



食品工业科技

Science and Technology of Food Industry

ISSN 1002-0306, CN 11-1759/TS

## 《食品工业科技》网络首发论文

题目:  $\gamma$ -氨基丁酸改善睡眠作用机制的研究进展  
作者: 李科, 俞兰秀, 刘小雨, 刘冬, 张惟广  
网络首发日期: 2019-03-08  
引用格式: 李科, 俞兰秀, 刘小雨, 刘冬, 张惟广.  $\gamma$ -氨基丁酸改善睡眠作用机制的研究进展[J/OL]. 食品工业科技.  
<http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20190306.1640.090.html>



**网络首发:** 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认:** 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

# $\gamma$ -氨基丁酸改善睡眠作用机制的研究进展

李科<sup>1,2</sup>, 俞兰秀<sup>3</sup>, 刘小雨<sup>1</sup>, 刘冬<sup>2\*</sup>, 张惟广<sup>1\*</sup>

(1.西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2.深圳职业技术学院应用技术研发院, 广东深圳 518055; 3. 绿雪生物工程(深圳)有限公司, 广东深圳 518105)

**摘要:**  $\gamma$ -氨基丁酸(Gamma-aminobutyric acid, GABA)是一种重要的中枢神经系统抑制性神经递质, 其拥有良好的水溶性与热稳定性。现已证实, 作为小分子量非蛋白质氨基酸的 GABA 具备食用安全性, 并可用于饮料等食品的生产。研究表明, 摄入一定量的 GABA 具备改善机体睡眠质量、降血压等生理功效。本文基于国内外相关文献资料, 综述了外源摄入 GABA 通过肠-脑轴、脑组织透性及其体内代谢物在改善睡眠方面的作用机制。

**关键词:**  $\gamma$ -氨基丁酸, 睡眠改善, 机制

## Research Progress on Improving Sleep Mechanism of Gamma-aminobutyric Acid

LI Ke, YU Lan-xiu, LIU Xiao-yu, LIU Dong\*, ZHANG Wei-guang\*

(1.College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. Applied Technology Research and Development Institute, Shenzhen Polytechnic, Shenzhen 518055, China; 3. Green's Bioengineering (Shenzhen) Co., Ltd, Shenzhen 518105, China)

**Abstract:** Gamma-aminobutyric acid (GABA) is a significant inhibitory neurotransmitter in the central nervous system, which performs well water solubility and thermal stability. It has been confirmed that GABA, a small molecular weight non-protein amino acid, possesses food safety and can be used for manufacturing various foods such as beverages. There are some researches have shown that the intake of a certain amount of GABA can improving the sleep quality and lowering blood pressure, in addition to other beneficial effects. Based on domestic and foreign relevant literatures, this article will discuss the mechanism of GABA on improving sleep quality by the effects of GABA on the gut-brain axis, brain tissue permeability and its metabolites.

**Key words:** Gamma-aminobutyric acid, Sleep improvement, Mechanism

$\gamma$ -氨基丁酸(Gamma-aminobutyric acid, GABA)是一种广泛分布于动、植物体内的小分子量非蛋白质氨基酸, 分子式为  $C_4H_9NO_2$ , 分子量为 103.12, 水溶性强, 热稳定性高, 微溶于热乙醇, 不溶于乙醚等有机试剂, 其晶体形态呈白色片状或针状<sup>[1]</sup>。GABA 在溶液中常以两性离子(带负电荷的羧基和带正电荷的氨基)形式存在, 由于正负电荷基团间的静电相互作用, 使得 GABA 在溶液中能够兼

作者简介: 李科(1993—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品发酵工程, E-mail: lee10635@163.com

通讯作者简介: \*刘冬(1968—), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: liudongsz@szpt.edu.cn

\*张惟广(1963—), 男, 硕士, 副教授, 研究方向: 食品发酵工程, E-mail: 470184967@qq.com

基金: 深圳市科技计划基础研究项目(JCYJ20170818115059178)

具气态（折叠态）和固态（伸展态）时的分子构象，而 GABA 在溶液中多分子构象共存的形式，使其能够结合多种受体蛋白并发挥多种重要生理功能<sup>[2]</sup>。Diana 等<sup>[3]</sup>就不同食品中的 GABA 含量及其生理功能进行综述，指出食用含有一定量 GABA 的茶叶、发酵乳、巧克力、小麦胚芽、发酵肉制品等食品，具备改善睡眠、改善抑郁、促进放松、改善炎症、降血压、提高免疫力、增加脑部蛋白分泌等多种生理功能。

