

长期绿茶暴露改变小鼠菌状味蕾基础特征及味觉传导蛋白 α -gustducin和PLC β 2的表达

熊艺姣 秦玉梅 郭会林 段 晖 蔡雯雯 邓少平*

(浙江工商大学食品与生物工程学院, 杭州 310035)

摘要 以绿茶及绿茶中主要活性成分(咖啡因、茶多酚、茶氨酸)暴露成年ICR小鼠21天后, 以小鼠的舌上皮为材料, 运用舌上皮整体装片技术及免疫组化方法, 实体显微镜和激光共聚焦显微镜下观察小鼠菌状味蕾基本解剖形态以及味觉信号传导关键蛋白 α -味蛋白(α -gustducin)及磷脂酶C β 2(phosphoinositide-specific phospholipase C β 2, PLC β 2)的阳性细胞数量表达情况。与对照组小鼠相比, 绿茶及绿茶中咖啡因+茶多酚刺激显著降低了菌状味蕾的数量; 咖啡因+茶多酚与茶氨酸组显著降低了味细胞数量; 而绿茶及其主要活性成分长期刺激后均显著降低了菌状味蕾的最大横截面积, 同时免疫组化结果也表明, 味觉信号传导关键蛋白 α -味蛋白阳性细胞表达数量也显著降低; 而磷脂酶C β 2表达受绿茶和茶多酚+咖啡因影响最大。结果表明, 绿茶及绿茶中各种主要活性成分的长期刺激会改变味觉感受的基础特征, 而这些变化可能是长期茶叶摄入导致食物厌腻感或体重减轻的重要原因之一。

关键词 厌腻感; 味觉; 菌状味蕾; 绿茶

Effects of Chronic Administration of Green Tea on Anatomical Characters and the Expression of Taste Transduction Protein α -gustducin and PLC β 2 in Fungiform Taste Buds of the Mice

Xiong Yijiao, Qin Yumei, Guo Huilin, Duan Hui, Cai Wenwen, Deng Shaoping*

(College of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310035, China)

Abstract In this study, adult ICR mice are used and treated with the solution of green tea and its crucial active components for 21 days, including caffeine, tea polyphenols and L-theanine. Following forementioned chronic exposure, the anatomical characters of fungiform taste buds and the expressions of taste signal transduction proteins, α -gustducin and phospholipase C β 2 (PLC β 2) in fungiform taste buds are detected by the methods of whole-mount preparation of tongue epitheliums, immunohistochemistry and laser confocal scanning microscope. The results show that the mice treated by green tea and caffeine+tea polyphenols have less number of fungiform taste buds and PLC β 2-immunopositive cells per taste bud than that of control mice. The size of fungiform taste buds and the number of α -gustducin-immunopositive cells per taste bud have more significant reduction in all components treated mice. The mice treated with caffeine+tea polyphenols and L-theanine has less taste cells per fungiform taste

收稿日期: 2012-10-09 接受日期: 2012-12-28

国家自然科学基金(批准号: 31271820)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0571-88071024-8593, E-mail: spdeng@zjgsu.edu.cn

Received: October 9, 2012

Accepted: December 28, 2012

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31271820)

*Corresponding author. Tel: +86-571-88071024-8593, E-mail: spdeng@zjgsu.edu.cn

网络出版时间: 2013-04-27 13:57

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20130427.1357.005.html>

bud. In conclusion, chronic administration of green tea and its crucial active components changes the anatomical characters of fungiform taste buds and decreases the expression of taste signal transduction protein, which maybe response for, at least in part, the anorectic function and weight loss.

