

茶叶活性成分对阿尔茨海默症的神经保护作用研究进展

高雄, 陈忠正, 张媛媛, 林晓蓉, 李斌
(华南农业大学食品学院, 广东广州 510642)

摘要: 阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD)是一种进行性中枢神经系统退行性疾病。在临床上表现为认知和记忆功能下降,以神经元细胞内的神经纤维缠结和细胞外的老年斑为主要病理特征。目前,关于AD发病机制存在多种假说,如 β -淀粉样肽(amyloid- β peptide, A β)级联假说、Tau蛋白异常磷酸化假说、胆碱能假说、氧化应激假说等。茶叶中含有儿茶素、茶氨酸等天然活性成分,研究表明,茶叶活性成分能提供多靶标的AD保护作用,尤其是表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin-3-gallate, EGCG),可通过调节 α 、 β 、 γ -分泌酶活性或蛋白激酶C等信号通路减少A β 生成,抑制A β 聚集或破坏纤维状A β ,抑制Tau蛋白过度磷酸化,调节乙酰胆碱、谷氨酸神经递质水平,抗氧化应激等预防AD。为此,本文综述了AD主要发病机制以及近10年茶叶活性成分对AD的神经保护机理研究进展。

关键词: 阿尔茨海默症; 发病机制; 茶叶; 活性成分; 神经保护

文章编号: 1673-9078(2015)12-416-425

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.12.061

Neuroprotection by Tea Bioactive Components in Alzheimer's Disease: a Review

GAO Xiong, CHEN Zhong-zheng, ZHANG Yuan-yuan, LIN Xiao-rong, LI Bin

(College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disorder of central nervous system. The clinical manifestations of this disease are the decline in cognitive capacity and memory, and the main pathological characteristics of AD are intracellular neurofibrillary tangles and extracellular senile plaque in neurons. At present, various hypotheses on the AD pathogenesis have been reported, such as amyloid- β peptide (A β) cascade hypothesis, Tau hyperphosphorylation hypothesis, cholinergic hypothesis, oxidative stress hypothesis, etc. Tea contains catechins, theanine, and other natural bioactive components. Previous studies have shown that the bioactive components of tea can provide multi-targeted neuroprotection in AD. Particularly through the regulation of α -, β -, and γ -secretase activities or protein kinase C and other signaling pathways, epigallocatechin-3-gallate (EGCG) can reduce the production of A β , prevent the aggregation of A β or disassemble the preformed A β fibrils, inhibit hyperphosphorylation of Tau protein, modulate levels of neurotransmitters (acetylcholine and glutamate), and increase the resistance to oxidative stress, thus preventing AD. The main findings on pathogenesis of AD and the research progress on the neuroprotective mechanisms of tea bioactive components in AD over the last decade are reviewed in this paper.

Key words: Alzheimer's disease; pathogenesis; tea; bioactive components; neuroprotection

脑退化症是一种进行性大脑神经退行性疾病,据国际阿尔茨海默症协会统计,全世界范围内脑退化症患者数预计每20年增长近一倍,将由2010年的3560万人增至2050年的11540万人,其中,中低收入国家所占比例将由2010年的58%增至2050年的71%。2010年,全世界脑退化症患者照护费用高达6040亿美元,

收稿日期: 2015-02-09

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金(GARS-23)

通讯作者: 李斌(1960-),女,博士,教授,研究方向: 茶叶生物技术、深加工等

约占全球GDP的1%,并呈逐年上升趋势^[1~2]。脑退化症主要包括阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD, 又称老年性痴呆)、帕金森综合症(Parkinson's disease, PD)、血管性痴呆(Vascular dementia, VD)、路易体痴呆(Dementia with Lewy bodies, DLB)、额颞叶型失智症(Frontotemporal lobar degeneration, FTLD)等。其中阿尔茨海默症占60%~80%,是最常见的类型,其以认知能力下降、记忆力减退、逻辑推理能力丧失、运动功能障碍以及人格行为改变等为主要症状。截至2013年,美国约有520万AD患者,年龄 \geq 65岁患病

率为11%，年龄 ≥ 85 岁患病率为32%^[3-4]。在发达国家老年人中，AD成为继心脏病、癌症、脑中风之后的第四大致死性疾病^[5]。我国目前至少有600万AD患者，约占全世界患病人口的四分之一^[6]。随着世界人口老龄化进程的加快，AD发病率不断增加，其将成为21世纪严重威胁人类生活和健康的危险疾病之一。

目前，AD的发病机制尚不明确，除了脑内 β -淀粉样肽(amyloid- β peptide, $A\beta$)沉积和过度磷酸化Tau蛋白聚集外，氧化应激、过渡金属离子(如 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Zn^{2+})、乙酰胆碱水平降低、钙平衡失调以及炎症等都可能引起AD，因此，AD可能是由多种病因共同引起。针对上述潜在病因，治疗AD的靶点主要包括： $A\beta$ 、Tau蛋白、自由基、过渡金属离子、乙酰胆碱酯酶、谷氨酸受体等。而临床上用于治疗AD的药物大多数针对单一靶点，美国FDA批准上市的药物有乙酰胆碱酯酶抑制剂(他克林，多奈哌齐，利斯的明，加兰他敏)和谷氨酸受体拮抗剂(美金刚)^[7,8]。

大量流行病学和前瞻性研究表明，饮茶可以降低AD、帕金森症等神经退行性疾病发病率，保护神经系统，降低认知能力损伤^[9]。我国是茶叶[*Camellia sinensis*(L. O. Kuntze)]资源大国，茶叶中含有茶多酚、茶氨酸、生物碱等生物活性物质，具有抗氧化、螯合金属离子、抗炎症、抗肿瘤、保护神经等功能特性^[10]。近10年来，茶叶对AD的神经保护作用越来越受到重视，人们在茶叶防治AD领域开展了大量研究，获得了许多有意义的研究成果，具有良好的应用前景。为此，本文综述了AD主要发病机制及茶叶防治AD的作用机理研究进展。

1 AD发病机制

目前，AD神经病理学诊断仍以神经元细胞内的神经纤维缠结和细胞外的老年斑为主要依据，而关于AD发病机制存在多种假说，如 $A\beta$ 级联假说、Tau蛋白异常磷酸化假说、胆碱能假说、氧化应激假说等。

