

“几种重要食品资源提质利用” 特约专栏文章之一

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2020.03.001

# 绿茶提取物 EGCG 对老年痴呆鼠和肥胖鼠的改善作用研究

刘 杨, 张万圣, 顾仁济, 刘 云

(北京化工大学 生命科学与技术学院, 北京 100029)

**摘要:** 以老年痴呆症和肥胖症模型小鼠为实验对象, 每天用 50 mg/kg 的绿茶提取物(-)表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)喂食 30 d, 分别从实验鼠的外形、生化指标和组织切片等指标进行分析, 探讨 EGCG 对老年痴呆症和肥胖的改善作用。结果表明, EGCG 能改善老年痴呆症小鼠大脑认知水平, 作用机制可能与脑组织胆碱乙酰转移酶(ChAT)和乙酰胆碱酯酶(AchE)酶活、丙二醛(MDA)含量和  $\beta$ -淀粉样蛋白-42(A $\beta$ 42)沉积有关。EGCG 具有抑制肥胖功效, 其作用机制可能与体内血清脂肪酶和淀粉酶活力有关, 影响脂肪和能量代谢。同时, EGCG 还具有一定的修复肥胖引起的肝损伤的作用。这一研究成果为绿茶功能食品的开发奠定了理论基础。

**关键词:** 绿茶提取物; (-)表没食子儿茶素没食子酸酯; 老年痴呆症鼠; 肥胖鼠; 胆碱乙酰转移酶; 乙酰胆碱酯酶;  $\beta$ -淀粉样蛋白-42; 肝组织空泡化; 脂肪浸润

中图分类号: TS201.1 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2020)03-0001-09

网络首发时间: 2020-04-21 11:18:00

网络首发地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3863.ts.20200420.1721.001.html>

## Effect of green tea extract EGCG on the improvement of Alzheimer's and obesity mice

LIU Yang, ZHANG Wan-sheng, GU Ren-ji, LIU Yun

(College of Life Science and Technology, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

**Abstract:** The present work reports the positive effect of green tea extract EGCG on the improvement of Alzheimer's and obesity mice with the administration of 50 mg EGCG/kg mice every day for 30 days, and the mechanism is elucidated from three aspects of mice body, biochemical indexes and tissue immunology. The results showed that the EGCG can improve the cognitive function of Alzheimer's mice, its function mechanism is probably attributed to enzyme activities of choline acetyltransferase (AChE) and acetylcholine esterase (ChAT), as well as the content of malondialdehyde (MDA) in serum and the accumulate of  $\beta$ -amyloid protein 42 (A $\beta$ 42) in the hippocampus. Furthermore, EGCG has a positive effect on the inhibition against obesity disease, it is related to the enzyme activities of lipase and amylase in serum of obesity mice, which will affect triglycerol metabolism and energy intake. It is worthily noticed that EGCG can protect obesity-induced liver tissue damage. The findings in this work will provide future directions for development of green tea functional foods.

收稿日期: 2020-03-02

基金项目: 北京市自然科学基金(5142013); 农业部农业技术试验示范与服务支持项目(农产品加工)(2267004600)

作者简介: 刘杨, 1990年出生, 女, 硕士生, 研究方向为功能食品的研究。

通讯作者: 刘云 (ORCID: 0000-0002-7521-3831), 男, 教授, 博导, 研究方向为功能食品和生物资源利用, E-mail: liuyun@mail.buct.edu.cn

**Key words:** green tea extract; (-)-epigallocatechin gallate (EGCG); alzheimer's mice; obesity mice; choline acetyltransferase (ChAT); acetylcholine esterase (AChE);  $\beta$ -amyloid protein 42 ( $A\beta$ 42); liver tissue vacuolation; adipose infiltration

绿茶中含丰富的儿茶素, 约为干重的 30%~42%。儿茶素有多种结构类似物, 包括表没食子儿茶素没食子酸酯 ((-)-epigallocatechin gallate, EGCG)、表儿茶素没食子酸酯 ((-)-epicatechin gallate, ECG)、表没食子酸酯儿茶素 ((-)-epigallocatechin, EGC) 和没食子儿茶素没食子酸酯 ((-)-Gallocatechin gallate, GCG) 等, 其中, EGCG 含量最高, 约占茶多酚总量 80%<sup>[1]</sup>。文献报道, EGCG 具有多种生理活性<sup>[1]</sup>, 如清除自由基, 防止活性氧生成等抗氧化活性<sup>[2]</sup>、抗菌和抗病毒活性等<sup>[3]</sup>。研究表明, EGCG 是癌症<sup>[4]</sup>、糖尿病<sup>[5]</sup>、肥胖<sup>[6]</sup>以及老年痴呆症<sup>[1]</sup>等患者的潜在改善剂。

EGCG 改善老年痴呆症的作用机制与淀粉样  $A\beta$  蛋白成纤有关。譬如, 刘杨等和 Zhan 等研究表明<sup>[1,7]</sup>, EGCG 能改变  $A\beta$  蛋白的聚集路径, 形成无规则、无毒性聚集体, 降低毒性。有研究显示, EGCG 影响  $A\beta$  淀粉样蛋白聚集成纤不是通过改变  $A\beta$  蛋白的聚集路径, 而是通过影响成纤过程中的最初成核阶段<sup>[8]</sup>。热力学研究表明, EGCG 与  $A\beta$ 42 蛋白相互作用是氢键和疏水作用的非特异性结合<sup>[9]</sup>。多酚化学结构明显影响淀粉样  $A\beta$  蛋白聚集效果, 多酚化合物结构中的羟基数目和位置均对淀粉样蛋白聚集的抑制效果起到关键作用<sup>[10-11]</sup>。