Key words satiety; taste; fungiform taste buds; green tea

随着生活水平的提高与社会节奏的加快,超重及肥胖问题日益严重,威胁着人类健康。肥胖是由遗传因素和环境因素共同作用引起的营养代谢障碍性疾病,是能量摄入、能量代谢以及能量储存平衡被打破的结果^[1]。肥胖还与糖尿病、高血压、甚至某些癌症的发生密切相关,所以对于超重或肥胖问题的解决日益引起各领域科学家的广泛关注。而绿茶作为世界上最广泛饮用的饮料之一,它的减肥作用逐渐引起大家的关注。近年来大量研究表明,绿茶中能引起减肥的成分主要是茶多酚和咖啡因^[2-4],而儿茶素是茶多酚中主要的多酚类化合物。也有研究表明,茶氨酸也具有抗肥胖作用^[4]。但目前的大量研究主要集中于绿茶及各种绿茶中功能成分对脂肪细胞增殖分化的抑制、脂质代谢的调节及刺激机体生热放热作用^[5-6]。而对于上述成分对动物食物摄入的影响研究仅停留在动物行为学水平。Kao等^[7]研究表明,绿茶中提取的EGCG可以降低食物摄入与体重,而且这种效应是剂量依赖性的。Sayama等^[8]研究发现,在ICR小鼠食物中添加4%的绿茶粉可以抑制食物摄入。Josic等^[9]的实验发现,饮用绿茶会大大增加人的饱腹感。而对于绿茶及各种绿茶中功能成分长期作用引起动物食物厌腻感原因的研究相对较少。味觉系统作为动物食物摄入与拒绝的外周决定性因素,可以帮助动物控制食物摄入。所以,我们假设绿茶以及其主要功能组成成分长期作用引起食物厌腻感可能来自于味觉感受基础味蕾的特征变化,包括味蕾解剖形态及味觉感受关键蛋白的表达变化,本研究以ICR小鼠为动物模型采用舌上皮整体装片技术及免疫组织化学方法,探究了绿茶及其重要组成物质长期暴露对成年小鼠外周味觉感受器,即味蕾解剖形态以及相关味觉感受蛋白表达变化的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 7~8周雄性ICR小鼠购自浙江省

医学科学院实验动物中心, (23±2) °C及12 h:12 h日夜循环交替(7:00~19:00), 室内照明动物房内饲养, 自由接触食物与饮用水。标准啮齿类动物饲料: 蛋白质24.5%、碳水化合物50.3%、脂肪4.4%、钠0.31%、钾0.99%、钙1.46%, 购自浙江省医学科学院实验动物中心。

1.1.2 主要试剂 绿茶粉(杭州忆江南有限公司); 茶多酚(杭州沁源天然植物科技有限公司, 儿茶素含量≥80%、ECG>25%、EGCG>40%, 其余成分15%); L-茶氨酸: 纯度98%, 上海晶纯试剂有限公司; 咖啡因: 分析纯, 上海生工生物工程股份有限公司; 胶原酶II和中性蛋白酶II分别购自Washington和Sigma公司; α-味觉蛋白(α-gustducin)、磷脂酶Cβ2(phosphoinositide-specific phospholipase Cβ2, PLCβ2)、兔的多克隆抗体购自Santa Cruz公司; FITC偶联的山羊抗兔二抗购自武汉博士德生物技术有限公司; SYTO 13(5 mmol/L)绿色荧光核染料购自Invitrogen公司。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组及饲养 90只7周大的ICR小鼠, 动物房适应一周后, 按照体重随机分成6组, 对照组、14.649 g/L绿茶组、0.06%茶多酚组、0.03%咖啡因组、0.06%茶多酚+0.03%咖啡因组、0.018% L-茶氨酸组。每组15只小鼠, 上述溶液作为小鼠唯一饮用水来源, 自由采食, 连续刺激21天。每3天记录一次体重。

1.2.2 舌上皮分离 21天连续刺激结束后, 参考Qin等^[10]的方法立即分离小鼠舌上皮。小鼠N₂致死, 立即将小鼠舌组织分离(舌剪至轮廓状乳头后部), 分离的舌组织放入解剖液(3 g葡萄糖、7.5 g蔗糖、2.3 g HEPES、0.6 g KH₂PO₄、8 g NaCl、0.4 g KCl、0.24 g Na₂HPO₄·12H₂O)中清洗, 后转入新的解剖液中待用。使用1 mL注射器将提前温浴(37 °C)的0.2 mL混合分离酶液(1 mg/mL胶原酶II与3 mg/mL中性蛋白酶II等体积混合)从舌根部位注入舌组织的上皮与肌肉中间, 然后放入新的解剖液中37 °C孵育5~10 min。慢慢剥离舌上皮, 完整的舌上皮放入含有新鲜解剖液

的培养皿中备用。新鲜剥离的舌上皮载玻片展平后于Leica实体显微镜下观察, CCD记录结果, Image J软件计数舌面味蕾总数。

1.2.3 味蕾细胞数量及横截面积的测定 将新鲜剥离的舌上皮放入4% PFA多聚甲醛溶液中固定1 h后, 1×PBS清洗3遍, 每遍5 min, 之后上皮投入SYTO13绿色细胞核染料(1:2 000)中, 室温避光孵育5 min, PBS清洗4遍之后于干净的载玻片上铺平, 缓冲甘油封片后激光共聚焦显微镜连续光学切片记录味蕾中的细胞数量以及最大横截面积。

