湖南农业大学学报(自然科学版)　2019, 45(6):641–649. DOI:10.13331/j.cnki.jhau.2019.06.013
Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)

投稿网址：http://xb.ijournal.cn

L–茶氨酸对 D–半乳糖诱导衰老大鼠肝脏的晚期糖基化终末产物和炎性介质的影响

曾立[1,2,3]，林玲[1,4]，彭影琦[1,4]，袁冬寅[1,4]，肖文军[1,3,4*]

(1.茶学教育部重点实验室，湖南 长沙 410128；2.邵阳学院药学院，湖南 邵阳 422000；3.国家植物功能成分利用工程技术研究中心，湖南 长沙 410128；4.湖南农业大学园艺学院，湖南 长沙 410128)

摘　要：将 30 只 SD 大鼠按体质量随机分为正常组，模型组，L–茶氨酸低剂量(100 mg/kg)、中剂量(200 mg/kg)、高剂量(400 mg/kg)组。采用每日皮下注射 200 mg/kg D–半乳糖生理盐水溶液的方式建立衰老大鼠模型，考察 L–茶氨酸对 D–半乳糖致衰老大鼠肝脏谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)活性、晚期糖基化终末产物(AGEs)和炎性介质含量的调节作用。每日分别以生理盐水和低、中、高 3 个剂量的 L–茶氨酸生理盐水溶液对 D–半乳糖致衰老大鼠进行干预性处理 8 周后，检测大鼠的脾脏和胸腺器官指数、肝脏 ALT 和 AST 活力、肝脏内 AGEs 含量及炎性介质的 mRNA 表达水平和蛋白表达水平。结果显示：L–茶氨酸能提高 D–半乳糖致衰老大鼠脾脏指数和胸腺指数，抑制肝脏 ALT 和 AST 活力上调，降低 AGEs 含量，并同时抑制肿瘤坏死因子–α(TNF–α)、肿瘤坏死因子受体–1(TNFR1)、白介素–1β(IL–1β)、白介素–1 受体(IL–1R)、白介素 6(IL–6)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、细胞间粘附分子–1(ICAM–1)和血管细胞粘附分子–1(VCAM–1)等炎性介质的 mRNA 水平和蛋白水平，维持肝脏内环境稳定，其中，L–茶氨酸中、高剂量组对 D–半乳糖致衰老大鼠肝脏保护作用较好。可见，L–茶氨酸可以通过提高机体免疫力，降低肝脏 AGEs 和炎性介质水平，维持肝脏内环境稳态，具有干预肝脏炎性衰老的功效。

关　键　词：大鼠；L–茶氨酸；D–半乳糖；晚期糖基化终末产物；炎性介质

中图分类号：S571.1；R339.3^{+}8　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1007–1032(2019)06–0641–09

Effect of L-theanine on AGEs and inflammatory mediators in the liver of d-galactose-induced senescence rats

ZENG Li[1,2,3], LIN Ling[1,4], PENG Yingqi[1,4], YUAN Dongyin[1,4], XIAO Wenjun[1,3,4*]

(1.Key Lab of Tea Science of Ministry of Education, Changsha, Hunan 410128, China; 2.School of Pharmacy, Shaoyang University, Shaoyang, Hunan 422000, China; 3. National Research Center of Engineering Technology for Utilization of Botanical Functional Ingredients, Changsha, Hunan 410128, China; 4.College of Horticulture, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China)

Abstract: Thirty SD rats were randomly divided into five groups: normal group, model group and low, medium and high dose L-theanine group according to their body weight. The aging rat model was induced by daily subcutaneous injection of 200 mg/kg d-galactose physiological saline solution to investigate the regulation of L-theanine on the activity of alanine transaminase(ALT) and aspartate transaminase(AST), the contents of advanced glycation end products(AGEs) and inflammatory mediators in the liver. D-galactose-induced aging rats were treated with physiological saline, low, medium and high doses(100, 200, 400 mg/kg) of L-theanine physiological saline solution for 8 weeks. The organ index of spleen and thymus, the activity of ALT and AST, the contents of AGEs and the mRNA and protein levels of inflammatory mediators were measured after the treatment. The results showed that L-theanine could increase the spleen index and thymus index of

收稿日期：2019–08–30　　修回日期：2019–10–16

基金项目：国家自然科学基金项目(31871804)；长沙市科学技术局重大专项(kq1703003)；湖南省自然科学基金(2019JJ40272)；湖南省教育厅科学研究项目(18C0808)

作者简介：曾立(1978—)，男，湖南沅江人，博士研究生，主要从事茶叶功能成分的功效机制研究，zanan1230@163.com；*通信作者，肖文军，博士，教授，主要从事茶叶功能成分的功效机制研究，xiaowenjun88@sina.com

d-galactose-induced aging rats, inhibit the up-regulation of liver ALT and AST activity, down-regulate the content of AGEs in the liver, and at the same time inhibit mRNA levels and protein levels of inflammatory mediators such as tumor necrosis factor-α(TNF-α), tumor necrosis factor receptor-1(TNFR1), interleukin 1 beta(IL-1β), interleukin-1 receptor(IL-1R), interleukin 6(IL-6), inducible nitric oxide synthase(iNOS), intercellular adhesion molecule -1(ICAM-1) and vascular cell adhesion molecule-1(VCAM-1), to maintain inflammatory internal environment stability in the liver. Among them, L-theanine in the middle and high dose groups had a better protective effect on liver of d-galactose-induced rats. In summary, L-theanine can improve immunity, inhibit the level of liver AGEs and inflammatory mediators, maintain homeostasis in the liver, and have the potential to prevent liver inflamm-aging.