EGCG 作为糖尿病和肥胖患者的改善剂, 其作用机理是抑制人体内  $\alpha$ -淀粉酶和脂肪酶活性, 从而影响葡萄糖和脂肪代谢。Wang 等<sup>[12]</sup>从分子水平上, 揭示了 EGCG 与胰脂肪酶相互作用关系, 探讨 EGCG 对脂肪酶活力和抑制类型、酶蛋白结构、反应动力学和热力学等影响。Fei 等<sup>[13]</sup>报道茶多酚不仅有效地抑制  $\alpha$ -淀粉酶活力, 而且还都能改变  $\alpha$ -淀粉酶构象。Cheng 等<sup>[14]</sup>认为茶多酚抑制淀粉酶活力与其结构上的羟基数量和位置有关, 相比 ECG 而言, EGCG 抑制  $\alpha$ -淀粉酶活性要强。Forester 等<sup>[15]</sup>通过动物喂养实验发现, EGCG 降低实验鼠体内血糖浓度, 原因是 EGCG

抑制了体内淀粉酶活力。

本文以 SAMP8 老年痴呆鼠和 ob/ob 肥胖小鼠为模型, 通过喂食 30 d 后, 观察实验鼠外形、生化特性和组织形态切片等指标变化, 探讨 EGCG 对老年痴呆鼠和肥胖鼠的改善作用机制, 为 EGCG 功能食品的开发奠定理论基础。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 实验材料与动物分组

绿茶提取物 EGCG, EGCG 纯度  $\geq 98\%$ : 上海绿叶生物技术有限公司。

SAMP-8 老年痴呆实验模型小鼠: 数量 10 只, 雄性, 体重(27 $\pm$ 2) g, 年龄 3 个月, 实验分两组, 每组 5 只。SAMR-1 小鼠为实验对照组: 数量 5 只, 雄性, 体重(29 $\pm$ 2) g, 年龄 3 个月, 健康。

ob/ob 肥胖实验模型小鼠: 数量 10 只, 雄性, 体重(27 $\pm$ 2) g, 年龄 5 个月, 实验分两组, 每组 5 只。C57BL/6 小鼠为实验对照组: 数量 5 只, 雄性, 体重(20 $\pm$ 2) g, 年龄 5 个月, 健康。

实验小鼠购于北大实验动物中心, 饲养条件: 温度(23 $\pm$ 2)  $^{\circ}\text{C}$ , 湿度 50% $\pm$ 10%, 光照 12 h 昼夜交替, 自由取食。

实验前, 首先将模型小鼠进行 7d 的适应性饲养, 然后将模型小鼠随机分为数量相等的两组, 一组为阳性对照组 (患病组), 另一组为 EGCG 处理组 (给药组)。同龄健康小鼠为阴性对照组 (Control 组)。喂食 30 d 期间, 给药组小鼠每天给为 50 mg/kg/d 的 EGCG, 给药方式为灌胃给药, 阳性和阴性对照组小鼠同样以灌胃给药方式, 每天给以 50 mg/kg/d 的生理盐水。

### 1.2 体长、体重和 Lee's 体重指数

实验肥胖小鼠的体长和体重分 3 个阶段测量, 给药前为第 1 阶段测量并记录小鼠的体重和体长; 给药期间, 每 3 d 测量 1 次并记录小鼠体重为第 2 阶段; 等喂食 30 d 结束后, 第 3 阶段测量并记录小鼠体重和体长。根据给药前后小鼠体重和体长的变化, 计算肥胖鼠 Lee's 指数, 计算

公式如下:

$$\text{Lee's 指数} = \frac{(\text{体重(g)} \times 1000)^{1/3}}{\text{体长(cm)}} \quad (1)$$

### 1.3 组织样品的分离与称重

按照文献<sup>[16]</sup>方法和步骤, 分离动物组织。简单来说, 喂食 30 d 结束后, 杀死老年痴呆小鼠, 分离脑组织, 先浸泡于 0.9% 盐水中, 然后解剖大脑皮层和海马区, 称重, 评价 EGCG 给药前后, 老年痴呆小鼠脑组织重量的变化。

喂食 30 d 结束后, 杀死肥胖小鼠, 分离小鼠腹腔内脂肪组织和肝组织, 分别称湿重, 计算脂肪组织相对重量, 评价 EGCG 给药前后, 肥胖小鼠脂肪组织重量的变化。

### 1.4 生化指标检测

#### 1.4.1 乙酰胆碱酯酶 (AChE) 和乙酰胆碱转移酶 (ChAT) 活力测定

研究表明, 反映老年痴呆患者的重要生化指标之一, 就是脑组织中 AChE 和 ChAT 活力发生改变<sup>[17]</sup>。将预冷的裂解液分别加入到上述分离得到的大脑皮层 (cerebral cortex) 和海马区 (Hippocampus) 组织中, 充分匀浆后, 4 °C 高速离心 10 min, 转速为 13 000 ×g, 之后轻轻吸取上清液加入 2 mL 离心管中, 置于 4 °C 冰箱中备用。按照酶活检测试剂盒说明书操作步骤, 采用分光光度法, 测定 AChE 和 ChAT 活力, 评价 EGCG 给药前后, 对老年痴呆鼠脑组织生化指标改善的影响。

#### 1.4.2 丙二醛 (MDA) 含量测定

体内脂质过氧化终产物丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 的蓄积, 会诱发神经元凋亡, 导致大脑认知功能障碍<sup>[18]</sup>。根据文献<sup>[1]</sup>方法, 分析小鼠大脑皮层 (cerebral cortex) 和海马区 (Hippocampus) 匀浆中的 MDA 含量变化, 评价 EGCG 喂食前后, 对老年痴呆鼠改善作用的影响。

