

姜黄素对间歇性睡眠剥夺大鼠特定肠道菌的影响

李 云¹, 周明眉^{1*}, 苟小军², 赵 乐¹, 石晓雯¹, 贾 伟¹

1. 上海中医药大学 中医方证与系统生物学研究中心, 上海 201203

2. 上海市宝山区中西医结合医院 药剂科, 上海 201999

摘要: **目的** 从肠道菌群角度探讨姜黄素 (CUR) 对间歇性睡眠剥夺大鼠产生抗抑郁样作用的可能机制。**方法** Wistar 大鼠随机分为对照组、大平台对照组 (BP)、模型组和 CUR (70 mg/kg) 组, 采用改良的平台水环境法建立大鼠间歇性睡眠剥夺模型; 通过敞箱实验和糖水偏好实验考察大鼠的抑郁样行为; 同时收集粪便样本, 提取肠道菌群的 DNA, 应用细菌 16S rRNA 基因序列设计引物, 进行荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测。**结果** 行为学实验结果表明模型大鼠出现抑郁样行为, 敞箱实验得分和糖水偏好率显著低于 BP 组 ($P < 0.01$), 给予 CUR 可显著改善抑郁样行为; qRT-PCR 检测表明, 模型组粪便中的大肠杆菌、拟杆菌及有益菌双歧杆菌和乳酸杆菌, 与对照组比较显著减少, 有害菌产气荚膜梭菌相对量显著增加 ($P < 0.05, 0.01$)。CUR 组大鼠肠道菌群总量增加, 除产气荚膜梭菌显著减少外, 其余几种细菌相对量较模型组显著增加 ($P < 0.05, 0.01$)。**结论** 间歇性睡眠剥夺引起大鼠抑郁样状态和肠道菌群失调, CUR 改善肠道菌群失调, 可能为其改善抑郁样状态的机制之一。

关键词: 姜黄素; 间歇性睡眠剥夺; 肠道菌群; 荧光定量 PCR; 抑郁样状态

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)05-0794-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.05.018

Effects of curcumin on gut microbiota of interval sleep deprivation rats

LI Yun¹, ZHOU Ming-mei¹, GOU Xiao-jun², ZHAO Le¹, SHI Xiao-wen¹, JIA Wei¹

1. Center for Chinese Medical Therapy and Systems Biology, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

2. Department of Pharmacy, Baoshan District Integrative Traditional Chinese and Western Medical Hospital, Shanghai 201999, China

Abstract: Objective To study the effects of curcumin (CUR) on gut microbiota of interval sleep deprivation (ISD) rats. **Methods** Wistar rats were randomly divided into control group, big platform (BP) control group, model group, and CUR (70 mg/kg) group. Firstly, ISD model rats were established by improved small platform method; Then, open field test and sucrose preference test were utilized to assess the depression-like behavior of the ISD model rats and intervention effects of CUR; Thirdly, gut microbiota DNA samples were extracted from feces, the primers of *Escherichia coli*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Clostridium perfringens*, and *Bacteroides* were designed by 16S rRNA gene sequence, and the fluorescence quantitation of the bacteria through general PCR was obtained. **Results** The results of behavioral experiments showed that open field test scores and sucrose preference rate were significantly lower than those of the BP group ($P < 0.01$), and CUR played a significant improving role. The qRT-PCR data suggested that the relative expression of *E. coli*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, and *Bacteroides* of ISD model rats were lower than those in normal and big platform groups in ISD model rats, while higher for *Clostridium perfringens* ($P < 0.05, 0.01$). The amounts of *E. coli*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, and *Bacteroides* of CUR intervened group were higher than those in ISD model rats, except for *Clostridium perfringens* ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** The results show that as a stress, ISD not only causes mental disorders in rats, but also leads to the changes of five bacteria strains. CUR could alter the imbalance of gut microbiota, which might be one of the mechanisms of its effects on depression-like behaviors of ISD rats.

