

香椿葉萃取物對老化促進小鼠腦部氧化狀態及 老化病理變化之影響

徐沛甄¹ 許勝光² 王銘富¹ 廖俊旺³ 詹吟菁^{1*}

¹ 靜宜大學食品營養學系

² 高雄醫學大學生理學科

³ 行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所

(接受刊載日期: 中華民國九十二年十一月五日)

本研究目的在探討香椿葉萃取物對老化促進小鼠 (senescence-accelerated mouse prone-8, SAMP8) 腦部型態變化及氧化狀態之影響。試驗使用雄性三月齡 SAMP8 小鼠, 以酪蛋白為控制組, 0.5%香椿葉萃取物為試驗組, 連續餵飼 12 週。結果顯示, 添加香椿葉萃取物組小鼠之體重及攝食量均與對照組無明顯差異。香椿組血清總膽固醇及三酸甘油酯值較控制組顯著性較低 ($p < 0.05$), 且腦部紋狀體及大腦皮質中之丙二醛濃度顯著性減少 ($p < 0.05$)。組織病理檢查則顯示香椿減少腦部海馬迴的老化空泡數與神經細胞脂褐質 (lipofuscin) 比例, 且顯著降低腦部中段區之 β -類澱粉蛋白 (β -amyloid) 染色陽性面積 ($p < 0.05$)。綜合以上結果得知, 香椿葉萃取物可減少腦部脂質過氧化物的堆積及降低脂褐質與 β -類澱粉蛋白之比例, 推測可能與香椿具有的抗氧化能力有關。

關鍵字: 香椿, 氧化狀態, 脂褐質, β -類澱粉蛋白, 老化促進小鼠。

Effects of *Toona sinensis Roemor* Leaf Extracts on Brain Oxidant Status and Aging Pathological Changes in Senescence Accelerated Mice

Pei-Chen Hsu¹, Hseng-Kuang Hsu², Ming-Fu Wang¹, Jiunn-Wang Liao³ and Yin-Ching Chan^{1*}

¹ Department of Food and Nutrition, Providence University, Taichung, Taiwan

² Department of Physiology school of Technology for Medical Sciences and Department of Internal Medicine Kaohsiung Medical University, Kaohsiung, Taiwan

³ Division of Applied Toxicology, Taiwan Agricultural Chemical and Toxic Substances Research Institute, Taichung, Taiwan

(Accepted for publication: November 5, 2003)

The objective of this study was to investigate the effects of *Toona sinensis Roemor* leaf extracts on the brain morphological change and oxidant status in senescence accelerated mice prone-8 (SAMP8). Three-month-old male SAMP8 mice were divided into control (casein diet) and casein diet supplemented with 0.5% *Toona sinensis Roemor* (TS) leaf extracts for 12 weeks. The results showed that the body weight and food intake of TS diet group were not significantly different with the control group. The mice fed with TS extracts had significantly lower serum total cholesterol and triglyceride concentrations, and exhibited the decreasing malondialdehyde concentration in the striatum and cortex. Brain pathological examination showed that the TS supplement significantly lower the vacuoles numbers and the lipofuscin percentage in the hippocampus, and also reduced the percentage of β -amyloid protein deposition in the brain middle sections. It is suggested that the supplement of TS is effective to lessen the accumulations of lipid peroxidation product, and decrease the percentage of lipofuscin and β -amyloid of brain, possibly because the antioxidant capacity of TS.

Key words: *Toona sinensis Roemor*, Antioxidant status, Lipofuscin, β -amyloid, Senescence accelerated mice.

* Corresponding author. E-mail: ycchan@pu.edu.tw

前 言

人口老化是許多開發中國家面臨的問題，老年性失智症 (senile dementia) 如阿茲海默症 (Alzheimer) 隨人口老化有急遽上升的趨勢，其主要特徵為記憶力及其它智能的逐漸減退。Hefti 和 Mash⁽¹⁾ 及 Higgihs 等人⁽²⁾ 在研究神經生長因子 (nerve growth factor) 及其接受體時發現阿茲海默症及老年腦均有類澱粉樣蛋白前驅物 (amyloid precursor protein) 總量增加及神經生長因子功能降低。袁等人⁽³⁾ 發現在無癡呆的老年腦之病理切片上很少有神經元纖維纏結及老年斑產生，但脂褐素 (lipofuscin) 則較中青年腦明顯增多。目前推測造成老化、神經生長因子功能低下、老年腦脂褐素 (lipofuscin) 增多的原因，可能與體內自由基之堆積或因自由基所導致的過氧化物之堆積所致⁽⁴⁻⁶⁾。體內氧化物質與抗氧化系統間的失調，為造成人類老化及疾病的重要原因之一，故探討天然食材中安全性高且具抗氧化和延緩老化的活性成分之相關性，已成為現今重要研究方向。

