

唐静怡, 周方, 曾鸿哲, 等. 茶叶功能成分预防阿尔茨海默病研究进展 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(17): 501–513. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100205

TANG Jingyi, ZHOU Fang, ZENG Hongzhe, et al. Recent Advances in Research on Functional Ingredients in Tea that Can Prevent Alzheimer Disease[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(17): 501–513. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100205

· 专题综述 ·

茶叶功能成分预防阿尔茨海默病研究进展

唐静怡^{1,2}, 周方^{1,2}, 曾鸿哲^{1,2}, 李秀平^{1,2}, 欧阳建^{1,2}, 黄建安^{1,2,3,*}, 刘仲华^{1,2,3,*}

(1. 湖南农业大学茶学教育部重点实验室, 湖南长沙 410128;

2. 国家植物功能成分利用工程技术研究中心, 湖南长沙 410128;

3. 植物功能成分利用省部共建协同创新中心, 湖南长沙 410128)

摘要: 随着中国老龄化人口比例增长, 阿尔茨海默病 (Alzheimer disease, AD) 的患病人数也不断增加。流行病学研究表明, 饮茶有助于降低 AD 等神经退行性疾病的发生风险, 其作用归功于茶叶所含功能成分具有调控 AD 主要致病因素的能力。本文系统总结了茶叶功能成分如茶多酚、茶氨酸、咖啡碱、茶黄素和茶皂素等对 AD 主要致病因素的影响研究, 阐明了茶叶功能成分从 β -淀粉样蛋白、Tau 蛋白、乙酰胆碱、神经炎症和氧化应激等方面多靶点有效预防阿尔茨海默病的作用机制, 以期为日常饮茶预防阿尔茨海默病和茶叶功能成分的开发提供理论基础。

关键词: 茶叶功能成分, 阿尔茨海默病, β -淀粉样蛋白, Tau 蛋白, 乙酰胆碱

中图分类号: TS272.5; R741.02

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)17-0501-13

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100205

本文网刊:



Recent Advances in Research on Functional Ingredients in Tea that Can Prevent Alzheimer Disease

TANG Jingyi^{1,2}, ZHOU Fang^{1,2}, ZENG Hongzhe^{1,2}, LI Xiuping^{1,2}, OUYANG Jian^{1,2}, HUANG Jian'an^{1,2,3,*}, LIU Zhonghua^{1,2,3,*}

(1. Key Laboratory of Tea Science of Ministry of Education, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;

2. National Research Center of Engineering Technology for Utilization of Functional Ingredients from Botanicals, Changsha 410128, China;

3. Co-innovation Center of Education Ministry for Utilization of Botanical Functional Ingredients, Changsha 410128, China)

Abstract: As the Chinese population aged, the number of Alzheimer disease (AD) patients is gradually increased. Epidemiological studies have shown that tea consumption can help reduce the risk of AD and other neurodegenerative diseases. It may be due to the ability of functional components contained in tea to regulate the main pathogenic factors of AD. In this article, the effects of tea functional components such as tea polyphenols, theanine, caffeine, theaflavin and tea saponin on the main pathogenic factors of AD are systematically summarized. The multi-target mechanism of tea functional components from aspects of β -amyloid, Tau protein, acetylcholine, neuroinflammation and oxidative stress, etc., to effectively prevent AD is clarified. It is expected to provide a theoretical basis for daily tea drinking to prevent AD and the development of tea functional ingredients.

Key words: tea functional ingredients; Alzheimer disease; β -amyloid; Tau protein; acetylcholine.

收稿日期: 2021-10-21

基金项目: 国家重点研发计划 (2017YFD0400803, 2018YFC1604405); 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系资助 (CARS-23); 国家自然科学基金基金项目 (31471590, 31100501)。

作者简介: 唐静怡 (1996-) (ORCID: 0000-0001-6564-557X), 女, 硕士研究生, 研究方向: 茶叶加工及功能成分化学, E-mail: 1025794676@qq.com。

* 通信作者: 黄建安 (1964-) (ORCID: 0000-0002-7573-2623), 女, 博士, 教授, 研究方向: 茶叶加工与品质化学, E-mail: jian7513@sina.com。

刘仲华 (1965-) (ORCID: 0000-0003-0000-4565), 男, 博士, 中国工程院院士, 教授, 研究方向: 茶叶加工理论与技术、茶叶深加工与功能成分利用、茶与健康, E-mail: larkin_liu@163.com。

阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)是一种与年龄相关的神经系统退行性亚型痴呆疾病,主要临床病征表现为记忆功能衰退、空间和时间识别紊乱、智力下降、行为异常等认知功能变化。AD 患者的发病年龄通常在 50 岁以后,且伴随年龄增长其患病风险也不断增加。目前我国人口老龄化问题日渐突出,2020 年我国 65 岁及以上老龄人口为 1.91 亿,约占总人口 13.49%,相较 2015 年增幅 3.03%^[1]。老年人口的增加将会带来阿尔茨海默病患者的数量增长,王英全等^[2]预测 2050 年中国老年人口达 4.49 亿,其中阿尔茨海默病患者人数将达到约 3003 万,为 2015 年患病人数的 2.35 倍。AD 作为一种神经退行性疾病,严重影响患者的心理、生理健康与生活质量,给病人及其家庭带来心理、生理负担和经济问题,其患病人数的增长将是当前和未来中国社会需要面对的一个重要问题。

AD 患者在组织病理学上具有老年斑、神经元纤维缠结、颗粒空泡变性和 Hirano 小体形成等非特异性特征^[3],与正常衰老机体相比,AD 患者脑中的淀粉样斑块和神经原纤维缠结异常大量地存在^[4]。AD 致病机制复杂,受到遗传和非遗传因素影响,有 β -淀粉样蛋白(β -amyloid, A β)假说、Tau 蛋白异常磷酸化假说、神经递质失调及神经元死亡假说和长期炎症损害假说等主流致病假说,表明 AD 的成因并非由单一因素造成。基于神经递质失调假说,临床多采用多奈哌齐、他克林和卡巴拉汀等胆碱酯酶抑制剂改善 AD 症状,虽然这些药物具有缓解 AD 症状的作用,但这些药物均有作用靶点单一和副作用的缺点,不能用于日常预防^[5]。AD 是一种退行性疾病,可逆性药物的研究也未见报道,病程进展取决于前期预防和早、中期的缓解治疗,近年来一些研究表明,饮食干预可能在预防阿尔茨海默病中发挥重要作用^[6]。

茶叶作为传统的健康饮料植物,具有潜在的神经保护作用。流行病学研究发现饮用绿茶的次数与认知障碍患病率呈负相关^[7];另一项日本老年人基线调查及后期的随访调查分析中也发现,饮用绿茶可能有助于降低认知衰退风险^[8](表 1)。在新加坡纵向老龄化研究中,一组华裔老年人数据分析则表明绿茶、红茶和乌龙茶的饮用量与认知衰退呈负相关^[9](表 1)。当前研究已经证实茶叶预防阿尔茨海默病的潜力主要来源于茶多酚、茶氨酸和咖啡碱这三类功能成分对 β -淀粉样蛋白、神经元纤维缠结等病因的调节^[10-15];此外,茶黄素、 γ -氨基丁酸和茶皂素等物质也对 AD 的病因具有调节作用^[16-18],表明茶叶不仅含有丰富的神经保护功能成分,并且具有多靶点预防阿尔茨海默病的作用。因此,本文归纳总结茶叶中的主要功能成分在预防阿尔茨海默病方面的研究进展,阐述茶叶功能成分对阿尔茨海默病的多靶点预防机制。

1 茶多酚与阿尔茨海默病

1.1 茶多酚抑制 β -淀粉样蛋白的合成

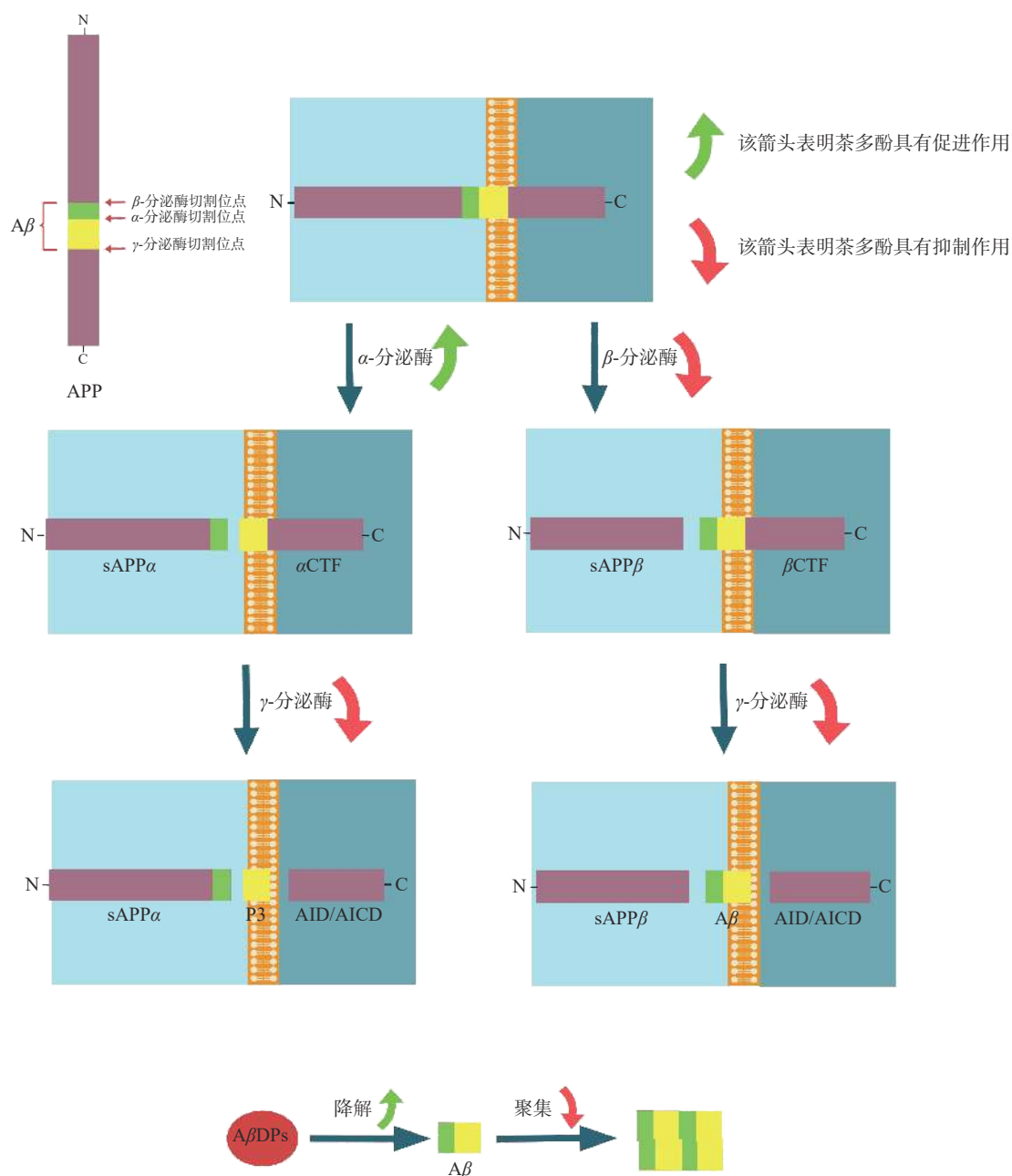
A β 在脑组织老年斑中大量沉积是 AD 形成的分子标志之一^[19]。A β 的沉积也被当前医学界认为是 AD 认知功能下降的主要诱因,它启动了一系列下游的神经毒性事件,包括氧化应激、炎症因子表达增强和 Tau 的过度磷酸化等,最终导致神经元功能障碍和死亡^[20-23]。茶多酚主要通过以儿茶素为主体的黄烷醇类物质影响 A β 的关键生成步骤来限制 A β 的产生(图 1)。A β 是由前体物质 β -淀粉样前体蛋白(β -amyloid precursor protein, APP)水解生成,有两个水解通路,第一个是通过 β -分泌酶(β -site of APP cleaving enzyme, BACE)切割水解形成分泌型淀粉样蛋白 β (Secreted amyloid precursor protein β , sAPP β)和 β -C 末端片段(β -C-terminal fragment,