大脑中 GABA、褪黑素、谷氨酸等神经递质的含量水平及其受体功能，对调节睡眠发挥着不同作用，当外源注入上述递质时，能够增加与该递质相关的睡眠时相，同时这些神经递质彼此紧密联系，相互影响，共同维持着睡眠-觉醒行为<sup>[4,5]</sup>。人每天将近 1/3 的时间用于睡眠，良好的睡眠对缓解疲劳、维持身体健康发挥着积极作用，通常个体睡眠受其情绪状态、年龄阶段、生活习惯、劳动强度、药物接触等因素影响<sup>[6]</sup>。失眠是一种常见的睡眠障碍，其发生与躯体疾病、压力、焦虑和抑郁状态等密切相关<sup>[7]</sup>。常人受到压力等应激源刺激时，其下丘脑-垂体-肾上腺轴（HPA 轴）活性增加，而长期的应激刺激，使得 HPA 轴活性持续异常亢奋，会导致机体出现抑郁或焦虑，进而诱发失眠<sup>[8]</sup>。研究发现，大脑中 GABA 含量水平的降低，与焦虑症、抑郁症、癫痫、帕金森等精神心理障碍或中枢神经系统疾病的发生存在一定关联<sup>[9]</sup>。此外，GABA 作为一种中枢神经系统抑制性神经递质，能在 GABA 转氨酶作用下，经由 GABA 旁路（GABA-shunt）进行分解代谢，而其代谢产物的  $\gamma$ -羟基丁酸（GHB），可通过作用细胞膜上的 GHB 特异性受体、GABA-B 受体或 5-羟色胺能神经系统等途径，发挥对中枢神经系统兴奋性神经元的抑制作用，进而对机体产生镇静催眠等效果<sup>[10]</sup>。

当前，GABA 的食用安全性已获得包括美国、日本在内等国家的广泛认可，我国也于 2009 年，将其认定为一种新食品原料，并可用于饮料、糖果、巧克力等食品的生产<sup>[11,12]</sup>。相关研究<sup>[13-15]</sup>证实，外源摄入一定量的 GABA 具备改善睡眠的生理功效。本文综述了 GABA 通过肠-脑轴、脑组织透性及其体内代谢物在改善睡眠方面的作用机制。

## 1 肠-脑轴

肠-脑轴是肠道与大脑之间由神经通路、内分泌和免疫共同构成的一个复杂双向信息交流系统，其双向交流途径涉及迷走神经途径、神经内分泌途径和免疫途径<sup>[16]</sup>。

### 1.1 迷走神经途径

相关研究<sup>[17]</sup>指出，通过刺激生物体迷走神经外周端（如经皮耳迷走神经电刺激），可提升其脑部 GABA 含量水平。并且迷走神经刺激术（transcutaneous vagus nerve stimulation, tVNS）对治疗失眠、癫痫、抑郁等病症具备一定效果<sup>[18,19]</sup>。在被喻为“第二大脑”的肠神经系统中含有 4~6 亿个肠神经元，其中约 20% 的神经元为初级传入神经元，这些神经元可通过迷走神经途径，实现肠神经系统与中枢神经系统间信息的双向交流<sup>[20,21]</sup>。实验发现，在小鼠胃肠道迷走神经传入神经元结状神经节（nodose ganglion, NG）部位，编码 GABA-B 型受体 1（Gabbr1）的基因具有相对高水平的转录表达，因而能对 GABA 产生相应的信号感知，经迷走神经途径上行传递后，影响大脑功能，发挥生理功效<sup>[22]</sup>。此外，还有研究表明 GABA 能够作用肠嗜铬细胞（EC 细胞）并促使其分泌释放 5-羟色胺（5-HT），而 5-HT 在作用肠黏膜的迷走神经末梢的相应受体后，能对其放电活动产生刺激作用<sup>[23]</sup>。此外，刺激迷走神经，还能促进 5-HT 透过血脑屏障，提高中枢神经系统的 5-HT 浓度，而临床上也常用 5-HT 再摄取抑制剂用于治疗抑郁和改善睡眠障碍<sup>[19]</sup>。一项动物研究<sup>[24]</sup>显示，在给予小鼠喂食活性鼠李糖乳杆菌（JB-1）后，可通过迷走神经途径，改善强迫游泳应激后小鼠的焦虑和抑郁样行为，同时上调其脑部

海马区中 GABA-A 受体 $\alpha 2$ 亚型的表达。大脑中，海马等部位是参与情绪处理及认知的重要脑区，而 GABA-A 受体具备镇静安眠、抗焦虑等药理作用，特别是在其 $\alpha$ 亚型等受体表面分布有巴比妥类或苯二氮卓类镇静催眠药物的结合位点。临床研究表明，焦虑、抑郁和失眠成正相关，三者常相伴存在，缓解机体焦虑和抑郁有助于改善失眠<sup>[25]</sup>。已知，包含短乳杆菌、植物乳杆菌、嗜热链球菌等在内的多种乳酸菌能够通过谷氨酸脱羧酶（GAD）途径内源合成 GABA<sup>[26]</sup>。有研究指出，鼠李糖乳杆菌（JB-1）也同样具备 GABA 合成能力<sup>[27]</sup>。Janik 等<sup>[27]</sup>利用磁共振波谱学技术（magnetic resonance spectroscopy, MRS）进行在体测定发现，在持续一月每日灌胃小鼠 200  $\mu$ L（含 JB-1 活菌数  $1 \times 10^9$  CFU）活菌液后，喂食活性 JB-1 菌的小鼠脑部，其 GABA 含量由喂食前的  $(1.2 \pm 0.1)$  mmol/L 增加至  $(1.5 \pm 0.2)$  mmol/L（ $P < 0.01$ ），提升了 25%。虽然在动物实验中展现了活性 JB-1 菌对模型小鼠具有良好的生理效果，但还无法明确其结果多大程度上源于该菌所产的 GABA，因而后续可考虑以喂食灭活或经基因敲除 GAD 酶基因片段的活性 JB-1 菌作为对照。而有实验<sup>[14]</sup>表明，在灌胃小鼠一定量的 GABA 和五-羟色氨酸（5-HTP）后，能极显著的缩短小鼠睡眠潜伏期并延长总睡眠时间（ $P < 0.01$ ），并且由实时荧光定量 PCR（qRT-PCR）分析得知，实验组小鼠大脑皮层 GABA-A 受体转录水平高于对照组 1.37 倍。暗示外源摄入 GABA 可通过肠-脑轴中迷走神经途径影响中枢神经系统中 GABA 含量水平及其受体表达，进而发挥其改善睡眠等功能<sup>[13]</sup>。