Keywords: rat; L-theanine; advanced glycation end-products; d-galactose; inflammatory mediators

晚期糖基化终末产物(advanced glycation end-products，AGEs)是由还原糖的羰基和蛋白质氨基间发生非酶促反应产生的不可逆产物[1–2]。研究表明，AGEs 在人类和动物的血清或组织中会随着年龄的增长而不断的积聚，会提高机体内炎症因子表达水平(如肿瘤坏死因子 TNF–α、白细胞介素 IL 等)，破坏机体内固有的炎症反应平衡，出现慢性炎症状态[3]；慢性炎症不仅影响细胞和组织的正常结构和功能，还与年龄相关的慢性功能退化性疾病(如神经退化、心血管疾病、糖尿病和肝损伤等)的发生和发展密切相关[1,3–4]；因此，AGEs 被视为测试老化进程的生物标志物。

肝脏不仅是糖代谢的主要场所，还是 AGEs 代谢的主要场所[5]，同时也是药物和化学毒物作用的主要靶器官，很容易受到环境变化以及许多未知因素的影响，诱发炎性反应或细胞坏死，从而发生病理形态学改变，最终导致肝功能退化[6]。现代医学研究成果显示，AGEs 导致的病理学和生理学改变是可逆的[2,5–7]。可见，寻找安全、合适的天然产物来阻断 AGEs 的致病途径和维持机体内炎症平衡的稳态，提高肝脏免疫力，维护肝脏健康状态对提高人类生活质量具有重大意义。

D–半乳糖是还原糖，适量的 D–半乳糖可以被肝脏代谢；但过量的 D–半乳糖无法代谢，可与大分子蛋白质或肽的游离氨基形成 AGEs[8–11]。而 D–半乳糖致衰老鼠模型被广泛用作衰老药理试验动物模型，用于衰老研究和抗衰老药物测试[12–14]。

L–茶氨酸(L–theanine)是茶叶中特征性的非蛋白氨基酸，为国家 2014 年公布的新食品原料[15]。自从 1949 年日本学者 SAKATO 从绿茶中分离得到 L–茶氨酸单体以来，许多科研人员针对 L–茶氨酸对机体的健康功效展开了广泛研究。众多研究表明，L–茶氨酸是天然的免疫增强剂，可有效防治外界不良应激造成的肝功能损伤，维持肝脏的正常免疫功能[16–17]；因此，L–茶氨酸被认为是一种有效的护肝成分[18]。已有研究表明，L–茶氨酸可以抑制牛血清白蛋白和甲基乙二醛葡萄糖代谢模型中 AGEs 生成[19]。但目前还少见 L–茶氨酸抑制肝组织内 AGEs 含量和促炎因子分泌上升的相关报道。

FRANCESCHI 等于 2000 年将衰老进程中促炎症反应状态慢性进行性升高的状态命名为“炎性衰老”[20–21]。基于“炎性衰老”理论以及 AGEs 在衰老进程中的影响，本研究中，以 D–半乳糖诱导 SD 大鼠衰老为模型，探究 L–茶氨酸对模型大鼠肝组织内 AGEs 含量和炎症因子的影响，旨在为进一步深入研究 L–茶氨酸在动物衰老进程中的保肝、护肝作用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料和试剂

L–茶氨酸；D–半乳糖，纯度≥98%，购于 Sigma–Aldrich。

谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)和 BCA 总蛋白定量测定试剂盒购于南京建成生物工程研究所。

EDTA、Tris 购于 Sigma；Trizol 试剂购于 Invitrogen；RIPA 裂解液购于上海碧云天；逆转录试剂盒、UltraSYBR Mixture、DNA Marker 购于北京康为世纪；SYBRGREEN I 核酸染料购于北京普博欣生物。

AGEs、肿瘤坏死因子–α(TNF–α)、白介素–1β(IL–1β)、白介素 6(IL–6)和诱导型一氧化氮合酶(iNOS)等试剂盒购于武汉华美生物工程有限公司。

β–actin、肿瘤坏死因子受体–1(TNFR1)、白介

素–1 受体(IL–1R)、细胞间粘附分子–1(ICAM–1)、血管细胞粘附分子–1(VCAM–1)、辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG 和辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 等抗体由长沙唯世尔生物公司(湖南)代购。

1.2　主要仪器设备

多功能酶标仪、–80 ℃超低温冰箱(Thermo)；Allegra X–22R 型台式冷冻离心机(Beckman)；M2104 型精密电子天平(中国 Mettler–Toledo 上海有限公司)；荧光定量 PCR 仪(Applied Biosystems)；电泳槽、电泳仪(北京六一仪器厂)；光学显微镜(Leica Microsystems)；凝胶图像处理系统(Gene Genius)。

1.3　试验设计

5~6 周龄 SPF 级雄性健康 SD 大鼠 30 只，体质量 180~220 g，由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供(动物生产许可证号为 SCXK(湘)2016–0002，动物质量合格证号为 43004700043916)。