表 1 饮茶与阿尔茨海默病患病风险的联系

Table 1 The connection between drinking tea and Alzheimer disease

饮用类型	调查人数	消费量	让步比	MMSE评分	作者
绿茶	n=170	≤3杯/每周	1	26.7±3.3	Kuriyama S, et al. ^[7]
	n=108	4~6杯/每周或1杯/天	0.84(0.52, 1.36)	27.3±2.6	
	n=725	≥2杯/天	0.68(0.48, 0.94)	27.6±2.5	
绿茶	n=138	不饮用	1	27.0(0.3)	Noguchi-Shinohara M, et al. ^[8]
	n=195	1~6天/每周	0.64(0.27, 1.49)	28.5(0.2)	
	n=157	每日饮用	0.21(0.06, 0.76)	29.0(0.2)	
咖啡	n=98	不饮用	1	27.0(0.3)	
	n=180	1~6天/每周	0.86(0.31, 2.30)	28.0(0.3)	
	n=212	每日饮用	0.51(0.18, 1.45)	29.0(0.2)	
红茶	n=404	不饮用	1	28.0(0.2)	Ng T P, et al. ^[9]
	n=86	1~7天/每周	1.41(0.55, 3.61)	29.0(0.3)	
	n=954	不饮用	1	25.9±4.4	
绿茶、红茶和乌龙茶	n=868	少量饮用	0.84(0.65, 1.09)	27.2±3.1	
	n=519	中等饮用	0.76(0.57, 1.03)	27.7±2.8	
	n=160	大量饮用	0.60(0.36, 1.00)	28.0±2.0	

注: 1、让步比数据均来自于引用文献未进行调整的基本模型。2、Noguchi-Shinohara M等研究中MMSE评分括号内容为样本标准误差(Standard error, SE),其余研究均为样本标准差(Standard deviation, SD)。

图 1 茶多酚影响 A β 合成、降解和聚集的机制图Fig.1 The mechanism of tea polyphenols affecting the synthesis, degradation and aggregation of A β

β CTF), 再由 γ -分泌酶切割水解 β CTF 生成, 其中切割 APP 的 β -分泌酶主要是 BACE1^[24-25]。Lee 等^[10]研究表明, 茶多酚中表没食子儿茶素没食子酸酯((-)-epigallocatechin-3-gallate, EGCG)能够剂量依赖性地降低 AD 模型小鼠脑皮层及海马体中 β 、 γ -分泌酶的活性从而降低 A β 水平, 并检测到 α -分泌酶的活性升高, 其可能的机制调节方式为胞外调节激酶 (Extracellular signal-regulated kinase, ERK) 和核因子激活的 B 细胞的 κ -轻链增强 (Nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 途径。EGCG 对 BACE 活性的调节途径也可能为过氧化物酶体增殖物激活受体- γ (Peroxisome proliferator-activated receptor- γ , PPAR- γ) 途径^[26]。一项体外试验则表明儿茶素对 BACE1 的抑制活性与儿茶素骨架 C-2 没食子基和 C-3 没食

子酸酯部分有关^[27]。此外, 儿茶素能够通过降低 AD 模型小鼠 γ -分泌酶含量以及改变 γ 分泌酶组分这两种方式降低 γ -分泌酶的活性^[28]。

α -分泌酶是第二个 APP 水解通路的关键酶, α -分泌酶能切割 A β 结构域的 Lys687 和 Leu688 (A β 的第 16 和 17 残基) 之间的 APP695 位点, 水解生成分泌型淀粉样蛋白 α (Secreted amyloid precursor protein α , sAPP α) 和 α -C 末端片段 (α -C-terminal fragment, α CTF), α CTF 可以被 γ -分泌酶切割, 产生肽片段 P3 和 APP 胞内结构域 (APP intracellular domain, AID/AICD), 从而避免 A β 的生成并且 sAPP α 具有神经营养功能, 能参与突触的可塑性^[24-25,29]。研究发现 EGCG 能增强 α -分泌酶活性, 显著增加可溶性 sAPP α 的释放, 其主要介导途径为蛋白激酶

C(Protein kinase C, PKC)^[30]途径, PKC作为信号转导主要介质,在介导Tau蛋白磷酸化和 α -突触核蛋白磷酸化方面也具有一定作用^[31]。同样,除了增加可溶性sAPP α , EGCG还能增加神经细胞黏附分子的表达来保护突触可塑性^[32]。EGCG对 α -分泌酶活性的提高主要来自于增强其主要功能组分金属蛋白酶10(A disintegrin and metalloprotease 10, ADAM10)的表达^[33]。没食子酸(Gallic acid, GA)同样也可以激活ADAM10,直接抑制BACE1的活性,但是不影响ADAM10或BACE1的转录,并能缓解神经炎症,稳定AD模型小鼠脑氧化应激^[34]。

此外, EGCG也能降低小鼠海马中APP的表达从而对D-半乳糖诱导的AD模型小鼠具有保护作用^[35],而EGCG对APP蛋白水平的降低归因于对APP翻译的抑制,而非转录^[36]。综上所述,茶多酚在A β 的上游生成方面具有重要的调节作用,一方面是作用于 α 、 β 和 γ 分泌酶这三类关键的A β 生成限速酶来降低A β 的表达水平,另一方面,对于A β 合成前体物质APP,茶多酚也具有抑制表达的作用。

1.2 茶多酚促进 β -淀粉样蛋白的降解

茶多酚能促进A β 降解,但是在影响A β 降解的机制方面,可能更为复杂。A β 在体内降解的过程受到多种肽酶和蛋白酶的影响,它们统称为A β 降解酶(A β -degrading proteases, A β DPs),虽然A β 降解酶的种类和降解机制并未完全明确,但目前已有中性内肽酶(Nepriylsin, NEP)、胰岛素降解酶(Insulin-degrading enzyme, IDE)和血管紧张素转换酶(Angiotensin-converting enzyme, ACE)等物质被发现具有A β 降解酶的功能^[37]。如前文所述, EGCG能通过影响ERK通路调节APP的三类水解酶,同样, EGCG也能影响星形胶质细胞中ERK通路以及胞内磷脂酰肌醇激酶(Phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(Protein kinase B, Akt)介导的信号途径来促进NEP的分泌,产生A β 的降解的作用,细胞内另一A β 降解酶IDE的表达则不受影响;同时,该研究还发现儿茶素类物质如表儿茶素(Epicatechin, EC)、表没食子儿茶素(epigallocatechin, EGC)、表儿茶素没食子酸酯(Epicatechin gallate, ECG)并不影响星形胶质细胞中NEP和IDE表达^[38]。但在EGCG与脂肪肝小鼠胰岛素抵抗的研究中证明EGCG具有上调IDE蛋白表达和酶活性的作用^[39]。这表明茶叶中EGCG能对小鼠NEP进行调节,对小鼠脑中IDE的表达活性调控则可能具有更复杂的机制。此外,绿茶提取物也能特异性诱导SK-N-SH细胞的NEP活性,ACE的活性则没有发生明显变化^[40]。与绿茶提取物研究不同,一项体外研究证明儿茶素具有抑制ACE活性的作用^[41];相较于正常人,AD患者体内ACE含量较高,该物质同时还与高血压有关^[42],儿茶素或许能通过影响AD患者体内复杂的代偿机制来降低ACE的活性,保护AD患者的神经系统与心血

管健康。以上研究表明茶多酚对NEP具有调节作用,对其他A β DPs的影响机制则有待进一步探究,而茶多酚对A β DPs的复杂调节作用则源于A β 降解酶种类较多和A β DPs参与其他生理机制的影响。