Key words: curcumin; interval sleep deprivation; gut microbiota; fluorescent quantitative PCR; depressive state

睡眠是维持机体生理和心理正常活动的基本保证。现代生活方式使越来越多的人处于不同程度的睡眠剥夺状态。作为一种强烈的应激刺激, 长时间的睡眠剥夺会影响机体的行为和生理功能, 增加全

收稿日期: 2015-08-24

基金项目: 上海中医药大学预算内项目资助 (2013JW17); 上海中医药大学中药学一流学科创新研究基金资助 (ZYX-CXYJ-018); “085”一流学科建设科技创新支撑计划 (引导创新计划: 085ZY1205); 上海高校特聘教授 (东方学者) 岗位计划资助 (2011-50)

作者简介: 李 云 (1989—), 女, 硕士在读, 研究方向为中药药理学与代谢组学。

Tel: 18717796826 Fax: (021)51322642 E-mail: LiYun20141111@126.com

*通信作者 周明眉, 女, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 主要研究方向为中药药理学与代谢组学。Tel: (021)51322642 E-mail: zhoumm368@163.com

身系统性疾病, 导致慢性疲劳综合征和认知功能衰退^[1], 使机体表现出病态样行为如嗜睡、抑郁和食欲减退等。大脑通过2~6亿条神经元与肠道紧密联系, 形成一个肠-脑轴^[2], 两者相互作用。应激状态下, 肠道菌群紊乱, 特定菌群的结构和组成会发生改变^[3], 从而影响大脑和行为^[4], 病原菌的入侵会增加焦虑样和抑郁样行为, 而有益菌则会减轻此类精神疾病症状^[5]。由此推测有抗焦虑和抗抑郁以及调整肠道菌群作用的药物对于慢性睡眠剥夺造成的机体行为和肠道菌群的改变具有改善作用。

天然多酚类物质是植物的次生代谢产物, 通常与糖或有机酸结合, 具有广泛的药理活性, 如抗炎、抗菌^[6]、抗氧化、保护心血管及神经^[7]、抗抑郁^[8]等多种功效。多酚类化合物可以调整肠道菌如大肠杆菌、拟杆菌^[9]、乳酸杆菌和双歧杆菌^[10]、梭菌^[11]的量, 使肠道菌群恢复动态平衡状态。姜黄素(curcumin, CUR)是目前被广泛报道的具有抗抑郁作用的中药多酚类化合物^[12]。

小平台睡眠剥夺模型作为研究睡眠发生机制及其功能的重要方法, 是临床和基础研究中常用的模拟机体睡眠障碍的模型^[13]。基于上述研究基础, 本实验通过敞箱实验等考察睡眠剥夺大鼠的抑郁样行为表现, 并采用16S rRNA基因序列设计大肠杆菌等5种肠道菌引物, 以荧光定量PCR(qRT-PCR)法检测CUR干预睡眠剥夺大鼠粪便中这5种肠道菌的浓度, 考察CUR对睡眠剥夺造成的大鼠抑郁样行为的影响, 并从肠道菌群角度探讨CUR对睡眠剥夺大鼠产生抗抑郁样作用的可能机制。

1 材料

1.1 动物

清洁级Wistar雄性大鼠32只, 体质量160~180g, 购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司, 合格证号SCXK(沪)2013-0016。饲养于上海中医药大学实验动物中心SPF级实验室, 温度20~25℃, 相对湿度40%~70%, 12h/12h循环照明。

1.2 药品和主要试剂

CUR(质量分数≥95%, 批号131214), 四川维克奇生物科技有限公司; 1%蔗糖水, 实验室自制; 羧甲基纤维素钠、水合氯醛, 国药集团化学试剂有限公司; 粪便样本DNA提取试剂盒, 上海索莱宝有限公司; qRT-PCR反应预混液, 美国ABI公司; 焦磷酸二乙酯(DEPC), 美国Amresco公司。