香椿 (*Toona sinensis Roemor*, TS) 原產中國大陸北部及中部各省，自 1915 年引入台灣。香椿葉含胡蘿蔔素 (carotene)、維生素 B、C 及蛋白質等，而樹皮含川棟素 (toosendanin) 及兒茶酚 (catechol)⁽⁷⁾。根據許⁽⁸⁾ 之研究成果顯示，香椿含有大量的酚類化合物，如類黃酮，香椿粗萃取粉劑可增加脂肪組織細胞膜上的 GLUT4 蛋白質及 mRNA 表現量，降低由 alloxan 所誘發糖尿病鼠的血糖⁽⁸⁾。Chang 等人⁽⁹⁾ 發現香椿的葉萃取物可抑制人類肺癌細胞的增殖。Park 等人^(10,11) 則發現香椿葉可用以治療腸炎、皮癬，且未發現有副作用產生。另香椿葉的 50% 酒精水溶液抽出物會增加 3T3-L1 脂肪細胞對 2-deoxyglucose (2-DG) 的攝取量，及增加胰島素對 2-DG 的攝取量，並有穩定糖尿病患者血壓之功效⁽⁸⁾。此外，香椿尚有穩定糖尿病患者之血壓、抗氧化、鎮痛、治療發炎性青春痘、預防感冒、緩解尿酸引起之關節疼痛或腰痛、縮短出血時間、抗發炎及改善敗血症等作用⁽⁸⁾。

SAMP8 (senescence accelerated mice prone-8, SAMP8) 小白鼠係由日本京都大學所研發出來之老化促進品系之老鼠，平均壽命約 299 日 (10 個月)。早期即停止體重增加、毛髮呈現脫落及類澱粉蛋白沉積增加⁽¹²⁾，為一適合老化相關研究之動物試驗模式。在食物與藥物方面有許多研究以此提出報告，如大蒜萃取物⁽¹³⁾、銀杏⁽¹⁴⁾ 及何首烏⁽¹⁵⁾ 均證實可改善 SAMP8 的學習記

憶能力，而目前香椿之改善 SAMP8 的學習記憶能力尚無相關研究報告。因此，本研究將以香椿葉萃取物長期餵食 SAMP8 小鼠，觀察其對血脂質及腦部組織中老化指標之影響。

材 料 與 方 法

一、試驗動物與飼料

老化促進小白鼠品系為促進老化品系中之一分支，此品系小白鼠是由日本京都大學結核胸部疾患研究所所研究開發之動物試驗模型，基於共同研究之關係，提供本研究室繁殖飼育。本試驗以三月齡 SAMP8 小鼠，飼養在 30(W) × 20(D) × 10(H) cm 之透明飼育盒中，動物室之溫度維持在 25 ± 2℃、相對濕度在 65 ± 5%，並以自動定時器控制光照週期 12 小時明暗。將小鼠隨機方式分為兩組，控制組餵食酪蛋白，試驗組則給予酪蛋白添加香椿葉萃取物，試驗為期 12 週。飼料及飲水均採自由攝取方式，每天檢測飼料消耗量。另每週測量小鼠體重一次。試驗飼料組成如表一所示，成分包含 1% vitamin mixture (AIN-93G vitamin mixture)、5% mineral mixture (AIN-93G mineral mixture)、2% cellulose powder、5% corn oil，

表一 試驗飼料組成

Table 1. Composition of the experimental diets

Ingredients (g/kg diet)	Group	
	Control	TS
Casein ¹	200.0	200.0
α-starch ²	445.0	441.7
Sucrose ²	222.5	220.8
Vitamin mixture ^{3,4}	10.0	10.0
Mineral mixture ^{3,4}	50.0	50.0
Cellulose	20.0	20.0
Corn oil	50.0	50.0
Choline	2.5	2.5
<i>Toona sinensis Roemor</i> extracts	0.0	5.0
Total	1000.0	1000.0

1 Casein (92% crude protein) was purchased from Oriental Yeast Co. (Tokyo, Japan).

2 α-starch:sucrose, 2:1 ratio.

3 Compositions of AIN-93G vitamin and mineral mixtures are given in J. Nutr. (1997) 127: 838S-841S.

4 ICN Pharmaceuticals Inc. (Costa Mesa, CA, USA.)

TS = 0.5% *Toona sinensis Roemor* extracts.