1.1 $A\beta$ 级联假说

1984年，Glenner等首次提纯到AD患者脑血管淀粉样蛋白并鉴定了其氨基酸序列，随后Masters等验证了 $A\beta$ 是AD患者老年斑的主要成分。然而，1992年，Haass等在细胞培养中发现 $A\beta$ 是淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)在代谢过程中的正常代谢产物^[11]。于是研究者对APP水解过程深入研究，发现APP含有770个氨基酸残基，有两条水解途径：第一条是由 α -分泌酶在687位点水解产生可溶性淀粉样前体蛋白 α (soluble amyloid precursor protein α ,

sAPP α)，再由 γ -分泌酶在711/713位点水解，该途径产生 $A\beta_{17-40}$ 和 $A\beta_{17-42}$ ，即P3肽段，不产生 $A\beta$ ；第二条是由 β -分泌酶在671位点水解产生可溶性淀粉样前体蛋白 β (soluble amyloid precursor protein β , sAPP β)，再由 γ -分泌酶在711/713位点水解，该途径产生 $A\beta_{40}$ 和 $A\beta_{42}$ ，即可溶性 $A\beta$ ，其中 $A\beta_{40}$ 是主要形式，但以 $A\beta_{42}$ 为致病形式^[12]。目前， $A\beta$ 级联假说是AD发病机制中认可度较高的假说之一，该假说认为基因和环境因素都可能引起APP代谢失衡，引起脑内 $A\beta$ 产生和清除失衡，产生过量 $A\beta$ ，过量的 $A\beta$ 在脑内聚集成可溶性 $A\beta$ 寡聚体和不可溶性纤维状 $A\beta$ ，它们沉积形成淀粉样斑块，随之引发一系列不良反应，如钙离子通道失调、氧化应激、炎症反应、改变激酶活性、线粒体功能障碍、神经纤维缠结等，进而造成神经递质功能紊乱、突触可塑性破坏、神经元死亡，最终导致AD^[8,11,13,14]。

目前，在早发型家族性AD患者中发现的显性遗传突变基因有21号染色体上APP基因、14号染色体上早老素基因1和1号染色体上早老素基因2，其中APP基因调节APP产生，早老素基因编码 γ -分泌酶活性中心。大量基因研究表明，这些基因突变的家族性AD患者绝大多数表现出类似生物化学现象，即 $A\beta_{42}$ 产生量增加，而 $A\beta_{40}$ 产生量减少，但改变 $A\beta$ 种类比例的机制尚未确定^[15]。另外，研究发现，染色体19q13上载脂蛋白E(apolipoprotein E, APOE)基因与AD发病密切相关，尤其是晚发型AD，包括 ϵ_2 、 ϵ_3 、 ϵ_4 三个等位基因。其中 ϵ_4 等位基因是一个重要的半显性遗传危险因子，相比未携带者，携带一个 ϵ_4 等位基因的患病率增加2~3倍，而携带两个的患病率高达12倍^[16]。APOE4会加速 $A\beta$ 聚集、沉积，降低 $A\beta$ 清除，在脑内形成淀粉样斑块^[17-20]。同时，大量细胞和动物实验表明， $A\beta$ 聚集和沉积导致突触和神经元功能紊乱，可溶性 $A\beta$ 寡聚体比纤维状 $A\beta$ 、淀粉样斑块的致病性更强^[21,22]，这些研究和发现为 $A\beta$ 级联假说提供依据。然而，临床研究表明，多达30%的70岁老人大脑中存在淀粉样斑块，却没有相关认知能力损伤和记忆障碍，这与该假说存在不一致性。因此， $A\beta$ 对AD发病起关键作用，是否为最终导致AD发生的病因仍不明确。

1.2 Tau蛋白异常磷酸化假说

微管是一种细胞骨架，在细胞内起支撑作用，并辅助细胞内物质运输。正常神经细胞主要含有三种微管结合蛋白(microtubule-associated protein, MAP)：微管结合蛋白Tau、MAP1和MAP2，MAP可与微管结

合并促进其组装,维持微管结构稳定性。研究发现,Tau 蛋白异常磷酸化与神经退行性疾病密切相关,如AD、唐氏综合症、关岛帕金森-痴呆综合征、额颞叶型失智症、皮克病等。蛋白激酶和蛋白磷酸酶调节失衡会导致 Tau 蛋白异常磷酸化,糖原合成酶激酶-3(glycogen synthase kinase-3, GSK-3)、细胞周期蛋白依赖性激酶-5(cyclin dependent protein kinase-5, CDK-5)、胞外信号调节激酶 1/2 (extracellular regulated kinase 1/2, ERK1/2)、蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 等可催化 Tau 蛋白磷酸化,蛋白磷酸酶-2A (protein phosphatase-2A, PP-2A) 和蛋白磷酸酶-1 (protein phosphatase-1, PP-1) 可催化 Tau 蛋白脱磷酸化^[23,24]。1992~1994年, Khatoon 等研究发现,AD 患者脑内高度磷酸化的 Tau 蛋白量比正常人高 4~8 倍,其与微管结合能力降低,易于聚集成双螺旋纤维丝和直纤维丝,最终形成神经纤维缠结^[25-27]。2007年, Li 等首次发现,高度磷酸化的 Tau 蛋白不但丧失原有功能,而且会隔离正常 Tau 蛋白和 MAP2,抑制微管组装,破坏微管网络结构形成,而 PP-2A 处理能够修复微管网络结构^[28]。Tau 蛋白高度磷酸化会引起微管系统功能紊乱及轴浆运输障碍,使突触缺失和神经细胞死亡,最终导致 AD^[29]。认知功能损伤和组织病理研究也表明,神经纤维缠结量与 AD 患病及病情程度密切相关,而淀粉样斑块在这方面未得到证实^[30-31]。

1.3 胆碱能假说

1971年, Deutsch 等首次提出中枢胆碱能系统可能与学习、记忆功能存在关联^[32]。乙酰胆碱 (acetylcholine, ACh) 是脑组织中重要的神经递质,在突触前由乙酰胆碱转移酶 (choline acetyltransferase, ChAT) 催化胆碱和乙酰辅酶 A 生成,释放进入突触间隙后,特异性作用于突触后膜乙酰胆碱受体,使受体膜产生电位差,推动神经兴奋传导,随后被乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, AChE) 迅速水解成胆碱^[33]。1976年, Bowen 等首次报道 AD 患者大脑皮层胆碱能神经元严重缺失, ChAT 活性显著降低。1982年, Bartus 等研究发现胆碱能系统功能障碍与老年人记忆紊乱密切相关,首次提出胆碱能假说。临床研究表明,AD 患者脑组织中胆碱能神经元缺失, ChAT 活性降低,胆碱摄取、ACh 释放功能下降,表现出认知、记忆功能障碍等临床症状,而服用乙酰胆碱酯酶抑制剂可提高 ACh 水平,改善 AD 患者认知能力下降和行为障碍,因此,该假说认为胆碱能系统损伤可能导致 AD 发生^[34-35]。尽管研究发现部分轻度 AD 患者胆碱能功能正常,直到 AD 晚期才逐渐出现胆碱能功能障碍,且乙