1.3 仪器

BS.124S 万分之一天平, 德国Sartorius仪器公司; Colibri 微量分光光度计, 德国Berthold公司; Centrifuge 5415R 高速冷冻离心机, 德国Eppendorf公司; 睡眠剥夺箱(45cm×45cm×60cm), 实验室自制; ZFS-1型敞箱(40cm×80cm×80cm), 中国倍顺有限公司; Step one plus 定量PCR仪, 美国ABI公司; 新型代谢笼, 苏州冯氏实验动物设备公司。

2 方法

2.1 动物分组、间歇性睡眠剥夺模型的制备及给药

大鼠适应性饲养2周后, 根据体质量随机分为4组: 对照组、大平台对照(BP)组、模型组和CUR组, 每组8只。间歇性睡眠剥夺开始前将同一睡眠剥夺箱中的大鼠放在同一笼中饲养1周, 按照第1天将大鼠放入睡眠剥夺箱连续24h睡眠剥夺, 第2天同一时间放回原笼休息24h的周期循环进行, 持续14d。模型组、BP组和CUR组均采用平台水环境法制作大鼠异相睡眠剥夺模型^[14]。其中模型组和CUR组采用直径6.5cm的小平台, BP组采用直径18cm的大平台, 高度均为8cm。平台之间距离相等, 睡眠剥夺箱内注有水, 水面低于平台约1cm, 大鼠可在平台上自由活动、摄食和饮水。小平台上的大鼠如果睡眠, 会因为肌张力松弛而跌入水中, 而大平台上的大鼠则可以正常睡眠。对照组正常笼养。从造模第1天开始, CUR组以70mg/kg剂量给药^[12], CUR用1%羧甲基纤维素钠溶液加以研磨配制成质量浓度为14mg/mL的混悬液, 5mL/kg ig给药, 每天1次, 连续14d。BP组、对照组和模型组分别给予相同体积的羧甲基纤维素钠溶液。

2.2 敞箱实验^[15]

采用立方体敞箱对大鼠行为学进行评分, 长宽均为80cm, 箱高40cm, 周壁为黑色, 具有视频分析系统。观察并记录大鼠穿越地面小方块的个数, 3爪以上跨入为准, 作为水平运动得分; 记录动物双足离开底面的次数, 作为垂直运动得分(无论大鼠站立多长时间, 直至放下双足均可记为1分, 清洁运动按次数计分)。间歇性睡眠剥夺后, 分别对这4组大鼠的行为进行观察记录, 每只大鼠实验1次, 每次观察时间均为5min(每只大鼠测试完后及时更换垫纸, 5%乙醇擦洗设备, 避免气味残留)。

2.3 糖水偏好率实验^[16]

大鼠单只单笼饲养, 第1天进行糖水适应, 即每只大鼠同时给予2个装有1%蔗糖水的小水瓶,

24 h 后禁水 5 h, 之后同时给予每只大鼠事先称量好的 2 个水瓶, 其中一瓶 1% 蔗糖水, 另一瓶纯水, 控制饮水时间为 1 h。1 h 后, 同时取走这 2 个水瓶, 称质量并记录。计算实验前后大鼠的糖水消耗量、纯水消耗量、总液体消耗量以及糖水偏好率。

糖水偏好率 = 糖水消耗量 / 总液体消耗量

2.4 粪便样本收集及 DNA 提取

将大鼠单只单笼放入代谢笼中, 禁食 24 h 后收集粪便, 冻存于 -80 °C 冰箱备用。称取粪便样本 0.2 g 于 2 mL 圆底离心管中, 按照粪便 DNA 提取试剂盒说明书提取 DNA。微量分光光度计检测浓度和纯度: 用试剂盒中的 buffer 洗脱液调零后, 检测 260 nm 处吸光度 (A_{260}) 值测定浓度; 检测 280 nm 处吸光度 (A_{280}) 值, A_{260}/A_{280} 处于 1.7~1.9 表明 DNA 纯