## 1.2 神经内分泌途径

研究发现，外源摄入 GABA 能够提高机体的抗应激能力，而机体长期处于应激状态，会出现睡眠障碍、情绪异常等问题<sup>[28,29]</sup>。在外源应激刺激作用下，神经系统能够影响内分泌系统的激素分泌，下丘脑-垂体-肾上腺轴（HPA 轴）是机体应答外源应激刺激的重要组成部分<sup>[30]</sup>。Gao 等<sup>[31]</sup>发现，持续的应激会损害小鼠下丘脑室旁核（PVN）中 GABA 能系统对促肾上腺皮质激素释放激素

（corticotropin-releasing hormone, CRH）相关神经元的抑制，而 PVN 中 GABA-A 受体的激活，可有效抑制 HPA 轴活性以及血浆皮质酮含量的上升。此外，肾上腺组织也有发现 GABA-A 亚型受体的存在<sup>[32]</sup>。据一项动物试验结果显示，外源摄入 GABA 能够抑制应激后机体 HPA 轴活性以及 CRH 和糖皮质激素含量水平<sup>[33]</sup>。Farzi 等<sup>[34]</sup>报道，生物体长期暴露于压力等应激源刺激，会导致其 HPA 轴活性持续异常亢奋以及血浆皮质酮含量异常升高，进而诱发焦虑或抑郁样行为；此外应激所引发免疫系统炎性介质的产生，还会进一步刺激 HPA 轴活性的过度亢奋。前述提及，焦虑、抑郁和失眠常相伴发生，因而 GABA 能通过神经内分泌途径缓解应激所致的焦虑或抑郁状态，进而改善睡眠。

## 1.3 免疫途径

人体内约 70% 的免疫细胞，分布于肠道相关淋巴组织（GALT），GABA 作为一种有效的免疫调节分子，可作用肠道中不同免疫细胞的 GABA 受体，介导其炎性相关细胞因子的产生<sup>[35]</sup>。例如 GABA 可作用免疫系统中小胶质细胞的 GABA-B 受体或巨噬细胞的 GABA-A 受体，抑制其促炎性细胞因子（白细胞介素-12）的生成<sup>[23]</sup>。研究发现，GABA 还能作用位于十二指肠、空肠等肠组织部位的 GABA 受体，改善炎性肠病<sup>[36]</sup>。据报道，机体炎症反应所引发核转录因子 NF- $\kappa$ B 的激活，会抑制生物钟系统内核心钟组分 Per、Cry 等负调节基因的表达，损害生物钟系统的周期性震荡，致使生物体昼夜节律紊乱，从而扰乱其正常的睡眠-觉醒周期<sup>[37]</sup>。而 GABA 可通过免疫途径，改善炎症反应，降低促炎性细胞因子的生成及其对 HPA 轴的刺激，从而参与睡眠活动的调节。

## 2 脑组织透性



经口摄入的 GABA 要到达中枢神经系统, 首先需要由消化道进入血液循环。小肠是人体内实现营养物质消化与吸收的重要部位, 其内皮细胞间存在与血脑屏障 (blood brain barrier, BBB) 中脑微血管内皮细胞间的类似紧密结构。但不同于后者的是, 在小肠绒毛或隐窝部位的肠内皮细胞间, 分别存在不同直径的孔隙 (0.4~0.9 nm; 5.0~6.0 nm), 一些亲水性小分子物质可借此直接透过肠内皮细胞屏障<sup>[38]</sup>。相关研究<sup>[39,40]</sup>表明, 在小鼠十二指肠、回肠等肠组织部位以及人肠上皮细胞模型 Caco-2 中均有 GABA 转运蛋白的存在。林智等<sup>[41]</sup>利用 <sup>14</sup>C 放射性自显影法研究 GABA 在小鼠体内的吸收, 结果表明在对小鼠灌胃 [<sup>14</sup>C]-GABA 的 60 min 后, 小鼠脑部区域即显示有放射性信号的存在, 暗示 GABA 可经胃肠道进入血液循环。同时一项关于 GABA 的人体试食实验结果<sup>[13]</sup>显示, 在 10 名受试者经口摄入 200 mg 食品级 GABA 的 30 min 后, 受试者血液中 GABA 平均浓度由摄入前的 244 nmol/L 显著上升至 329 nmol/L ( $P<0.05$ ), 由此进一步证实经口摄入的 GABA 可由生物体消化道进入血液循环。