酰胆碱酯酶抑制剂只能轻度改善认知功能障碍,越来越多研究者认为胆碱能系统损伤可能是导致 AD 的主要因素^[36-37]。但是,乙酰胆碱酯酶抑制剂仍是目前临床治疗 AD 的主要药物。

1.4 氧化应激假说

正常机体内氧化系统和抗氧化系统处于平衡状态,当机体遭受有害刺激,氧化程度超过机体所能承受的抗氧化能力范围时,平衡状态破坏而产生过多自由基,这些自由基会攻击蛋白质,核酸,脂类,糖类,生物大分子物质,造成组织细胞损伤,导致氧化应激^[38]。相比于其他器官,中枢神经系统氧化代谢率、多不饱和脂肪酸含量以及氧化还原过渡金属离子含量都较高,且抗氧化能力又相对较弱,因此,易于被自由基攻击而引发氧化应激。Praticò 等认为中枢神经系统内线粒体功能紊乱、未结合态过渡金属离子以及 A β 都可能产生自由基而诱发氧化应激,引起 AD 相关基因突变和酶活性改变,促使 APP 代谢异常、Tau 蛋白异常磷酸化,进而形成淀粉样斑块和神经纤维缠结,造成神经细胞不可逆损伤、退化、死亡,最终导致 AD^[39,40]。同时,大量动物和临床研究表明,氧化应激发生先于其他 AD 病理特征,AD 早期脑组织中 RNA、蛋白质、脂质氧化已经开始增加,抗氧化能力下降,且氧化应激会加剧 A β 生成聚集和 Tau 蛋白异常磷酸化,AD 患者事后脑组织中 RNA、蛋白质及脂质氧化物含量都明显增多^[41-43],故提出氧化应激假说。

2 茶叶防治 AD 的作用机理

茶叶中含有儿茶素、茶氨酸等活性成分,儿茶素占茶叶干重 12%~24%,主要包括表没食子儿茶素没食子酸酯 (epigallocatechin-3-gallate, EGCG)、表没食子儿茶素 (epigallocatechin, EGC)、表儿茶素没食子酸酯 (epicatechin-3-gallate, ECG)、表儿茶素 (epicatechin, EC)、儿茶素 (catechin, C) 等,其中 EGCG 含量最高。茶氨酸是茶叶特殊的氨基酸,一般占茶叶干重 1%~2%,以 L 型为主^[10]。儿茶素和茶氨酸都能够渗透血脑屏障进入脑组织^[44-45],主要通过调节相关酶的活性、抑制 A β 聚集或破坏纤维状 A β 、抑制 Tau 蛋白磷酸化、调节神经递质水平及抗氧化应激等方式防治 AD。

2.1 调节相关酶的活性

2.1.1 调节分泌酶活性

A β 级联假说认为, α 、 β 、 γ -分泌酶在 APP 的代谢过程中发挥极其重要作用,通过调节分泌酶活性,

减少 $A\beta$ 产生量, 可能为 AD 治疗提供有效手段, 目前, 以这三种分泌酶为靶标的药物研究已处于临床阶段。研究者在体外研究中发现, 绿茶、红茶以及儿茶素单体对 β -分泌酶都有不同程度抑制作用, 相比于其他儿茶素单体, EGCG 抑制作用最强^[46-48]。2005 年, Rezai-Zadeh 等在 APP 转基因大鼠 TgAPPsw 模型和 SweAPP N2a 小鼠细胞模型中发现, EGCG 可提高 α -分泌酶活性, 促进非淀粉样代谢途径, 抑制 $A\beta_{40}$ 和 $A\beta_{42}$ 产生, 增加 sAPP α 形成, 降低脑内淀粉样变性^[49]。2009 年, Lee 等在 $A\beta_{42}$ 诱导小鼠和早老素基因 2 突变 AD 小鼠模型研究中发现, EGCG 显著提高大脑皮层、海马区 α -分泌酶活性, 同时抑制 β 、 γ -分泌酶活性, 从而促进非淀粉样代谢途径^[50]。2010 年, Smith 等将脂质载体与 EGCG 按不同比例制成纳米颗粒, 相比对照组, 脂质载体与 EGCG 按 1:8 混合可大大增加细胞 α -分泌酶活性, 按 1:16 混合显著提高 EGCG 生物利用度^[51]。

2.1.2 调节蛋白激酶 C 等信号途径

蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 是一种磷脂和 Ca^{2+} 依赖性激酶, 具有多种亚型, 能够催化多种靶蛋白发生磷酸化反应, 大量研究表明, PKC 激活剂在改善学习和记忆能力、降低 $A\beta$ 水平、促进突触形成等方面发挥重要作用^[52-53]。2007 年, Alkon 等提出缺乏 PKC 信号传导是 AD 起源的假说, 认为激活 PKC 信号通路对 AD 具有一定疗效^[54]。

2003 年, Levites 等用 EGCG 处理大鼠嗜铬细胞瘤 PC12 细胞, 能够激活 PKC 信号传导途径, 活化 α -分泌酶, sAPP α 生成量增加近 6 倍, 而使用 PKC 抑制剂后, sAPP α 增加被阻断, 表明 EGCG 可激活 PKC, 且活化 α -分泌酶依赖于 PKC 激活, 同时, 雄性 C57/BL 小鼠口服 EGCG (2 mg/kg) 14 d 后, 海马区 PKC α 和 PKC ϵ 水平明显提高, sAPP α 含量显著增加, 但具体机制仍不清楚^[55]。2006 年, Choi 等在 PKC ϵ /APP 转基因小鼠模型中发现, 过量表达 PKC ϵ 并没有改变 APP 代谢途径, 而是通过增强内皮素转化酶 (endothelin converting enzyme, ECE) 活性降解 $A\beta$, 减少淀粉样斑块负荷和 $A\beta$ 沉积^[56]。2009 年, Nelson 等在体外细胞实验中使用激活剂激活 PKC ϵ 后发现, 其也是通过增强 ECE 活性来清除 $A\beta_{42}$ ^[57]。这些研究表明, EGCG 很可能同时激活 PKC α 和 PKC ϵ , 经由 PKC α 途径增强 α -分泌酶促进 sAPP α 生成, 经由 PKC ϵ 途径增强 ECE 活性促进 $A\beta$ 降解, 降低 $A\beta$ 的毒性作用, 从而保护神经。此外, EGCG 还可通过 PKC 信号传导途径, 降低 Bad、Bax 等促凋亡基因表达, 提高神经细胞存活率^[58-60]。