1.2.4 舌上皮整体装片及免疫组化 参考Tomassini等^[1]的上皮免疫组化方法, 并做部分改进, 详细步骤如下: 将分离舌上皮投入4%多聚甲醛中室温固定1 h, PBS清洗3次后放入预先配置好的一抗溶液(1 mL溶液中含10% BSA 25 μ L、1:10非正常山羊血清10 μ L、30% Triton X-100 3.3 μ L、 α -gustducin及PLC β 2抗体稀释度1:200)中, 4 $^{\circ}$ C孵育48 h。PBS清洗3次后加入FITC偶联的二抗(1:150稀释), 4 $^{\circ}$ C孵育12~24 h。PBS清洗4次, 将完整的上皮置于干净载玻片上展平, 缓冲甘油封片后激光共聚焦显微镜观察记录结果。

1.3 统计分析

使数据分析软件Origin 8.5进行数据统计分析, 统计数据表示为平均值 $\pm$ 标准误差(mean $\pm$ S.E.M.), 对照组与暴露组之间差异采用ANVOA分析, 显著性定义为 $P<0.05$ 。

2 结果

2.1 21天暴露过程中小鼠体重变化

绿茶及其不同组成成分长期暴露对小鼠体重变化如图1所示, 与对照组小鼠相比, 整个溶液暴露过程中咖啡因+茶多酚组与绿茶组小鼠体重增加明显迟缓, 在暴露第3天(CON: 34.05 $\pm$ 0.28, TEA: 31.47 $\pm$ 0.32, $P<0.05$; CAF+POLY: 30.98 $\pm$ 0.36, $P<0.001$)及第15天(CON: 41.69 $\pm$ 0.74; TEA: 39.65 $\pm$ 0.33, $P<0.05$; CAF+POLY: 39.51 $\pm$ 0.43, $P<0.05$)体重显著低于对照组(图1A), 而且21天暴露后二者体重增加也显著低于对照组(CON: 12.50 $\pm$ 0.26; TEA: 10.86 $\pm$ 0.05, $P<0.001$; CAF+POLY: 10.60 $\pm$ 0.45, $P<0.001$)(图1B)。其他茶叶重要组成成分咖啡因、茶多酚及L-茶氨酸单独暴露过程中, 小鼠体重增加也低于空白对照组, 但无显著差异(图1A), 暴露前后体重增加量之间也无显著差异

(图1B)。

2.2 菌状味蕾总数及味蕾大小变化

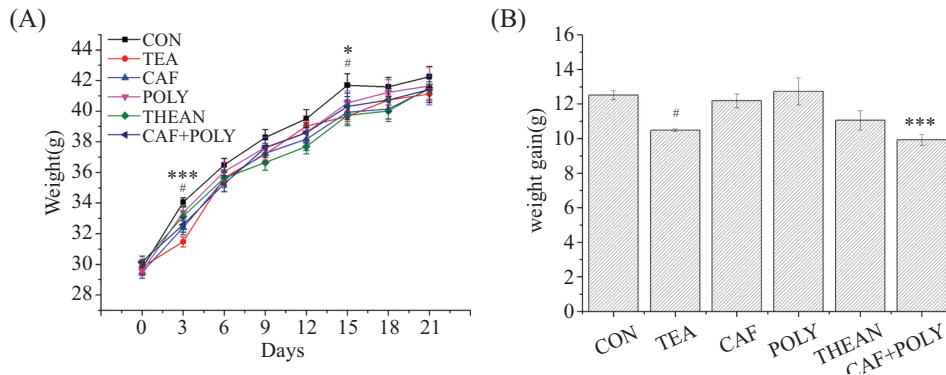
绿茶及其组成成分长期暴露对小鼠菌状味蕾总数及味蕾大小影响如图2所示, 与对照组小鼠(92.20 $\pm$ 2.59)相比, 绿茶与咖啡因+茶多酚长期刺激显著减少了小鼠舌面菌状味蕾总数(TEA: 76.00 $\pm$ 3.17, $P<0.01$; CAF+POLY: 79.00 $\pm$ 2.89, $P<0.01$)(图2A)。同时改变菌状味蕾大小, 显著降低菌状味蕾最大横截面积(CON: 1040.11 $\pm$ 18.82; TEA: 821.54 $\pm$ 15.60, $P<0.001$; CAF+POLY: 867.48 $\pm$ 12.18, $P<0.001$)(图2B)。咖啡因、茶多酚及茶氨酸长期刺激后, 小鼠菌状味蕾总数减少, 但与对照组小鼠相比无显著差异(图2A), 但三者长期刺激后小鼠菌状味蕾大小显著降低(CAF: 903.62 $\pm$ 14.44, $P<0.001$; POLY: 889.47 $\pm$ 15.05, $P<0.001$; THEAN: 870.63 $\pm$ 18.89, $P<0.001$)(图2B), 并且绿茶长期刺激对味蕾大小变化的影响最强。