1.3 茶多酚抑制 β -淀粉样蛋白的聚集

研究发现茶多酚具有抑制A β 聚集和沉积的能力^[43],主要是通过影响A β 聚集的两个因素抑制A β 的聚集和沉积,首先是破坏A β 分子间的氢键、疏水键,其次是螯合金属离子,最终阻止A β 聚形成 β -片层结构的淀粉样纤维。Wang等^[44]结果表明氢键和疏水键都参与EGCG与A β_{1-42} 之间的相互作用,且随着EGCG/A β_{1-42} 比率增加,主要相互作用逐渐从氢键转移到疏水相互作用。除EGCG能破坏氢键阻止A β 构象变化外,EGC也能通过插入A β 疏水核心破坏A β 纤维聚集,但EGCG能力强于EGC,表明EGCG的没食子酰基在破坏A β_{1-42} 原纤维中具有关键作用^[45]。其他儿茶素如没食子儿茶素没食子酸酯(Gallocatechin gallate, GCG)、ECG也能抑制A β 生成 β 片层结构和降解A β 寡聚物,但其作用弱于EGCG,其中EGCG分子官能团抑制A β_{1-42} 聚集和结构重塑的能力排序为没食子酰基>没食子基>同分异构体^[46]。以上试验表明EGCG具有重要的抗A β 聚集作用,但是在神经母细胞瘤细胞(SH-SY5Y)中则发现与EGCG相比,儿茶素没食子酸酯(Catechin gallate, CG)和ECG对SH-SY5Y细胞抵抗A β 聚集诱导的细胞毒性具有更强的保护作用^[47],这或许是相较于体外试验,细胞中具有更复杂的分子机制所致。

茶多酚抑制A β 的第二种主要方式是对金属离子进行螯合。金属离子是影响A β 聚集的另一因素,A β 作为一种金属蛋白,能通过组氨酸和亲水性氨基末端的酪氨酸残基与金属离子结合,促进 β 片层结构形成^[48]。影响A β 沉积的氧化还原金属主要是Fe²⁺、Cu²⁺和Zn²⁺,并且这三种金属离子在AD患者大脑内大量积累^[49]。EGC和ECG能结合Cu²⁺和Zn²⁺,并通过减少ROS的产生来调节Cu²⁺、Zn²⁺和A β_{1-40} 对小鼠神经母细胞瘤Neuro-2a细胞的神经毒性,表明EGC和ECG能通过螯合金属离子减轻A β 低聚物和原纤维的毒性^[50]。此外,Fe²⁺能通过调节APP的翻译来控制APP的活性水平^[51],而A β 具有金属螯和性,因此A β 的沉积也是一种代偿性神经保护特性,能通过螯和Fe²⁺反馈调节APP的生成^[52]。EGCG则能通过铁螯和的方式,剂量依赖地逐渐抑制APP序列基因的翻译,降低APP的生成^[53],并达到与A β 竞争的作用从而降低A β 的聚集。在EGCG结合金属离子后对A β 结构的影响研究发现,结合Cu²⁺、Zn²⁺的A β 中加入EGCG能产生游离态A β 聚集体,而未加入EGCG的金属结合A β 中则会产生结构性A β 聚集体^[54],表明EGCG不仅能螯合游离态金属离子,也能对结合金属后的A β 聚集进行影响。以上研

究表明茶多酚能与 $A\beta$ 竞争性结合金属离子,阻止 $A\beta$ 聚集以及降低 APP 的生成,并在 $A\beta$ 结合金属离子后继续抑制 $A\beta$ 聚集体结合,从而防止 $A\beta$ 沉积产生神经毒性。

1.4 茶多酚抑制 Tau 蛋白磷酸化与聚集

茶多酚对 Tau 蛋白的过度磷酸化与聚集的抑制是另一种有效预防阿尔茨海默病机制。Tau 蛋白是一种参与微管形成与稳定的多功能蛋白。在 AD 患者大脑中 Tau 蛋白被过度磷酸化,这些过磷酸化 Tau 寡聚组装成不溶性 β -片层结构,再聚合成配对螺旋样(Paired helical filaments, PHFs)结构,最终形成神经原纤维缠结(Neurofibrillary tangles, NFTs)结构,影响神经细胞微管结构的形成与稳定,破坏突触和神经元功能^[55-56]。同时,高磷酸化 Tau 蛋白具有类似朊病毒传播的特征,诱导神经元和突触毒性^[57]。动物试验表明茶多酚能改善冈田酸诱导的阿尔茨海默病大鼠的学习和记忆损伤并减少 Tau 蛋白过度磷酸化^[58]。同样,在使用 SAMP8 小鼠的试验中,也观察到 EGCG 可以减少 Tau 蛋白过度磷酸化^[11]。另一项动物研究表明口服 EGCG 不仅可降低 $A\beta$ 的沉积,并能与腹腔注射的给药方式一同调节小鼠磷酸化 Tau 图谱,使 EGCG 组呈现出与空白组相似的磷酸化 Tau 图谱,从而改善小鼠的认知功能^[43]。Lin 等^[59]证明 EGCG 处理可以通过减少 c-Abl 激酶的核易位从而抑制糖原合成酶激酶 3 β (Glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)的活化,并通过该途径增强 APP 的水解从而降低 $A\beta$ 水平。GSK-3 β 具有促进 Tau 蛋白磷酸化的功能,能与磷酸酶 2A (Protein phosphatase-2A, PP-2A)一起对 Tau 蛋白进行调节,后者则具有介导 Tau 脱磷酸化的能力^[60]。也有研究表明 EGCG 降低 GSK-3 β 的磷酸化水平方式之一为减弱小鼠的海马肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor, TNF- α)/c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, c-JNK)信号传导,并伴随海马胰岛素受体底物-1 (Insulin receptor substrate-1, IRS-1) Ser636 位点磷酸化水平的减弱,从而减轻 AD 患者神经中枢胰岛素抵抗^[61]。此外,EGCG 还能改变 Tau 的三维结构,并能与假定的磷酸化位点结合,竞争并减少激酶的进入^[62]。以上试验证明茶多酚能降低 Tau 蛋白磷酸化水平,其途径可能是:通过影响 Tau 磷酸化关键蛋白 GSK-3 β 降低 Tau 蛋白磷酸化水平;结合并改变 Tau 蛋白的结构,竞争性降低激酶磷酸化 Tau 蛋白的效果。

茶多酚抑制磷酸化 Tau 蛋白形成 NFTs 也与神经自噬系统有关。细胞试验表明,EGCG 也能够通过增强两种关键的自噬衔接蛋白 NDP52 和 p62 的 mRNA 表达来增加磷酸化 Tau 蛋白的清除,EGCG 对自噬诱导的标志物微管相关蛋白 1 轻链 3 (Microtubule associated protein1 light chain 3, LC3) II/LC3 I 则没有影响^[63]。但在另一项动物试验中则表明 P62

与自噬活性呈负相关,EGCG 组则降低了 P62 的表达;该试验同时表明 EGCG 能通过调节自噬功能相关的信号通路 mTOR 提高 ULK1、LC3 II/LC3 I 表达,从而改善 AD 导致的海马自噬系统障碍,并伴随 $A\beta$ 沉积减少^[64]。提示茶多酚调节神经自噬系统不仅能降解磷酸化 Tau 纤维,或许也能加快自噬体对 $A\beta$ 的吞噬。

与影响 $A\beta$ 类似,茶多酚也具有抑制过磷酸化 Tau 蛋白聚集的作用,一方面是通过与 Tau 蛋白结合,抑制聚集;另一方面是降低 Tau 蛋白的 R3 结构域基因表达。在体外试验中,低浓度 EGCG 能抑制片段 Tau (His-K18 Δ K280)形成 β 片层结构的有毒低聚物,从而减轻 Tau 聚集的神经细胞毒性^[65]。EGCG 不仅能通过多位点与 Tau 蛋白进行结合,抑制 Tau 蛋白聚集,也能分解和清除成熟的 Tau 原纤维,从而干扰 Tau 蛋白形成 PHFs 结构;同时,在 Tau/EGCG 浓度为 1/10 的情况下无法检测到 Tau 的核磁共振信号,证明 EGCG 对 Tau 蛋白具有较强的结合力^[66]。也有研究报道,儿茶素中 GA 通过与 R3 结构域结合实现抑制 Tau 蛋白聚集的功能,而 R3 结构域是 Tau 聚合过程中产生的 PHFs 的核心^[67]。EGCG 也可以通过抑制双底物特异性酪氨酸磷酸化调节激酶 A (Dual specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase 1A, DYRK1A)方式来对 Tau 外显子 10 (这是一个调节 R3 结构域和 R4 结构域的表达的基因)的选择性剪切进行调控,降低 R3 结构域的表达水平^[68]。

1.5 茶多酚抑制乙酰胆碱降解

AD 的病因之一是由于大脑胆碱能系统失调,乙酰胆碱 (Acetylcholine, Ach) 水平下降,导致信号传导能力下降^[69]。ACh 作为一种神经递质,能特异性地作用于各类胆碱受体,其裂解酶主要是乙酰胆碱酯酶 (Acetylcholinesterase, AChE) 和丁酰胆碱酯酶 (Butyrylcholinesterase, BuChE)^[70]。研究表明茶多酚具有改善 AD 患者胆碱能缺乏的潜力。Kim 等^[71]用东莨菪碱诱导的小鼠模型验证了茶多酚对 AChE 具有抑制作用。Okello 等^[72]从绿茶中分离了四种儿茶素 EC、EGC、ECG 和 EGCG,发现 EGCG 是唯一一对 AChE ($P < 0.01$) 和 BuChE ($P < 0.01$) 具有统计学意义的竞争性抑制作用的化合物,并测出 IC_{50} 值分别为 $0.0148 \mu\text{mol/mL}$ 和 $0.0251 \mu\text{mol/mL}$ 。与 EC、EGC、ECG 相比,EGCG 所需的与 AChE 和 BChE 结合的能量最低,分别约为 -14.45 和 -13.30 kcal/mol ^[73]。以上研究表明,儿茶素对胆碱能的调控取决于 EGCG 的含量。

1.6 茶多酚抑制阿尔茨海默病中氧化应激和长期炎症

氧化应激 (Oxidative stress, OS) 是阿尔茨海默病不可或缺的病理现象。相较于正常人,AD 患者大脑更易产生大量的活性氧自由基 (Reactive oxygen species, ROS),其主要来源之一为 $A\beta$ 和过量金属离子导致氧化还原体系失衡,从而造成脂质、蛋白质过

氧化,损伤神经元^[21-22,74]。过量的 ROS 不仅破坏大脑正常的生理代谢,其脂质过氧化物如 4-羟基壬烯醛(4-Hydroxynonenal, HNE)可显著提高 BACE 的水平^[75],进一步提高 $A\beta$ 的表达水平。茶多酚是经典的抗氧化性物质,除了具有金属螯合性以外,Shimmyo 等^[76]的研究表明 EGCG 可以剂量依赖性地减少 $A\beta$ 诱导的 BACE-1 和 ROS 的水平,从而破坏 $A\beta$ 和 OS 之间的负循环,保护神经系统。此外,也有研究报道低浓度的 EGCG 能通过海马神经元中的抗氧化反应元件(Antioxidant response element, ARE)/核因子 E2 相关因子 2(Nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)途径诱导血红素加氧酶-1 的活性,保护神经元免受不同氧化损伤模式的影响^[77]。