除了 PKC 信号途径, 2009 年, Li 等研究发现, 长期口服儿茶素可调节 SAMP8 快速老化小鼠海马区 PKA/cAMP 反应元件结合蛋白 (cAMP response element binding protein, CREB) 信号途径, 增加 PKA 和 CREB 磷酸化水平, 减少 $A\beta_{42}$ 寡聚物的形成, 提高突触可塑性相关蛋白含量, 改善空间学习和记忆能力^[61]。2013 年, Jia 等在 APP/PS1 转基因小鼠研究中发现, EGCG 处理可抑制肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)/氨基末端激酶 (Jun N-terminal kinase, JNK) 信号途径, 增加海马区 Akt 和 GSK-3 β 磷酸化程度, 降低海马区胰岛素受体底物-1 磷酸化水平及 $A\beta_{42}$ 含量, 改善空间记忆能力^[62]。

2.2 抑制 $A\beta$ 聚集或破坏纤维状 $A\beta$

2008 年, Ehrnhoefer 等在体外研究中发现, EGCG 能够直接与展开的 $A\beta$ 结合, 抑制 $A\beta$ 形成寡聚体或原纤维, Harvey 等也验证了该实验结果^[63-64]。2010 年, Bieschke 等发现 EGCG 还可以破坏已形成的纤维状 $A\beta$, 将其转化为小分子寡聚结构或无定形态的蛋白质聚集体, 降低 $A\beta$ 神经毒性^[65]。2011 年, Liu 等通过分子模拟和分子力学-泊松-波尔兹曼表面积方法分析发现, EGCG 与 $A\beta_{42}$ 直接交互作用是其抑制 $A\beta_{42}$ 聚集的起点, EGCG- $A\beta_{42}$ 复合物 71% 的结合自由能由非极性键提供, 同时, 鉴定了 12 个与 EGCG 具有强烈相互作用的 $A\beta_{42}$ 残基, 初步阐明 EGCG 抑制 $A\beta_{42}$ 聚集的分子机制^[66]。因此, EGCG 还可能通过抑制 $A\beta$ 聚集和沉积、促进老年斑的破坏和溶解等方式发挥神经保护作用, 可能为 AD 提供有效防治手段。

2.3 抑制 Tau 蛋白磷酸化

Tau 蛋白过度磷酸化及其聚集形成的神经纤维缠结与 AD 患者认知功能障碍密切相关, 目前, 关于茶叶抑制 Tau 蛋白过度磷酸化或者聚集的研究相对较少。Taniguchi 和 Han 等在体外研究发现, ECG、EC、C 能够抑制肝素诱导的 Tau 蛋白聚集^[67-68]。2008 年, Rezai-Zadeh 等研究发现, TgAPPsw 转基因小鼠口服 EGCG (50 mg/kg) 后, 脑组织中可溶性磷酸化 Tau 蛋白含量显著降低, 不可溶性磷酸化 Tau 蛋白含量显著提高, 二者含量与正常小鼠相接近, 表明 EGCG 能够改善 Tau 蛋白病理现象^[69]。2014 年, Li 等用冈田酸诱导大鼠建立 AD 模型, 冈田酸会选择性抑制 PP1 和 PP2A 而引起 Tau 蛋白高度磷酸化, 茶多酚预处理能够降低海马区神经元 Tau 蛋白磷酸化程度, 改善空间记忆能力, 从而抑制冈田酸神经毒性^[70]。

2.4 调节神经递质水平

2.4.1 调节乙酰胆碱水平

2004年, Okello等在体外实验中发现, 绿茶和红茶水提取物对 AChE 半抑制浓度分别为 0.03 和 0.06 mg/mL, 对丁酰胆碱酯酶半抑制浓度均为 0.05 mg/mL^[47]。同年, Kim 等报道了在体外实验中, 茶多酚对 AChE 半抑制浓度为 248 $\mu\text{g/mL}$, 而对莨菪碱诱导的大鼠模型, 连续 7 周口服 0.2% 茶多酚后, 相比对照组, 大鼠脑组织中的 AChE 抑制率高达 71%, 明显改善认知能力^[71]。2013 年, Biasibetti 等在脑室内灌注链脲霉素的大鼠模型中, 连续 4 周口服 EGCG (10 mg/kg 体重) 后, 相比对照组, EGCG 能够抑制链脲霉素引起的海马区 AChE 活性升高, 改善认知能力^[72]。然而, Srividhya 等却发现老龄鼠连续 30 天口服 EGCG (2 mg/kg 体重) 后, 脑组织中 AChE 和 ChAT 活性同时增强, 结果表明, EGCG 可通过调节 ACh-AChE 循环, 从而维持大脑皮层 ACh 水平, 改善记忆能力^[73]。2014 年, Zhang 等研究发现 EGCG 可通过激活 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体, 减少 DNA 碎片生成, 降低 A β 对原代神经元细胞的毒性作用, 而使用 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体拮抗剂后, EGCG 对神经元细胞的保护作用显著下降^[74]。目前, 关于茶叶中抑制 AChE 的活性成分还不明确, 调节 ACh 水平的机理仍有待于进一步研究。

2.4.2 抑制谷氨酸兴奋性毒性

谷氨酸是中枢神经系统主要的兴奋性神经递质, 其过量释放会过度激活谷氨酸受体, 引起细胞内钙离子大量积累, 造成钙稳态失衡, 导致神经元细胞死亡^[75]。L-茶氨酸化学结构与 L-谷氨酸相似, 2002 年, Kakuka 等用放射性标记跟踪法研究发现, 茶氨酸能够与 L-谷氨酸竞争结合离子型谷氨酸受体, 包括 N-甲基-D-天冬氨酸 (N-methyl-D-aspartic acid, NMDA)、 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酮酸 (a-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate, AMPA) 以及海人藻酸 (kainate acid, KA) 受体^[76]。Iwasaki 等在两次重复脑缺血大白鼠模型中, 注射竞争性 AMPA 受体拮抗剂能够改善空间记忆能力, 抑制海马 CA1 区细胞凋亡, 使用 NMDA 受体拮抗剂却没有效果, 而注射茶氨酸也能够明显改善空间记忆能力, 提高海马 CA1 区细胞存活率, 研究结果表明, 茶氨酸可能通过拮抗 AMPA 受体保护神经元细胞^[77-78]。2010 年, Di 等在 APP 转基因 SH-SY5Y 细胞中发现, L-茶氨酸可与 NMDA 受体结合, 降低 L-谷氨酸诱导的细胞凋亡, 抑制 JNK 和半胱氨酸蛋白酶-3 的激活以及细胞内 Ca^{2+}

浓度升高, 通过下调诱导型一氧化氮合成酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 和神经元型一氧化氮合成酶 (neuronal nitric oxide synthase, nNOS) 水平来减少细胞内一氧化氮 (nitric oxide, NO) 产生, 还可以降低 A β 40 产生, 从而发挥保护神经作用^[79]。