2.3 舌面单个味蕾中味蕾细胞总数的变化

舌面菌状味蕾中细胞总数的变化如图3所示。与对照相比, 绿茶及其组成成分长期暴露不同程度地影响了小鼠菌状乳头中味蕾细胞的数量。茶氨酸、咖啡因+0.06%茶多酚刺激对菌状乳头的味蕾细胞数量影响最大(CON: 27.67 $\pm$ 0.92, THEAN: 23.60 $\pm$ 0.60, $P<0.01$; CAF+0.06% POLY: 21.45 $\pm$ 0.59, $P<0.001$), 而其他成分的影响不大。

2.4 菌状味蕾内 α -gustducin及PLC β 2蛋白表达的变化

α -gustducin及PLC β 2是味蕾细胞进行味觉信息(尤其是对于动物具有吸引力的甜味及鲜味)转导的关键蛋白。我们通过小鼠舌上皮整体装片及免疫荧光技术分析了绿茶及其组成成分长期刺激后菌状味蕾中 α -gustducin及PLC β 2蛋白的表达变化。从图4A和图4B可以看出, 蛋白免疫组化的图形呈纺锤状。结果表明, 与对照组小鼠(5.60 $\pm$ 0.17)相比, 绿茶及其组成成分长期刺激后均降低了菌状味蕾中 α -gustducin的表达, 表现为单个味蕾中 α -gustducin阳性细胞数量的减少(图4C, TEA: 4.91 $\pm$ 0.16, $P<0.05$; CAF: 4.43 $\pm$ 0.15, $P<0.001$; CAF+POLY: 4.43 $\pm$ 0.15, $P<0.001$; THEAN: 4.66 $\pm$ 0.19, $P<0.01$; POLY: 4.61 $\pm$ 0.18, $P<0.01$), 其中咖啡因和咖啡因+茶多酚作用组效果最显著。而各种刺激对菌状味蕾中PLC β 2表达的影响各不相同(图4D)。与对照组(5.62 $\pm$ 0.14)

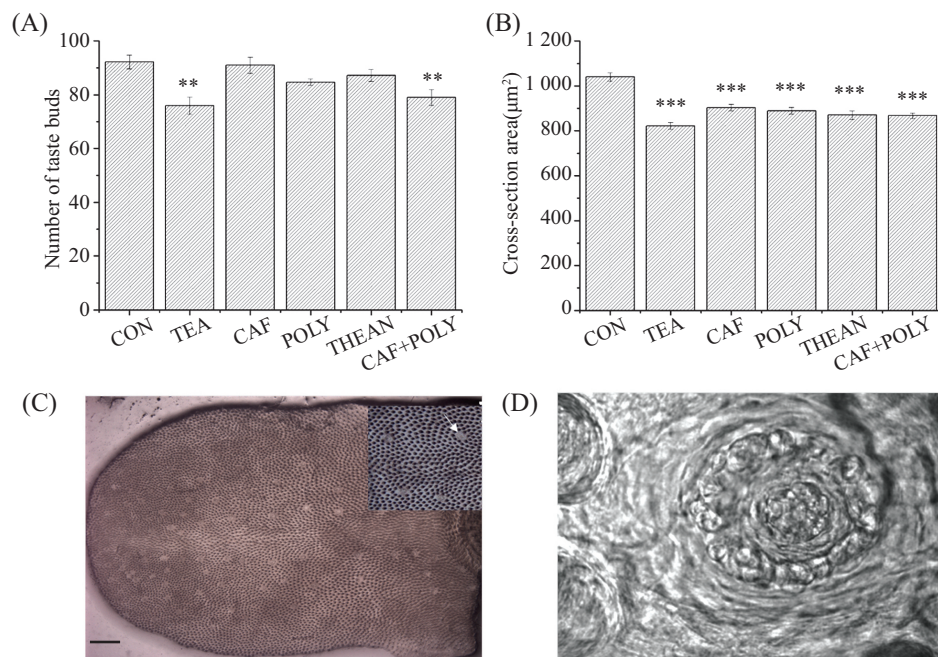


A: 绿茶及其不同组成成分暴露21天过程中小鼠体重变化; B: 绿茶及其不同组成成分暴露21天过程中小鼠体重增加量, 所有数据都是取每组所有老鼠体重的平均值。CON: 对照; TEA: 绿茶; CAF: 咖啡因; POLY: 茶多酚; THEAN: L-茶氨酸。 $n=15$ 。* $P<0.05$, *** $P<0.001$, 咖啡因+茶多酚组与对照比较; # $P<0.05$, 绿茶组与对照组比较。

A: changes of weight of adult male ICR mice following chronic green tea and its active component administration; B: the weight gain of adult male ICR mice, the average weight of mice from each group was present. CON: control; CAF: caffeine; POLY: tea polyphenols; THEAN: L-theanine. $n=15$. * $P<0.05$, *** $P<0.001$, CAF+POLY treated mice compared with CON group; # $P<0.05$, TEA treated mice compared with CON group.