在人脑部的血液和脑组织间, 存在着血脑屏障 (BBB)、血液-脑脊液屏障 (BCSFB) 和蛛网膜屏障的三类屏障<sup>[42]</sup>。其中最为重要的 BBB 是由脑微血管内皮细胞、星形胶质细胞等构成的一类动态屏障系统, 其在保护中枢神经系统免受有毒物质侵害的同时, 也成为了一些针对中枢神经系统疾病药物或其它有益分子透入脑组织的障碍<sup>[42]</sup>。早期, Roberts 等<sup>[43]</sup>将溶有 75 mg GABA 的生理盐水 (0.5 mL), 经静脉注入老鼠体内, 通过在注射后的不同时间点对其脑组织取样, 进行纸色谱法分析发现, 实验鼠脑部 GABA 含量与对照组无显著差别, 由此推测 GABA 可能不具备 BBB 透性。Kuriyama 等<sup>[44]</sup>则利用同位素标记法, 将 [<sup>3</sup>H]-GABA 经腹腔注入小鼠体内, 并以注入 GABA 转氨酶 (GABA-T) 抑制剂氨基氧乙酸 (AOAA) 的小鼠为对照, 结果表明在实验组与对照组小鼠脑部均未发现 [<sup>3</sup>H]-GABA 的存在, 从而认定 GABA 不具备 BBB 透性。然而, Boonstra 等<sup>[11]</sup>指出, Kuriyama 等在实验中使用的 [<sup>3</sup>H]-GABA, 因其分子结构上额外附加一个羟基, 致使其结构异于 GABA 原结构。通常, 物质结构的变化, 会导致其理化特性或生理功能的改变, 因而需进一步评估 Kuriyama 在实验中所用 [<sup>3</sup>H]-GABA 材料对其实验结论的影响。有相关研究<sup>[45-48]</sup>也指出 GABA 具备 BBB 透性。如 Li 等<sup>[48]</sup>发现, 在对大鼠静脉注入 50 mg/kg bw 剂量 GABA 的 60 min 后, 实验组大鼠脑内 GABA 浓度 ( $474\pm 33$ )  $\mu\text{g/g}$  显著高于注入生理盐水的对照组 ( $P<0.05$ ), 同时注入 GABA 的大鼠还表现出镇静及困倦的行为效应。此外, Loscher 等<sup>[49]</sup>还以犬为实验对象, 进行在体实验发现, 经静脉注入犬体内的 GABA, 还可通过渗透其 BCSFB 进入脑脊液。

相较体内研究, 体外 BBB 模型具备可控性强、效率高等优点, 因而常选择构建适宜的体外 BBB 模型, 用于评估外源物质对 BBB 的透性。由于人源体外 BBB 模型的构建, 受取材困难等限制, 因而在实验中多以鼠、牛等动物脑部为供源, 用于构建体外 BBB 模型<sup>[50]</sup>。Takanaga 等<sup>[45]</sup>报道, 在鼠源永生细胞体外 BBB 模型 (TM-BBB) 中存在一种 GABA 转移蛋白 (BGT-1, slc6a12), 该蛋白可实现外源 [<sup>3</sup>H]-GABA 对模型细胞的胞内转运。同时作者经 RT-PCR 及 Western blot 证实, BGT-1 蛋白在鼠脑微血管内皮细胞也具有相同表达, 即表明 BGT-1 蛋白可参与 GABA 对 BBB 的透入。此外, Kakee 等<sup>[46]</sup>又以脑外排指数 (BEI) 和脑摄取指数 (BUI) 为指标, 将 [<sup>3</sup>H]-GABA 显微注射到大鼠大脑皮层顶二区, 进行在体实验, 结果显示 [<sup>3</sup>H]-GABA 可透过 BBB 实现脑组织与血液间的双向转运, 并且其外排速率高于摄取速率的 16 倍。同时, 作者也在永生鼠源脑毛细血管内皮细胞系 MBEC4 中发现了 BGT-1 蛋白的表达。值得注意的是, 2011 年, Uchida 等<sup>[51]</sup>通过对 5 份人脑微血管样本所含转运蛋白的分析发现, BGT-1 蛋白在人脑微血管中的平均含量为 ( $3.16\pm 0.94$ ) fmol/ $\mu\text{g}$ ·蛋白。虽然 BGT-1 (slc6a12) 相对其它三种 GABA 转运蛋白 (slc6a1、slc6a11、slc6a13), 对 GABA 的亲合力最低 ( $K_m=80$   $\mu\text{mol/L}$ ), 其分布量在脑中也相对较少, 但 BGT-1 在软脑膜处却具有相对高的表达量<sup>[52]</sup>。而软脑膜处丰富的毛细血管, 可与脑室管膜上皮细胞共同形成脉络丛组织, 由此或可解释 GABA 透过 BCSFB 进入脑脊液的原因。BGT-1 等 GABA 转运蛋白还广泛分布于星形胶质细胞, 而作为 BBB 重要构成部分的星形胶质细胞, 其可通过细胞终足, 包裹约整个脑毛细血管表面, 同时桥连神经元与突触间隙<sup>[53-55]</sup>。研究<sup>[56,57]</sup>发现, 星形胶质细胞在介导 BBB 透性、神经元兴奋性和突触传递的同时, 还可