大鼠饲养环境：温度(25±2) ℃；相对湿度 50%~60%；光循环 14 h 光照/10 h 黑暗。试验开始前，30 只大鼠分笼饲养，自由进食，饮用清洁水。参照文献[17]和[22]的方法，适应性喂养 1 周后，所有大鼠按体质量随机分为 5 组，每组 6 只，同时按灌喂物质和剂量的不同分别命名为正常组(CON)、模型组(MOD)、低剂量(100 mg/kg)L–茶氨酸组(L–LT)、中剂量(200 mg/kg)L–茶氨酸组(M–LT)、高剂量(400 mg/kg)L–茶氨酸组(H–LT)。正常组大鼠按体质量灌喂对应剂量的生理盐水，同时于颈背部皮下注射对应体积生理盐水；模型组大鼠按质量灌喂对应剂量的生理盐水，同时于颈背部皮下注射 200 mg/kg 的 D–半乳糖生理盐水溶液；其余各处理组大鼠按 200 mg/kg 剂量于颈背部皮下注射 D–半乳糖，同时灌喂对应剂量的 L–茶氨酸生理盐水溶液。每日 1 次，持续 8 周后，所有大鼠禁食，但不禁水 24 h。于大鼠腹腔注射 3%戊巴比妥钠麻醉；称大鼠体质量；再喷洒医用乙醇消毒，于腹主动脉采血，然后用生理盐水灌注，取胸腺和脾脏，称质量，并计算脏器系数；最后取肝脏置于对应标记的容器，冻存于–80 ℃超低温冰箱，备用。所用试剂均在无菌条件下配置。本研究中使用的动物方案经湖南农业大学动物保护委员会批准，并按照中华人民共和国卫健委出版的《实验室动物保护与使用指南》执行。

1.4　方法

按照生化试剂盒说明书，用酶标仪检测各组大鼠血清中 ALT 和 AST 活力。

采用实时荧光定量 PCR 技术测定肝脏中目标基因的 mRNA 表达水平。依照 TRIzol(Invitrogen)试剂盒说明，分别从每只大鼠肝脏的同一部位取约 0.05 g 肝组织，提取总 RNA；利用逆转录试剂盒将 RNA 逆转录成 cDNA；使用 ABI QuantStudio 3 荧光定量 PCR 仪进行 PCR 扩增反应(PCR 循环参数为 95 ℃预变性 10 min，95 ℃变性 15 s 和 60 ℃退火 60 s，循环 40 次)；采用 $2^{-\triangle\triangle Ct}$ 法计算供试样品各基因相对于对照组样品各基因的表达水平。在 NCBI 网上搜索目标基因的序列，运用 Primer Premier 5 设计引物，由上海生工生物工程有限公司合成引物(表 1)。

表 1　目标基因 qPCR 引物序列

Table 1　The primer sequences of target genes qPCR

基因	上游引物(5′—3′)	下游引物(5′—3′)	产物大小/bp
β–actin	ACATCCGTAAAGACCTCTATGCC	TACTCCTGCTTGCTGATCCAC	223
TNFR1	CTTTACAGCTTCGCAGAACCAC	ACACACTGGAAATGCGTCT	168
TNF–α	CCCCTCTATTTATAATTGCACCT	CTGGTAGTTTAGCTCCGTTT	167
IL–1R	CTATACTTGCCGCACGTCCT	CAGGTCTGTCCCTCTTGCTG	101
IL–1β	TGTGATGTTCCCATTAGAC	AATACCACTTGTTGGCTTA	131
IL–6	TCACTATGAGGTCTACTCGG	CATATTGCCAGTTCTTCGTA	141
iNOS	TTCAGCTACGCCTTCAACACC	CTCCATTGCCAAATGTGCTTG	109
ICAM–1	CTGCCTCTGCTCCTGGTCCTG	CATCCAGTTAGTCTCCAACCCC	171
VCAM–1	TTGCTCCGAAAGAACCCAC	AGTTCCCCGTTCTTTAGCTG	139

分别从每只大鼠肝脏同一部位取约 0.02 g 组织样本，按照华美公司 ELISA 试剂盒说明书所示方法，用酶标仪测量 TNF–α、IL–1β、IL–6、iNOS 和 AGEs 蛋白含量。

随机取各组 3 只大鼠 0.05 g 同一部位肝组织匀浆，裂解后提取蛋白，检测蛋白浓度；参照文献[17]和[22]所示方法，进行 TNFR1、IL–1R、ICAM–1 和 VCAM–1 的蛋白免疫印迹试验。胶片扫描后，用凝胶图像处理系统分析目标带的分子量和光密度值。

1.5 数据处理

利用 GraphPad Prism 6 进行数据处理。采用单因素方差分析(ANOVA)结合最小显著性差异法(LSD)检验比较不同处理组之间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 L–茶氨酸对供试大鼠体质量及胸腺和脾脏器官指数的影响

各组大鼠体质量及胸腺和脾脏器官指数如表 2 所示。MOD 组大鼠的最终体质量比 CON 组的低；与 MOD 组大鼠相比，L–LT、H–LT 组大鼠的最终体质量降低，M–LT 组大鼠的最终体质量增加；但各组间的差异无统计学意义。MOD 组大鼠的胸腺指数和脾脏指数均显著小于 CON 组的。与 MOD 组大鼠相比，H–LT 组大鼠的胸腺指数显著增大，且脾脏指数极显著增大；M–LT 组大鼠的脾脏指数显著增大。