图1 暴露21天过程中小鼠体重变化

Fig.1 Changes of weight of adult male ICR mice exposure 21 days



A: 菌状味蕾总数变化; B: 味蕾最大横截面积变化; C: 小鼠完整舌上皮, 白色箭头处为小鼠舌面味蕾; D: 激光共聚焦显微镜下部分聚焦味蕾影像 (63×10)。** $P<0.01$, *** $P<0.001$, 与对照组比较。 $n=5$, 标尺=20 μm。

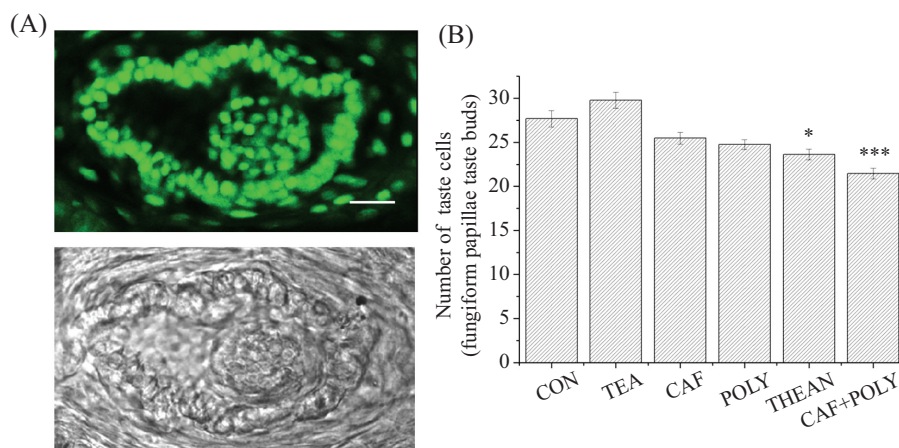
A: changes of total number of fungiform taste buds; B: changes of the size of fungiform taste buds; C: the whole tongue epithelium, the white arrow points to the fungiform taste buds; D: the images of fungiform taste buds are observed with Leica confocal laser scanning microscope in whole-mount preparations (63×10), ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ compared with control. $n=5$, scale bar=20 μm.

图2 暴露21天后小鼠舌面菌状味蕾总数及大小变化

Fig.2 Changes of total number and size of fungiform taste buds exposure 21 days in adult ICR mice

相比, 绿茶组、茶氨酸组以及咖啡因+茶多酚长期暴露能显著降低小鼠单个菌状味蕾中PLCβ2阳性细胞数的表达, 其中绿茶效果最显著(4.59 ± 0.18 , $P<0.001$),

其次是咖啡因+茶多酚混合组(4.77 ± 0.16 , $P<0.01$), 最后是茶氨酸组(4.82 ± 0.19 , $P<0.05$)。而咖啡因或茶多酚单独刺激对菌状味蕾中PLCβ2表达无影响。

