对小鼠高架十字迷宫实验开臂活动性的影响  
( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=13$ )

Table 4 Effect of taurine on action activity in open arms in mice  
( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=13$ )

| 组别    | 开臂-停留时间(秒)       | 开臂移动距离的比例(%)   |
|-------|------------------|----------------|
| 对照组   | 9.9 $\pm$ 8.6    | 2.7 $\pm$ 2.1  |
| 牛磺酸1组 | 19.5 $\pm$ 12.8* | 4.5 $\pm$ 3.4  |
| 牛磺酸2组 | 21.6 $\pm$ 15.5* | 6.5 $\pm$ 4.5* |

## 2.5 牛磺酸对小鼠尾悬挂实验的影响

用法国BIOSEB小鼠悬尾自动分析系统进行尾悬挂实验。小鼠为克服不正常的倒挂体位而挣扎活动, 企图逃脱。但活动一定时间后, 出现间断性“不动”显示“失望”、“行为绝望”状态。悬挂6min, 计算后4min内的不动时间。同时法国BIOSEB小鼠悬尾自动分析系统还能给出活动消耗的量能和活动能力等数据, 以综合判断实验结果。“活动消耗的量能”是小鼠活动信号强度平方的积分。“活动能力”由活动消耗的量能、弱强度长时间活动情况与高强度短时间活动情况计算而来, 综合反映小鼠在悬尾后4min内的整体活动能力。

表5显示, 连续喂饲10d后, 各组小鼠后4min内的不动时间、活动消耗的量能、以及活动能力等指标间均无显著性差异; 提示牛磺酸未能提高小鼠的挣扎活动能力, 不能缓解小鼠的“失望”状态。

表5 牛磺酸对小鼠尾悬挂实验的影响( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=13$ )

Table 5 Effect of taurine on tail suspension test in mice  
( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=13$ )

| 组别    | 悬尾时后4分钟内的不动时间(s) | 活动消耗的量能         | 活动能力            |
|-------|------------------|-----------------|-----------------|
| 对照组   | 49.8 $\pm$ 53.4  | 3390 $\pm$ 1863 | 12.6 $\pm$ 8.0  |
| 牛磺酸1组 | 40.9 $\pm$ 36.9  | 2755 $\pm$ 1451 | 11.6 $\pm$ 7.5  |
| 牛磺酸2组 | 46.2 $\pm$ 38.9  | 2290 $\pm$ 954  | 12.1 $\pm$ 14.6 |

## 3 讨论与结论

在当今快节奏的社会环境中, 应激、焦虑的发生已成为了现代生活中的常态, 但长期的应激、焦虑会影响健康和增加疾病的易感性, 如自身免疫疾病、心血管疾病等<sup>[4]</sup>。因此, 利用食物来缓解应激、焦虑状态的研究与开发渐渐受到重视。探究行为模型是焦虑、抑郁生物学机制研究中最成熟和常用的模型, 主要包括比较经典的高架十字迷宫实验和旷场实验, 利用动物对新异环境的恐惧心理和探究特性形成的矛盾冲突来考察动物的焦虑水平<sup>[5]</sup>。高架十字迷宫实验中, 将动物置于迷宫的中央区, 在一定时间内观察动物分别进入开臂和闭臂的时间与次数, 由于开臂和外界相通, 动物在好奇探究的同时也会产生焦虑反应。若焦虑水平高, 则动物会离开开臂, 反之则在开臂停留的时间长, 对开臂的探究次数也增多。而旷场实验中, 动物在旷场中央区域活动、中央-周边穿梭等自发行为能有效反应对新环境的探索欲望水平

和环境适应能力, 探索欲越强表示环境适应能力越强, 焦虑水平越低<sup>[6]</sup>。尾悬挂实验则常用于建立行为绝望抑郁模型, 是将小鼠尾部悬挂, 悬尾小鼠为克服不正常的体位而挣扎活动, 但活动一定时间后, 出现可断性“不动”, 显示“失望”状态<sup>[6]</sup>。这种不动被认为是行为绝望和抑郁的表现, 该模型常在5~6min以小鼠不动的总时间作为抑郁程度的指标。然而此解释尚存争议, 动物“不动”既可以是抑郁的表现, 也可以是一种适应机制, 动物以此节约能量以维持更长的存活时间, 还可能一定程度地反映动物的肌力状况。