参与脑与血液间的物质交换以及多种神经递质（如 GABA）的合成。由此，血液循环中的 GABA 可进入中枢神经系统，在结合相应受体后，参与对睡眠活动的改善。

鉴于对活性人脑微血管内皮细胞取材困难限制，对其所含 BGT-1 蛋白的深入研究，则可基于体外模型予以开展。由于物种差异，任何动物源体外 BBB 模型，都无法完全模拟在体条件下人 BBB 功能，而选择构建人源体外 BBB 模型，更有益于研究外源物质对人 BBB 的透性。在现已构建的人源体外 BBB 模型中，以永生化人脑微血管内皮细胞系（hCMEC/D3 细胞系）使用最广，但该细胞系的屏障性能易受培养条件影响，在常规培养条件下难以对小分子物质进行有效阻隔<sup>[50]</sup>。为适应更高要求，因而需要开发构建新的人源体外 BBB 模型。近年来，随着干细胞技术的快速发展，现已可实现通过诱导多能干细胞（iPSC），用于人源 BBB 模型的构建<sup>[58]</sup>。由于现有人工操作诱导培养技术，难以实现对细胞诱导过程中的生理变化，进行实时动态把控，加之人工操作效率低等问题，制约了干细胞诱导分化的成功率和稳定性。幸运的是，借助我国中科院广州生物医药与健康研究院自主研发的全自动干细胞诱导培养设备，则可实现多能干细胞诱导的全程自动化操作，在有效解决上述问题的同时，持续的为人源 BBB 模型的构建提供合格的诱导细胞。

### 3 代谢物影响

外源摄入的 GABA，在机体内可通过 GABA 旁路（GABA-shunt）进行分解代谢，其代谢产物之一的  $\gamma$ -羟基丁酸（Gamma-hydroxybutyrate, GHB），是一种具备 BBB 透性的水溶强效中枢镇静剂<sup>[59]</sup>。研究发现，患有睡眠障碍的个体在外源摄入低剂量的 GHB 后，能够增加其夜间  $\delta$  波睡眠、改善睡眠质量<sup>[60]</sup>。而 GHB 改善睡眠的作用机制与其作用 GABA-B 受体以及部分 GABA-A 亚型受体（如  $\alpha 4\beta 1\delta$  亚型）有关<sup>[61,62]</sup>。GHB 与 GABA 类似，均以内源物形式分布于机体中，生理状态下，GHB 在人血液和脑内的 cut-off 值分别为 4 mg/L 和 10 mg/kg<sup>[63,64]</sup>。GHB 与 GABA 在一定条件下，可实现二者间的相互转化。现已证实<sup>[65]</sup>在琥珀酸半醛脱氢酶（SSADH）缺乏症患者体内，可由 GHB 转化为 GABA，但该转化途径是否同样存在于生理状态下的机体内，仍有待进一步研究。而有实验<sup>[62]</sup>表明，在对小鼠腹腔注入高剂量 GHB（300 mg/kg bw）后，其脑内的 GABA 含量并未得以提升，同时作者还通过代谢组学分析发现，分布于肝脏的 GHB 可分别通过 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 酶或 GHB 还原酶分解为琥珀酸半醛（SSA），前者产生的 SSA 被代谢为 4,5-二羟基己酸酯（4,5-dihydroxyhexanoate），后者产生的 SSA 则被氧化为琥珀酸，最后进入三羧酸循环。

当前，仅有少数文献报道，经口摄入的 GABA 在体内与 GHB 之间的代谢转化关系。据一项体内研究<sup>[41]</sup>显示，在灌胃小鼠 [<sup>14</sup>C]-GABA 的 1 h 后，其肝脏中 [<sup>14</sup>C]-GABA 和 SSA 的含量达到最高值，而 GHB 含量在灌胃 3 h 后才显著升高。其原因可能在于：一部分 SSA 通过琥珀酸半醛还原酶转变成了 GHB；另一部分 SSA 则氧化成了琥珀酸<sup>[66]</sup>，而当肝细胞中线粒体含有过量的 GABA 或 GHB，且缺乏足够供氧时，经 GABA 旁路产生的琥珀酸，会提高线粒体基质中总琥珀酸含量，进而促使由琥珀酸辅酶 A 连接酶催化生成 ATP（或 GTP）的可逆反应转向逆反应方向进行，从而降低其底物水平磷酸化，由此也在一定程度上间接抑制了肝脏中 GHB 的分解。综上 GABA 可通过其体内代谢途径，间接参与睡眠活动的调节。

### 4 展望

$\gamma$ -氨基丁酸 (GABA) 对睡眠障碍的改善功效, 可能是基于其多途径作用后的综合效果。GABA 作为一种水溶性小分子物质, 其弱亲脂性特点, 限制了自身难以迅速透过血脑屏障, 而需借助相关转运蛋白 (如 BGT-1 蛋白), 透入脑组织。由于 BGT-1 蛋白对 GABA 的亲合力较弱, 倘若血液中 GABA 浓度过低时, 其可能难以实现对脑组织的有效透入。前文所述, 在人脑部血液和脑组织间, 还可通过其他途径进行物质交换, 因而在后续研究中, 可就机体血液中 GABA 含量水平及其脑组织透入方式与改善睡眠间的联系进行深入探讨。下丘脑视交叉上核 (SCN) 被视为哺乳动物的昼夜节律起搏器, 而分布于不同 SCN 神经元的 GABA 能够参与维持昼夜节律协调<sup>[67]</sup>。因此外源摄入 GABA 后, 对睡眠障碍患者昼夜节律的影响, 可能也是 GABA 对改善睡眠作用的潜在方式。