2007 年, Walton 等阐述了谷氨酸/谷氨酰胺循环途径改变对 AD 的影响^[80]。2008 年, Kakuda 等在原代培养大鼠神经元细胞和星形胶质细胞中研究发现, 茶氨酸能够作用于谷氨酰胺运输体, 一定程度上改变细胞外谷氨酰胺水平, 抑制谷氨酸/谷氨酰胺循环途径, 降低谷氨酸从突触小泡释放进入突触间隙, 从而保护神经免受谷氨酸兴奋性毒性作用^[81], 但茶氨酸与谷氨酰胺运输体的作用机制还不清楚。茶氨酸抑制谷氨酸/谷氨酰胺循环途径以及对谷氨酸受体的拮抗作用很可能是其发挥神经保护作用的起点。

此外, 注射茶氨酸能够增强海马 CA1 区长时程增强效应, 提高海马区脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 水平, 促进海马区神经发育和再生, 加强识别目标记忆能力^[82-84]。

2.5 抗氧化应激

茶叶中儿茶素可通过直接清除自由基, 激活细胞内抗氧化防御系统, 整合过量过渡金属离子等方式降低自由基水平, 从而减少脂质、蛋白质以及 DNA 过氧化, 保护神经系统^[85]。2003 年, Koh 等用 H_2O_2 诱导 P C12 细胞建立氧化应激模型, EGCG 预处理可通过激活磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)/Akt 和抑制 GSK-3 信号通路, 抑制细胞色素 c 释放和 caspase-3 激活, 减少聚 (ADP-核糖) 聚合酶断裂, 从而降低 H_2O_2 引起的细胞损伤^[86]。Haque 等先后以健康小鼠和 A β 40 诱导大鼠进行实验, 在口服儿茶素 26 周后, 能够明显降低血浆中脂质过氧化物浓度和海马区活性氧产生, 增强血浆铁离子还原抗氧化能力, 改善空间记忆力^[87-88]。2009 年, Kim 等用 EGCG 处理 BV2 小胶质细胞, 能够有效抑制 iNOS 基因表达和 NO 产生, 增强细胞抗氧化防御能力, 减少 A β 25-35 诱导的细胞凋亡^[89]。2010 年, Li 等对雌性 C57BL/6J 老龄鼠长期口服儿茶素后, 显著提高血浆中超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶水平, 减少海马区脂类和蛋白质过氧化, 降低核转录因子- κB (nuclear factor- κB , NF- κB) 活性和脂褐素形成, 有效降低脑老化引起的氧化损伤^[90]。2011 年, Dragicevic 等研究发现, EGCG 可显著提高 SweAPP N2a 小鼠细胞线粒体呼吸速率和线粒体膜电位, 减少活性氧产生,

增加 ATP 水平, 体内试验也得到相一致结果, EGCG 能够明显改善 APP/PS1 转基因小鼠海马区、皮质层、纹状体线粒体功能^[91]。另外, Kim 和 Jo 等先后在注射 A β 42 小鼠模型以及人成神经细胞瘤细胞 SK-N-MC 和 SK-N-SH 中发现, L-茶氨酸能够抑制 ERK、p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK) 以及 NF- κ B 活性, 提高谷胱甘肽水平, 减少脂类和蛋白质过氧化, 从而降低 A β 42 神经毒性^[92,93]。

在 AD 患者大脑皮层、海马区、黑质区, 神经细胞、星形胶质细胞以及小胶质细胞中, 铁元素都出现异常积累, Fe²⁺能够与过氧化氢发生芬顿反应产生羟基自由基, 发生氧化应激, 过量铁元素还会促进 A β 聚集和沉积以及神经纤维缠结形成, 造成细胞损伤、凋亡。研究表明, EGCG 可通过血脑屏障, 提高超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性, 抑制铁离子诱导的脂质过氧化, 因此, EGCG 可能通过抑制芬顿反应发生或者螯合铁离子, 减少自由基产生, 保护神经细胞^[94,95]。

3 展望

随着世界人口老龄化进程加快, AD 发病率逐年递增, 而关于 AD 发病机制尚不明确, 存在多种假说, 病理变化复杂多样。到目前为止, 针对单一靶点或者途径的临床药物治疗效果并不理想, AD 很可能是多病因共同作用的结果。同时, AD 临床表现相当晚, 脑部临床病症数十年后才会表现出来, 而治愈晚期 AD 患者又非常困难, 因此, 早期预防 AD 尤为重要。

近 10 年来, 茶叶对 AD 的神经保护作用及其机理已成为国际研究热点。茶叶中含有儿茶素、茶氨酸等特征活性成分, 其可渗透血脑屏障, 有效清除自由基, 螯合金属离子, 调节谷氨酸、乙酰胆碱等神经递质水平, 调节 α 、 β 、 γ -分泌酶、PKC 等相关酶的活性, 降低 A β 神经毒性。相比于乙酰胆碱酯酶抑制剂和谷氨酸受体拮抗剂, 茶叶具有多靶点、毒副作用小、协同增效等优点, 人们可通过日常适量饮茶或者摄入茶食品, 早期预防 AD 或者延缓 AD 发病进程。由于 AD 病理机制相当复杂, 多靶点治疗策略逐渐成为趋势, 临床药物合成开发也以多靶点作用为导向, 而茶叶可通过多组分相互协作发挥神经保护作用, 但有关这方面研究报道还相对较少且不够深入; 儿茶素单体之间、儿茶素单体与茶氨酸之间的协同作用机理仍有待进一步阐明。另外, 茶多酚与美金刚协同防治 AD 的研究已有报道, 儿茶素、茶氨酸等活性成分与 AD 药物结合使用也可多靶点预防或治疗 AD 提供可能, 如

EGCG 与美金刚结合, 或者茶氨酸与乙酰胆碱酯酶抑制剂结合等。EGCG 是茶叶中含量最高的儿茶素, 然而研究表明, EGCG 在体内存在稳定性差、生物利用率低等问题, 严重影响其功效发挥, 已有研究通过结构修饰、纳米载体包埋等技术, 实现其靶向运输, 从而在一定程度上提高了 EGCG 体内生物活性。但过量摄入 EGCG 可能会对人体产生有害影响, 因而, 进一步阐明 EGCG 在人体内的代谢转化途径, 并确定 EGCG 及其代谢产物在脑组织内起到防治 AD 的浓度剂量相当重要。这一系列问题的深入研究, 必将进一步阐释茶叶对 AD 的神经保护作用及其作用机理, 对含有儿茶素、茶氨酸等特征活性成分的茶叶在 AD 的早期预防或发病进程的延缓等领域的科学、正确应用, 具有重要而积极的意义。