香椿組添加 0.5% 之香椿葉萃取物，其餘部分為玉米澱粉及蔗糖以 2:1 之比例組合。香椿葉經專家鑑定無誤後切碎成細小碎片，記錄其重量後將香椿葉加水煮沸 30 分鐘，以紗布及棉花予以過濾後，將過濾液以真空冷凍乾燥機乾燥備用。經計算後每 100 g 香椿葉平均可得 6 g 粉末，即香椿葉萃取產率為 6.0%。

二、血清脂質含量分析

小鼠餵食香椿飼料 12 週後，動物經隔夜禁食，以斷頭方式取血，取得之血液樣品置於冰浴中，待凝固後，於 $3,000 \times g$ 、 4°C 下離心十分鐘取得血清。總膽固醇及三酸甘油酯之濃度 (mg/dl) 分別以商用試劑依酵素呈色法分析 (試劑名稱: total cholesterol、HDL-cholesterol、triglycerides, 624524-01, B0836, Roche, Germany; 分析儀器機型: Roche COBAS integra 700, Basel, Switzerland)。

三、腦部氧化狀態之分析

本試驗利用丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 及總含硫化合物 (total thiol) 之測定，以評估腦中氧化狀態之變化。MDA 之測定仍將動物犧牲後，取出腦的皮質、海馬迴及紋狀體分別加入 15、20 及 20 倍體積之 50 mM 磷酸緩衝溶液進行研磨。取 0.2 mL 均質液或不同濃度之 1,1,3,3-四乙氧丙烷 (1,1,3,3-tetraethoxy propane, TEP, Sigma, St. Louis, MO, USA) 標準液 (MDA 標準液)，先以 0.4 mL 0.4% α -硫巴比妥酸 (α -thiobarbituric acid, Sigma) 混合均勻後，再加入 0.06 mL 0.2% 2,6-第二第三丁基對甲酚 (butylated hydroxytoluene, BHT, Sigma) / 95% 酒精於 90°C 加熱 45 分鐘，加熱後先冷卻並以等體積正丁醇 (n-butanol) 進行萃取，經高速冷凍離心機 (Hettich Universal 16 R, Kirchlingern, Germany) $3,000 \times g$ 離心五分鐘後，取上層液以分光光度計 (BioChrom Ultrespec 500/1100 pro UV/Vis, Cambridge, England) 於波長 535 nm 下讀取吸光值。

總含硫化合物之測定則將器官均質液以高速冷凍離心機 (Hettich Universal 16 R, Kirchlingern, Germany) $6,000 \times g$ 離心 15 分鐘後，取上層液為樣品液。將 750 μL 磷酸緩衝溶液 (sodium phosphate buffer) 加入 50 μL 0.4% 5,5'-二硫-2-硝基苯甲酸 (5,5'-Dithio-bis-2-Nitrobenzoic acid, DTNB, Sigma) 後，每隔一分

鐘加 25 μL 樣品液，其反應液總體積為 825 μL ，待反應液混合作用三分鐘後，以分光光度計 (BioChrom Ultrespec 500/1100 pro UV/Vis, Cambridge, England) 於 412 nm 下讀取吸光值。而空白試驗則以 25 μL 磷酸緩衝溶液 (sodium phosphate buffer) 取代。

四、腦部組織病理評估

將動物予以犧牲後，取出全腦浸泡於十倍量 10% 福馬林緩衝液，一星期後進行組織病理切片之製作。選取腦組織以橫切的方式切取中段區，參與學習記憶的過程之腦組織，包含新皮質 (neocortex)、胼胝體 (corpus callosum)、海馬迴 (hippocampus) 及視丘 (thalamus) 之部位。經脫水、清洗、石蠟浸潤及包埋等處理再以石蠟組織切片機 (Leica RM 2145, Nussloch, Germany) 製成 3 μm 厚度組織切片，分別以 periodic acid schiff (PAS) 染色後，於光學顯微鏡下計數海馬迴區之空泡化數。PAS 染色法使神經細胞之細胞核呈藍色，細胞質之脂褐質多醣體則呈紅色^(16,17)，計數海馬迴區神經細胞脂褐質所佔的百分比 [(%) = 陽性細胞數 / 神經細胞總數 $\times 100\%$]。另外， β -類澱粉蛋白 (β -amyloid) 染色則將腦組織切片置於 10 mM citrate buffer 中，以中微波電力微波六分鐘，並以 UltraTch H (DAB) Streptavidin-Biotin Universal Detection System 套組 (Cat. No. 2765, 70 tests, Immunotech, Cedex, France) 進行組織免疫化學染色。將初級單體抗體 (MAb to Beta Amyloid a.a. 17-24, Cat. No. Q06408M, Biodesign, ME, USA) 與抗體稀釋液 (Code No. S3022, Dako Antibody Diluent, CA, USA) 以 1:299 比率稀釋後，反應二小時，經 Polyvalent Biotinylated Antibody Agent 作用 45 分鐘，以新鮮配製 DAB 呈色劑於室溫作用 30 分鐘並以蘇木紫 (Mayer's hematoxylin, MO, Sigma) 染色三分鐘作背景染色後，細胞核與細胞質呈淺黃色；若是細胞具有 β -類澱粉蛋白沉積，則呈現深褐色斑⁽¹⁸⁻²⁰⁾。於光學顯微鏡 20 倍經影像分析儀 (Lieca, Q500MC, Nussloch, Germany) 進行定量分析，計算腦組織中段區 β -類澱粉蛋白所佔陽性面積百分比 [(%) = 陽性面積 (mm^2) \div 腦切面總面積 (mm^2) $\times 100\%$]。