#### 1.4.3 血脂指标测定

按照文献<sup>[1]</sup>所述步骤, 根据试剂盒说明书操作方法, 分别测定实验小鼠血清中总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白 (HDL-C) 和游离脂肪酸 (FFA) 的含量, 评价 EGCG 喂食

前后, 对肥胖鼠改善作用的影响。

#### 1.4.4 淀粉酶和脂肪酶活力测定

根据酶活检测试剂盒说明书操作步骤, 分析小鼠血浆样品中淀粉酶和脂肪酶活力, 评价 EGCG 喂食前后, 对肥胖鼠改善作用的影响。

### 1.5 组织形态学观察

#### 1.5.1 蛋白组织免疫学分析

通过脑组织病理切片和蛋白免疫组化方法, 分析 A $\beta$ 42 蛋白在海马体和大脑皮层的沉积情况, 初步探讨 EGCG 喂食前后, 对老年痴呆鼠改善作用机制, 具体分析方法和步骤详见文献<sup>[1][19]</sup>。

#### 1.5.2 脂肪组织切片观察

依次将小鼠脂肪组织进行 4% 甲醛固定、石蜡包埋、4  $\mu$ m 厚切片和 HE 染色等处理后, 采用光学显微镜, 放大倍数 ( $\times 100$  倍和  $\times 400$  倍) 条件下观察脂肪组织形态变化<sup>[1]</sup>。

#### 1.5.3 肝组织切片观察

类似 1.5.2 操作方法, 采用 HE 染色和油红 (Oil red O) 染色, 分析肝组织病理变化。

### 1.6 统计学分析

所有实验数据采用 SPASS 22.0 进行方差分析和显著性检验 ( $P < 0.05$ ), 用平均数  $\pm$  SD 表示最终数据结果。

## 2 结果与讨论

### 2.1 EGCG 对老年痴呆小鼠和肥胖小鼠体长、体重和 Lee's 指数的影响

实验小鼠喂食 EGCG 前后, 小鼠体重和体长的变化值, 以及肥胖小鼠的 Lee's 指数等测定结果列于表 1。由表 1 可知, 对于老年痴呆模型小鼠而言, 阴性对照组、阳性对照组 (AD 组) 和给药组 (EGCG 组) 相比, 经统计学分析, 小鼠体重和体长没有呈现显著性变化, 表明大脑认知功能障碍不会影响实验小鼠的正常食物摄入, 不影响小鼠体重和体长的发育。这一现象与 Liu 等<sup>[20]</sup>报道结果相一致, Liu 等认为, EGCG 喂食老年痴呆鼠 12 周, 小鼠的体重和食物摄入没有明显变化<sup>[20]</sup>。对于肥胖模型小鼠来讲, 相比阴性对照组, 阳性对照组和 EGCG 给药组小鼠体重变化, 具有统计学上的显著性变化 ( $P < 0.05$ ), 体重明显增加, 但是 EGCG 给药组比阳性对照组小鼠的体重要

表 1 EGCG 对实验小鼠体重和体长变化以及 Lee's 指数的影响

实验小鼠分组		体重变化值 /g	体长变化值 /cm	Lee's 指数
老年痴呆小鼠	阴性对照组	0.07±1.45	2.26±0.22	
	阳性对照组	0.09±0.45	3.78±0.32	
	给药组	0.12±0.28	1.36±0.14	
肥胖小鼠	阴性对照组	4.90±1.11	0.77±0.28	0.27±0.13
	阳性对照组	12.92±1.10 <sup>a</sup>	0.47±0.22	0.82±0.11 <sup>a</sup>
	给药组	8.02±1.00 <sup>ab</sup>	0.36±0.22 <sup>c</sup>	0.51±0.07 <sup>cd</sup>

注: a:  $b < 0.001$  vs Control; b:  $p < 0.05$  vs Obese; c:  $b < 0.05$  vs Control; d:  $b < 0.001$  vs Obese

轻, 结果表明, EGCG 可能有效地抑制肥胖小鼠的体重增加。

## 2.2 EGCG 对老年痴呆小鼠脑组织生化指标和蛋白免疫学的影响

### 2.2.1 AChE 和 ChAT 酶活分析

AchE 和 ChAT 是调控乙酰胆碱神经递质的重要酶系, 乙酰胆碱神经递质的下降, 会导致大脑认知功能的降低, 诱发老年痴呆病症<sup>[21]</sup>。通过分析实验小鼠的脑组织海马体 and 大脑皮层中 AchE 和 ChAT 酶活力变化, 研究 EGCG 喂食对老年痴呆鼠的改善作用机制, 实验结果见表 2。

表 2 EGCG 对老年痴呆鼠脑组织 AchE 和 ChAT 酶活力的影响

老年痴呆实验小鼠分组	AchE 酶活/(U/mg)		ChAT 酶活/(U/mg)	
	海马区	大脑皮层	海马区	大脑皮层
阴性对照组	1.01±0.43	0.99±0.27	87.27±7.77	80.97±5.53
阳性对照组	0.96±0.30	0.73±0.25	77.89±13.00	73.77±7.67
给药组	0.98±0.11	1.01±0.61	87.01±5.85	82.30±2.73

由表 2 可知, 相对于阴性对照组, AD 组小鼠脑组织海马区 and 大脑皮层中的 AchE 和 ChAT 活力较低。EGCG 给药 30 d 后, AchE 和 ChAT 活力增加, 接近甚至略高于阴性对照组, 表明 EGCG 对老年痴呆鼠的大脑认知功能有一定改善作用。这一结果在文献报道中也得到验证<sup>[22]</sup>。Wang 等<sup>[22]</sup>报道, 增强 ChAT 活力, 提高乙酰胆碱神经递质水平, 对大脑神经有良好的保护作用。