牛磺酸, 是中枢神经系统最丰富的游离氨基酸之一, 具有调节中枢神经系统的功能<sup>[7]</sup>, 如抗惊厥、维持神经细胞膜稳定性等作用。Birdsall TC曾报道<sup>[8]</sup>, 癫痫症的发生与牛磺酸的缺乏有一定的相关性。2007年Cheng等报道<sup>[9]</sup>, 在高架十字迷宫实验中, 一定量的牛磺酸能够增加小鼠进入开臂的次数, 延长在开臂的停留时间, 提示牛磺酸可能有抗焦虑作用。

本文从旷场实验、高架十字迷宫实验、尾悬挂实验等多方面来综合分析大剂量牛磺酸对小鼠活动能力的影响, 以探讨牛磺酸是否能够缓解小鼠的焦虑状态、以及“行为绝望”状态。在连续给予10d的大剂量牛磺酸后, 两组剂量的牛磺酸都使小鼠在旷场中央和周边区域的活动性都明显提升, 不动时间百分率显著下降, 慢速和快速移动时间百分率明显上升; 牛磺酸虽然对小鼠的入臂次数无影响, 但500mg/kg·bw剂量的牛磺酸使小鼠在高架十字迷宫开臂的滞留时间和移动距离百分比都明显增加 ( $p<0.05$ )。结果提示, 大剂量牛磺酸能够提高小鼠的自主活动与探究能力, 缓解焦虑状态, 500mg/kg·bw剂量的牛磺酸效果略优。但在进行抑郁模型的尾悬挂实验中, 牛磺酸不能缩短小鼠不动时间, 对活动消耗的量能以及活动能力等指标无影响, 初步判断牛磺酸未能提高小鼠的挣扎活动能力, 不能缓解小鼠的“失望”状态。

Xu H等<sup>[10]</sup>通过大鼠下丘核切片的实验表明牛磺酸是甘氨酸受体激动剂。因此, 牛磺酸很可能是与甘氨酸受体相结合, 激活了该受体, 打开了氯离子通道, 导致氯离子流动, 引起神经元的去极化而产生兴奋作用, 从而达到缓解焦虑的作用。

综上, 本文通过三个行为实验表明大剂量牛磺酸能够提高小鼠在旷场中央和周边区域的活动性、缩短不动时间、延长快速和慢速移动时间, 提高小鼠在高架十字迷宫开臂的滞留时间和移动距离百分比, 提示大剂量牛磺酸能够增强小鼠的自主活动与探究能力, 具有一定的缓解焦虑状态的作用, 但不能缓解抑郁模型中小鼠的“行为绝望”状态。

## 参考文献

- [1] Huxtable R J. Physiological actions of taurine[J]. Physiology Review, 1992, 72: 101-163.
- [2] Cheng Gao Zhang, Sung-Jin Kim. Taurine Induces Anti-Anxiety by Activating Strychnine-Sensitive Glycine Receptor in vivo[J]. Ann Nutr Metab 2007, 51: 379-386.

(下转第409页)



#### 4 展望

目前,抗性淀粉应用于食品工业中主要是基于两个方面的原因:一是潜在的生理功能,这与膳食纤维的作用类似。其次是特殊的物理性质,由于抗性淀粉具有特殊的低持水性能,便于加工控制,它不溶于水,可用于低、中湿度的食品中。本文为香蕉粉的开发奠定了坚实的基础,在健康食品和医学领域有很大的发展空间。

青香蕉富含抗性淀粉颗粒(Resistant Starch Granules, RS2),平均占湿重15%以上,与生马铃薯、生豆子、老化后的直链淀粉等,被列为常见食物中抗性淀粉含量最高的几种<sup>[21]</sup>。而且香蕉具有区域性和高产高效益的特点,是产区农民的首选作物。但香蕉是一种典型的呼吸跃变型果实,不耐储藏,采后损失十分严重,卖难规律性发生。香蕉粉的开发为香蕉的深加工提供了一条新的途径。目前,华南农业大学杨公明等克服了香蕉加工过程中的一系列难题,成功研发出香蕉粉的制备工艺并已实现产业化。利用香蕉粉的保健功效开发相关系列保健食品,将具有非常广阔的市场前景。