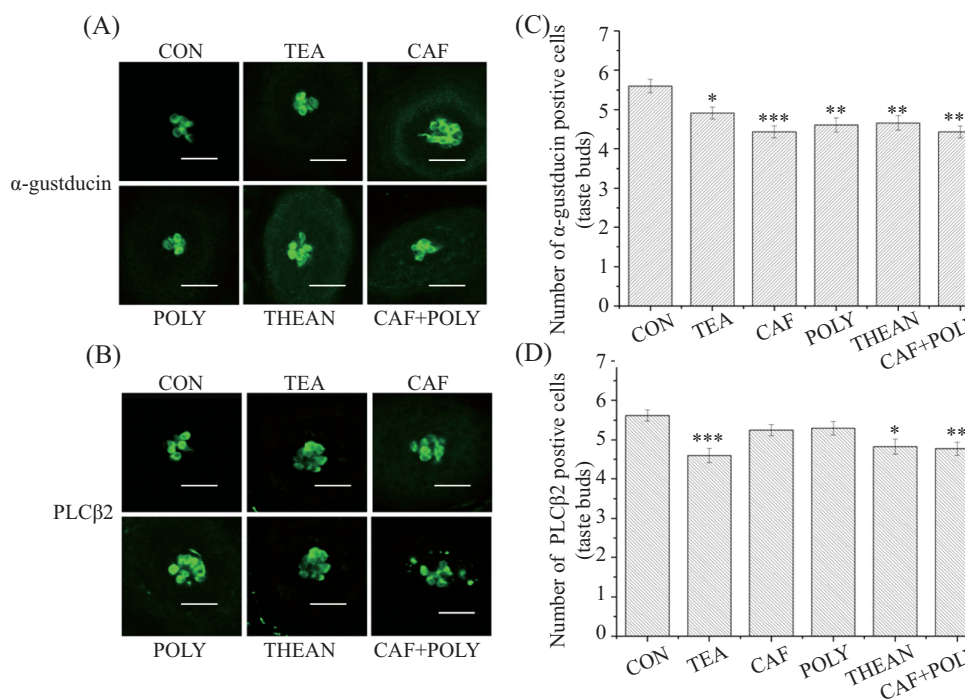


A: 小鼠菌状乳头SYTO 13细胞核染色图; B: 菌状味蕾细胞总数变化。* $P<0.05$, *** $P<0.001$, 与对照组比较。 $n=5$, 标尺=20 μm 。

A: the stained nuclei with SYTO 13 every fungiform taste buds of mice; B: changes of total number of fungiform taste cells. * $P<0.05$, *** $P<0.001$, compared with control. $n=5$, scale bar=20 μm .

图3 绿茶及其不同组成成分暴露21天后小鼠舌面菌状味蕾中味觉细胞总数的变化

Fig.3 Changes of total number of fungiform taste cells following chronic green tea and its active components exposure in adult mice



A,B: 菌状味蕾中 α -gustducin及PLC β 2免疫阳性细胞共聚焦影像; C,D: 绿茶及其不同组成成分21天暴露后小鼠单个味蕾中 α -gustducin及PLC β 2阳性细胞数量变化统计结果。* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, 与对照组比较。 $n=3$, 标尺=25 μm 。

A,B: the immunofluorescence images of α -gustducin and PLC β 2 immunopositive cells in fungiform taste bud under the laser confocal scanning microscope; C,D: quantitative evaluation of the number of α -gustducin and PLC β 2 immunopositive cells per fungiform taste bud between control and experimental mice. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ compared with control. $n=3$, scale bar=25 μm .

图4 绿茶及其不同组成成分21天暴露后菌状味蕾中 α -gustducin及PLC β 2的表达变化

Fig.4 Changes of the number of α -gustducin and PLC β 2-immunopositive cells per fungiform taste bud from control, green tea and other green tea components treated mice

3 讨论

近年来, 超重及肥胖问题快速成长为威胁人类

健康的重大问题, 而且面临上述问题的国家数量也不断增加。据报道, 目前我国有两亿人超重或肥胖,

其中儿童尤为严重。造成肥胖的根本原因是能量摄入与能量消耗的失衡,所以利于减少体重的负能量平衡就来自于食物摄入量的减少或能量消耗的增多。在肥胖及超重问题的解决及体重减少后的体重维持问题中,天然中草药类物质由于其特殊功效受到广泛关注,其中绿茶和咖啡因由于其使用时极其少的副作用而被大量使用。绿茶的消费主要集中在中国、日本及一些新兴的北非和中东国家^[12]。近年来的研究表明,绿茶中对体重降低及体重维持起作用的主要活性成分包括多酚类物质[表儿茶素(EC)、表没食子儿茶素(EGC)及表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)等]、咖啡因及L型茶氨酸。绿茶及咖啡因减肥作用的研究现在主要集中在其能够增加能量消耗方面,对于其与能量摄入的关系研究相对较少,仅停留在动物食物摄入改变的行为现象角度^[7-9],对于造成上述现象的基础或机制尚不清楚。味觉系统作为动物食物摄入与拒绝的外周主要因素,在摄食以及食欲控制上起着关键调节作用。味蕾作为口腔中味觉感受的末端感受器,广泛分布于舌面各种乳头及软腭中,其中菌状乳头分布于舌前部2/3区域,在味觉感受中具有发挥重要作用。

味蕾位于味乳头中,是外周味觉感受的器官,并且小鼠一个菌状乳头中只有一个味蕾,所以味乳头数量的变化就决定着味蕾数量的变化。舌面上味蕾总数的改变与味觉感知能力的改变密切相关,Zhang等^[13]对年轻男性的研究表明,菌状乳头密度越大,蔗糖的甜味阈值越低,即味觉敏感度越高。我们对味蕾数量变化的研究结果表明,绿茶及咖啡因+茶多酚暴露后,小鼠舌面菌状乳头总数显著少于对照组小鼠,而单独咖啡因、茶多酚或茶氨酸暴露对菌状乳头数量无影响。因而绿茶及咖啡因+茶多酚长期暴露后味蕾数量的减少可能造成动物味觉敏感度及偏好性的变化,进而影响动物的摄食行为,减少动物能量摄入,特别是可口性食物的摄入。而绿茶及咖啡因+茶多酚长期暴露后味蕾数量的减少的原因需要神经方面实验技术的进一步证实。因为大量的研究表明,味觉神经的退化或被抑制与味蕾数目减少密切相关^[14]。除了味蕾数量减少外,我们的研究结果还发现,茶叶及其各种功能活性成分长期作用于小鼠后能显著降低其菌状味蕾最大横截面积,Krimm等^[15]研究证实,菌状味蕾体积与支配其的神经元细胞之间呈正相关性,而且此种作用具有时间