肠-脑轴是机体肠道和大脑间一个复杂的信息双向交流系统, 胃肠道是经口摄入 GABA 体内吸收的重要部位, 因而 GABA 通过肠-脑轴, 上行作用中枢神经系统, 是其发挥睡眠改善作用的有效途径, 但两者间深入的内在联系还需进一步研究。研究显示, 宿主肠道微生物与其肠-脑轴间也存在着交互作用, 而人体胃肠道中分布的微生物, 其总数可达 100 万亿、种类近 1000 种<sup>[68]</sup>。近年来, 持续的研究发现, 肠道微生物的丰度及代谢活动对宿主胃肠道功能失衡、抑郁、焦虑和失眠等疾病的发生发展或预防治疗具有重要影响<sup>[69]</sup>。有文献<sup>[70]</sup>报道, GABA 可作为生长因子, 调控宿主肠道微生物的生长 (如 KLE1738 菌), 由于人体胃肠道中尚有 23%~65% 的物种仍未培养, 因而 GABA 对这些微生物的生长代谢及其生物学功能的影响尚有待进一步揭示。

#### 参考文献

- [1] 吕常江. 生理工程策略提升乳酸菌  $\gamma$ -氨基丁酸合成效率的研究[D]. 浙江大学, 2017.
- [2] 周小理, 赵琳.  $\gamma$ -氨基丁酸的生理功能及在食品中应用的研究进展[J]. 食品工业, 2011, (10): 58-61.
- [3] Diana M, Qu Iez J, Rafecas M. Gamma-aminobutyric acid as a bioactive compound in foods: A review[J]. Journal of Functional Foods, 2014, 10(3): 407-420.
- [4] Gottesmann C. Gaba mechanisms and sleep[J]. Neuroscience, 2002, 111(2): 231-239.
- [5] 谢晨, 刘臻, 赵娜, 等.  $\gamma$ -氨基丁酸与睡眠觉醒[J]. 医药导报, 2014, 33(5): 641-644.
- [6] 范红华. 影响睡眠的因素及睡眠的舒适护理[J]. 中国社区医师(医学专业), 2011, 13(4): 198-198.
- [7] 杨菊贤, 杜勤. 睡眠障碍的诊断和治疗[J]. 中国全科医学, 2003, 6(2): 165-167.
- [8] Thomas R. Insomnia: Definition, prevalence, etiology, and consequences[J]. Journal of Clinical Sleep Medicine Jcsm Official Publication of the American Academy of Sleep Medicine, 2007, 3(5 Suppl): 7-10.

- [9] Tovargudiño E, Guevarasalazar J A, Bahenaherrera J R, et al. Novel-substituted heterocyclic gaba analogues. Enzymatic activity against the gaba-at enzyme from pseudomonas fluorescens and in silico molecular modeling[J]. *Molecules*, 2018, 23(5): 1128.
- [10] 宫琦, 梁建辉.  $\gamma$ -羟基丁酸及其前体物质的滥用潜力和现状[J]. *中国药物依赖性杂志*, 2012, 21(3): 161-165.
- [11] Boonstra E, de Kleijn R, Colzato L, et al. Neurotransmitters as food supplements: The effects of gaba on brain and behavior[J]. *Frontiers in Psychology*, 2015, 6: 1520.
- [12] 马燕, 段双梅, 赵明. 富含  $\gamma$ -氨基丁酸食品的研究进展[J]. *氨基酸和生物资源*, 2016, 38(3): 1-6.
- [13] Yamatsu A, Yamashita Y, Pandharipande T, et al. Effect of oral  $\gamma$ -aminobutyric acid (gaba) administration on sleep and its absorption in humans[J]. *Food Science & Biotechnology*, 2016, 25(2): 547-551.
- [14] Hong K B, Park Y, Suh H J. Sleep-promoting effects of the gaba/5-htp mixture in vertebrate models[J]. *Behavioural Brain Research*, 2016, 310: 36-41.
- [15] Abdou A M, Higashiguchi S, Horie K, et al. Relaxation and immunity enhancement effects of gamma-aminobutyric acid (gaba) administration in humans[J]. *Biofactors*, 2010, 26(3): 201-208.
- [16] Carabotti M, Scirocco A, Maselli M A, et al. The gut-brain axis: Interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems[J]. *Annals of Gastroenterology Quarterly Publication of the Hellenic Society of Gastroenterology*, 2015, 28(2): 203-209.
- [17] Jongkees B J, Immink M A, Finisguerra A, et al. Transcutaneous vagus nerve stimulation (tvns) enhances response selection during sequential action[J]. *Frontiers in Psychology*, 2018, 9: 1159.
- [18] 方继良, 洪洋, 范洋洋, 等. 经皮电针刺刺激正常人耳甲迷走神经的功能 MRI 脑效应研究[J]. *磁共振成像*, 2014, (6): 416-422.
- [19] 王娴, 刘爱华. 迷走神经刺激调节睡眠的机制研究进展[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2015, 32(12): 1140-1141.
- [20] Furness J B. The enteric nervous system and neurogastroenterology[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2012, 9(5): 286-294.
- [21] Rieder R, Wisniewski P J, Alderman B L, et al. Microbes and mental health: A review[J]. *Brain Behavior & Immunity*, 2017, 66: 9-17.
- [22] Egerod K L, Petersen N, Timshel P N, et al. Profiling of g protein-coupled receptors in vagal afferents reveals novel gut-to-brain sensing mechanisms[J]. *Molecular Metabolism*, 2018, 12: 62-75.