参考文献

- [1] Alzheimer's Disease International. World Alzheimer Report 2009: The Global Prevalence of Dementia [R]. London: 2009
- [2] Alzheimer's Disease International. World Alzheimer Report 2010: The Global Economic Impact of Dementia [R]. London: 2010
- [3] Alzheimer's Association. 2013 Alzheimer's disease facts and figures [J]. Alzheimer's & Dementia, 2013, 9(2): 208-245
- [4] Hebert L E, Scherr P A, Bienias J L, et al. Alzheimer Disease in the US Population: Prevalence Estimates Using the 2000 Census [J]. Archives of Neurology, 2003, 60(8): 1119-1122
- [5] oiber D, Soreq H. Cellular Stress Reactions as Putative Cholinergic Links in Alzheimer's Disease [J]. Neurochemical Research, 2005, 30(6): 909-919
- [6] 杨策策,王涛,肖世富.阿尔茨海默病免疫治疗的临床研究进展[J].生命科学,2014,26(1):50-58
YANG Ce-Ce, WANG Tao, XIAO Shi-Fu. New development of clinical trial in immunotherapy for Alzheimer's disease [J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2014, 26(1): 50-58
- [7] Zhang H. One-compound-multiple-targets strategy to combat Alzheimer's disease [J]. FEBS Letters, 2005, 579(24): 5260-5264
- [8] Tayeb H O, Yang H D, Price B H, et al. Pharmacotherapies for Alzheimer's disease: Beyond cholinesterase inhibitors [J]. Pharmacology & Therapeutics, 2012, 134(1): 8-25
- [9] Mandel S A, Amit T, Weinreb O, et al. Understanding the Broad-Spectrum Neuroprotective Action Profile of Green Tea Polyphenols in Aging and Neurodegenerative Diseases [J]. Journal of Alzheimer's Disease, 2011, 25(2): 187-208
- [10] 宛晓春.茶叶生物化学(第三版)[M].北京:中国农业出版

- 社,2003
- WAN Xiao-chun. Tea Biochemistry (the third edition) [M]. Beijing: Chinese Agricultural Press, 2003
- [11] Hardy J, Selkoe D J. The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and Problems on the Road to Therapeutics [J]. *Science*, 2002, 297(5580): 353-356
- [12] De Strooper B, Vassar R, Golde T. The secretases: enzymes with therapeutic potential in Alzheimer disease [J]. *Nature Reviews Neurology*, 2010, 6(2): 99-107
- [13] Hardy J. The amyloid hypothesis for Alzheimer's disease: a critical reappraisal [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2009, 110(4): 1129-1134
- [14] Huang Y, Mucke L. Alzheimer Mechanisms and Therapeutic Strategies [J]. *Cell*, 2012, 148(6): 1204-1222
- [15] Tanzi R E, Bertram L. Twenty Years of the Alzheimer's Disease Amyloid Hypothesis: A Genetic Perspective [J]. *Cell*, 2005, 120(4): 545-555
- [16] Bertram L, McQueen M B, Mullin K, et al. Systematic meta-analyses of Alzheimer disease genetic association studies: the AlzGene database [J]. *Nature Genetics*, 2007, 39(1): 17-23
- [17] Reiman E M, Chen K, Liu X, et al. Fibrillar amyloid- β burden in cognitively normal people at 3 levels of genetic risk for Alzheimer's disease [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009, 106(16): 6820-6825
- [18] Deane R, Sagare A, Hamm K, et al. apoE isoform-specific disruption of amyloid β peptide clearance from mouse brain [J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2008, 118(12): 4002-4013
- [19] Ito S, Ohtsuki S, Kamiie J, et al. Cerebral clearance of human amyloid- β peptide (1-40) across the blood-brain barrier is reduced by self-aggregation and formation of low-density lipoprotein receptor-related protein-1 ligand complexes [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2007, 103(6): 2482-2490
- [20] Bell R D, Sagare A P, Friedman A E, et al. Transport pathways for clearance of human Alzheimer's amyloid [beta]-peptide and apolipoproteins E and J in the mouse central nervous system [J]. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 2006, 27(5): 909-918
- [21] Li S, Jin M, Koeglspenger T, et al. Soluble A β Oligomers Inhibit Long-Term Potentiation through a Mechanism Involving Excessive Activation of Extrasynaptic NR2B-Containing NMDA Receptors [J]. *The Journal of Neuroscience*, 2011, 31(18): 6627-6638
- [22] Palop J J, Mucke L. Amyloid-[beta]-induced neuronal dysfunction in Alzheimer's disease: from synapses toward neural networks [J]. *Nature Neurodegeneration*, 2010, 13(7): 812-818
- [23] Iqbal K, Del C. Alonso A, et al. Tau pathology in Alzheimer disease and other tauopathies [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 2005, 1739(2-3): 198-210
- [24] Iqbal K, Liu F, Gong C, et al. Mechanisms of tau-induced neurodegeneration [J]. *Acta Neuropathologica*, 2009, 118(1): 53-69
- [25] Khatoon S, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Brain Levels of Microtubule-Associated Protein τ Are Elevated in Alzheimer's Disease: A Radioimmuno-Slot-Blot Assay for Nanograms of the Protein [J]. *Journal of Neurochemistry*, 1992, 59(2): 750-753
- [26] Kopke E, Tung Y C, Shaikh S, et al. Microtubule-associated protein tau. Abnormal phosphorylation of a non-paired helical filament pool in Alzheimer disease [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268(32): 24374-24384
- [27] Khatoon S, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Levels of normal and abnormally phosphorylated tau in different cellular and regional compartments of Alzheimer disease and control brains [J]. *FEBS Letters*, 1994, 351(1): 80-84
- [28] Li B, Chohan M, Grundke-Iqbal I, et al. Disruption of microtubule network by Alzheimer abnormally hyperphosphorylated tau [J]. *Acta Neuropathologica*, 2007, 113(5): 501-511
- [29] Ballatore C, Lee V M Y, Trojanowski J Q. Tau-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and related disorders [J]. *Nature Reviews Neuroscience*, 2007, 8(9): 663-672
- [30] Alafuzoff I, Iqbal K, Friden H, et al. Histopathological criteria for progressive dementia disorders: clinical-pathological correlation and classification by multivariate data analysis [J]. *Acta Neuropathologica*, 1987, 74(3): 209-225
- [31] Arriagada P V, Growdon J H, Hedley-Whyte E T, et al. Neurofibrillary tangles but not senile plaques parallel duration and severity of Alzheimer's disease [J]. *Neurology*, 1992, 42(3): 631
- [32] Deutsch J A. The cholinergic synapse and the site of memory [J]. *Science*, 1971, 174(4011): 788-794
- [33] Francis P T, Palmer A M, Snape M, et al. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress [J]. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 1999,