表 2 L–茶氨酸处理的 D–半乳糖致衰大鼠的体质量及胸腺和脾脏器官指数

Table 2 Body mass and thymus and spleen organ index of L-theanine-treated D-galactose-induced aging rats

组别	初始体质量/g	最终体质量/g	胸腺指数/(mg·g^{-1})	脾脏指数/(mg·g^{-1})
CON	213.34±9.04	499.09±21.70	0.84±0.15	1.67±0.13
MOD	213.47±6.50	487.21±31.17	(0.76±0.12)#	(1.51±0.14)#
L–LT	213.19±8.63	468.48±34.22	0.81±0.11	1.56±0.10
M–LT	212.77±10.61	495.50±27.11	0.83±0.10	(1.67±0.13)*
H–LT	213.14±10.36	479.39±36.72	(0.86±0.13)*	(1.70±0.16)**

与 CON 组比较，“#”示 $P<0.05$；与 MOD 组比较，“*”示 $P<0.05$，“**”示 $P<0.01$。

2.2 L–茶氨酸对供试大鼠肝脏 ALT 和 AST 活力的影响

从表 3 可知，与 CON 组相比，MOD 组大鼠肝脏 ALT 和 AST 活力值均极显著升高，肝功能受到一定的损伤。灌喂各剂量的 L–茶氨酸后，肝脏 ALT 和 AST 活力下降，与 MOD 组相比，M–LT 组和 H–LT 组大鼠肝脏 ALT 和 AST 活力值均显著或极显著降低，这说明 L–茶氨酸能改善 D–半乳糖诱导大鼠的肝损伤，保护肝脏。

表 3 L–茶氨酸处理的 D–半乳糖致衰大鼠肝组织的 ALT 和 AST 活力

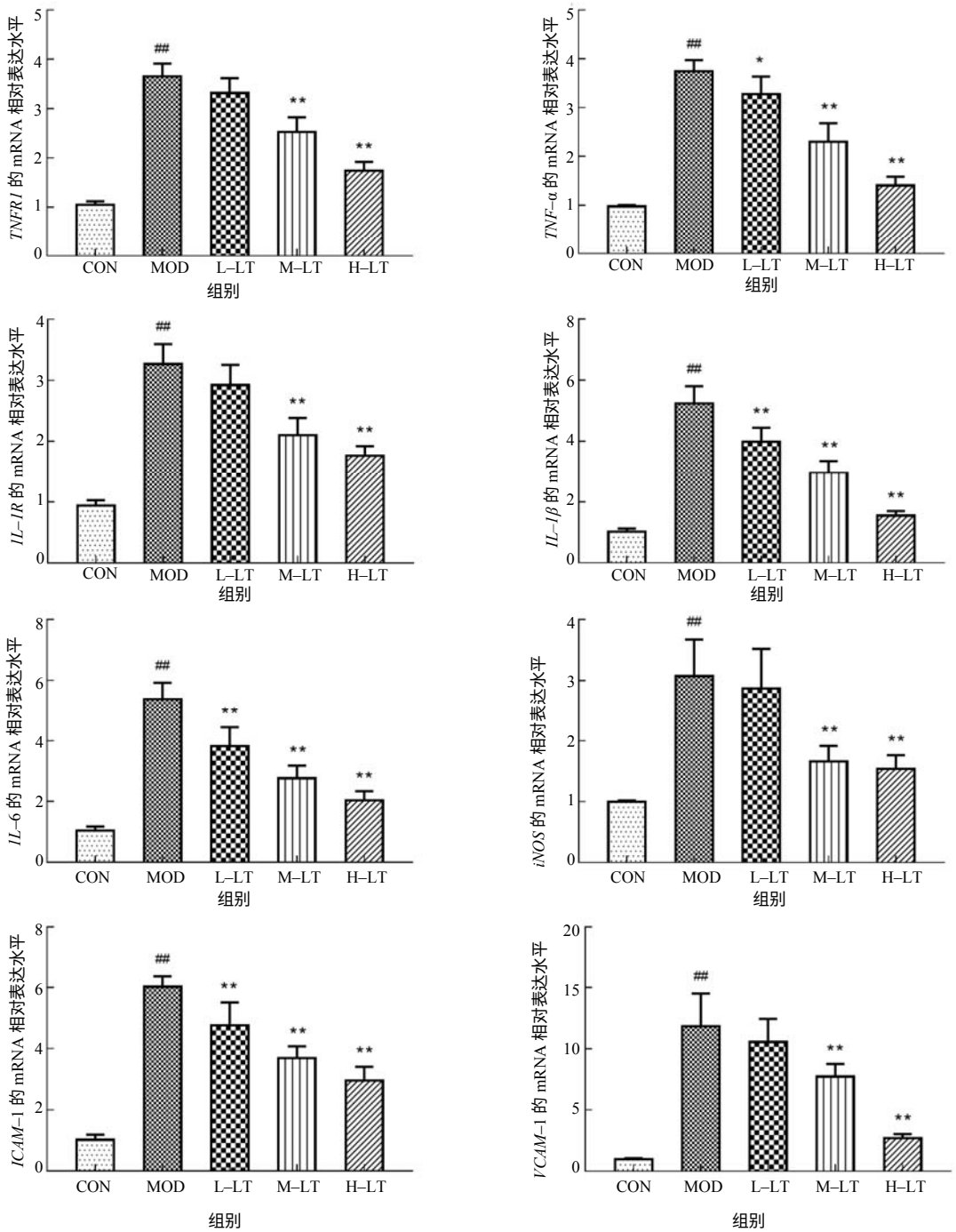
Table 3 ALT and AST activity in liver tissue of L-theanine-treated D-galactose-induced senile rats U/g