依赖性,出生后10天支配味蕾的神经元数量就决定了味蕾成熟后的大小,而随着年龄的增长,神经不因味蕾大小的变化发生重排。味蕾细胞大约每10天更新一次,而茶叶及其功能活性成分21天刺激过程中,可能导致味蕾细胞数目的减少,而上述改变致使味蕾横截面积减小,最终减少味蕾体积,导致味蕾与味觉支配神经的不匹配。而这些变化可能导致味觉信息传入的减少及味觉信号传导通路的破坏,从而改变动物的味觉感知能力,影响动物的摄食行为。

味觉感知能力的变化不仅取决于味蕾解剖特性的改变,也与味觉感受及味觉信号转导相关蛋白的变化密切相关。味导素(gustducin)是一种由 α -gustducin、 $\beta 3$ 和 $\gamma 13$ 三个亚基组成的味觉特异性G蛋白,其中 α -gustducin在味觉信号转导中起到信号分子的作用,并在苦、甜、鲜味感受中发挥着重要作用^[16-17], α -gustducin敲除鼠对苦味化合物的厌恶感明显减弱^[18],对甜味物质、鲜味物质和苦味物质的反应性均显著降低^[19]。PLC $\beta 2$ 也是甜味、苦味、鲜味转导途径中非常重要的信号分子,PLC $\beta 2$ 敲除会严重削弱味觉的敏感性^[20-21]。gustducin与PLC $\beta 2$ 作为味觉感知传导中的两个重要蛋白,在味蕾细胞中的表达量和动物的味觉感受以及摄食情况密切相关。Boughter等^[22]实验发现,gustducin在舌前部味蕾细胞中的表达数量和不同味觉刺激的敏感度呈正相关。而我们的研究结果表明,小鼠经过绿茶和绿茶中不同组分长期暴露,导致单个菌状味蕾中gustducin阳性细胞的数目显著减少,而PLC $\beta 2$ 的表达也部分减少(茶叶刺激组及咖啡因+茶多酚刺激组)。前期实验发现:咖啡因+茶多酚或者茶氨酸组暴露的小鼠其味细胞数量会相应减少,所以舌前部味蕾细胞中gustducin与PLC $\beta 2$ 阳性细胞数量的减少可能是由于相应味细胞数量的减少引起的。而其他成分比如绿茶、咖啡因、茶多酚暴露并不会引起味细胞数量的减少,但会导致表达传导蛋白的味细胞数量减少,其原因还待进一步研究。这种味觉蛋白的改变可能导致小鼠对不同味觉物质的喜好性降低,减少食物摄入量,导致体重减轻。根据近几年味觉受体在肠道中的发现及其功能的确定^[23],味觉刺激也可能通过刺激口腔味蕾这个“第一通道”,激发神经等途径调节肠道等内分泌系统的激素释放,随之调节能量摄入。与口腔味觉协同作用贡献于体重减轻或食物厌恶感作用,而这种作用的具体机制还有待于进一

步深入探讨。

综上所述, 本文证实了绿茶及其活性成分通过改变小鼠味觉感受基础特性(即减少味蕾总数、味蕾最大横截面积及味觉信号转导蛋白表达)减少能量摄入导致体重降低及维持的可能性, 为绿茶等天然中草药在体重控制与降低方面的研究提供了新的理论依据和研究思路。本研究仅应用免疫组化等方法从味觉感受生物基础角度证实了动物饮食行为改变的可能性, 而与之相应的动物行为学实验及产生上述变化的神经学基础分析将成为后续研究的重点。

参考文献 (References)