退化组织和高度不溶性异常物质的沉积是经典的炎症刺激物,同样,在 AD 患者的大脑中,高度不可溶性的 $A\beta$ 沉积、NFTs 和受损的神经元及神经突触为炎症提供了明显的刺激^[23]。AD 患者的炎症发生伴随着胶质细胞的活化、炎症细胞因子释放和氧化应激,最终导致神经元变性和损伤,而胶质细胞的活化,炎症因子的释放和氧化应激也将进一步促进 $A\beta$ 的生成与沉淀^[78-79],表明 AD 患者体内的炎症机制是高度的相互作用而非孤立发生。茶多酚具有明显的抗炎作用。在脂多糖和 $A\beta$ 联合诱导的 BV2 小胶质细胞炎症反应中发现 EGCG 能通过调控半胱氨酸蛋白酶(Caspase-11)降低 NLRP3 炎性小体表达,从而降低促炎因子白介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β), IL-18 的转录、表达和分泌水平^[80]。在另一项试验中,EGCG 治疗不仅抑制脂多糖诱导的小鼠 $A\beta$ 、APP 和 BACE 表达,还抑制星形胶质细胞活化、细胞因子升高和一些炎症蛋白如诱导型一氧化氮合酶和环氧合酶-2 的增加,同时,在体外培养的星形胶质细胞试验中表明 EGCG 还能通过抑制神经炎相关细胞因子的释放来减少 $A\beta$ 生成^[81]。在 APP/PS1 小鼠试验中进一步证明了 EGCG 明显减轻了小胶质细胞活化水平,降低促炎因子 IL-1 β 和增加抗炎因子 IL-10、IL-13,并观察到 $A\beta$ 斑块减少^[82],说明茶多酚的抗炎作用主要表现在对炎症因子的调节方面。

1.7 茶多酚具有修复线粒体和抑制内质网应激的功能

线粒体功能障碍是发生在 AD 患者脑内的另一生理状态,而线粒体功能障碍可能是 AD 病理生理学级联反应的基本启动者^[83]。有研究表明 EGCG 具有线粒体修复能力,能使分离自海马、皮质和纹状体的线粒体呼吸频率、线粒体膜电位、ROS 产生和 ATP 水平恢复 50% 到 85%^[84]。茶多酚和花青素的协同治疗能改善 D-半乳糖诱导的大鼠神经细胞线粒体结构破坏,并调控线粒体凋亡途径相关蛋白 B 淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, bcl-2)、bcl 相关蛋白(Bcl associated x protein, Bax)、动力相关蛋白 1(Dynamin-related protein 1, DRP1)和视神经萎缩蛋白 1(Optic atrophy 1, Opa1)的表达,从而修复神经元

损伤,改善记忆^[85]。AD 中神经元的死亡原因之一是 $A\beta$ 沉积诱导的内质网应激,几乎所有的蛋白都在内质网中折叠修饰,应激则会导致蛋白未折叠或错误折叠^[86]。而 Du 等^[87]通过体内外试验,发现 EGCG 能剂量依赖地降低内质网应激关键蛋白葡萄糖调节蛋白 78(Glucose regulated protein 78, GRP78)、C/EBP 环磷酸腺苷反应元件结合转录因子同源蛋白(C/EBP homologous protein, CHOP)、裂解的半胱氨酸蛋白酶 12(Cleaved-caspase-12)和 Cleaved-caspase-3 的表达,并同时降低了衣霉素和毒胡萝卜素这两种内质网应激激活剂的细胞毒性,表明 EGCG 具有抑制内质网异常超微结构肿胀的能力,保护了小鼠神经系统。

1.8 茶多酚的生物利用度开发

如前文所述,茶多酚将是预防阿尔茨海默病的有利候选物质之一,但考虑到人体肠道吸收和血脑屏障等固有的不稳定因素对其生物利用度和有效性的限制,目前对于提高茶多酚功效的开发分为三类:衍生物开发、纳米技术和协同作用。衍生物的开发有利于提高作用靶点精度,儿茶素衍生物具有改善小鼠神经母瘤细胞 N2a 细胞的形态和抑制 Tau 蛋白聚集的能力,其中,间苯三酚儿茶素效果高于表邻苯三酚儿茶素和邻苯三酚儿茶素^[88]。在纳米技术方面,相较于游离 EGCG, Cano 等^[89]开发出双药负载的聚乙二醇化 PLGA 纳米颗粒(EGCG/AA NPs)能在小鼠体内显示出更高的稳定性,降低 $A\beta$ 活性并促进突触素增加。Smith 等^[90]开发的纳米脂质 EGCG 颗粒可将 SweAPP N2a 细胞的 α -分泌酶水平提高 91%,效果是口服游离 EGCG 的 2 倍。杨鹏等^[91]则将 EGCG 应用于纳米递释系统,开发出表面修饰 RD2 肽的 NP/EGCG(RD2-NP/EGCG),发现 RD2-NP/EGCG 能浓集于海马和大脑皮质,显著降低 AD 模型小鼠脑中炎症因子 TNF- α 和 IL-1 β 水平,修复神经元损伤,且无器官毒性。协同作用也将在增加茶多酚生物利用度方面发挥作用。除前文所提到的茶多酚与花青素外,EGCG 和阿魏酸的协同作用也增强了对小鼠大脑的 $A\beta$ 水平、沉积和相关分泌酶的调节效果^[92]。EGCG 与运动也能协同提高小鼠记忆能力,降低小鼠皮质层和海马中可溶性 $A\beta$ 的水平^[93]。EGCG 与鱼油的协同作用则表明,与单独使用 EGCG 相比,鱼油能改善 EGCG 的生物利用度^[94]。

2 茶氨酸

2.1 茶氨酸对 $A\beta$ 、Tau 和胆碱能系统的影响

茶氨酸是茶树中特有的氨基酸,具有神经保护功能,也能对 $A\beta$ 、Tau 和胆碱能系统进行影响。阳衡^[12]的研究中观察到茶氨酸能明显降低 SAMP8 小鼠脑组织的 $A\beta_{1-42}$ 活性,减少皮层和海马 $A\beta_{1-42}$ 的斑块数量,并检测到茶氨酸能降低 BACE1 的基因和蛋白的表达。L-茶氨酸可显著抑制小鼠 Tau 蛋白 Ser199, Ser202 和 Ser396 位点的过度磷酸化,并通

过降低 GSK-3 β 的活性抑制 Tau 的过度磷酸化和镉诱导的 Tau 细胞毒性^[13]。在东莨菪碱诱导的小鼠模型中发现,茶氨酸能够抑制 AChE 的活性^[95]。以上试验表明茶氨酸具有抑制 A β 表达和聚集、Tau 蛋白磷酸化以及调节胆碱能的能力,但与茶多酚相比,更为深入的机制则有待进一步研究。

2.2 茶氨酸抑制氧化应激水平和炎症损伤

在抑制氧化应激方面, Kim 等^[96] 研究发现 L-茶氨酸不仅降低小鼠大脑 A β 的含量,还能抑制 A β 诱导的氧化应激所激活的 ERK1/p38、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 和 NK-kB 通路,减少蛋白和脂质氧化损伤,从而保护神经系统。活性氮 (reactive nitrogen species, RNS) 的产生也以类似 ROS 的方式参与了氧化应激,一氧化氮 (NO) 在哺乳动物体内由一氧化氮合酶家族产生,能介导蛋白质转亚硝基化,损害突触和神经元^[97]。而 L-茶氨酸能在稳定表达的 SH-SY5Y 细胞中显著抑制 L-谷氨酸诱导的 N-甲基-D-天冬氨酸受体活化、c-Jun N 末端激酶和 caspase-3 的活化,并减少 NO 的产生,这是由于 L-茶氨酸降低诱导型一氧化氮合酶和神经元一氧化氮合酶的蛋白水平所致^[98]。在木犀草素和茶氨酸的研究中发现两者协同能更好地改善海马体胰岛素抵抗、促进 GSK-3 β 磷酸化和降低 Tau 蛋白磷酸化水平,而在炎症因子的调节方面,茶氨酸单独使用更能降低炎症相关因子 TNF- α 和 IL-1 β 的表达,从而改善记忆功能^[99]。

2.3 茶氨酸改善多巴胺功能障碍与线粒体损伤

其他不同程度的多巴胺功能障碍也可能发生在阿尔茨海默病的各个阶段^[100]。而 L-茶氨酸可促进海马突触传递并减少双脉冲易化,这些作用能被 N-甲基-D-天冬氨酸受体和多巴胺 D1/5 受体的拮抗剂以及选择性蛋白激酶 A (Protein kinase A, PKA) 抑制剂阻断,表明 L-茶氨酸能通过多巴胺激活 D1/5 受体-PKA 途径,改善 AD 小鼠的记忆力和海马长时间增强作用 (Long-term potentiation, LTP) 损伤^[101]。此外, L-茶氨酸能显著调控 A β 的积累导致的线粒体融合蛋白 1 (Mitofusion-1, Mfn1) 和 Mfn2 异常表达^[102], 证明茶氨酸具有改善多巴胺功能障碍和保护线粒体的功能。

3 咖啡碱

3.1 咖啡碱抑制 A β 的合成与聚集

茶叶生物碱包括咖啡碱、可可碱和茶碱。其中,咖啡碱作为一种腺苷 A2A 受体拮抗剂,能够预防 A β 引起的记忆功能障碍^[103],并且在 APPswe 小鼠试验中能剂量依赖性地降低海马中 A β_{1-42} 、早老蛋白-1 (Presenilin-1, PS1) 和 BACE1 的水平,从而保护大脑认知功能^[14]。一项绿茶提取物的研究表明,茶叶生物碱、儿茶素和茶氨酸均能增强细胞 NEP 活性,其中相较于可可碱、茶碱和茶氨酸,咖啡碱更能增强 A β DPs 中 NEP 活性,其机制可能与生物碱提高细胞