#### 参考文献

- [1] 寺本民生. 肥胖与脂肪肝[J]. 日本医学介绍, 1995, 16(10): 440.
- [2] VAN ITALLIE T B. Health implications of overweight and obesity[J]. Am Int Med, 1985, 103: 983.
- [3] HUBERT H B. The importance of obesity in the development of coronary risk factors and disease: the epidemiological evidence[J]. Annul Rev Public Health, 1986(7): 493-502.
- [4] 傅冬和, 刘仲华, 黄建安. 茶叶降脂减肥作用研究进展[J]. 中国茶叶, 2004(2): 8-10.
- [5] 程燕锋, 王娟, 杨公明, 等. 香蕉抗性淀粉提取工艺优化研究[J]. 中国粮油学报, 2008, 23(2): 73-77.
- [6] Raben A, Tagliabue A, Christensen N J, et al. Resistant starch: the effect on postprandial glycemia, hormonal response and satiety[J]. American Journal of Clinic Nutrition, 1994, 60(4): 544-551.
- [7] De Deckere EAM, Kloots W J, Amelsvoort JMM. Resistant starch decreases serums total cholesterol and triacylglycerol

- concentration in rats[J]. American Institute of Nutrition, 1993, 123(12): 142-151.
- [8] 杨月欣, 王竹, 洪洁. 抗性淀粉结肠内酵解对大鼠肠道健康的影响[J]. 营养学报, 2004, 12(11): 2618-2622.
- [9] 史苗苗, 高群玉. 抗性淀粉直链淀粉含量测定及消化性研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(5): 105-107.
- [10] 庞秋芳, 彭喜春, 欧仕益. 直链菌群对两种抗性淀粉的体外发酵研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(4): 148-151.
- [11] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范[S]. 2003.
- [12] 中华人民共和国卫生部. 保健食品功能学评价程序和检验方法[S]. 2003.
- [13] G S Ranhotra, J A Gelroth, B K Glaser. Effect of Resistant Starch on Blood and Liver Lipids in Hamsters[J]. Cereal Chemistry, 1996, 73(2): 176-178.
- [14] C M Brites, M J Trigo, B Carrapiço, et al. Maize and resistant starch enriched breads reduce postprandial glycemic responses in rats[J]. Nutrition Research, 2011, 31(4): 302-308.
- [15] A Mitra, D Bhattacharya, S Roy. Role of resistant starches particularly rice containing resistant starches in type2 diabetes[J]. Journal of Human Ecology, 2007, 21(1): 47-51.
- [16] Shin C K, S H Chen, Hou W H, et al. A high-resistance-starch rice reduces glycosylated hemoglobin levels and improves the antioxidant status in diabetic rats[J]. Food Research International, 2007, 40: 842-847.
- [17] 于森, 邹应龙. 甘薯抗性淀粉对高脂血症大鼠降脂利肝作用研究[J]. 食品科学, 2012, 33(1): 244-247.
- [18] CHENG H H, LAI M H. Fermentation of resistant rice starch produces propionate reducing serum and hepatic cholesterol in rats[J]. Nutrition, 2000, 130(8): 1991-1995.
- [19] De DECKERE E A M, PENTIEVA K, MCKILLOP D, et al. Acute absorption of folic acid from a fortified low-fat spread[J]. European Journal of Clinical Nutrition, 2003, 57(10): 1235-1241.
- [20] 张文青, 张月明. 抗性淀粉对大鼠肝脏胆固醇代谢相关基因表达的影响[J]. 营养学报, 2007, 29(5): 458-461.
- [21] 杜冰, 程燕锋, 杨公明. 不同干燥工艺对香蕉抗性淀粉的影响[J]. 食品科学, 2009, 30(12): 31-34.

(上接第405页)

- [3] Si Wei Chen, Wei Xi Kong, et al. Possible anxiolytic effects of taurine in the mouse elevated plus-maze[J]. Life Sciences, 2004, 75: 1503-1511.
- [4] 庄清, 应激. 健康与应激管理[J]. 中国运动医学杂志, 2004, 23(2): 226-228.
- [5] Kudryavtseva N N. The sensory contact model for the study of aggressive and submissive behaviors in male mice. Aggressive Behavior, 2000, 26: 241-256.
- [6] 元晓丽, 林文娟. 焦虑和抑郁动物模型的研究方法和策略

- [J]. 心理科学进展, 2005, 13(3): 327-332.
- [7] Huxtable R J. Taurine in the central nervous sustain and the mammalian actions of taurine CNS[J]. Neurobiology, 1989, 32: 471-533.
- [8] Birdsall T C. Therapeutic application of taurine[J]. Altern Med Rev, 1998(3): 128-136.
- [9] Xu H, Wang W, Tang ZQ et al. Taurine acts as a glycine receptor agonist in slices of rat inferior colliculus[J]. Hear Res, 2006, 220: 95-105.