度合格。将所得粪样 DNA 用 DEPC 水稀释至 40 mg/L, 于 -80 °C 保存备用。

2.5 qRT-PCR 检测 5 种肠道菌 DNA 表达量

2.5.1 PCR 引物设计 根据所考察的 5 种肠道菌的 16S rRNA 基因序列, 应用引物设计软件 Primer Premier 5.0 设计相应菌属 PCR 引物, 并在 BLAST 基因库 (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST) 内比对引物序列的相应菌属特异性, 引物序列见表 1。

2.5.2 qRT-PCR 反应^[17] 八联管的每孔中加入 20 μ L 反应体系, 包含 10 μ L SYBR Green 预混液、0.3 μ mol/L 引物和 40 ng 模板 DNA, 最后用 DEPC 水补足, 每个样本设置 1 个复孔。加样完毕后盖上反应管, 轻柔混匀, 短暂离心, 确保所有组分均在管底。

表 1 肠道菌及其引物

Table 1 Gut microbiota and its primers used in this study

肠道菌	扩增长度/bp	退火温度/°C	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')
大肠杆菌	137	58	AAACTGGAGGAAGGTGGGGATGA	CCGACTACGACGCACTTTATGA
双歧杆菌	131	58	GATGCAACGCGAAGAACCTTACCT	CTTAACCCAACATCTCACGACACGA
乳酸杆菌	166	58	GGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTT	GTTAGCCGTGACTTTCTGGTTGGAT
产气荚膜梭菌	128	58	GCGTAGAGATTAGGAAGAACCAG	TATTCATCGTTTACGGCGTGGACTA
拟杆菌	162	58	AAAGGGAGCGTAGGTGGACAGTT	TGCCTTCGCAATCGGAGTTCTTC

qRT-PCR 反应: 95 °C 预变性 15 min, 95 °C 变性 10 s; 60 °C 退火 30 s; 72 °C 延伸 30 s, 共 40 个循环。最后一个循环 72 °C 持续 2 min, 60~95 °C 进行融解曲线分析。检测得到循环阈值 C_t , 以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 为统计数据进行分析。

2.6 统计学分析

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析, 行为学数据应用单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 进行统计; 5 种细菌 DNA 在各组间的表达量, 组间数据符合正态性和方差齐性的使用单因素方差分析, 不符合方差齐性的使用非参数检验。

3 结果

3.1 敞箱和糖水偏好率实验

间歇性睡眠剥夺后, 与对照组比较, BP 组大鼠敞箱实验得分显著升高 ($P < 0.05$); 模型组、CUR 组与 BP 组比较得分显著降低 ($P < 0.01$); 而 CUR 组与模型组比较, 得分显著升高 ($P < 0.01$)。BP 组糖水偏好率与对照组比较差异不显著, 模型组与 BP 组比较糖水偏好率显著下降 ($P < 0.01$); CUR 组与模型组比较糖水偏好率显著升高 ($P < 0.01$), 与 BP 组比较差异不显著。结果见表 2。

表 2 CUR 对间歇性睡眠剥夺大鼠行为学变化的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effects of CUR on behavioral changes in rats exposed to ISD ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	敞箱实验得分	糖水偏好率/%
对照	40.50 \pm 17.68	61.00 \pm 8.04
BP	66.17 \pm 7.52*	57.33 \pm 8.40
模型	14.71 \pm 3.54##	40.85 \pm 6.99##
CUR	36.67 \pm 13.04### $\Delta\Delta$	64.80 \pm 14.60 $\Delta\Delta$

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与 BP 组比较: ## $P < 0.01$; 与模型组比较: $\Delta\Delta P < 0.01$

* $P < 0.05$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs BP group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs model group