内环磷酸腺苷水平有关^[104],而环磷酸腺苷水平的升高具有延缓阿尔茨海默病进展的治疗潜力^[105]。在分子动力学模拟试验中,咖啡碱能够破坏 A β 聚集形成的 β 片层结构^[106]。Du 等^[107] 研究中观察到紫鹃普洱茶提取物中咖啡碱、儿茶素和前花青素能不同程度延缓线虫麻痹, A β 的聚集会导致线虫麻痹,进一步佐证了咖啡碱具有抑制 A β 聚集的作用。

3.2 咖啡碱降低 Tau 蛋白磷酸化、调节氧化应激与炎症损伤

一些体内试验表明咖啡碱能够降低 GSK-3 β 的磷酸化^[15],但在咖啡碱抑制 Tau 蛋白磷酸化的综合性研究表明,长期摄入咖啡碱能够降低小鼠海马 Tau 蛋白的磷酸化与水解,其机制可能与咖啡碱提高磷酸酶 PP-2A 及其受体腺苷 A2A 受体的活性有关,而与 GSK-3 β 无关;此外,该研究的结果还表明咖啡碱能够降低相关的炎症趋化因子 (CCl₄、CCl₅ 和 TNF- α) 及一些氧化应激相关蛋白 (Nrf2, Mn-SOD 和兴奋性氨基酸转运体) 的表达^[108]。综上,咖啡碱能降低 Tau 蛋白磷酸化,并对机体氧化应激、炎症损伤进行调节,保护神经系统。

3.3 咖啡碱与胆碱能系统

咖啡因具有促进乙酰胆碱释放的功能^[109]。在胆碱酯酶的影响方面,咖啡碱能直接与胆碱酯酶抑制剂非竞争性的结合 AChE 和 BuChE,抑制乙酰胆碱的降解,但相对于 AChE,咖啡碱抑制 BuChE 的作用非常弱,这可能是由于与 BuChE 相比,咖啡碱更易与 AChE 的 Trp86 位点作用,并可以被 Tyr337 稳定^[110]。此外,对于乙酰胆碱受体 (acetylcholinereceptors, AChR),咖啡碱具有低浓度活化 AChR 和高浓度阻滞 AChR 离子通道的双重作用^[111]。

4 其他物质

除了茶多酚、茶氨酸、咖啡碱和花青素外, γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA)、茶黄素、茶山奈昔 B 和茶皂素等茶中所含物质也能对 AD 病因进行干预,保护神经系统。

茶叶因加工工艺的不同,导致成品茶叶功能成分有一定区别,在用金观音茶树品种制成的白茶、绿茶、乌龙茶和红茶对 A β 处理的 PC12 细胞进行试验,发现不同类型茶叶对 A β 聚集体的形成均有抑制作用,其中,白茶的 EGCG 和 ECG 明显低于绿茶,但白茶中 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 和谷氨酰胺的水平远远高于其他茶类^[16]。GABA 作为一种神经递质,研究表明 AD 患者大脑中 GABA 的含量基本呈减少趋势^[112],而茶叶中所含的 GABA 能对 AD 患者的神经递质缺乏具有补充作用。

目前研究中茶黄素、茶山奈昔 B 和茶皂素的研究以抑制 A β 的沉积和调节乙酰胆碱水平为主。茶黄素并非茶鲜叶次生代谢物,是红茶加工中茶多酚的氧化产物。研究表明茶黄素能有效下调小鼠大脑中 β 、 γ -分泌酶的活性,升高 ADAM10 蛋白表达水平从

而提高 α -分泌酶活性,以及提高 $A\beta$ 降解酶 NEP 和 IDE 的活性水平,最终减少 $A\beta$ 的产生和低聚沉积^[17]。茯砖茶中发现一种新型的多功能化合物,名为茶山奈昔 B,不仅能降低 β -分泌酶活性,且能与 $A\beta_{1-42}$ 低聚物结合并阻断 $A\beta$ 向 β 折叠的构象转变^[113]。近期也有研究报道茶树种子中茶皂素 E1 能通过调节 β -、 γ -和 α -分泌酶以及激活 NEP 和 IDE 活性降低 $A\beta$ 的浓度,还具有抑制乙酰胆碱酯酶活性的双重作用^[118]。除以上单体物质,一项研究表明绿茶能通过抑制 APP 裂解、激活胶质细胞和抑制炎症反应,以及减少突触丢失来保护神经系统^[114]。茶树种子、种皮和茶籽油也被报道具有胆碱酯酶抑制活性,这与种子、种皮也检出具有咖啡碱,没食子酸和其他酚类等物质有关^[115-116]。另外,绿茶香气提取物也被报道能延缓 $A\beta$ 聚集诱导的线虫麻痹^[117]。

5 总结与展望

阿尔茨海默病是并非由单一机制导致的年龄依赖性疾病,致病因素复杂且相互联系、相互促进,涉及多种细胞、物质和分子机制。例如 $A\beta$ 沉积和磷酸化 Tau 蛋白之间相互促进,其间又导致胆碱能损伤、氧化应激、炎症损伤、内质网线粒体功能受损等,而这些下游病因又反馈调节促进 $A\beta$ 沉积和 NFTs 的生成,加重 AD 病程。茶叶功能成分来源于茶树次生代谢产物和加工转化产物,能对 AD 进行干预,是十分有潜力的 AD 预防性植物,综上,其总体作用主要有以下几个方面(图 2):降低 $A\beta$ 的生成水平,主要是通过降低 APP 生成、调节 α 、 β 和 γ 分泌酶三类关键酶和 $A\beta$ DPs 来降低 $A\beta$ 活性水平;抑制 $A\beta$ 的沉积,一方面具有直接破坏 $A\beta$ 氢键和疏水键的能力,另一方面能螯合金属离子来抑制 $A\beta$ 低聚;通过影

响 Tau 的激酶和磷酸酶从而干扰 Tau 磷酸化,直接与磷酸化 Tau 进行结合、间接影响相关蛋白从而改变 Tau 蛋白结构抑制聚集;结合胆碱酯酶从而降低乙酰胆碱的降解;抵抗氧化应激和炎症;调节多巴胺功能和修复线粒体障碍等,表明茶叶功能成分能关键性地对 AD 多种病因进行影响与调节,多靶点综合保护大脑神经系统,从而预防阿尔茨海默病。

在调节 AD 病因方面,茶叶功能成分多目前多集中于抑制 $A\beta$ 聚集沉积,其次是 NFTs 和神经递质调节。茶叶功能成分与一些 AD 相关的次级反应和物质之间的影响也值得研究。最近有试验表明, $A\beta$ 能否诱导炎症或许是 AD 病情发展中的关键因素之一^[120],而茶多酚,茶氨酸和咖啡碱拥有抗炎作用。虽无茶黄素、茶皂素等物质直接抑制 $A\beta$ 或 Tau 蛋白等因素导致的神经炎症试验证据,但茶黄素、茶皂素同样具有抵抗炎症的潜力^[121-122]。除炎症反应以外,氧化应激、胰岛素抵抗、环磷酸腺苷水平等因素同样促进 AD 发展。随着 AD 本身研究的深入,研究茶叶功能成分与这些下游因素的关系有利于更深入探明茶叶对 AD 的多靶点保护机制。在茶叶功能成分方面,当前研究多集中于茶多酚中的 EGCG,其他功能成分与这些关键上下游病因之间则研究不足,需要更多的试验研究。此外,参考当前茶多酚的功能开发,其他单体茶叶功能成分在进一步发掘和探明其对 AD 的机制后,也可用于分子衍生技术、纳米技术和协同作用研究。其中,分子衍生和纳米技术将是精确茶叶功能成分作用靶点,提高茶叶功能成分生物利用度的解决方案之一。除茶叶功能成分单体之间协同作用外,研究茶叶及其功能成分和其他物质、行为的协同作用也将进一步证明日常饮茶具有 AD

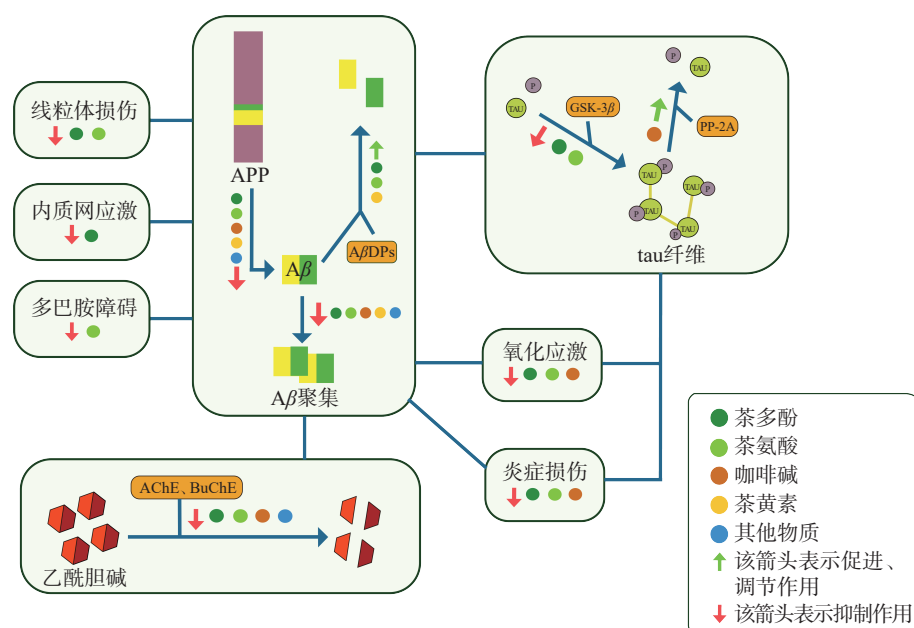


图 2 茶叶功能成分调控 AD 关键病因机制图

Fig.2 Schematic diagram of the tea functional ingredients regulating key pathogenic factor of AD

注: 病因之间的连接线表明两者之间相互关联^[20-23,78-79,83,86,118-119]。

预防效果,拓展茶的应用范围。

综上所述,茶叶功能成分丰富,来源于茶树自身次生代谢产物和茶叶加工转化产物,具有预防阿尔茨海默病的潜力,能综合影响 AD 关键的病因。AD 又是一种慢性退行性疾病,茶作为一种健康饮品,日常饮用有助于预防阿尔茨海默病,结合当前纳米技术以及阿尔茨海默病研究的深入,茶将具有广阔的应用前景。