### 2.2.2 MDA 含量分析

MDA 是脂质过氧化最终产物, 反映细胞氧化应激损伤程度的重要指标<sup>[1,7]</sup>。实验小鼠脑组织海马区 (Hippocampus) and 大脑皮层 (cerebral cortex) 中 MDA 含量变化结果见图 1。

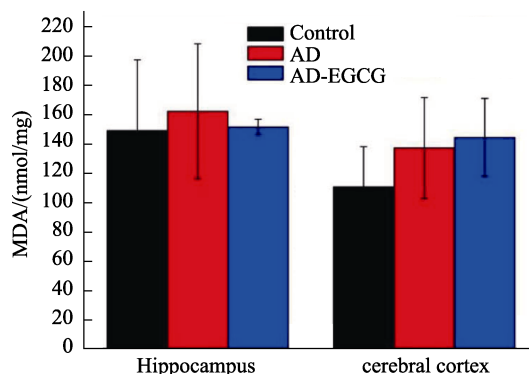


图 1 老年痴呆小鼠脑组织中 MDA 含量变化的影响

由图 1 可知, 相比于阴性对照组 control 小鼠脑组织海马区 (145 nmol/mg) and 大脑皮层 (110 nmol/mg) 而言, 阳性对照组 AD 小鼠脑组海马区 (161 nmol/mg) and 大脑皮层 (137 nmol/mg) MDA 含量要高, 表明老年痴呆鼠脑组织中 MDA 水平较高, 这一结果与前人报道相一致<sup>[23]</sup>。EGCG 给药 30 d 后, 小鼠脑组织海马区 MDA 含量下降, 基本与阴性对照组相接近, 表明 EGCG 可以降低脂质过氧化应激对大脑的损伤, 有利于老年痴呆鼠神经改善。Yin 等<sup>[24]</sup>研究发现, EGCG 可以降低铅诱导的老年痴呆鼠脑组织海马区 MDA 水平。有趣的是, 实验发现 EGCG 给药组小鼠大脑皮层 MDA 含量 (144.52±26.74) nmol/mg 上升, 表明 EGCG 给药组小鼠大脑皮层仍存在一定的氧化应激损伤。这一现象与 Wu 等<sup>[25]</sup>实验结果相一致, 文献作者同样发现, EGCG 对脑缺血 I/R 模型大鼠脑组织海马区 and 大脑皮质中 MDA 水平影响, 存在差异。

### 2.2.3 蛋白组织免疫学分析

实验小鼠脑组织海马体选择了 3 个区域, 分别为 CA31、CA3 和 DG 区, 大脑皮层选择 1 个区域为 CER 区, 分析 A $\beta$ 42 蛋白在脑组织中的沉积情况, 进一步探讨 EGCG 喂食对老年痴呆鼠脑组织认知功能的改善作用机制, 结果见图 2。

如图 2 所示, 图中蓝色表示细胞核, 图中棕黄色表示 A $\beta$ 42 蛋白沉积体。结果表明, 虽然阴性对照组小鼠脑组织海马体 and 大脑皮层均有少量 A $\beta$ 42 蛋白沉积体, 但是, 阳性对照组小鼠的海马体 and 大脑皮层中, A $\beta$ 42 蛋白沉积体明显增多。EGCG 给药 30 d 后, 小鼠海马体 and 大脑皮层中 A $\beta$ 42 蛋白沉积体少于阳性对照组, 基本接近阴性