3.2 对 5 种肠道菌 DNA 表达量的影响

将对照组均值设为 100, 其余各组取其相对值, 得出 5 种细菌在各组间 DNA 表达量变化。结果见表 3。

BP 组大鼠粪便中大肠杆菌和拟杆菌的 DNA 表达量与对照组比较无明显变化, 而模型组这 2 种菌的表达量较 BP 组显著减少 ($P < 0.01$); CUR 组大肠杆菌和拟杆菌较模型组大鼠显著增多 ($P < 0.05$ 、0.01), 但无法增加到 BP 组水平。据此推测大鼠在大平台作用下仅仅是水环境应激, 大肠杆菌和拟杆菌不会发生明显的改变, 但当机体受到睡眠剥夺应

表 3 CUR 对 5 种肠道菌 DNA 表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 3 Effect of CUR on DNA expression in five specific gut microbiota ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	大肠杆菌	双歧杆菌	乳酸杆菌	产气荚膜梭菌	拟杆菌
对照	100.00 ± 19.24	100.00 ± 44.70	100.00 ± 27.66	100.00 ± 18.88	100.00 ± 23.14
BP	79.48 ± 17.96	86.05 ± 16.56	81.45 ± 16.88	100.01 ± 24.49	89.09 ± 26.77
模型	0.55 ± 0.27 ^{***}	3.98 ± 1.46 ^{***}	36.93 ± 10.87 [#]	154.50 ± 18.74 [#]	0.25 ± 0.07 ^{***}
CUR	3.18 ± 1.05 ^{***△}	34.17 ± 18.24 [△]	75.32 ± 12.81 [△]	99.89 ± 10.58 [△]	1.60 ± 0.60 ^{***△△}

与对照组比较: ^{**} $P < 0.01$; 与 BP 组比较: [#] $P < 0.05$ ^{###} $P < 0.01$; 与模型组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$

^{**} $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ ^{###} $P < 0.01$ vs BP group; [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ vs model group

激时, 2 种菌会受到强烈扰乱, CUR 可在一定范围内调节肠道菌群, 使之趋于动态平衡状态。

益生菌双歧杆菌和乳酸杆菌在 BP 组大鼠粪便中的 DNA 表达量与对照组比较无明显变化, 而模型组与 BP 组比较双歧杆菌和乳酸杆菌的表达量显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 说明间歇性睡眠剥夺应激对这 2 种肠道菌具有明显抑制作用。CUR 组大鼠双歧杆菌和乳酸杆菌的 DNA 表达量与模型组比较明显增加 ($P < 0.05$), 恢复至与 BP 组相近的水平, 说明 CUR 可干预睡眠剥夺造成的益生菌减少。

BP 组与对照组比较产气荚膜梭菌的 DNA 表达量无明显变化, 而模型组大鼠的产气荚膜梭菌相对 BP 组则显著增加 ($P < 0.05$), CUR 干预之后较模型组显著减少 ($P < 0.05$), 推测睡眠剥夺应激使大鼠肠道产气荚膜梭菌的量增加, 而 CUR 则会抑制此种有害菌的生长, 使之恢复到与 BP 组或对照组相似的状态。

4 讨论

本实验为了考察间歇性睡眠剥夺应激对大鼠活动能力和好奇能力的影响, 采用敞箱实验法, 记录睡眠剥夺刺激第 15 天各组大鼠的行为学得分并对其进行统计, 结果表明, 间歇性睡眠剥夺使大鼠的活动能力和对环境的好奇程度下降, 表现为得分降低; 为了准确衡量间歇性睡眠剥夺对大鼠快感缺乏程度的影响, 采用糖水偏好实验, 对实验第 16 天各组大鼠的糖水偏好率进行了测试, 模型组大鼠糖水偏好率较低, 表明睡眠剥夺应激导致大鼠对快感和幸福感的缺乏。敞箱实验和糖水偏好实验同时说明了睡眠剥夺应激使得大鼠产生了抑郁样精神状态; 而给予模型大鼠 70 mg/kg CUR, 大鼠的敞箱实验得分和糖水偏好率显著升高, 恢复到与 BP 组大鼠相近的水平, 说明 70 mg/kg CUR 能够显著改善睡眠剥夺引起的大鼠抑郁样状态。