- [23] Auteri M, Zizzo M G, Serio R. Gaba and gaba receptors in the gastrointestinal tract: From motility to inflammation[J]. *Pharmacological Research*, 2015, 93: 11-21.
- [24] Bravo J A, Forsythe P, Chew M V, et al. Ingestion of lactobacillus strain regulates emotional behavior and central gaba receptor expression in a mouse via the vagus nerve[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(38): 16050-16055.
- [25] 王筱君, 阎红, 李俊. 失眠与焦虑、抑郁相关性的临床研究[J]. *中国误诊学杂志*, 2009, 9(22): 5325-5326.
- [26] Wu Q, Shah N P. High  $\gamma$ -aminobutyric acid production from lactic acid bacteria: Emphasis on lactobacillus brevis as a functional dairy starter[J]. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 2016, 57(17): 3661-3672.
- [27] Janik R, Thomason L A M, Stanisiz A M, et al. Magnetic resonance spectroscopy reveals oral lactobacillus promotion of increases in brain gaba, n-acetyl aspartate and glutamate[J]. *Neuroimage*, 2016, 125: 988-995.
- [28] 刘伟志, 依宇琴, 王伟, 等. 长期慢性应激人员睡眠质量和人格特征调查[J]. *第二军医大学学报*, 2013, 34(12): 1345-1349.
- [29] 朱小文, 赵红梅, 纪美静. GABA 对小鼠抗应激能力的影响[J]. *畜牧与饲料科学*, 2015, (5): 18-19.
- [30] 胡健饶, 许宁一. 应激对神经内分泌系统影响的研究进展[J]. *杭州师范大学学报(自然科学版)*, 2002, (5): 65-68.
- [31] Gao Y, Zhou J J, Zhu Y, et al. Chronic unpredictable mild stress induces loss of gaba inhibition in corticotrophin-releasing hormone-expressing neurons through nkcc1 upregulation[J]. *Neuroendocrinology*, 2016, 104(2): 194-208.
- [32] Akinci M K, Schofield P R. Widespread expression of gaba(a) receptor subunits in peripheral tissues[J]. *Neuroscience Research*, 1999, 35(2): 145.
- [33] 徐同铜, 钟刚, 王希春, 等. 脂肪包被  $\gamma$ -氨基丁酸对持续热应激奶牛 HPA 轴和部分免疫指标的影响[J]. *南京农业大学学报*, 2014, 37(1): 127-132.
- [34] Farzi A, Fröhlich E E, Holzer P. Gut microbiota and the neuroendocrine system[J]. *Neurotherapeutics*, 2018, 15(1): 5-22.
- [35] Zhe J, Suresh Kumar M, Bryndis B. Gaba is an effective immunomodulatory molecule[J]. *Amino Acids*, 2013, 45(1): 87-94.
- [36] Krantis A. Gaba in the mammalian enteric nervous system[J]. *News Physiol Sci*, 2000, 15(6): 284-290.
- [37] Hong H-K, Maury E, Ramsey K M, et al. Requirement for nf-kb in maintenance of molecular and behavioral circadian rhythms in mice[J]. *Genes & Development*, 2018, 32: 1-13.

- [38] Minerwilliams W M, Moughan P J. Intestinal barrier dysfunction: Implications for chronic inflammatory conditions of the bowel[J]. *Nutrition Research Reviews*, 2016, 29(1): 40-59.
- [39] Hyland N P, Cryan J F. A gut feeling about gaba: Focus on gabab receptors[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2010, 1: 124.
- [40] Mazzoli R, Pessione E. The neuro-endocrinological role of microbial glutamate and gaba signaling[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7(22): 1932.
- [41] 林智, 大森正司.  $\gamma$ -氨基丁酸茶(gabarontea)降血压机理的研究[J]. *茶叶科学*, 2001, 21(2): 153-156.
- [42] Abbott N J, Patabendige A A K, Dolman D E M, et al. Structure and function of the blood-brain barrier[J]. *Neurobiology of Disease*, 2010, 37(1): 13-25.
- [43] Roberts E, Lowe I P, Guth L, et al. Distribution of  $\gamma$ -aminobutyric acid and other amino acids in nervous tissue of various species[J]. *Journal of Experimental Zoology*, 1958, 138(2): 313-328.
- [44] Kuriyama K, Sze P Y. Blood-brain barrier to h<sup>3</sup>-gamma-aminobutyric acid in normal and amino oxyacetic acid-treated animals[J]. *Neuropharmacology*, 1971, 10(1): 103-108.
- [45] Takanaga H, Ohtsuki S, Hosoya K, et al. Gat2/bgt-1 as a system responsible for the transport of gamma-aminobutyric acid at the mouse blood-brain barrier[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2001, 21(10): 1232-1239.
- [46] Kakee A, Takanaga H, Terasaki T, et al. Efflux of a suppressive neurotransmitter, gaba, across the blood-brain barrier[J]. *Journal of Neurochemistry*, 2001, 79(1): 110-118.
- [47] Al-Sarraf H. Transport of <sup>14</sup>c- $\gamma$ -aminobutyric acid into brain, cerebrospinal fluid and choroid plexus in neonatal and adult rats[J]. *Developmental Brain Research*, 2002, 139(2): 121-129.
- [48] Li Q, Wang S, Xiao W, et al. Bbb: Permeable conjugate of exogenic gaba[J], 2017, 2(8): 4108-4111.
- [49] Löscher W, Frey H. H. Transport of gaba at the blood-csf interface[J]. *Journal of Neurochemistry*, 1982, 38(4): 1072-1079.
- [50] Helms H C, Abbott N J, Burek M, et al. In vitro models of the blood-brain barrier: An overview of commonly used brain endothelial cell culture models and guidelines for their use[J]. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 2016, 36(5): 862-890.