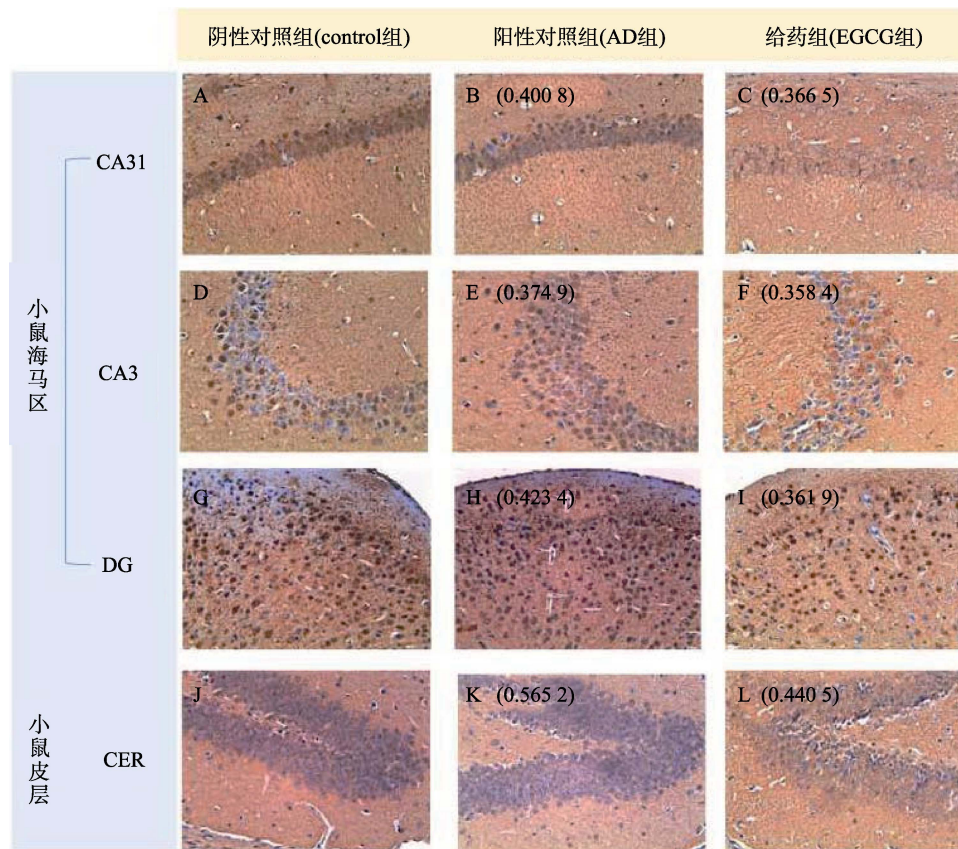


图 2 EGCG 对老年痴呆鼠脑组织海马区和大脑皮层区  $A\beta_{42}$  蛋白沉积的影响

对照组,这一现象在小鼠海马 CA3 区尤为明显(图 2D-F)。采用 image-Pro 6.0 测定了阳性对照组和给药组小鼠脑组织的平均光密度值(见图 2 左上角数字),定量说明  $A\beta_{42}$  蛋白沉积体数量。相比阳性对照组而言,EGCG 给药组小鼠脑组织中  $A\beta_{42}$  沉积体平均光密度值低,表明  $A\beta_{42}$  蛋白在小鼠脑组织中沉积受到了抑制。研究认为,  $A\beta_{42}$  蛋白沉积成纤,是诱发老年痴呆病症的主要原因<sup>[1,7]</sup>。Liu 等<sup>[26]</sup>同样证实了上述结论,EGCG 给药 4 周后,经统计学分析,APP/PS1 小鼠海马区  $A\beta_{42}$  蛋白沉积物明显低于模型组( $P<0.05$ )。

### 2.3 EGCG 对肥胖小鼠脂肪组织生化特性的影响

研究了肥胖小鼠喂食 EGCG 前后,小鼠各脏器脂肪组织的重重变化,结果见图 3a。由图 3a 可知,与阴性对照组相比,阳性对照组小鼠腹腔内肠系膜(Mesenteric)、附睾(Epididymal)、腹膜(Retroperitoneal)的脂肪重量以及脂肪总重量均呈现显著升高趋势( $P<0.001$ )。EGCG 给药 30 d 后,与阳性对照组相比,给药组小鼠各脏器

脂肪组织明显下降( $P<0.05$ ),表明 EGCG 对肥胖小鼠有一定的抑制作用。图 3b 表示实验小鼠的肝脏重量和肝指数变化情况,阳性对照组小鼠的肝重和肝指数都明显高于阴性对照组( $P<0.001$ ),EGCG 给药 30 d 后,小鼠的肝脏重量和肝指数有所下降,但是,没有呈现统计学上的显著性。实验小鼠血清中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL-C)和游离脂肪酸(FFA)等生化指标变化情况见图 3c。由图可知,与阴性对照组相比,阳性对照组小鼠血清各项指标均高。EGCG 给药 30 d 后,相比阳性对照组来讲,给药组小鼠血清大部分指标都有所降低,经统计学分析,TC 降低效果显著( $P<0.05$ ),但是血清中 HDL-C 指标比阴性对照组上升,提高了约 1.36 倍。一般来说,高密度脂蛋白可以将身体中胆固醇运输到身体各个器官,来提高身体免疫力,防止动脉粥样硬化。通过实验小鼠血清指标分析表明,EGCG 可以改善肥胖小鼠血清指标,对肥胖有一定抑制效果,这一结论与 Hong 等<sup>[27]</sup>报道相一致。最后,采用酶活检测试剂盒,分析了实验小鼠血清中脂肪酶(lipase)和淀粉酶(amyase)

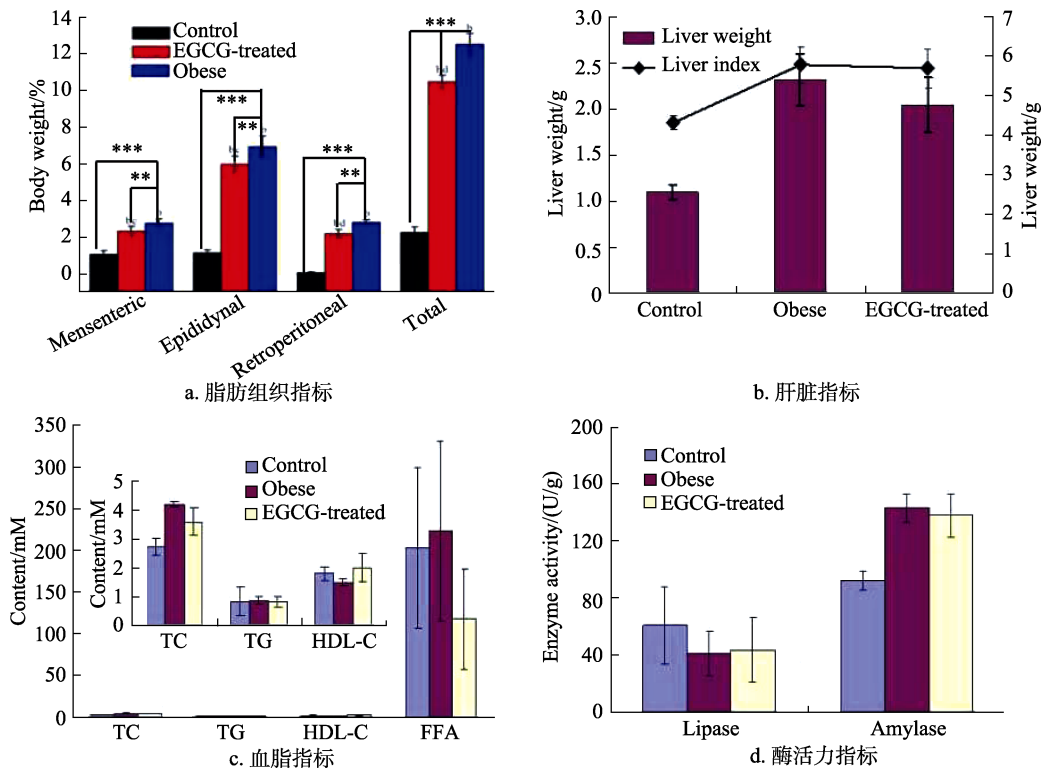


图 3 EGCG 对肥胖小鼠脂肪组织生化特性的影响

(注: \*\*\*表示为  $P < 0.001$ , \*\*表示为  $P < 0.05$ )