- 66(2): 137-147
- [34] Schliebs R, Arendt T. The significance of the cholinergic system in the brain during aging and in Alzheimer's disease [J]. *Journal of Neural Transmission*, 2006, 113(11): 1625-1644
- [35] Schliebs R, Arendt T. The cholinergic system in aging and neuronal degeneration [J]. *Behavioural Brain Research*, 2011, 221(2): 555-563
- [36] Craig L A, Hong N S, McDonald R J. Revisiting the cholinergic hypothesis in the development of Alzheimer's disease [J]. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 2011, 35(6): 1397-1409
- [37] Pinto T, Lanctôt K L, Herrmann N. Revisiting the cholinergic hypothesis of behavioral and psychological symptoms in dementia of the Alzheimer's type [J]. *Ageing Research Reviews*, 2011, 10(4): 404-412
- [38] 方允中,郑荣梁.自由基生物学的理论与应用[M].北京:科学出版社,2002
FANG Yunzhong, ZHENG Rongliang. *The Theory and Application of Free Radical Biology* [M]. Beijing: Science Press, 2002
- [39] Butterfield D A, Reed T, Newman S F, et al. Roles of amyloid β -peptide-associated oxidative stress and brain protein modifications in the pathogenesis of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2007, 43(5): 658-677
- [40] Praticò D. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease: a reappraisal [J]. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2008, 29(12): 609-615
- [41] Guidi I, Galimberti D, Lonati S, et al. Oxidative imbalance in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease [J]. *Neurobiology of Aging*, 2006, 27(2): 262-269
- [42] Rosini M, Simoni E, Milelli A, et al. Oxidative Stress in Alzheimer's Disease: Are We Connecting the Dots? [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2014, 57(7): 2821-2831
- [43] Bonda D J, Wang X, Perry G, et al. Oxidative stress in Alzheimer disease: A possibility for prevention [J]. *Neuropharmacology*, 2010, 59(4-5): 290-294
- [44] Chu K O, Wang C C, Chu C Y, et al. Uptake and distribution of catechins in fetal organs following in utero exposure in rats [J]. *Human Reproduction*, 2006, 22(1): 280-287
- [45] Yokogoshi H, Kobayashi M, Mochizuki M, et al. Effect of theanine, γ -glutamylethylamide, on brain monoamines and striatal dopamine release in conscious rats [J]. *Neurochemical Research*, 1998, 23(5): 667-673
- [46] Jeon S, Bae K, Seong Y, et al. Green tea catechins as a BACE1 (β -Secretase) inhibitor [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2003, 13(22): 3905-3908
- [47] Okello E J, Savelev S U, Perry E K. In vitro anti- β -secretase and dual anti-cholinesterase activities of *Camellia sinensis* L. (tea) relevant to treatment of dementia [J]. *Phytotherapy Research*, 2004, 18(8): 624-627
- [48] Sheean P, Rout M K, Head R J, et al. Modulation of in vitro activity of zymogenic and mature recombinant human beta-secretase by dietary plants [J]. *FEBS Journal*, 2012, 279(7): 1291-1305
- [49] Rezai-Zadeh K, Shytle D, Sun N, et al. Green Tea Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) Modulates Amyloid Precursor Protein Cleavage and Reduces Cerebral Amyloidosis in Alzheimer Transgenic Mice [J]. *The Journal of Neuroscience*, 2005, 25(38): 8807-8814
- [50] Lee J W, Lee Y K, Ban J O, et al. Green Tea (-)-Epigallocatechin-3-Gallate Inhibits β -Amyloid-Induced Cognitive Dysfunction through Modification of Secretase Activity via Inhibition of ERK and NF- κ B Pathways in Mice [J]. *Journal of Nutrition*, 2009, 139(10): 1987-1993
- [51] Smith A, Giunta B, Bickford P C, et al. Nanolipidic particles improve the bioavailability and α -secretase inducing ability of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) for the treatment of Alzheimer's disease [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2010, 389(1-2): 207-212
- [52] Sun M, Alkon D L. Pharmacology of protein kinase C activators: Cognition-enhancing and antidementic therapeutics [J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 2010, 127(1): 66-77
- [53] Nelson T J, Alkon D L. Neuroprotective versus tumorigenic protein kinase C activators [J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2009, 34(3): 136-145
- [54] Alkon D L, Sun M, Nelson T J. PKC signaling deficits: a mechanistic hypothesis for the origins of Alzheimer's disease [J]. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2007, 28(2): 51-60
- [55] Levites Y, Amit T, Mandel S A, et al. Neuroprotection and neurorescue against $A\beta$ toxicity and PKC-dependent release of non-amyloidogenic soluble precursor protein by green tea polyphenol (-)- epigallocatechin-3-gallate [J]. *The FASEB Journal*, 2003, 17(8): 952-954
- [56] Choi D, Wang D, Yu G, et al. PKC ϵ increases endothelin converting enzyme activity and reduces amyloid plaque pathology in transgenic mice [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2006, 103(21): 8215-8220