- [51] Uchida Y, Ohtsuki S, Katsukura Y, et al. Quantitative targeted absolute proteomics of human blood-brain barrier transporters and receptors[J]. *Journal of Neurochemistry*, 2011, 117(2): 333-345.
- [52] Kempson S A, Zhou Y, Danbolt N C. The betaine/gaba transporter and betaine: Roles in brain, kidney, and liver[J]. *Frontiers in Physiology*, 2014, 5(5): 159.
- [53] Schousboe A, Larsson O M, Sarup A, et al. Role of the betaine/gaba transporter (bgt-1/gat2) for the control of epilepsy[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2004, 500(1-3): 281.
- [54] Ruiz - Tachiquín M E, Sánchez - Lemus E, Soria - Jasso L E, et al. -aminobutyric acid transporter (bgt-1) expressed in human astrocytoma u373 mg cells: Pharmacological and molecular characterization and phorbol ester-induced inhibition [J]. *Journal of Neuroscience Research*, 2010, 69(1): 125-132.
- [55] Blanchette M, Daneman R. Formation and maintenance of the bbb[J]. *Mechanisms of Development*, 2015, 138: 8-16.
- [56] Sofroniew M V, Vinters H V. Astrocytes: Biology and pathology[J]. *Acta Neuropathologica*, 2010, 119(1): 7-35.
- [57] Lee M, Mcgeer E G, Mcgeer P L. Mechanisms of gaba release from human astrocytes[J]. *Glia*, 2011, 59(11): 1600-1611.
- [58] Kaiser M A, Sajja R K, Prasad S, et al. New experimental models of the blood-brain barrier for cns drug discovery[J]. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 2017, 12(1): 89-103.
- [59] Busard F P, Jones A W. Ghb pharmacology and toxicology: Acute intoxication, concentrations in blood and urine in forensic cases and treatment of the withdrawal syndrome[J]. *Current Neuropharmacology*, 2015, 13(1): 47-70.
- [60] Daniel P, Jed B. Gamma-hydroxybutyrate/sodium oxybate: Neurobiology, and impact on sleep and wakefulness[J]. *Cns Drugs*, 2006, 20(12): 993-1018.
- [61] Maitre M, Klein C, Mensah - Nyagan A G. Mechanisms for the specific properties of  $\gamma$  - hydroxybutyrate in brain[J]. *Medicinal Research Reviews*, 2016, 36(3): 363-388.
- [62] Luca G, Vienne J, Vaucher A, et al. Central and peripheral metabolic changes induced by gamma-hydroxybutyrate[J]. *Sleep*, 2015, 38(2): 305-313.
- [63] Castro A L, Dias M, Reis F, et al. Gamma-hydroxybutyric acid endogenous production and post-mortem behaviour - the importance of different biological matrices, cut-off reference values, sample collection and storage conditions[J]. *Journal of Forensic & Legal Medicine*, 2014, 27: 17-24.

- [64] Thomsen R, Rasmussen B S, Johansen S S, et al. Postmortem concentrations of gamma-hydroxybutyrate (ghb) in peripheral blood and brain tissue - differentiating between postmortem formation and antemortem intake[J]. *Forensic Science International*, 2017, 272: 154-158.
- [65] Pearl P L, Gibson K M, Cortez M A, et al. Succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency: Lessons from mice and men[J]. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 2009, 32(3): 343-352.
- [66] Ravasz D, Kacso G, Fodor V, et al. Catabolism of gaba, succinic semialdehyde or gamma-hydroxybutyrate through the gaba shunt impair mitochondrial substrate-level phosphorylation[J]. *Neurochemistry International*, 2017, 109: 41-43.
- [67] Daniel D, Jihwan M, Mino D C B, et al. Distinct roles for gaba across multiple timescales in mammalian circadian timekeeping[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(29): E3911-E3919.
- [68] Qin J, Li R, Raes J, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing[J]. *Nature*, 2010, 464(7285): 59-65.
- [69] 施淑燕, 杨成凤, 李秋哲, 等. 肠道菌群介导的营养素与基因相互作用在睡眠调节中的研究[J]. *中国微生态学杂志*, 2017, 29(11): 99-105.
- [70] Strandwitz P, Kim K H, Terekhova D, et al. Gaba-modulating bacteria of the human gut microbiota[J]. *Nature Microbiology*, 2019, 4(3): 396-403.