组别	ALT 活力	AST 活力
CON	21.12±2.15	98.09±3.16
MOD	(39.26±3.58)##	(166.97±14.04)##
L–LT	35.31±2.41	(134.43±9.71)**
M–LT	(27.30±3.24)*	(115.81±4.71)**
H–LT	(21.63±3.01)**	(109.85±9.67)**

与 CON 组比较，“##”示 $P<0.01$；与 MOD 组比较，“*”示 $P<0.05$，“**”示 $P<0.01$。

2.3 L–茶氨酸对供试大鼠肝脏目标基因的 mRNA 表达的影响

如图 1 所示，与 CON 组相比，MOD 组大鼠肝脏内 *TNF–α*、*TNFR1*、*IL–1β*、*IL–1R*、*IL–6*、*iNOS*、*ICAM–1* 和 *VCAM–1* 的 mRNA 表达水平均极显著上升。与 MOD 组相比，经不同剂量的 L–茶氨酸干预后，除 L–LT 组大鼠肝脏内 *TNFR1*、*IL–1R*、*iNOS* 和 *VCAM–1* 的 mRNA 表达水平下降无统计学意义外，其余各组大鼠肝脏内各基因的 mRNA 表达水平均显著或极显著下降。



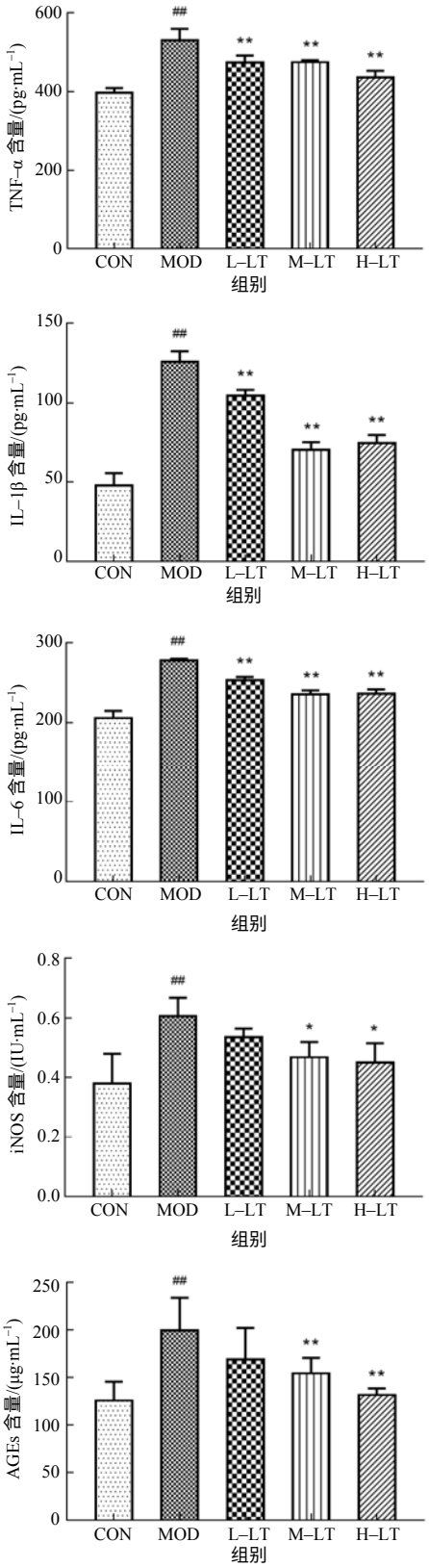
与 CON 组比较，“##”示 $P<0.01$；与 MOD 组比较，“*”示 $P<0.05$，“**”示 $P<0.01$。

图 1　L–茶氨酸处理的 D–半乳糖致衰大鼠肝组织内目标基因的 mRNA 相对表达水平

Fig.1　Relative mRNA expression levels of target genes in liver tissue of L-theanine-treated D-galactose-induced senile rats

2.4　L–茶氨酸对供试大鼠肝脏炎症因子和 AGEs 蛋白含量的影响

与 CON 组相比，MOD 组大鼠肝脏内 TNF–α、IL–1β、IL–6、iNOS 和 AGEs 蛋白含量极显著上升(图 2)。与 MOD 组相比，除 L–LT 组 iNOS 和 AGEs 蛋白含量降低无统计学意义外，各剂量的 L–茶氨酸的干预显著或极显著降低了肝脏内 TNF–α、IL–1β、IL–6、iNOS 和 AGEs 蛋白含量。肝脏内 AGEs 蛋白含量降低的趋势与 TNF–α、IL–1β、IL–6 和 iNOS 等炎症因子含量的下降趋势一致，这说明 L–茶氨酸可以提高机体免疫力，抑制过量炎症因子的分泌，抑制肝脏内 AGEs 生成。