五、統計分析

各組數據以 SPSS 套裝軟體進行統計分析，

試驗結果數值皆以平均值 \pm 平均標準誤差 (mean \pm SEM) 表示。利用獨立樣本 T 檢定 (student's *t*-test), 以檢定組間之差異, 當 $p < 0.05$ 表示具有顯著性差異。

結果與討論

一、香椿對食物攝取量與體重之影響

表二為三月齡小白鼠經長期餵食飼料後的每日平均攝食量及體重之變化情形。由表二可知餵食香椿葉萃取物之試驗組與對照組間, 每日平均攝取量及體重皆無顯著差異。此結果顯示香椿葉萃取物的添加並不會對其生長及進食量有任何不良的影響。另兩組小白鼠之末體重皆較初體重大, 推測其原因可能為兩組小白鼠皆由三月齡起飼養、六月齡時犧牲, 而犧牲時小白鼠仍處於中壯年的狀況, 因此, 均有體重上升之趨勢。

表二 SAMP8 小白鼠餵食不同飼料後體重及攝食量之變化¹

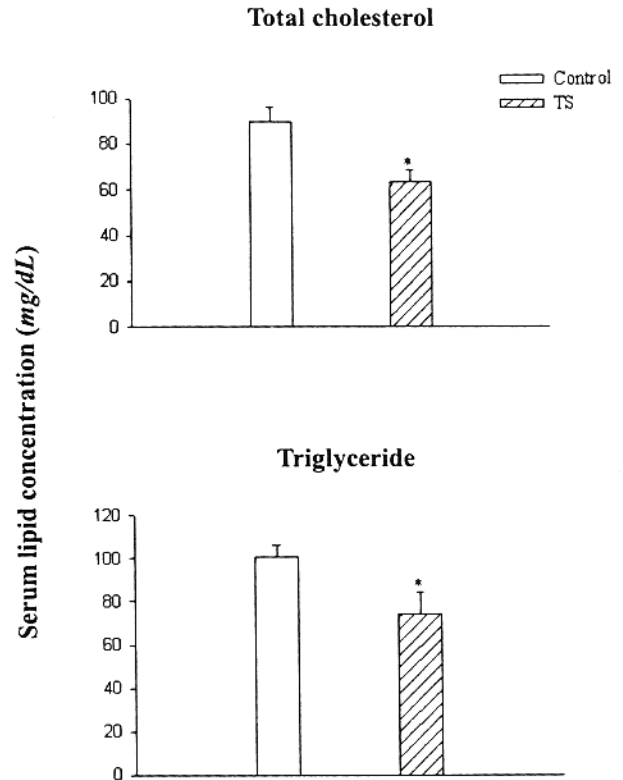
Table 2. Body weight and food intakes of SAMP8 mice fed with different diet¹

Group	N	Body weight		Food intake (gm/day)
		Initial (gm)	Final (gm)	
Control	8	28.70 \pm 0.40	33.47 \pm 0.45	5.50 \pm 0.77
TS	8	29.17 \pm 0.24	33.69 \pm 0.59	5.40 \pm 0.58

¹ Data were mean \pm SEM, and analyzed by student's *t*-test.
TS = 0.5% *Toona sinensis* Roemor extracts.

二、香椿對血清脂質之影響

圖一為控制組與香椿組小白鼠血清中總膽固醇 (total cholesterol, TC) 與三酸甘油酯 (triglyceride, TG) 濃度之比較。結果顯示, 長期餵食香椿葉萃取物之小鼠, 血清中 TG 與 TC 的濃度明顯較控制組低 ($p < 0.05$)。推測香椿之降血脂的可能機轉, 可能因其加速 TC 與 TG 之代謝, 或因影響肝臟中 HMG-CoA reductase 活性, 而抑制內源性膽固醇合成, 促進膽固醇轉變為膽酸, 並抑制膽酸從腸道再吸收, 以增加膽酸從腸道排出, 進而降低血膽固醇, 唯此作用機制仍有待進一步探討。由本試驗結果可知香椿具降低血清中血脂濃度之功效, 或可用於預防心血管等慢性疾病之發生。



圖一 不同飼料組之血清膽固醇及三酸甘油酯濃度
Fig. 1. The serum total cholesterol and triglyceride concentrations in different diet groups.