- 1 Gooren L. Obesity: New aspects. *J Mens Health* 2008; 5(3): 249-56.
- 2 Chantre P, Lairon D. Recent findings of green tea extract AR25 (Exolise) and its activity for the treatment of obesity. *Phytomedicine* 2002; 9(1): 3-8.
- 3 Dulloo AG, Duret C, Rohrer D, Girardier L, Mensi N, Fathi M, *et al.* Efficacy of a green tea extract rich in catechin polyphenols and caffeine in increasing 24-h energy expenditure and fat oxidation in humans. *Am J Clin Nutr* 1999; 70(6): 1040-5.
- 4 Zheng G, Sayama K, Okubo T, Juneja LR, Oguni I. Anti-obesity effects of three major components of green tea, catechins, caffeine and theanine, in mice. *In Vivo* 2004; 18(1): 55-62.
- 5 Westerterp-Plantenga M, Diepvens K, Joosen AM, Bérubé-Parent S, Tremblay A. Metabolic effects of spices, teas, and caffeine. *Physiol & Behav* 2006; 89(1): 85-91.
- 6 Diepvens K, Westerterp KR, Westerterp-Plantenga MS. Obesity and thermogenesis related to the consumption of caffeine, ephedrine, capsaicin, and green tea. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007; 292(1): R77-85.
- 7 Kao YH, Hiipakka RA, Liao S. Modulation of endocrine systems and food intake by green tea epigallocatechin gallate. *Endocrinology* 2000; 141(3): 980-7.
- 8 Sayama K, Lin S, Zheng G, Oguni I. Effects of green tea on growth, food utilization and lipid metabolism in mice. *In Vivo* 2000; 14(4): 481-4.
- 9 Josic J, Olsson AT, Wickeberg J, Lindstedt S, Hlebowicz J. Does green tea affect postprandial glucose, insulin and satiety in healthy subjects: A randomized controlled trial. *Nutr J* 2010; 9: 63.
- 10 Qin YM, Shi JQ, Zhang GH, Deng SP, Wang TH. A reliable method to obtain cells of taste buds from fungiform papillae of mice. *Acta Histochem* 2010; 112(1): 107-12.
- 11 Tomassini S, Cuoghi V, Catalani E, Casini G, Bigiani A. Long-term effects of nicotine on rat fungiform taste buds. *Neuroscience* 2007; 147(3): 803-10.
- 12 Zuo Y, Chen H, Deng Y. Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, Oolong, black and *Pu-erh* teas using HPLC with a photodiode array detector. *Talanta* 2002; 57(2): 307-16.
- 13 Zhang GH, Zhang HY, Wang XF, Zhan YH, Deng SP, Qin YM. The relationship between fungiform papillae density and detection threshold for sucrose in the young males. *Chem Senses* 2008; 34(1): 93-9.
- 14 Kim MR, Kusakabe Y, Miura H, Shindo Y, Ninomiya Y, Hino A. Regional expression patterns of taste receptors and gustducin in the mouse tongue. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 312(2): 500-6.
- 15 Krimm RF, Hill DL. Innervation of single fungiform taste buds during development in rat. *J Comp Neurol* 1998; 398(1): 13-24.
- 16 Hoon MA, Adler E, Lindemeier J, Battey JF, Ryba NJ, Zuker CS. Putative mammalian taste receptors: A class of taste-specific GPCRs with distinct topographic selectivity. *Cell* 1999; 96(4): 541-51.
- 17 Kim JY, Mochizuki T, Akita K, Jung HS. Morphological evidence of the importance of epithelial tissue during mouse tongue development. *Exp Cell Res* 2003; 290(2): 217-26.
- 18 Caicedo A, Pereira E, Margolskee RF, Roper SD. Role of the G-protein subunit α -gustducin in taste cell responses to bitter stimuli. *J Neurosci* 2003; 23(30): 9947-52.
- 19 He W, Yasumatsu K, Varadarajan V, Yamada A, Lem J, Ninomiya Y, *et al.* Umami taste responses are mediated by α -transducin and α -gustducin. *J Neurosci* 2004; 24(35): 7674-80.
- 20 Zhang Y, Hoon MA, Chandrashekar J, Mueller KL, Cook B, Wu D, *et al.* Coding of sweet, bitter, and umami tastes: Different receptor cells sharing similar signaling pathways. *Cell* 2003; 112(3): 293-301.
- 21 Dotson CD, Roper SD, Spector AC. PLC β 2-independent behavioral avoidance of prototypical bitter-tasting ligands. *Chem Senses* 2005; 30(7): 593-600.
- 22 Boughter JD Jr, Pumphlin DW, Yu C, Christy RC, Smith DV. Differential expression of α -gustducin in taste bud populations of the rat and hamster. *J Neurosci* 1997; 17(8): 2852-8.
- 23 Wu SV, Rozengurt N, Yang M, Young SH, Sinnott-Smith J, Rozengurt E. Expression of bitter taste receptors of the T2R family in the gastrointestinal tract and enteroendocrine STC-1 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99(4): 2392-7.