肠道菌群的基因组信息总和为“肠道元基因

组”, 仅次于先天遗传基因组, 为影响人体健康的“第二基因组”, 是人体的“超级微生物体”^[18], 因此, 可以采用分子生物学、元基因组学的分析方法研究和检测肠道菌群。因 16S rRNA 基因具有在细胞中相对稳定, 同时含有保守序列及高变序列等优点, 近年来一直是微生物系统分类的一个重要指标。SYBR Green 是一种可以和双链 DNA 结合的荧光染料, 在 PCR 反应过程中, 随着 PCR 产物的增加, PCR 产物与 SYBR Green 结合的量也增大, 两者结合后形成的荧光信号可被仪器检测到。因此, qRT-PCR 法能利用从标本中提取的细菌 DNA 直接进行定量和定性分析^[19]。

粪便菌群 DNA qRT-PCR 分析显示, 肠道菌群在间歇性睡眠剥夺应激影响下, 发生了结构和功能失调。产气荚膜梭菌是公认的有害菌, 当其在肠道中水平增加时, 说明肠道菌群平衡状态被打破, 屏障保护作用减弱, 增加了有害菌的入侵; 双歧杆菌和乳酸杆菌是公认的有益菌^[20], 有研究表明它们可影响宿主的运动和和行为学表现, 本研究中它们的减少使得肠道菌群紊乱状态进一步加剧。有研究利用基于大肠杆菌 16S rRNA 基因设计的引物进行 qRT-PCR 来检测肠道菌群总量的变化^[11], 拟杆菌属细菌在机体肠道中占有很大比例^[21], 与之相符的是本实验中大肠杆菌和拟杆菌量的变化对应着肠道菌群总量的改变, 进而说明间歇性睡眠剥夺应激使得肠道菌群总量也减少。

CUR 干预睡眠剥夺应激大鼠后, 其肠菌总量和拟杆菌量相对模型组增加; 双歧杆菌和乳酸杆菌的相对量也增加, 产气荚膜梭菌相对减少, 恢复到近似于 BP 组的水平。研究表明 CUR 干预能在一定程度上调整睡眠剥夺应激引起的肠道菌群紊乱, 增加肠道中有益菌的量, 减少肠道有害菌的量, 并且肠道菌总量相对增加。肠道微生物和大脑紧密联系, 肠道菌群不仅调节肠道的功能和健康, 还影响着神

经系统如下丘脑-垂体-肾上腺 (HPA) 轴的作用^[22]; 神经生物学研究表明, 两者的相互调节对维持胃肠道稳态发挥了重要的作用^[23]。有研究指出, 抑郁伴随着 HPA 轴对应激反应增强, 而动物实验表明缺少肠道微生物会引起 HPA 轴活性增强, 补充双歧杆菌能纠正 HPA 轴^[24]。综上说明 CUR 的抗抑郁样作用^[25]可能与其调节肠道菌群水平有关, 通过肠-脑轴影响应激大鼠的精神行为活动。