Data are expressed as mean \pm S.E.M. (n = 8/per group) and analyzed by student's *t*-test.

*Significantly different with control group at $p < 0.05$.
TS = 0.5% *Toona sinensis* Roemor extracts.

三、香椿對腦氧化狀態之影響

表三為兩組三月齡小白鼠在腦中海馬迴、紋狀體及大腦皮質之 MDA 濃度。香椿組在紋狀體及大腦皮質顯著較控制組低 ($p < 0.05$), 但海馬迴 MDA 的含量則無顯著差異。MDA 已知為脂質過氧化物經代謝分解後最終產物之一, 一般做為體內脂質過氧化作用指標, 及自由基對生物組織傷害之評估。當 MDA 含量越高表示脂質過氧化程度越高⁽²¹⁾。研究顯示長期補充抗氧化劑如維生素 E 及維生素 C 可降低血漿中 MDA 的濃度^(22, 23)。張⁽²⁴⁾ 研究發現何首烏萃取物可明顯降低腦部丙二醛的濃度, 推測可能因何首烏中含有未知的抗氧化成分所致。方⁽²⁵⁾ 利用 cytochrome C 還原比色法及 xanthine oxidase inhibition 試驗來測試香椿清除與抑制自由基的能力。結果顯示香椿具有清除及抑制 $\cdot O_2^-$ 自由基的能力; 另利用氯化亞鐵-抗壞血酸誘發脂質過氧化試驗中, 亦顯示香椿可抑制脂質過氧化的作用活性⁽²⁵⁾。由本試驗結果發現餵食香

表三 SAMP8 小鼠餵飼不同飼料後腦部海馬迴、紋狀體及大腦皮質之丙二醛及總含硫化合物濃度

Table 3. The malondialdehyde (MDA) and total thiol concentrations of hippocampus, striatum and cortex in SAMP8 mice fed with different diets¹

	Hippocampus		Striatum		Cortex	
	Control	TS ³	Control	TS	Control	TS
MDA (nmole/g tissue)	11.491 ± 0.575	10.710 ± 0.584	11.398 ± 0.660	7.974 ± 1.212 ²	9.599 ± 0.273	8.489 ± 0.356 ²
Total thiol (μmole/g tissue)	0.111 ± 0.006	0.101 ± 0.002	0.075 ± 0.002	0.073 ± 0.002	0.078 ± 0.002	0.067 ± 0.002 ²

1 Data are expressed as mean ± S.E.M. (n = 8/per group) and analyzed by student's *t*-test.

2 Significantly different with control group at *p* < 0.05.

3 TS = 0.5% *Toona sinensis* Roemor extracts.

椿葉萃取物可有效減少 SAMP8 小鼠腦中紋狀體及皮質的氧化傷害，推測可能因其含有的抗氧化成分所致。

由於腦部處於好氧極高之處且其內生性抗氧化能力有限，GSH defense system 在腦部扮演重要的角色⁽²⁶⁾。Sian 等人⁽²⁷⁾ 指出罹患巴金森氏症病患腦部的黑質區 GSH 總含量減少約 40%。Marcus 等人⁽²⁸⁾ 測定阿茲海默症腦部標本之過氧化物和抗氧化酵素活性，結果發現在神經原死亡數量最多的顳葉，脂質過氧化物升高，而抗氧化酵素 Cu/Zn SOD、GSH-Px 和 CAT 活性降低，這顯示阿滋海默症患者不能保護腦組織免受自由基的損傷。表三亦顯示香椿組與對照組在海馬迴、紋狀體及大腦皮質三部位之總含硫氫化合物濃度，比較之後發現兩組在腦中海馬迴及紋狀體中的總含硫氫化合物濃度並無顯著差異，但餵食香椿葉萃取物組在大腦皮質中的總含硫氫化合物濃度則顯著較對照組小白鼠低 (*p* < 0.05)。Huang 等人⁽²⁹⁾ 亦提出抗氧化酵素如 SOD、catalase 及 GSH-Px 會因腦區域的不同也有不同結果。

綜合以上結果可知，長期餵食香椿葉萃取物後，可改善小鼠腦中脂質过氧化物的堆積，可能因其具有抗氧化之效果，因而可降低氧化壓力所引起之傷害。而於海馬迴 MDA 及總含硫化合物並未達到顯著差異，可能因添加的濃度不足或受香椿萃取部位影響，而此有待進一步的研究探討。