参考文献

- [1] 国家统计局. 国家数据: 年度数据 [DB/OL]. 北京市西城区月坛南街 57 号 (100826). 国家统计局. 2020. [2021.6.15]. <https://data.stats.gov.cn/easyquery.htm?cn=C01&zb=A0305&sj=2020>. [National Bureau of Statistics. National date: Annual data [DB/OL]. 57 Yuetan South Street, Xicheng District, Peking (100826). National Bureau of Statistics. 2020. [2021.6.15]. <https://data.stats.gov.cn/easyquery.htm?cn=C01&zb=A0305&sj=2020>.]
- [2] 王英全, 梁景宏, 贾瑞霞, 等. 2020-2050 年中国阿尔茨海默病患病情况预测研究 [J]. *阿尔茨海默病及相关病*, 2019, 2(1): 289-298. [WANG Y Q, LIANG J H, JIA R X, et al. Alzheimer disease in China (2015-2050) estimated using the 1% population sampling survey in 2015 [J]. *Alzheimer's Disease and Related Diseases*, 2019, 2(1): 289-298.]
- [3] 李玉林, 步宏, 李一雷. 病理学 [M]. 第 9 版. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 324-325. [LI Y L, BU H, LI Y L. Pathology [M]. 9th ed. Peking: People's Medical Publishing House, 2018: 324-325.]
- [4] KUMAR D, GANESHPURKAR A, KUMAR D, et al. Secretase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease: Long road ahead [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 148: 436-452.
- [5] GODYN J, JONCZYK J, PANEK D, et al. Therapeutic strategies for Alzheimer's disease in clinical trials [J]. *Pharmacol Rep*, 2016, 68(1): 127-138.
- [6] HU N, YU J T, TAN L, et al. Nutrition and the risk of Alzheimer's disease [J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 524820.
- [7] KURIYAMA S, HOZAWA A, OHMORI K, et al. Green tea consumption and cognitive function: A cross-sectional study from the Tsurugaya project 1 [J]. *Am J Clin Nutr*, 2006, 83(2): 355-361.
- [8] NOGUCHI-SHINOHARA M, YUKI S, DOHMOTO C, et al. Consumption of green tea, but not black tea or coffee, is associated with reduced risk of cognitive decline [J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e96013.
- [9] NG T P, FENG L, NITI M, et al. Tea consumption and cognitive impairment and decline in older Chinese adults [J]. *Am J Clin Nutr*, 2008, 88(1): 224-231.
- [10] LEE J W, LEE Y K, BAN J O, et al. Green tea (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits beta-amyloid-induced cognitive dysfunction through modification of secretase activity via inhibition of ERK and NF-kappaB pathways in mice [J]. *J Nutr*, 2009, 139(10): 1987-1993.
- [11] GUO Y, ZHAO Y, NAN Y, et al. (-)-Epigallocatechin-3-gallate ameliorates memory impairment and rescues the abnormal synaptic protein levels in the frontal cortex and hippocampus in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Neuroreport*, 2017, 28(10): 590-597.
- [12] 阳衡. L-茶氨酸对 SAMP8 小鼠脑神经元的保护作用研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2017: 1-3. [YANG H. Protective effects of theanine on brain neurons in SAMP8 mouse [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2017: 1-3.]
- [13] BEN P, ZHANG Z, ZHU Y, et al. L-Theanine attenuates cadmium-induced neurotoxicity through the inhibition of oxidative damage and tau hyperphosphorylation [J]. *Neurotoxicology*, 2016, 57: 95-103.
- [14] ARENDASH G W, SCHLEIF W, REZAI-ZADEH K, et al. Caffeine protects Alzheimer's mice against cognitive impairment and reduces brain beta-amyloid production [J]. *Neuroscience*, 2006, 142(4): 941-952.
- [15] PRASANTHI J R, DASARI B, MARWARHA G, et al. Caffeine protects against oxidative stress and Alzheimer's disease-like pathology in rabbit hippocampus induced by cholesterol-enriched diet [J]. *Free Radic Biol Med*, 2010, 49(7): 1212-1220.
- [16] LI X, SMID S D, LIN J, et al. Neuroprotective and anti-amyloid beta effect and main chemical profiles of white tea: Comparison against green, oolong and black tea [J]. *Molecules*, 2019, 24(10): 1926.
- [17] 张静. 茶黄素对阿尔茨海默病模型的神经保护作用研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2017: 1. [ZHANG J. Neuroprotective effect of theaflavins on Alzheimer's disease model [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2017: 1.]
- [18] KHAN M I, SHIN J H, KIM M Y, et al. Green tea seed isolated Theasaponin E1 ameliorates AD promoting neurotoxic pathogenesis by attenuating abeta peptide levels in SweAPP N2a cells [J]. *Molecules*, 2020, 25(10): 2334.
- [19] HYMAN B T, PHELPS C H, BEACH T G, et al. National Institute on Aging-Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease [J]. *Alzheimers Dement*, 2012, 8(1): 1-13.
- [20] ITTNER L M, GOTZ J. Amyloid-beta and tau-a toxic pas de deux in Alzheimer's disease [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2011, 12(2): 65-72.
- [21] UTTARA B, SINGH A V, ZAMBONI P, et al. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: A review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options [J]. *Curr Neuropharmacol*, 2009, 7(1): 65-74.
- [22] BUTTERFIELD D A, CASTEGNA A, LAUDERBACK C M, et al. Evidence that amyloid beta-peptide-induced lipid peroxidation and its sequelae in Alzheimer's disease brain contribute to neuronal death [J]. *Neurobiol Aging*, 2002, 23(5): 655-664.
- [23] AKIYAMA H, BARGER S, BARNUM S, et al. Inflammation and Alzheimer's disease [J]. *Neurobiol Aging*, 2000, 21(3): 383-421.
- [24] SISODIA S S, ST GEORGE-HYSLOP P H. gamma-Secretase, notch, abeta and Alzheimer's disease: Where do the presenilins fit in? [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2002, 3(4): 281-290.
- [25] PASSER B, PELLEGRINI L, RUSSO C, et al. Generation of an apoptotic intracellular peptide by gamma-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid beta protein precursor [J]. *J Alzheimers Dis*, 2000, 2(3-4): 289-301.

- [26] ZHANG Z X, LI Y B, ZHAO R P. Epigallocatechin gallate attenuates beta-amyloid generation and oxidative stress involvement of PPARgamma in N2a/APP695 cells[J]. *Neurochem Res*, 2017, 42(2): 468–480.
- [27] JEON S Y, BAE K, SEONG Y H, et al. Green tea catechins as a BACE1 (beta-secretase) inhibitor[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2003, 13(22): 3905–3908.
- [28] LIM H J, SHIM S B, JEE S W, et al. Green tea catechin leads to global improvement among Alzheimer's disease-related phenotypes in NSE/hAPP-C105 Tg mice[J]. *J Nutr Biochem*, 2013, 24(7): 1302–1213.
- [29] MOCKETT B G, GUEVREMONT D, ELDER M K, et al. Glutamate receptor trafficking and protein synthesis mediate the facilitation of LTP by secreted amyloid precursor protein-alpha[J]. *J Neurosci*, 2019, 39(17): 3188–3203.
- [30] LEVITES Y, AMIT T, MANDEL S, et al. Neuroprotection and neurorescue against abeta toxicity and PKC-dependent release of nonamyloidogenic soluble precursor protein by green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate[J]. *FASEB J*, 2003, 17(8): 952–954.
- [31] SHAO C Y, CRARY J F, RAO C, et al. Atypical protein kinase C in neurodegenerative disease II: PKC δ /lambda in tauopathies and alpha-synucleinopathies[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2006, 65(4): 327–335.
- [32] 郎尉雅, 刘忠锦, 张海燕, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯对 APP/PS1 双转基因小鼠神经元突触可塑性和神经细胞黏附分子表达的影响[J]. *解剖学报*, 2020, 51(4): 495–501. [LANG W Y, LIU Z J, ZHANG H Y, et al. Effect of epigallocatechin gallate on expressions of synaptic plasticity and neural cell adhesion molecules in APP/PS1 double transgenic mice[J]. *Acta Anatomica Sinica (Acta Anat Sin)*, 2020, 51(4): 495–501.]
- [33] OBREGON D F, REZAI-ZADEH K, BAI Y, et al. ADAM10 activation is required for green tea (-)-epigallocatechin-3-gallate-induced alpha-secretase cleavage of amyloid precursor protein[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(24): 16419–16427.
- [34] MORI T, KOYAMA N, YOKOO T, et al. Gallic acid is a dual alpha/beta-secretase modulator that reverses cognitive impairment and remediates pathology in Alzheimer mice[J]. *J Biol Chem*, 2020, 295(48): 16251–16266.
- [35] HE M, LIU M Y, WANG S, et al. Research on EGCG improving the degenerative changes of the brain in AD model mice induced with chemical drugs[J]. *Zhong Yao Cai*, 2012, 35(10): 1641–1644.
- [36] REZNICHENKO L, AMIT T, ZHENG H, et al. Reduction of iron-regulated amyloid precursor protein and beta-amyloid peptide by (-)-epigallocatechin-3-gallate in cell cultures: Implications for iron chelation in Alzheimer's disease[J]. *J Neurochem*, 2006, 97(2): 527–536.
- [37] LEISSRING M A. Abeta-degrading proteases: Therapeutic potential in Alzheimer disease[J]. *CNS Drugs*, 2016, 30(8): 667–675.
- [38] YAMAMOTO N, SHIBATA M, ISHIKURO R, et al. Epigallocatechin gallate induces extracellular degradation of amyloid beta-protein by increasing neprilysin secretion from astrocytes through activation of ERK and PI3K pathways[J]. *Neuroscience*, 2017, 362: 70–78.
- [39] GAN L, MENG Z J, XIONG R B, et al. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate ameliorates insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease mice[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2015, 36(5): 597–605.
- [40] MELZIG M F, JANKA M. Enhancement of neutral endopeptidase activity in SK-N-SH cells by green tea extract[J]. *Phytomedicine*, 2003, 10(6-7): 494–498.
- [41] LIU Z, NAKAMURA T, MUNEMASA S, et al. Galloylated catechins as potent inhibitors of angiotensin converting enzyme[J]. *Food Science and Technology Research*, 2016, 22(6): 847–851.
- [42] SAVASKAN E, HOCK C, OLIVIERI G, et al. Cortical alterations of angiotensin converting enzyme, angiotensin II and AT1 receptor in Alzheimer's dementia[J]. *Neurobiol Aging*, 2001, 22(4): 541–546.
- [43] REZAI-ZADEH K, ARENDASH G W, HOU H, et al. Green tea epigallocatechin-3-gallate (EGCG) reduces beta-amyloid mediated cognitive impairment and modulates tau pathology in Alzheimer transgenic mice[J]. *Brain Res*, 2008, 1214: 177–187.
- [44] WANG S H, LIU F F, DONG X Y, et al. Thermodynamic analysis of the molecular interactions between amyloid beta-peptide 42 and (-)-epigallocatechin-3-gallate[J]. *J Phys Chem B*, 2010, 114(35): 11576–11583.
- [45] ZHAN C, CHEN Y, TANG Y, et al. Green tea extracts EGCG and EGC display distinct mechanisms in disrupting abeta42 protofibril[J]. *ACS Chem Neurosci*, 2020, 11(12): 1841–1851.
- [46] LIU Y, LIU Y, WANG S H, et al. Structural characteristics of (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibiting amyloid a beta 42 aggregation and remodeling amyloid fibers[J]. *Rsc Advances*, 2015, 5(77): 62402–62413.
- [47] RHO T, CHOI M S, JUNG M, et al. Identification of fermented tea (*Camellia sinensis*) polyphenols and their inhibitory activities against amyloid-beta aggregation[J]. *Phytochemistry*, 2019, 160: 11–18.
- [48] ATWOOD C S, OBRENOVICH M E, LIU T, et al. Amyloid-beta: A chameleon walking in two worlds: A review of the trophic and toxic properties of amyloid-beta[J]. *Brain Res Brain Res Rev*, 2003, 43(1): 1–16.
- [49] LOVELL M A, ROBERTSON J D, TEESDALE W J, et al. Copper, iron and zinc in Alzheimer's disease senile plaques[J]. *J Neurol Sci*, 1998, 158(1): 47–52.
- [50] CHEN T T, YANG Y F, ZHU S J, et al. Inhibition of a beta aggregates in Alzheimer's disease by epigallocatechin and epicatechin-3-gallate from green tea[J]. *Bioorganic Chemistry*, 2020, 105: 104382.
- [51] ROGERS J T, RANDALL J D, CAHILL C M, et al. An iron-responsive element type II in the 5'-untranslated region of the Alzheimer's amyloid precursor protein transcript[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(47): 45518–45528.
- [52] AVRAMOVICH-TIROSH Y, AMIT T, BAR-AM O, et al. Physiological and pathological aspects of a beta in iron homeostasis