活力, 结果见图 3d。由图可知, EGCG 喂食 30 d 后, 与阳性对照组相比, 给药组小鼠血清中脂肪酶活力基本不变, 而淀粉酶活力降低, 表明在体内生理条件下 EGCG 是通过抑制淀粉酶活力, 降低能量过度摄入, 来发挥抑制肥胖功效的作用。这一结论与 Rouse 等<sup>[28]</sup>报道相一致, 文献作者采用高脂和高碳水化合物饲料来喂饲模型小鼠, 之后皮下注射艾塞那肽 6 周, 检测小鼠血清中脂肪

酶和淀粉酶活力, 结果显示脂肪酶活力没有发生变化, 而淀粉酶活力却下降了, 证明了 EGCG 通过降低小鼠能量摄入来抑制肥胖。

## 2.4 EGCG 对肥胖小鼠组织形态的影响

### 2.4.1 EGCG 对小鼠脂肪组织形态的影响

EGCG 喂食 30 d 前后小鼠脂肪细胞形态, 结果见图 4。按照文献<sup>[29]</sup>报道方法, 计算脂肪组织细胞横截面积, 结果见图 5。

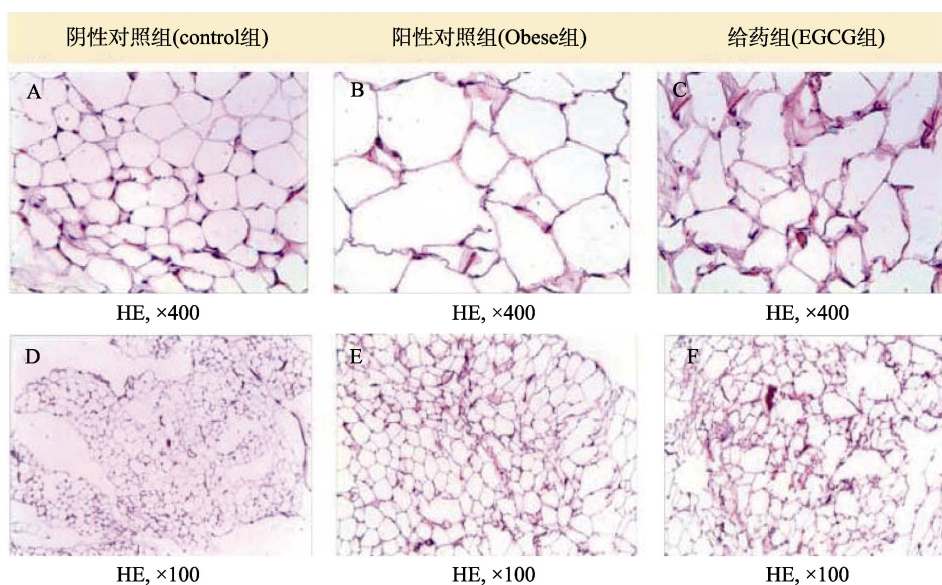


图 4 小鼠脂肪组织形态观察

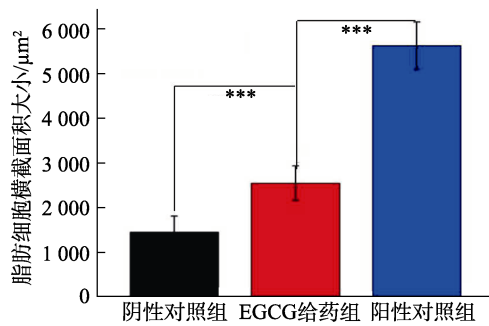


图 5 EGCG 对小鼠脂肪细胞横截面积的影响  
(注: \*\*\*表示为  $P < 0.001$ )

由图 4 可知, 阴性对照组小鼠的脂肪细胞排列规整, 细胞膜形态清晰, 阳性对照组小鼠的脂肪细胞内腔体积增大, 细胞排列松散, 细胞膜变得模糊。EGCG 喂食 30 d 后, 给药组小鼠脂肪细

胞的细胞膜虽然仍不十分清晰, 但是, 与阳性对照组相比, 给药组小鼠脂肪细胞内腔体积变小, 细胞排列相对紧凑。由脂肪组织横截面积大小可知 (图 5), 与阳性对照组相比, EGCG 喂食 30 d 后, EGCG 给药组小鼠脂肪细胞横截面积显著降低 ( $P < 0.001$ ), 表明 EGCG 具有一定的抑制小鼠肥胖的功效。类似地, Melo 等<sup>[30]</sup>从小鼠脂肪细胞的横截面积的变化, 认为天然三萜类桦木酸对小鼠减肥有一定作用。