- [57] Nelson T J, Cui C, Luo Y, et al. Reduction of β -Amyloid Levels by Novel Protein Kinase C ϵ Activators [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(50): 34514-34521
- [58] Levites Y, Amit T, Youdim M B H, et al. Involvement of Protein Kinase C Activation and Cell Survival/Cell Cycle Genes in Green Tea Polyphenol (-)-Epigallocatechin-3-Gallate Neuroprotective Action [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(34): 30574-30580
- [59] Reznichenko L, Amit T, Youdim M B H, et al. Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate induces neurorescue of long-term serum-deprived PC12 cells and promotes neurite outgrowth [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2005, 93(5): 1157-1167
- [60] Kalfon L, Youdim M B H, Mandel S A. Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate promotes the rapid protein kinase C- and proteasome-mediated degradation of Bad: implications for neuroprotection [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2007, 100(4): 992-1002
- [61] Li Q, Zhao H F, Zhang Z F, et al. Long-term green tea catechin administration prevents spatial learning and memory impairment in senescence-accelerated mouse prone-8 mice by decreasing A β 1-42 oligomers and upregulating synaptic plasticity-related proteins in the hippocampus [J]. *Neuroscience*, 2009, 163(3): 741-749
- [62] Jia N, Han K, Kong J, et al. (-)-Epigallocatechin-3-gallate alleviates spatial memory impairment in APP/PS1 mice by restoring IRS-1 signaling defects in the hippocampus [J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2013, 380(1-2): 211-218
- [63] Ehrnhoefer 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
- [64] Harvey B S, Musgrave I F, Ohlsson K S, et al. The green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits amyloid- β evoked fibril formation and neuronal cell death in vitro [J]. *Food Chemistry*, 2011, 129(4): 1729-1736.
- [65] Bieschke J, Russ J, Friedrich R P, et al. EGCG remodels mature α -synuclein and amyloid- β fibrils and reduces cellular toxicity [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, 107(17): 7710-7715
- [66] Liu F, Dong X, He L, et al. Molecular Insight into Conformational Transition of Amyloid β -Peptide 42 Inhibited by (-)-Epigallocatechin-3-gallate Probed by Molecular Simulations [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2011, 115(41): 11879-11887
- [67] Taniguchi S, Suzuki N, Masuda M, et al. Inhibition of Heparin-induced Tau Filament Formation by Phenothiazines, Polyphenols, and Porphyrins [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280(9): 7614-7623
- [68] Han L, Shi S, Zheng L, et al. Flavonoids Inhibit Heparin-Induced Aggregation of the Third Repeat (R3) of Microtubule-Binding Domain of Alzheimer's Tau Protein [J]. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 2010, 83(8): 911-922
- [69] Rezaei-Zadeh K, Arendash G W, Hou H, et al. Green tea epigallocatechin-3-gallate (EGCG) reduces β -amyloid mediated cognitive impairment and modulates tau pathology in Alzheimer transgenic mice [J]. *Brain Research*, 2008, 1214: 177-187
- [70] 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
- [71] Kim H K, Kim M, Kim S, et al. Effects of Green Tea Polyphenol on Cognitive and Acetylcholinesterase Activities [J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2004, 68(9): 1977-1979
- [72] Biasibetti R, Tramontina A C, Costa A P, et al. Green tea (-)-epigallocatechin-3-gallate reverses oxidative stress and reduces acetylcholinesterase activity in a streptozotocin-induced model of dementia [J]. *Behavioural Brain Research*, 2013, 236: 186-193
- [73] Srividhya R, Gayathri R, Kalaiselvi P. Impact of epigallocatechin-3-gallate on acetylcholine-acetylcholine esterase cycle in aged rat brain [J]. *Neurochemistry International*, 2012, 60(5): 517-522
- [74] Zhang X, Wu M, Lu F, et al. Involvement of $\alpha 7$ nAChR Signaling Cascade in Epigallocatechin Gallate Suppression of β -Amyloid-Induced Apoptotic Cortical Neuronal Insults [J]. *Molecular Neurobiology*, 2014, 49(1): 66-77
- [75] Ozawa S, Kamiya H, Tsuzuki K. Glutamate receptors in the mammalian central nervous system [J]. *Progress in Neurobiology*, 1998, 54(5): 581-618
- [76] Kakuda T, Nozawa A, Sugimoto A, et al. Inhibition by Theanine of Binding of [3H]AMPA, [3H]Kainate, and [3H]MDL 105,519 to Glutamate Receptors [J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2002, 66(12): 2683-2686
- [77] Iwasaki K, Chung E, Egashira N, et al. Non-NMDA mechanism in the inhibition of cellular apoptosis and memory impairment induced by repeated ischemia in rats [J].

- Brain Research, 2004, 995(1): 131-139
- [78] Egashira N, Ishigami N, Pu F, et al. Theanine prevents memory impairment induced by repeated cerebral ischemia in rats [J]. *Phytotherapy Research*, 2008, 22(1): 65-68
- [79] 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
- [80] Walton H S, Dodd P R. Glutamate-glutamine cycling in Alzheimer's disease [J]. *Neurochemistry International*, 2007, 50(7-8): 1052-1066
- [81] Kakuda T, Hinoi E, Abe A, et al. Theanine, an ingredient of green tea, inhibits [3H]glutamine transport in neurons and astroglia in rat brain [J]. *Journal of Neuroscience Research*, 2008, 86(8): 1846-1856
- [82] Wakabayashi C, Numakawa T, Ninomiya M, et al. Behavioral and molecular evidence for psychotropic effects in L-theanine [J]. *Psychopharmacology*, 2012, 219(4): 1099-1109
- [83] Takeda A, Sakamoto K, Tamano H, et al. Facilitated Neurogenesis in the Developing Hippocampus After Intake of Theanine, an Amino Acid in Tea Leaves, and Object Recognition Memory [J]. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 2011, 31(7): 1079-1088
- [84] Takeda A, Tamano H, Suzuki M, et al. Unique Induction of CA1 LTP Components After Intake of Theanine, an Amino Acid in Tea Leaves and its Effect on Stress Response [J]. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 2012, 32(1): 41-48
- [85] Mandel S A, Amit T, Weinreb O, et al. Simultaneous Manipulation of Multiple Brain Targets by Green Tea Catechins: A Potential Neuroprotective Strategy for Alzheimer and Parkinson Diseases [J]. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 2008, 14(4): 352-365
- [86] Koh S, Kim S H, Kwon H, et al. Epigallocatechin gallate protects nerve growth factor differentiated PC12 cells from oxidative-radical-stress-induced apoptosis through its effect on phosphoinositide 3-kinase/Akt and glycogen synthase kinase-3 [J]. *Molecular Brain Research*, 2003, 118(1-2): 72-81
- [87] Haque A M, Hashimoto M, Katakura M, et al. Long-Term Administration of Green Tea Catechins Improves Spatial Cognition Learning Ability in Rats [J]. *The Journal of Nutrition*, 2006, 136(4): 1043-1047
- [88] Haque A M, Hashimoto M, Katakura M, et al. Green tea catechins prevent cognitive deficits caused by A β 1-40 in rats [J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2008, 19(9): 619-626
- [89] Kim C, Lee C, Park G, et al. Neuroprotective effect of epigallocatechin-3-gallate against β -amyloid-induced oxidative and nitrosative cell death via augmentation of antioxidant defense capacity [J]. *Archives of Pharmacal Research*, 2009, 32(6): 869-881
- [90] Li Q, Zhao H, Zhao M, et al. Chronic green tea catechins administration prevents oxidative stress-related brain aging in C57BL/6J mice [J]. *Brain Research*, 2010, 1353: 28-35
- [91] Dragicevic N, Smith A, Lin X, et al. Green Tea Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) and Other Flavonoids Reduce Alzheimer's Amyloid-Induced Mitochondrial Dysfunction [J]. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2011, 26(3): 507-521
- [92] Kim T I, Lee Y K, Park S G, et al. L-Theanine, an amino acid in green tea, attenuates β -amyloid-induced cognitive dysfunction and neurotoxicity: Reduction in oxidative damage and inactivation of ERK/p38 kinase and NF- κ B pathways [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2009, 47(11): 1601-1610
- [93] Jo M, Park M H, Choi D Y, et al. Neuroprotective Effect of L-Theanine on A beta-Induced Neurotoxicity through Anti-Oxidative Mechanisms in SK-N-SH and SK-N-MC Cells [J]. *Biomolecules & Therapeutics*, 2011, 19(3): 288-295
- [94] Zecca L, Youdim M B H, Riederer P, et al. Iron, brain ageing and neurodegenerative disorders [J]. *Nature Reviews Neuroscience*, 2004, 5(11): 863-873
- [95] Weinreb O, Amit T, Mandel S A, et al. Neuroprotective molecular mechanisms of (-)-epigallocatechin-3-gallate: a reflective outcome of its antioxidant, iron chelating and neurotogenic properties [J]. *Genes & Nutrition*, 2009, 4(4): 283-296