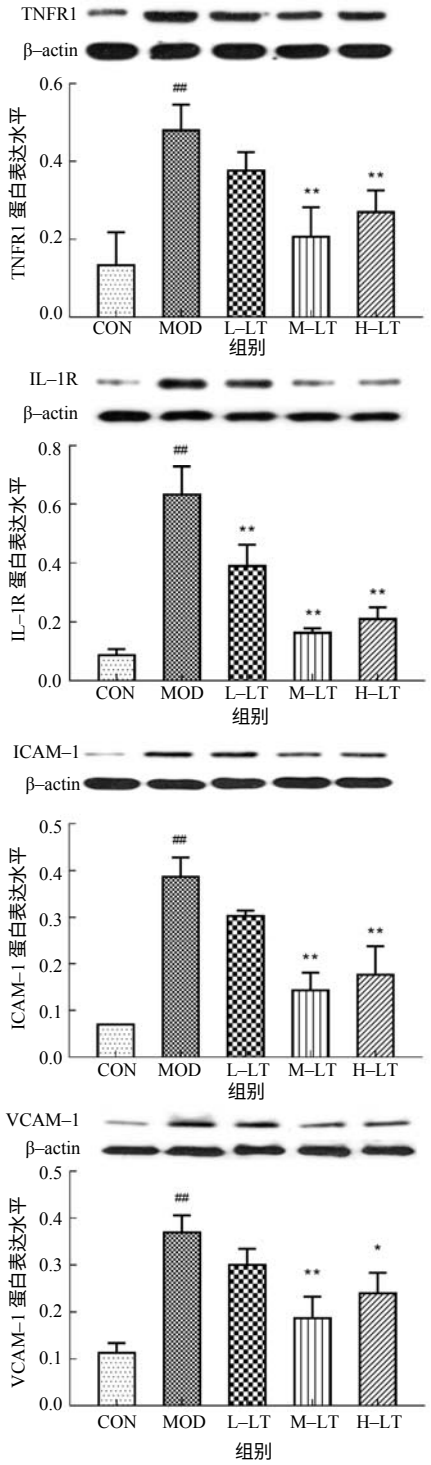
与 CON 组比较，“##”示 $P<0.01$；与 MOD 组比较，“*”示 $P<0.05$，“**”示 $P<0.01$。

图 2 L–茶氨酸处理的 D–半乳糖致衰大鼠肝组织炎症因子和 AGEs 蛋白含量

Fig.2 The contents of TNF-α, IL-1β, IL-6, iNOS and AGEs in liver tissue of L-theanine-treated D-galactose-induced senile rats

2.5 L–茶氨酸对供试大鼠肝脏目标蛋白表达水平的影响

从图 3 可知，与 CON 组相比，MOD 组大鼠肝



与 CON 组比较，“##”示 $P<0.01$；与 MOD 组比较，“*”示 $P<0.05$，“**”示 $P<0.01$。

图 3 L–茶氨酸处理的 D–半乳糖致衰大鼠肝组织 TNFR1、IL–1R、ICAM–1 和 VCAM–1 的蛋白表达水平

Fig.3 Protein expression of TNFR1, IL-1R, ICAM-1 and VCAM-1 in liver tissues of L-theanine-treated D-galactose-induced senile rats

脏内 TNFR1、IL–1R、ICAM–1 和 VCAM–1 蛋白表达水平极显著上升，说明过量而无法正常代谢的 D–半乳糖会上调大鼠肝脏炎性蛋白水平。与 MOD 组相比，除 L–LT 组的 TNFR1、ICAM–1 和 VCAM–1 蛋白表达水平下降不显著外，其他 L–茶氨酸处理组的蛋白免疫印迹表达均极显著下降，说明 L–茶氨酸作为肝脏保护因子和免疫调节剂，可以有效抑制 TNFR1 和 IL–1R 受体及 ICAM–1 和 VCAM–1 的蛋白水平，下调炎症反应水平。

3　结论与讨论

随着年龄的增长或疾病的发生，机体的免疫能力通常会逐渐降低[23–24]。而胸腺和脾脏是机体重要的免疫器官，其器官指数变化在一定程度上反映了机体免疫能力的大小。本研究结果表明，D–半乳糖可对大鼠的体质量、胸腺以及脾脏指数产生不良影响，而 L–茶氨酸可提高 D–半乳糖诱导大鼠免疫力，改变这种不良趋势。H–LT 组大鼠体质量比 M–LT 组低，笔者推测可能与 L–茶氨酸降低食欲有关[25]。

已有研究和本研究结果均表明，AGEs 与炎症因子分泌不是因果关系，二者是相辅相成的[26–27]。肝脏内 AGEs 含量上升，肝脏内炎症细胞因子分泌也会同步上升；如果炎症细胞因子分泌无法得到有效控制，肝脏内的炎性平衡被打破，AGEs 含量也会上升，所引发的生物学效应会导致肝组织细胞出现结构异常和功能障碍，造成肝损伤；因此，同时调控肝脏内 AGEs 含量与炎症因子分泌，维持肝脏炎性内环境稳态，可能是促进肝健康的最佳途径。TNF–α、TNFR1、IL–1β、IL–1R、IL–6、iNOS、ICAM–1 和 VCAM–1 等炎性介质在细胞间的信息传导过程中起着重要作用，这些过程的失调是导致机体慢性炎症的原因之一[28]。巨噬细胞分泌适量的 TNF–α、IL–1β、IL–6 和 iNOS 等炎症因子对维持机体的正常稳定状态，延缓衰老以及抵御各种致病因子有着重要的作用[21]。TNFR1 和 IL–1R 分别是 TNF–α 和 IL–1β 重要受体蛋白，二者的结合可以调节炎症反应，从而调节组织应激损伤的病理和生理过程。本研究中，与 CON 组相比，MOD 组大鼠肝脏 TNF–α 和 TNFR1 以及 IL–1β 和 IL–1R 的 mRNA 和蛋白表达水平均极显著升高，这表明过量的 D–半乳糖可通过 TNFR1 和 IL–1R 促使大鼠肝脏内炎症反应正反馈作用，导致下游 TNF–α、IL–1β、IL–6 和 iNOS 等炎症介质的异常升高，肝组织内失去炎性平衡。另外，ICAM–1 和 VCAM–1 是介导细胞间或细胞与基质间相互粘连的跨膜蛋白，具有介导炎性细胞迁移、维持正常组织稳定等生理功能，二者的蛋白表达水平与肝脏的炎症活性程度呈正相关[29–31]。本研究结果表明，L–茶氨酸作为免疫调节功能食品，可以抑制肝脏慢性炎性衰老[27]。