- via 5' UTR in the APP mRNA and the therapeutic use of iron-chelators[J]. *Bmc Neuroscience*, 2008, 9 (Suppl 2): S2.
- [53] AVRAMOVICH-TIROSH Y, REZNICHENKO L, MIT T, et al. Neurorescue activity, APP regulation and amyloid-beta peptide reduction by novel multi-functional brain permeable iron- chelating-antioxidants, M-30 and green tea polyphenol, EGCG[J]. *Curr Alzheimer Res*, 2007, 4(4): 403–411.
- [54] HYUNG S J, DETOMA A S, BRENDER J R, et al. Insights into antiamyloidogenic properties of the green tea extract (-)-epigallocatechin-3-gallate toward metal-associated amyloid-beta species [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(10): 3743–3748.
- [55] ZHENG Q, KEBEDE M T, KEMEH M M, et al. Inhibition of the self-assembly of abeta and of tau by polyphenols: Mechanistic studies[J]. *Molecules*, 2019, 24(12): 2316.
- [56] IQBAL K, GRUNDKE-IQBAL I. Discoveries of tau, abnormally hyperphosphorylated tau and others of neurofibrillary degeneration: A personal historical perspective[J]. *J Alzheimers Dis*, 2006, 9(3 Suppl): 219–242.
- [57] STRANG K H, CROFT C L, SORRENTINO Z A, et al. Distinct differences in prion-like seeding and aggregation between tau protein variants provide mechanistic insights into tauopathies[J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(7): 2408–2421.
- [58] LI H, WU X, WU Q, et al. Green tea polyphenols protect against okadaic acid-induced acute learning and memory impairments in rats[J]. *Nutrition*, 2014, 30(3): 337–342.
- [59] LIN C L, CHEN T F, CHIU M J, et al. Epigallocatechin gallate (EGCG) suppresses beta-amyloid-induced neurotoxicity through inhibiting c-Abl/FE65 nuclear translocation and GSK3 beta activation[J]. *Neurobiol Aging*, 2009, 30(1): 81–92.
- [60] XU Y H, CHEN Y, ZHANG P, et al. Structure of a protein phosphatase 2A holoenzyme: Insights into B55-mediated tau dephosphorylation[J]. *Molecular Cell*, 2008, 31(6): 873–885.
- [61] JIA N, HAN K, KONG J J, et al. (-)-Epigallocatechin-3-gallate alleviates spatial memory impairment in APP/PS1 mice by restoring IRS-1 signaling defects in the hippocampus[J]. *Mol Cell Biochem*, 2013, 380(1-2): 211–218.
- [62] GUEROUX M, FLEAU C, SLOZECK M, et al. Epigallocatechin 3-Gallate as an inhibitor of tau phosphorylation and aggregation: A molecular and structural insight[J]. *J Prev Alzheimers Dis*, 2017, 4(4): 218–225.
- [63] CHESSER A S, GANESHAN V, YANG J, et al. Epigallocatechin-3-gallate enhances clearance of phosphorylated tau in primary neurons[J]. *Nutr Neurosci*, 2016, 19(1): 21–31.
- [64] 孙承艳, 贾宁, 韩钰. 表没食子儿茶素没食子酸酯对 APP/PS1 转基因小鼠认知功能和海马自噬的影响[J]. *中国药理学通报*, 2020, 36(4): 539–543. [SUN C Y, JIA N, HAN K. Effects of epigallocatechin-3-gallate on cognitive function and hippocampal autophagy in APP/PS1 transgenic mice[J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2020, 36(4): 539–543.]
- [65] WOBST H J, SHARMA A, DIAMOND M I, et al. The green tea polyphenol (-)-epigallocatechin gallate prevents the aggregation of tau protein into toxic oligomers at substoichiometric ratios[J]. *FEBS Lett*, 2015, 589(1): 77–83.
- [66] SONAWANE S K, CHIDAMBARAM H, BORAL D, et al. EGCG impedes human tau aggregation and interacts with tau[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 12579.
- [67] YAO J, GAO X, SUN W, et al. Molecular hairpin: A possible model for inhibition of tau aggregation by tannic acid[J]. *Biochemistry*, 2013, 52(11): 1893–902.
- [68] YIN X, JIN N, SHI J, et al. Dyrk1A overexpression leads to increase of 3R-tau expression and cognitive deficits in Ts65Dn down syndrome mice[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 619.
- [69] BARTUS R T. On neurodegenerative diseases, models, and treatment strategies: Lessons learned and lessons forgotten a generation following the cholinergic hypothesis[J]. *Exp Neurol*, 2000, 163(2): 495–529.
- [70] GREIG N H, UTSUKI T, YU Q, et al. A new therapeutic target in Alzheimer's disease treatment: Attention to butyrylcholinesterase[J]. *Curr Med Res Opin*, 2001, 17(3): 159–165.
- [71] KIM H K, KIM M, KIM S, et al. Effects of green tea polyphenol on cognitive and acetylcholinesterase activities[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2004, 68(9): 1977–1979.
- [72] OKELLO E J, MATHER J. Comparative kinetics of acetyl- and butyryl-cholinesterase inhibition by green tea catechins relevance to the symptomatic treatment of Alzheimer's disease[J]. *Nutrients*, 2020, 12(4): 1090.
- [73] ALI B, JAMAL Q M, SHAMS S, et al. In silico analysis of green tea polyphenols as inhibitors of AChE and BChE enzymes in Alzheimer's disease treatment[J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2016, 15(5): 624–628.
- [74] YATIN S M, VARADARAJAN S, LINK C D, et al. *In vitro* and *in vivo* oxidative stress associated with Alzheimer's amyloid beta-peptide (1-42)[J]. *Neurobiol Aging*, 1999, 20(3): 325–330, 339–342.
- [75] TAMAGNO E, BARDINI P, OBBILI A, et al. Oxidative stress increases expression and activity of BACE in NT2 neurons [J]. *Neurobiol Dis*, 2002, 10(3): 279–288.
- [76] SHIMMYO Y, KIHARA T, AKAIKE A, et al. Epigallocatechin-3-gallate and curcumin suppress amyloid beta-induced beta-site APP cleaving enzyme-1 upregulation[J]. *Neuroreport*, 2008, 19(13): 1329–1333.
- [77] SCAPAGNINI G, VASTO S, ABRAHAM N G, et al. Modulation of Nrf2/ARE pathway by food polyphenols: A nutritional neuroprotective strategy for cognitive and neurodegenerative disorders [J]. *Mol Neurobiol*, 2011, 44(2): 192–201.
- [78] AGOSTINHO P, CUNHA R A, OLIVEIRA C. Neuroinflammation, oxidative stress and the pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. *Curr Pharm Des*, 2010, 16(25): 2766–2778.
- [79] YAMAMOTO M, KIYOTA T, HORIBA M, et al. Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha regulate amyloid-beta plaque deposition and beta-secretase expression in Swedish mutant APP transgenic mice[J]. *Am J Pathol*, 2007, 170(2): 680–692.
- [80] ZHONG X, LIU M, YAO W, et al. Epigallocatechin-3-gallate attenuates microglial inflammation and neurotoxicity by suppressing the activation of canonical and noncanonical inflammasome via TLR4/NF-kappaB pathway[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2019,