四、香椿對腦部病理變化之影響

本研究除了評估香椿葉萃取物對老化促進小鼠腦部氧化狀態及老化病理變化之影響，

亦利用主動及被動迴避試驗測量香椿葉萃取物對學習記憶之影響。因本次研究主動及被動迴避試驗並未達顯著差異，故於本文並未列出學習記憶之結果。有研究指出海馬迴與短期記憶及記憶固化 (consolidation) 有關，因此，本研究相關的組織病理檢查乃針對與學習記憶相關的海馬迴進行空泡數及脂褐質評估。此外，因β-類澱粉蛋白 (β-Amyloid) 可用以作為評估腦部老化的指標之一⁽³⁰⁾，因此，計算β-類澱粉蛋白佔腦部組織中段區的比例，藉此評估香椿葉萃取物對腦部老化病理變化之抑制效果。

表四為小鼠海馬迴之空泡數與脂褐質比例，及腦組織中段區β-類澱粉蛋白比例結果之比較；圖二及三則為空泡及β-類澱粉蛋白相片之呈現。結果發現，香椿組小鼠腦部海馬迴之空泡數較控制組低 (*p* < 0.05)。空泡化 (vacuolization) 亦稱為海綿樣變性 (spongy degeneration)，係指神經細胞漿內出現直徑約 3-5 μm 的空泡，內含嗜伊紅及嗜銀顆粒。空泡數量越多，表神經細胞的腫脹變性及老化愈嚴重⁽²²⁾。SAMP8 小鼠為促進老化品系之一，該小鼠腦部中樞神經系統具有和老化相關形態學改變之相關性，包括腦幹或海馬迴出現海綿樣變性和β-類澱粉蛋白沈積、脂褐質形成 (lipopigmentation)。海馬迴經 PAS (periodic acid schiff) 染色後發現神經細胞有 PAS 粒狀結構 (PAS-positive granular structure)⁽³¹⁾。由表四可知，香椿可有效減低老化促進小白鼠腦部的海綿樣變性。

香椿組小鼠海馬迴中脂褐質百分比雖未達到統計上之顯著差異，但仍較控制組低，可能與個體差異有關。脂褐質會於老化過程在中樞神經細胞元逐漸堆積，進而影響細胞的正常

表四 餵飼 SAMP8 小鼠不同飼料後腦部之病理評估

Table 4. Morphological evaluations of brain in SAMP8 mice fed with different diets

Morphological Evaluation	Control	TS ³
Vacuole numbers in hippocampus	3.33 ± 0.08	0.33 ± 0.33 ²
Lipofuscin (%) in hippocampus	4.06 ± 2.03	0.86 ± 0.46
β-Amyloid protein (%) in brain middle section ¹	0.12 ± 0.02	0.07 ± 0.01 ²

1 Brain middle sections included neocortex, corpus callosum, hippocampus and thalamus.

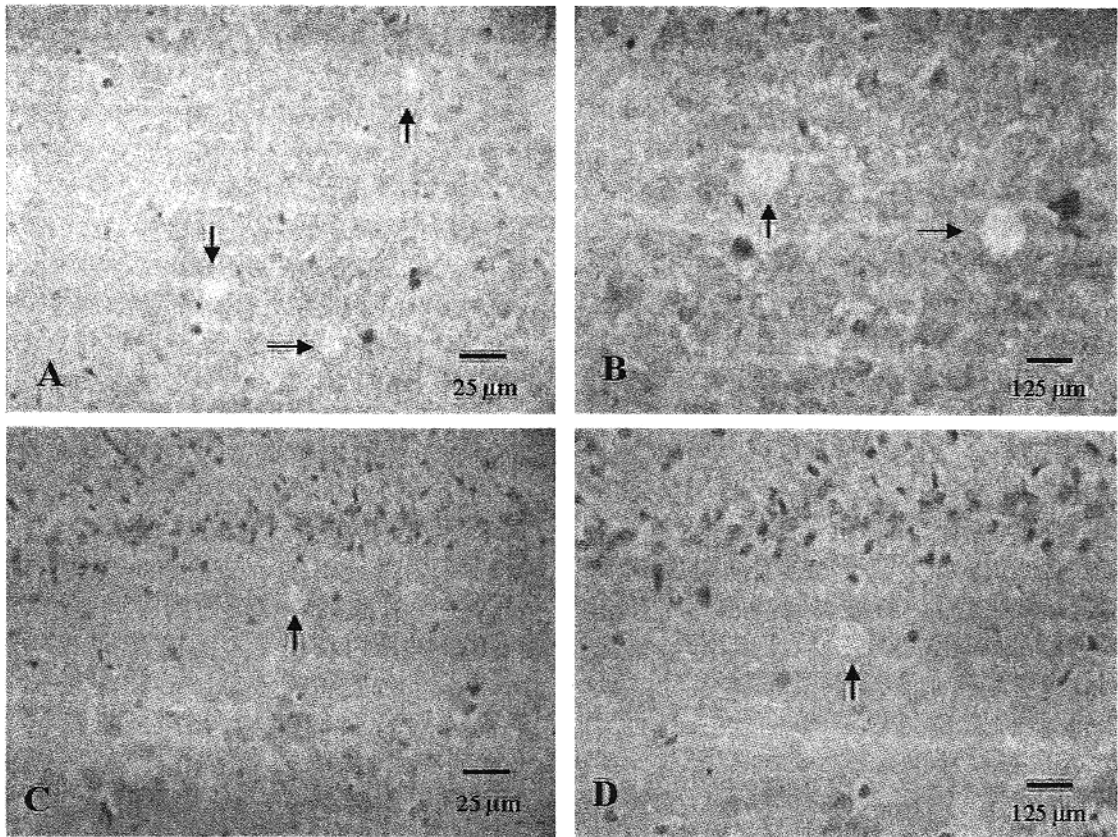
Data are expressed as mean ± S.E.M. (n = 8/per group) and analyzed by student's *t*-test.