L–茶氨酸减少 AGEs 生成的相关机制可能不仅仅与其提高肝脏免疫力有关。已有研究表明，因过量而大鼠无法正常代谢的 D–半乳糖可以与蛋白质游离的氨基生成可逆的 Schiff 碱，这些早期糖化产物是可逆的，其再经过机体内一系列复杂而缓慢的生化反应后，最终生成不可逆的 AGEs，沉积在组织细胞中[1–3,32]。L–茶氨酸是生物利用度极高的天然产物(大鼠摄入 0.5~2 h 后，其血液里茶氨酸的浓度会达到峰值[33])，基于 AGEs 在体内形成的生化机制，笔者推测 L–茶氨酸和其代谢产物(乙胺和谷氨酸)或许可以利用其游离氨基与蛋白质的游离氨基来竞争与羰基糖的美拉德反应[19,34–35]，减少体内 AGEs 生成和沉积，从而防止炎症因子的过度分泌。这可能是 L–茶氨酸减少 D–半乳糖致衰大鼠肝脏内 AGEs 含量、维持炎性反应平衡的重要机制之一[36](图 4)，但这还需要设计更周密的体外和体内试验进行验证。

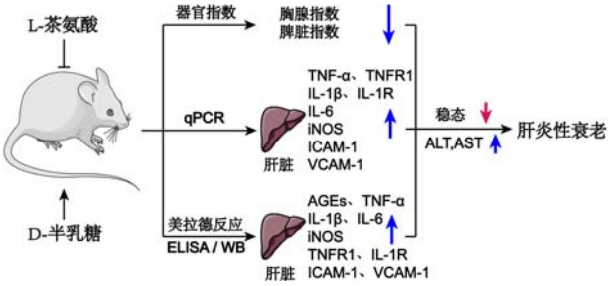


图 4　L–茶氨酸防治 D–半乳糖诱导大鼠肝脏炎性衰老的可能机制

Fig.4　Possible mechanism of L-theanine in preventing d-galactose-induced liver inflamm-aging in rats

总之，L–茶氨酸可以抑制 D–半乳糖致衰大鼠胸腺和脾脏器官指数下降，下调肝脏内 AGEs 以及炎性介质 TNF–α、TNFR1、IL–1β、IL–1R、IL–6、iNOS、ICAM–1 和 VCAM–1 的 mRNA 表达水平和蛋白表达水平，维持肝脏正常功能及炎性内环境稳态，具有维持肝脏健康、抑制衰老的潜在功能。

参考文献：

[1] 孙缅恩，杜冠华．晚期糖基化终产物的病理意义及其机制[J]．中国药理学通报，2002，18(3)：246–249．

[2] PENG X F，MA J Y，CHEN F，et al．Naturally occurring inhibitors against the formation of advanced glycation end-products[J]．Food & Function，2011，2(6)：289–301．

[3] 刘建亚，冯文静，王仁萍，等．D–半乳糖致衰老动物模型及其机制研究进展[J]．中华老年多器官疾病杂志，2018，17(3)：224–227．

[4] VASTO S，CANDORE G，BALISTRERI C R，et al. Inflammatory networks in ageing，age-related diseases and longevity[J]．Mechanisms of Ageing and Development，2007，128(1)：83–91．

[5] HORIUCHI S．The liver is the main site for metabolism of circulating advanced glycation end products[J]．Journal of Hepatology，2002，36(1)：123–125．

[6] 许烈强．虎杖苷对 D–半乳糖和酒精致肝损伤的保护作用及机制研究[D]．广州：广州中医药大学，2017．

[7] 杨秀颖，杜冠华．糖基化终末产物及相关药物研究进展[J]．中国药理学通报，2011，27(9)：1185–1188．

[8] 赵凡凡，周玉枝，高丽，等．D–半乳糖致衰老大鼠模型的研究进展[J]．药学学报，2017，52(3)：347–354．

[9] BUDNI J，GARCEZ M L，MINA F，et al．The oral administration of D-galactose induces abnormalities within the mitochondrial respiratory chain in the brain of rats[J]．Metabolic Brain Disease，2017，32(3)：811–817．

[10] SONG X，BAO M M，LI D D，et al．Advanced glycation in D-galactose induced mouse aging model[J]．Mechanisms of Ageing and Development，1999，108(3)：239–251．