#### 2.4.2 EGCG 对小鼠肝组织形态的影响

通过组织切片, 观察实验小鼠肝组织形态的变化情况, 研究 EGCG 肥胖引起肝组织损伤的修复功效, 结果见图 6。

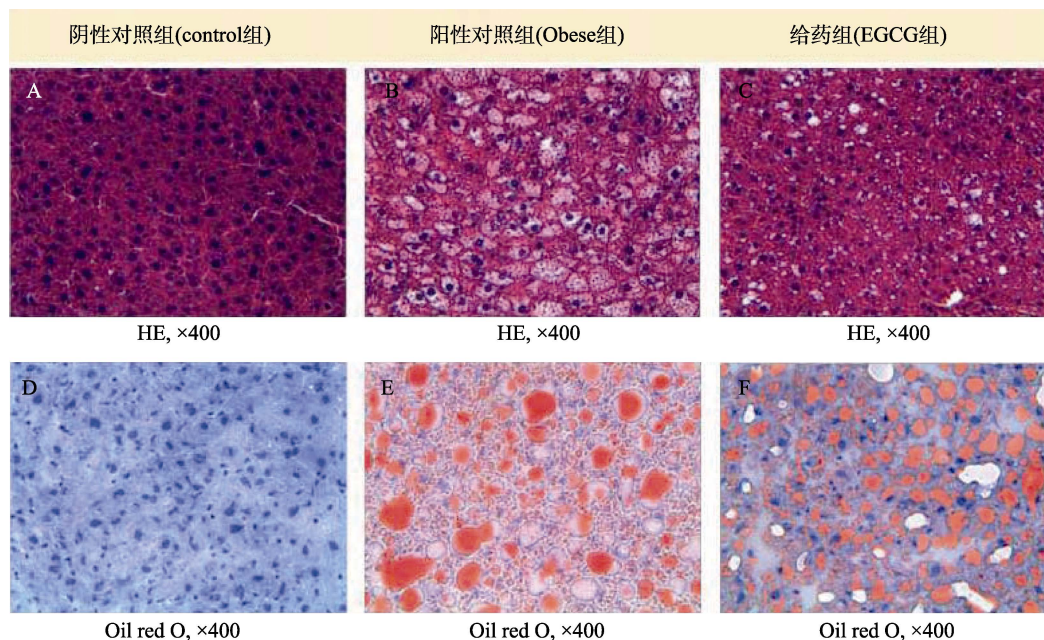


图 6 EGCG 修复肥胖引起的肝损伤

图 6 可知, 阴性对照组小鼠肝细胞排列整齐, 结构清晰, 胞浆均匀, 而阳性对照组肥胖小鼠肝细胞体积增大, 胞浆浅染, 细胞核周围呈明显空泡化。EGCG 喂食 30 d 后, 给药组小鼠肝组织细胞界限明显, 空泡面积明显减少, 病理症状减轻。进一步通过油红染色, 观察小鼠肝组织脂肪浸润情况, 结果发现, 阴性对照组健康小鼠肝组织切片中未见脂滴, 而阳性对照组肥胖小鼠肝组织脂肪浸润严重。EGCG 喂食 30 d 后, 给药组小鼠肝组织脂滴体积变小, 脂肪浸润现象减轻。由此可见, EGCG 对肥胖引起的肝脏损伤起到了一定的

保护作用。这一结论与 Fiorini 等<sup>[31]</sup>报道结果一致。

### 3 结论

以模型小鼠为研究对象, 从动物组织个体水平, 研究了绿茶提取物 EGCG 对老年痴呆症鼠和肥胖鼠的改善作用。

EGCG 喂食前后, 老年痴呆鼠的体长、体重与正常对照组没有显著变化, 表明老年痴呆这一神经退行性疾病不影响患病小鼠正常饮食和能量摄入。EGCG 喂食 30 d 后, 老年痴呆鼠血清中 AchE 和 ChAT 活力升高, 接近于阴性对照组, 说


明 EGCG 可以提高体内乙酰胆碱神经递质, 有利于大脑认知能力的提升。大脑皮层中 MDA 含量降低, 表明 EGCG 对老年痴呆鼠氧化应激损伤有改善作用。脑组织切片和免疫组化实验显示, EGCG 能够抑制小鼠海马体 and 大脑皮层中 A $\beta$ 42 沉积, 抑制诱发老年痴呆症的发生。

EGCG 喂食 30 d, 肥胖鼠体重、体长和 Lee's 指数明显降低, 肝重量和肝指数变化不明显, 血脂指标降低, 淀粉酶活力下降, 表明 EGCG 有一定的抑制肥胖功效。组织切片显示, EGCG 对肥胖引起的肝损伤具有一定的保护作用。