2 Significantly different with control group at $p < 0.05$.

3 TS = 0.5% *Toona sinensis* Roemor extracts.

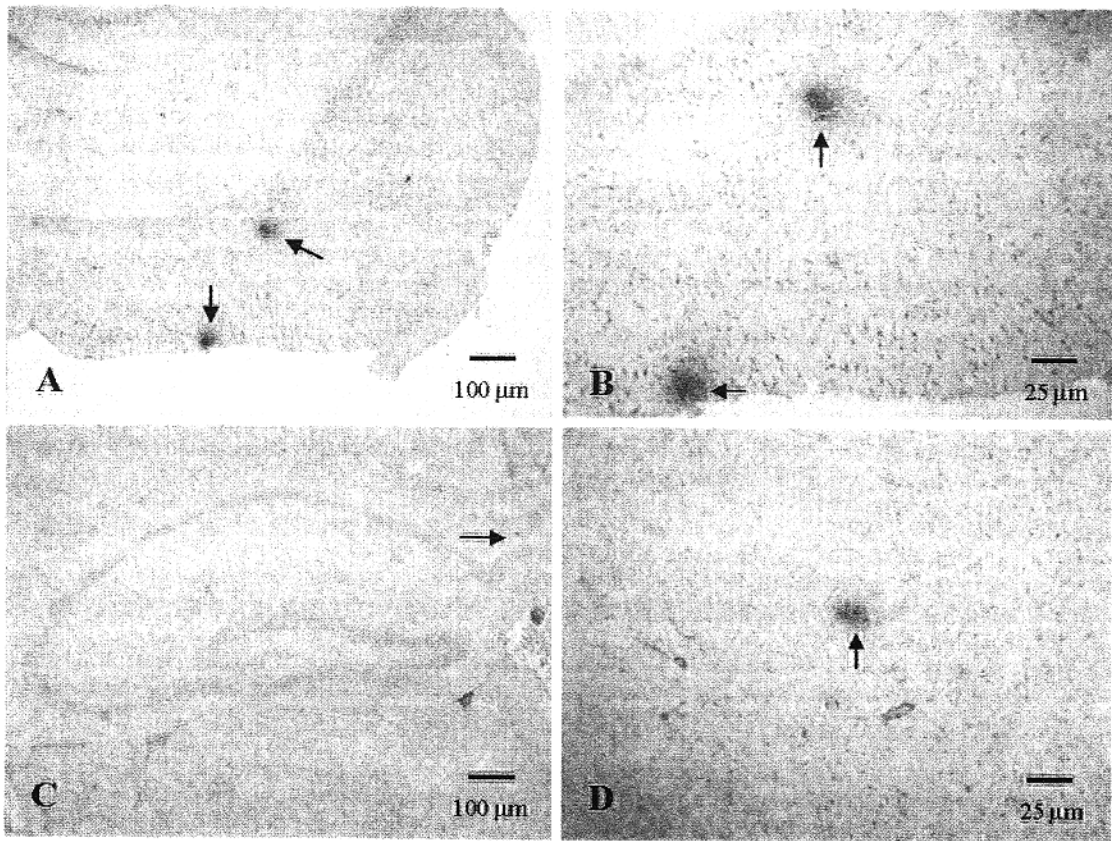
代謝。如當粒腺體膜受損，細胞對氧的利用率下降，造成還原物質及氧自由基生成增多，因而老化的色素沉積也越多，致使細胞慢慢的死亡、萎縮甚至造成 DNA 的受損，進而引起神經細胞的病變⁽³²⁾。有學者探討脂褐質的堆積與氧化劑和抗氧化劑間的關係，結果證實氧化劑會促進脂質堆積速率，而抗氧化劑則會延緩脂褐質的堆積。脂褐質堆積會使腦神經原結構受損及降低神經元數目，導致腦功能減退。有研究顯示若有大量脂褐質堆積在海馬迴時，可能會導致記憶能力缺損^(21, 31)。