[11] 熊爱华，郑浩，吕俊华．D–半乳糖诱导大鼠脑损伤的糖基化机制[J]．中国实验动物学报，2008，16(3)：196–200．

[12] 曾立，向荣．基于 D–半乳糖致衰老鼠模型的抗衰老药物研究进展[J]．邵阳学院学报(自然科学版)，2018，15(6)：108–116．

[13] SHWE T，PRATCHAYASAKUL W，CHATTIPAKORN N，et al．Role of D-galactose-induced brain aging and its potential used for therapeutic interventions[J]. Experimental Gerontology，2018，101：13–36．

[14] BO-HTAY C，PALEE S，APAIJAI N，et al．Effects of d-galactose-induced ageing on the heart and its potential interventions[J]．Journal of Cellular and Molecular Medicine，2018，22(3)：1392–1410．

[15] 曾立，肖文军．L–茶氨酸防治脑疾病研究进展[J]．茶叶科学，2019，39(2)：193–202．

[16] 李成舰，颜琼娴，肖文军，等．L–茶氨酸调节机体免疫功能机理的研究进展[J]．湖南农业大学学报(自然科学版)，2016，42(6)：663–669，685．

[17] GONG Z H，LIN L，LIU Z Y，et al．Immune–modulatory effects and mechanism of action of L-theanine on ETEC-induced immune–stressed mice via nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor signaling pathway[J]．Journal of Functional Foods，2019，54：32–40．

[18] WANG D X，GAO Q，WANG T T，et al．Theanine：the unique amino acid in the tea plant as an oral hepatoprotective agent[J]．Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition，2017，26(3)：384–391．

[19] CULETU A，FERNANDEZ–GOMEZ B，ULLATE M，et al．Effect of theanine and polyphenols enriched fractions from decaffeinated tea dust on the formation of Maillard reaction products and sensory attributes of breads[J]．Food Chemistry，2016，197：14–23．

[20] FRANCESCHI C，BONAFÈ M，VALENSIN S，et al. Inflamm-aging：an evolutionary perspective on immunosenescence[J]．Annals of the New York Academy of Sciences，2000，908(1)：244–254．

[21] 夏世金，孙涛，郑松柏，等．炎性衰老的研究[J]．成都医学院学报，2012，7(3)：336–343．

[22] GONG Z H，LIU Q L，LIN L，et al．l-Theanine prevents ETEC-induced liver damage by reducing intrinsic apoptotic response and inhibiting ERK1/2 and JNK1/2 signaling pathways[J]．European Journal of Pharmacology，2018，818：184–190．

[23] 郭盛淇．免疫衰老与老年人免疫[J]．微生物学免疫学进展，2013，41(3)：1–9．

[24] 张敏佳，刘文颖，贾福怀，等．豌豆肽对环磷酰胺致免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J]．食品与发酵工业，2018，44(8)：135–140．

[25] YAMADA T，NISHIMURA Y，SAKURAI T，et al. Administration of theanine，a unique amino acid in tea leaves，changed feeding-relating components in serum and feeding behavior in rats[J]．Bioscience，Biotechnology，

and Biochemistry，2008，72(5)：1352–1355．

[26] OTT C，JACOBS K，HAUCKE E，et al．Role of advanced glycation end products in cellular signaling[J]．Redox Biology，2014，2：411–429．

[27] BYUN K，YOO Y，SON M，et al．Advanced glycation end-products produced systemically and by macrophages：a common contributor to inflammation and degenerative diseases[J]．Pharmacology & Therapeutics，2017，177：44–55．

[28] 刘俊田．动脉粥样硬化发病的炎症机制的研究进展[J]．西安交通大学学报(医学版)，2015，36(2)：141–152．

[29] 岳峰，雷呈祥．细胞间黏附分子–1 的研究概况及临床意义[J]．国际免疫学杂志，2012，35(2)：107–112．

[30] WEIGAND M A，PLACHKY J，THIES J C，et al. N-acetylcysteine attenuates the increase in α-glutathione S-transferase and circulating ICAM-1 and VCAM-1 after reperfusion in humans undergoing liver transplantation[J]. Transplantation，2001，72(4)：694–698．

[31] 李龙．油酰乙醇胺治疗非酒精性脂肪肝及肝纤维化的机制研究[D]．厦门：厦门大学，2015．

[32] LEDL F，SCHLEICHER E．New aspects of the Maillard reaction in foods and in the human body[J]．Angewandte Chemie International Edition in English，1990，29(6)：565–594．

[33] UNNO T，SUZUKI Y，KAKUDA T，et al．Metabolism of theanine，γ-glutamylethylamide，in rats[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，1999，47(4)：1593–1596．

[34] POULSEN M W，HEDEGAARD R V，ANDERSEN J M，et al．Advanced glycation endproducts in food and their effects on health[J]．Food and Chemical Toxicology，2013，60：10–37．

[35] NINOMIYA T，KANZAKI N，HIRAKAWA Y，et al. Serum ethylamine levels as an indicator of L-theanine consumption and the risk of type 2 diabetes in a general Japanese population：the Hisayama study[J]．Diabetes Care，2019，42(7)：1234–1240．

[36] LÓPEZ-OTÍN C，BLASCO M A，PARTRIDGE L，et al. The hallmarks of aging[J]．Cell，2013，153(6)：1194–1217．

责任编辑：邹慧玲
英文编辑：柳　正