### 参考文献:

- [1] 刘杨. EGCG 结构类似物与 A $\beta$  蛋白和  $\alpha$ -淀粉酶相互作用机理研究[D]. 北京化工大学硕士学位论文, 2016.
- [2] SANG S, LAMBERT J D, HO C T, et al. The chemistry and biotransformation of tea constituents[J]. *Pharmacological Research the Official Journal of the Italian Pharmacological Society*, 2011, 64(2): 87-99.
- [3] WEI L, FERNANDES A P, HOLMGREN A, et al. Bacterial thioredoxin and thioredoxin reductase as mediators for epigallocatechin 3-gallate-induced antimicrobial action[J]. *Febs Journal*, 2015, 283(3). 10. 1111/febs. 13587
- [4] WANG X, HAO M. Apoptosis induction effects of EGCG in laryngeal squamous cell carcinoma cells through telomerase repression[J]. *Archives of Pharmacal Research*, 2009, 32(9): 1263-1269.
- [5] CAI E P, JEN-KUN L. Epigallocatechin gallate (EGCG) and rutin suppress the glucotoxicity through activating IRS2 and AMPK signaling in rat pancreatic beta cells[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2009, 57(20): 9817-9827.
- [6] SHU W, NAIMA M M, LIXIA C, et al. Novel insights of dietary polyphenols and obesity[J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2014, 25(1): 1-18.
- [7] ZHAN W, LIU Y, LI D, et al. Advancing insights on the anti-obesity biochemical mechanism of (-) epigallocatechin gallate (EGCG) by inhibiting  $\alpha$ -amylase activity [J]. *RSC Adv.*, 2016, 6, 96918-96927.
- [8] EHRNHOFER D E, BIESCHKE J, BOEDDRICH A, et al. EGCG redirects amyloidogenic polypeptides into unstructured, off-pathway oligomers[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2008, 15(6): 558-566.
- [9] WANG S H, DONG X Y, SUN Y. Thermodynamic analysis of the molecular interactions between amyloid  $\beta$ -protein fragments and (-)-epigallocatechin-3-gallate[J]. *Journal of Physical Chemistry B*, 2012, 116(20): 11576-11583.
- [10] CHURCHES Q I, CAINE J, CAVANAGH K, et al. Naturally occurring polyphenolic inhibitors of amyloid beta aggregation[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2014, 24(14): 3108-3112.
- [11] AKAISHI T, MORIMOTO T, SHIBAO M, et al. Structural requirements for the flavonoid fisetin in inhibiting fibril formation of amyloid  $\beta$  protein[J]. *Neuroscience Letters*, 2008, 444(3): 280-285.
- [12] WANG S, SUN Z, DONG S, et al. Molecular interactions between (-)-epigallocatechin gallate analogs and pancreatic lipase [J]. *Plos One*, 2014, 9(11): e111143-e111143.
- [13] FEI Q, GAO Y, ZHANG X, et al. Effects of oolong tea polyphenols, EGCG, and EGCG3 " me on pancreatic alpha-amylase activity in vitro[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(39): 9507-9514.
- [14] CHENG Q, CAI S, NI D, et al. In vitro antioxidant and pancreatic  $\alpha$ -amylase inhibitory activity of isolated fractions from water extract of Qingzhuan tea[J]. *Journal of food science and technology*, 2015, 52(2): 928-935.
- [15] FORESTER S C, GU Y, LAMBERT J D. Inhibition of starch digestion by the green tea polyphenol, (-)-epigallocatechin-3-gallate[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2012, 56(11): 1647-1654.
- [16] WANG Q, WANG C, SHU Z, et al. Valeriana amurensis improves Amyloid-beta 1-42 induced cognitive deficit by enhancing cerebral cholinergic function and protecting the brain neurons from apoptosis in mice [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2013, 153(2): 318-325.
- [17] NILSON N T, LUÍS EDUARDO S, BERNARDO S, et al. Inhibition of choline acetyltransferase as a mechanism for cholinergic dysfunction induced by amyloid- $\beta$  peptide oligomers[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287(23): 19377-19385.
- [18] HE X L, ZHOU W Q, BI M G, et al. Neuroprotective effects of icariin on memory impairment and neurochemical deficits in senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP8) mice[J]. *Brain Research*, 2010, 1334(3): 73-83.
- [19] YANG N C, LIN H C, WU J H, et al. Ergothioneine protects against neuronal injury induced by  $\beta$ -amyloid in mice[J]. *Food & Chemical Toxicology An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 2012, 50(11): 3902-3911.
- [20] LIU H W, CHAN Y C, WANG M F, et al. Dietary



- (-)-Epigallocatechin-3-gallate supplementation counteracts aging-associated skeletal muscle insulin resistance and fatty liver in senescence-accelerated mouse[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2015, 63 (38): 8407-8417
- [21] CUANG J Y, LEE C W, SHIH Y H, et al. Interactions between amyloid- $\beta$  and hemoglobin: implications for amyloid plaque formation in Alzheimer's disease[J]. *Plos One*, 2012, 7(3): 367-377.
- [22] WANG Q, WANG C, SHU Z, et al. Valeriana amurensis improves Amyloid-beta 1-42 induced cognitive deficit by enhancing cerebral cholinergic function and protecting the brain neurons from apoptosis in mice[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 153(2): 318-325.
- [23] YAN J J, CHO J Y, KIM H S, et al. Protection against beta-amyloid peptide toxicity in vivo with long-term administration of ferulic acid[J]. *British Journal of Pharmacology*, 2001, 133(1): 89-96.
- [24] YIN S T, TANG M L, SU L, et al. Effects of Epigallocatechin-3-gallate on lead-induced oxidative damage[J]. *Toxicology*, 2008, 249(1): 45-54.
- [25] WU K J, HSIEH M T, WU C R, et al. Green tea extract ameliorates learning and memory deficits in ischemic rats via its active component polyphenol epigallocatechin-3-gallate by modulation of oxidative stress and neuroinflammation[J]. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2012, 2012: 163106-163106.
- [26] LIU M, CHEN F, SHA L, et al. (-)-Epigallocatechin-3-Gallate ameliorates learning and memory deficits by adjusting the balance of TrkA/p75NTR signaling in APP/PS1 transgenic mice[J]. *Molecular Neurobiology*, 2014, 49(3): 1350-1363.
- [27] HONG Y K, WU H T, MA T, et al. Effects of glycyrrhiza glabra polysaccharides on immune and antioxidant activities in high-fat mice[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2009, 45(1): 61-64.
- [28] RODNEY R, LESHUAI Z, KATHERINE S, et al. Extended exenatide administration enhances lipid metabolism and exacerbates pancreatic injury in mice on a high fat, high carbohydrate diet[J]. *Plos One*, 2014, 9(10): e109477-e109477.
- [29] 商悦, 李毅, 陈淑珍, 等. 茶多酚 EGCG 对小鼠棕色脂肪代谢酶影响[J]. *科技导报*, 2014, 11: 21-25.
- [30] DE MELO C L, QUEIROZ M G R, ARRUDA FILHO A C V, et al. Betulinic acid, a natural pentacyclic triterpenoid, prevents abdominal fat accumulation in mice fed a high-fat diet[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(19): 8776-8781.
- [31] FIORINI R N, DONOVAN J, III D R, et al. Short-term administration of (-)-epigallocatechin gallate reduces hepatic steatosis and protects against hepatic ischemia/reperfusion injury in steatotic mice[J]. *Liver transplantation: official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*, 2005, 11(3): 298-308. 
- 备注: 本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://lyspkj.ijournal.cn/ch/index.aspx>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。