由表四亦發現香椿組小鼠腦中段區β-類澱粉蛋白的比例較控制組顯著性降低 ($p < 0.05$)。β-類澱粉蛋白被推測是正常老化過程的一部分，因此，於本試驗β-類澱粉蛋白被用以作為評估腦部老化的指標。由香椿可降低小鼠腦中β-類澱粉蛋白的比例顯示，香椿具有延緩腦部老化之功效。阿茲海默症患者的腦部藉著病理解剖可觀察到具有多量的斑塊 (plaques) 堆積在神經細胞的外部，斑塊會阻斷神經彼此



圖二 香椿葉萃取物餵飼 SAMP8 小鼠 12 週後腦部空泡以 PAS 染色之顯微病理變化。A、對照組有三個空泡(箭頭)，B 為 A 圖空泡(箭頭)放大；C、香椿葉萃取物處理組一個空泡(箭頭)，D 為 C 圖空泡(箭頭)放大

Fig. 2. PAS staining for vacuoles in hippocampus of SAMP8 mice after fed with *Toona sinensis* Roemor leaf extracts for 12 weeks. A. three vacuoles (arrow) in the control group, B. magnified from A; C. single vacuole (arrow) in the *Toona sinensis* Roemor leaf extracts treated group, D. magnified from C.



圖三 香椿葉萃取物餵飼 SAMP8 小鼠 12 週後之腦部 β -類澱粉組織免疫化學染色之顯微病理變化。A、對照組 β -類澱粉斑(箭頭)，B 為 A 圖 β -類澱粉斑(箭頭)放大；C、香椿葉萃取物處理組 β -類澱粉斑(箭頭)，D 為 C 圖 β -類澱粉斑(箭頭)放大

Fig. 3. Immunohistochemical staining for brain β -Amyloid in SAMP8 mice after fed with *Toona sinensis* Roemor leaf extracts for 12 weeks. A. β -Amyloid plaques (arrow) in the control group, B. magnified from A; C. β -Amyloid plaques (arrow) in the *Toona sinensis* Roemor leaf extracts treated group, D. magnified from C.

溝通和傳遞訊息的功能，可能因此影響腦部的功能，如學習記憶能力的退化。而此斑塊主要即由 β -類澱粉蛋白蛋白質所組成。 β -類澱粉蛋白為類澱粉蛋白前驅蛋白(amyloid precursor protein, APP)經由代謝後所得產物。在阿滋海默症研究發現，退化的錐狀神經元之細胞會聚集大量的 APP。在 APP 代謝過程中，由金屬離子催化的氧化作用可誘導 β -類澱粉蛋白聚集，而此過程中有大量氧自由基產生⁽³³⁾；當 β -類澱粉蛋白在神經軸突聚集，則反具有神經毒性和血管內毒性。 β -類澱粉蛋白所造成神經毒性，可能因 APP 會和結合氧化還原反應之金屬離子一起加入自由基的形成，因而導致蛋白質氧化作用、脂質過氧化作用、反應性單態氧形成、細胞官能障礙產生鈣離子累積及後來之神經細胞死亡⁽³⁴⁾。Behl 等人^(35,36)證實藉由維生素 E 及 catalase 的給予可減緩因 β -類澱粉所引發的毒性。香椿所含有的抗氧化成分或許可減緩 APP 所產生的自由基，進而減少 β -類澱粉蛋白

之形成。

綜合表四之結果顯示，香椿葉萃取物可顯著降低老化促進小白鼠腦部空泡數目及脂褐質與 β -類澱粉蛋白的堆積，推測可能因降低腦部之氧化作用因而延緩病變產生。

結 論

綜合以上結果顯示，香椿葉萃取物的添加可使 SAMP8 小鼠血清中總膽固醇及三酸甘油酯濃度顯著降低，腦部之脂質過氧化物濃度含量降低，腦中空泡數目、脂褐質及 β -類澱粉蛋白亦有明顯減少。推測可能因香椿葉萃取物含有抗氧化的成分所致，因此，具有開發成延緩老化產品之潛力。而香椿其他部位萃取物之延緩腦部老化作用及機制，仍有待進一步探討。

誌 謝

本研究承蒙國科會經費補助(NSC 91-2815-C-126-003-B)，特此致謝。