- 63(21): e1801230.
- [81] LEE Y J, CHOI D Y, YUN Y P, et al. Epigallocatechin-3-gallate prevents systemic inflammation-induced memory deficiency and amyloidogenesis via its anti-neuroinflammatory properties[J]. *J Nutr Biochem*, 2013, 24(1): 298–310.
- [82] BAO J, LIU W, ZHOU H Y, et al. Epigallocatechin-3-gallate alleviates cognitive deficits in APP/PS1 mice[J]. *Curr Med Sci*, 2020, 40(1): 18–27.
- [83] LIN M T, BEAL M F. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases[J]. *Nature*, 2006, 443(7113): 787–795.
- [84] DRAGICEVIC N, SMITH A, LIN X Y, et al. Green tea epigallocatechin-3-gallate (EGCG) and other flavonoids reduce Alzheimer's amyloid-induced mitochondrial dysfunction[J]. *Journal of Alzheimers Disease*, 2011, 26(3): 507–521.
- [85] 张玉森, 董瑞瑞, 杨倩, 等. 茶多酚联合原花青素改善 AD 大鼠记忆作用及机制[J]. *中国公共卫生*, 2019, 35(3): 304–308.
- [ZHANG Y S, DONG R R, YANG Q, et al. Effect and mechanism of tea polyphenols combined with proanthocyanidins on memory improvement in AD model rats[J]. *Chinese Journal of Public Health*, 2019, 35(3): 304–308.]
- [86] ANSARI N, KHODAGHOLI F. Molecular mechanism aspect of ER stress in Alzheimer's disease: Current approaches and future strategies[J]. *Curr Drug Targets*, 2013, 14(1): 114–122.
- [87] DU K, LIU M, ZHONG X, et al. Epigallocatechin gallate reduces amyloid beta-induced neurotoxicity via inhibiting endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2018, 62(8): e1700890.
- [88] ANDRADE V, CORTES N, PASTOR G, et al. N-acetyl cysteine and catechin-derived polyphenols: A path toward multi-target compounds against Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2020, 75(4): 1219–1227.
- [89] CANO A, ETTCHETO M, CHANG J H, et al. Dual-drug loaded nanoparticles of epigallocatechin-3-gallate (EGCG)/ascorbic acid enhance therapeutic efficacy of EGCG in a APPswe/PS1dE9 Alzheimer's disease mice model[J]. *J Control Release*, 2019, 301: 62–75.
- [90] SMITH A, GIUNTA B, BICKFORD P C, et al. Nanolipidic particles improve the bioavailability and alpha-secretase inducing ability of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) for the treatment of Alzheimer's disease[J]. *Int J Pharm*, 2010, 389(1-2): 207–212.
- [91] 杨鹏, 郭倩, 许舒婷, 等. 靶向脑淀粉斑的载 EGCG 纳米递释系统的构建及其治疗阿尔茨海默病小鼠的研究[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2021, 52(4): 605–611. [YANG P, GUO Q, XU S T, et al. Constructing brain A β -targeting nanoparticles loaded with EGCG for treating Alzheimer's disease in mice[J]. *Journal of Sichuan University (Medical Science Edition)*, 2021, 52(4): 605–611.]
- [92] MORI T, KOYAMA N, TAN J, et al. Combined treatment with the phenolics (-)-epigallocatechin-3-gallate and ferulic acid improves cognition and reduces Alzheimer-like pathology in mice[J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(8): 2714–2731.
- [93] WALKER J M, KLAJKOTSKAIA D, AJIT D, et al. Beneficial effects of dietary EGCG and voluntary exercise on behavior in an Alzheimer's disease mouse model[J]. *J Alzheimers Dis*, 2015, 44(2): 561–572.
- [94] GIUNTA B, HOU H, ZHU Y, et al. Fish oil enhances anti-amyloidogenic properties of green tea EGCG in Tg2576 mice[J]. *Neurosci Lett*, 2010, 471(3): 134–138.
- [95] DONG YEON YUK, TAE IL KIM, SANG GI PARK, et al. Improvement of memory impairment by L-theanine through inhibition of acetylcholinesterase activity in mice[J]. *Yakhak Hoeji*, 2007, 51(6): 409–414.
- [96] KIM T I, LEE Y K, PARK S G, et al. L-Theanine, an amino acid in green tea, attenuates beta-amyloid-induced cognitive dysfunction and neurotoxicity: Reduction in oxidative damage and inactivation of ERK/p38 kinase and NF-kappaB pathways[J]. *Free Radic Biol Med*, 2009, 47(11): 1601–1610.
- [97] NAKAMURA T, OH C K, LIAO L J, et al. Noncanonical transnitrosylation network contributes to synapse loss in Alzheimer's disease[J]. *Science*, 2021, 371(6526): eaaw0843.
- [98] DI X, YAN J, ZHAO Y, et al. L-theanine protects the APP (Swedish mutation) transgenic SH-SY5Y cell against glutamate-induced excitotoxicity via inhibition of the NMDA receptor pathway[J]. *Neuroscience*, 2010, 168(3): 778–786.
- [99] PARK S, KIM D S, KANG S, et al. The combination of luteolin and l-theanine improved Alzheimer disease-like symptoms by potentiating hippocampal insulin signaling and decreasing neuroinflammation and norepinephrine degradation in amyloid-beta-infused rats[J]. *Nutr Res*, 2018, 60: 116–131.
- [100] KOCH G, DI LORENZO F, BONNI S, et al. Dopaminergic modulation of cortical plasticity in Alzheimer's disease patients[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2014, 39(11): 2654–2661.
- [101] ZHU G, YANG S, XIE Z, et al. Synaptic modification by L-theanine, a natural constituent in green tea, rescues the impairment of hippocampal long-term potentiation and memory in AD mice[J]. *Neuropharmacology*, 2018, 138: 331–340.
- [102] WU Z, ZHU Y, CAO X, et al. Mitochondrial toxic effects of abeta through mitofusins in the early pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. *Mol Neurobiol*, 2014, 50(3): 986–996.
- [103] CUNHA G M, CANAS P M, MELO C S, et al. Adenosine A2A receptor blockade prevents memory dysfunction caused by beta-amyloid peptides but not by scopolamine or MK-801[J]. *Exp Neurol*, 2008, 210(2): 776–781.
- [104] AYOUB S, MELZIG M F. Induction of neutral endopeptidase (NEP) activity of SK-N-SH cells by natural compounds from green tea[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2006, 58(4): 495–501.
- [105] PEARSE D D, PEREIRA F C, MARCILLO A E, et al. cAMP and Schwann cells promote axonal growth and functional recovery after spinal cord injury[J]. *Nat Med*, 2004, 10(6): 610–616.
- [106] GUPTA S, DASMAHAPATRA A K. Caffeine destabilizes preformed abeta protofilaments: Insights from all atom molecular dynamics simulations[J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2019, 21(39): 22067–22080.
- [107] DU F, ZHOU L, JIAO Y, et al. Ingredients in Zijuan pu'er tea extract alleviate beta-amyloid peptide toxicity in a caenorhabditis

- tis elegans model of Alzheimer's disease likely through DAF-16[J]. *Molecules*, 2019, 24(4): 729.
- [108] LAURENT C, EDDARKAOUI S, DERISBOURG M, et al. Beneficial effects of caffeine in a transgenic model of Alzheimer's disease-like tau pathology[J]. *Neurobiol Aging*, 2014, 35(9): 2079–2090.
- [109] JOHNSON D A, ULUS I H, WURTMAN R J. Caffeine potentiates the enhancement by choline of striatal acetylcholine release[J]. *Life Sci*, 1992, 51(20): 1597–1601.
- [110] POHANKA M, DOBES P. Caffeine inhibits acetylcholinesterase, but not butyrylcholinesterase[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(5): 9873–9882.
- [111] FABIANI C, MURRAY A P, CORRADI J, et al. A novel pharmacological activity of caffeine in the cholinergic system[J]. *Neuropharmacology*, 2018, 135: 464–473.
- [112] GOVINDPANI K, CALVO-FLORES GUZMAN B, VINNAKOTA C, et al. Towards a better understanding of GABAergic remodeling in Alzheimer's disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(8): 1813.
- [113] YANG S, LIU W, LU S, et al. A novel multifunctional compound camellikaempferoside B decreases abeta production, interferes with abeta aggregation, and prohibits abeta-mediated neurotoxicity and neuroinflammation[J]. *ACS Chem Neurosci*, 2016, 7(4): 505–518.
- [114] KAN Z, WANG Y, CHEN Q, et al. Green tea suppresses amyloid beta levels and alleviates cognitive impairment by inhibiting APP cleavage and preventing neurotoxicity in 5XFAD mice[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2021, 65(19): e2100626.
- [115] JO Y H, YUK H G, LEE J H, et al. Antioxidant, tyrosinase inhibitory, and acetylcholinesterase inhibitory activities of green tea (*Camellia sinensis* L.) seed and its pericarp[J]. *Food Science and Biotechnology*, 2012, 21(3): 761–768.
- [116] KIM J M, PARK S K, KANG J Y, et al. Green tea seed oil suppressed abeta1(-)42-induced behavioral and cognitive deficit via the abeta-related Akt pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(8): 1865.
- [117] TAKAHASHI A, WATANABE T, FUJITA T, et al. Green tea aroma fraction reduces beta-amyloid peptide-induced toxicity in *Caenorhabditis elegans* transfected with human beta-amyloid mini-gene[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2014, 78(7): 1206–1211.
- [118] HIMENO E, OHYAGI Y, MA L, et al. Apomorphine treatment in Alzheimer mice promoting amyloid-beta degradation[J]. *Ann Neurol*, 2011, 69(2): 248–256.
- [119] AULD D S, KAR S, QUIRION R. Beta-amyloid peptides as direct cholinergic neuromodulators: A missing link?[J]. *Trends Neurosci*, 1998, 21(1): 43–49.
- [120] MCALPINE C S, PARK J, GRICIUC A, et al. Astrocytic interleukin-3 programs microglia and limits Alzheimer's disease[J]. *Nature*, 2021, 595(7869): 701–706.
- [121] 彭云, 李果, 刘学艳, 等. 红茶中茶黄素的保健功效及机理研究进展[J]. *茶叶通讯*, 2020, 47(2): 198–203. [PENG Y, LI G, LIU X Y, et al. Research progress on health benefits and mechanism of theaflavins in black tea[J]. *Journal of Tea Communication*, 2020, 47(2): 198–203.]
- [122] YANG W S, KO J, KIM E, et al. 21-O-angeloyltheasapogenol E3, a novel triterpenoid saponin from the seeds of tea plants, inhibits macrophage-mediated inflammatory responses in a NF-kappaB-dependent manner[J]. *Mediators Inflamm*, 2014, 2014: 658351.