参考文献

- [1] Orzel-Gryglewska J. Consequences of sleep deprivation [J]. *Int J Occup Med Environ Health*, 2010, 23(1): 95-114.
- [2] Furness, J B. Novel gut afferents: Intrinsic afferent neurons and intestinofugal neurons [J]. *Auton Neurosci*, 2006, 125(1/2): 81-85.
- [3] Park A J, Collins J, Blennerhassett P A, et al. Altered colonic function and microbiota profile in a mouse model of chronic depression [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2013, 25(9): e733-e575.
- [4] Crumeyrolle-Arias M, Jaglin M, Bruneau A, et al. Absence of the gut microbiota enhances anxiety-like behavior and neuroendocrine response to acute stress in rats [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2014, 42: 207-217.
- [5] Goehler L E, Gaykema R P, Opitz N, et al. Activation in vagal afferents and central autonomic pathways: early responses to intestinal infection with *Campylobacter jejuni* [J]. *Brain Behav Immun*, 2005, 19(4): 334-344.
- [6] Tomás-Barberán F A, Andrés-Lacueva C. Polyphenols and health: current state and progress [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(36): 8773-8775.
- [7] 张梦翔, 施高翔, 严园园, 等. 姜黄素对 5 种非白念珠菌菌丝及生物膜形成的抑制作用[J]. *中草药*, 2015, 46(4): 549-553.
- [8] Kennedy D O, Wightman E L. Herbal extracts and phytochemicals: plant secondary metabolites and the enhancement of human brain function [J]. *Adv Nutr*, 2011, 2(1): 32-50.
- [9] Puupponen-Pimiä R, Nohynek L, Hartmann-Schmidlin S, et al. Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal [J]. *J Appl Microbiol*, 2005, 98(4): 991-1000.
- [10] Parkar S G, Trower T M, Stevenson D E. Fecal microbial metabolism of polyphenols and its effects on human gut microbiota [J]. *Anaerobe*, 2013, 23: 12-19.
- [11] Cowan T E, Palmnäs M S, Yang J, et al. Chronic coffee consumption in the diet-induced obese rat: impact on gut microbiota and serum metabolomics [J]. *J Nutr Biochem*, 2014, 25(4): 489-495.
- [12] Kulkarni S K, Bhutani M K, Bishnoi M. Antidepressant activity of curcumin: involvement of serotonin and dopamine system [J]. *Psychopharmacology*, 2008, 201(3): 435-442.
- [13] 李娟, 刘凌, 李梦秋, 等. 睡眠障碍的循证治疗 [J]. *中国现代神经疾病杂志*, 2013, 13(5): 398-404.
- [14] 宋国萍, 苗丹民, 皇甫恩, 等. 睡眠剥夺对大鼠学习和行为的影响 [J]. *第四军医大学学报*, 2000, 21(6): 663-666.
- [15] 王晓艳. 应激及药物干预的代谢组学研究 [D]. 上海: 上海交通大学, 2009.
- [16] Benelli A, Filaferrero M, Bertolini A, et al. Influence of S-adenosyl-L-methionine on chronic mild stress-reduced anhedonia in castrated rats [J]. *Br J Pharmacol*, 1999, 127(3): 645-654.
- [17] Parnell J A, Reimer R A. Prebiotic fibres dose-dependently increase satiety hormones and alter bacteroidetes and firmicutes in lean and obese JCR: LA-cp rats [J]. *Br J Nutr*, 2012, 107(4): 601-613.
- [18] 孙博喻, 张冰, 林志健, 等. 肠道菌群与代谢性疾病研究进展 [J]. *中国糖尿病杂志*, 2014, 22(7): 662-663.
- [19] 杨美芬, 王玉明, 黄永坤, 等. 用细菌 16S rRNA 荧光定量 PCR 法检测肠道菌群的变化 [J]. *中国微生态学杂志*, 2006, 18(4): 266-269.
- [20] Luna R A, Foster J A. Gut brain axis: diet microbiota interactions and implications for modulation of anxiety and depression [J]. *Curr Opin Biotech*, 2015, 32C: 35-41.
- [21] Turnbaugh P J, Ley R E, Hamady M, et al. The human microbiome project: exploring the microbial part of ourselves in a changing world [J]. *Nature*, 2007, 449(7164): 804-810.
- [22] Dinan T G, Cryan J F. Regulation of the stress response by the gut microbiota: implications for psychoneuroendocrinology [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2012, 37(9): 1369-1378.
- [23] Mayer E A. Gut feelings: the emerging biology of gut-brain communication [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2011, 12(8): 453-466.
- [24] Sudo N. Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice [J]. *J Physiol*, 2004, 558(1): 263-275.
- [25] Zhao X, Wang C, Zhang J F, et al. Chronic curcumin treatment normalizes depression-like behaviors in mice with mononeuropathy: involvement of supraspinal serotonergic system and GABAA receptor [J]. *Psychopharmacology*, 2014, 231(10): 2171-2187.