

茶树新品系 CFT-1 提取物的降脂作用及其机制研究

廖素凤^{1,2}, 刘江洪^{2,3}, 杨志坚^{2,3}, 郑金贵^{1,2,3*}

¹福建农林大学作物遗传育种与综合利用教育部重点实验室;

²福建农林大学福建省特种作物育种与利用工程技术研究中心; ³福建农林大学农产品品质研究所, 福州 350002

摘要: 探讨茶树新品系福茶 1 号绿茶对高脂血症大鼠的降脂作用及其机制。40 只大鼠随机分为正常组 (CON)、高脂模型组 (HFD)、福茶 1 号绿茶组 (CFT-1, 200 mg/kg · d) 和普通绿茶组 (Fuyun6, 200 mg/kg · d)。采用高脂饮食建立高脂血症大鼠模型。绿茶提取物干预 8 周后, 检测大鼠血脂水平、血清和肝脏的抗氧化活性、血清 ALT、AST 活性, ELISA 法检测血清 TNF- α 、IL-6、IL-10 含量。利用 HE 染色观察肝脏组织病理变化, 通过 Western blot 和 qRT-PCR 方法检测脂质代谢和氧化损伤相关基因乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC)、核因子 CCAAT 增强子结合蛋白 α (C/EBP- α)、脂肪酸合成酶 (FAS) 和固醇调节原件结合蛋白-1c (SREBP-1c)、低密度脂蛋白受体 (LDLR) 和抗氧化相关基因过氧化物酶增殖激活的受体-a (PPAR- α)、1-氨基环丙烷-1-羧酸氧化酶 (ACO) 和肉碱棕榈酰转移酶 I (CPT-1 α) 的蛋白和 mRNA 表达。结果显示, CFT-1 的绿茶提取物能显著降低高脂饮食引起的体重增加和血清中 TC、TG、LDL-C 水平的上升, 显著提高血清 HDL-C 水平; 明显减少肝细胞中脂滴的形成, 减轻肝小叶炎症脂肪变性和防止肝纤维化; 显著提高血清和肝脏的 SOD、GSH-Px 和 CAT 活性, 降低 MDA 含量; 显著降低血清异常升高的 ALT、AST 活性和 TNF- α 、IL-6 含量, 提高 IL-10 含量; 显著抑制肝组织中 ACC、FAS、SREBP-1c 和 C/EBP- α 表达的升高, 有效拮抗肝组织中 LDLR、CPT-1 α 、PPAR- α 和 ACO 表达的降低。并且 CFT-1 的绿茶提取物的上述作用优于普通绿茶。茶树新品系 CFT-1 提取物对高脂血症大鼠具有降血脂作用, 其机制可能与提高抗氧化和抗炎能力, 调节脂肪代谢有关。

关键词: 茶树新品系 CFT-1; 高脂血症; 降脂作用; 抗氧化; 抗炎

中图分类号: R965

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.11.004

Hypolipidemic Effects and Mechanism of Tea Plant New Strain *Camellia sinensis* CV. CFT-1 Extract

LIAO Su-feng^{1,2}, LIU Jiang-hong^{2,3}, YANG Zhi-jian^{2,3}, ZHENG Jin-gui^{1,2,3*}

¹Key Laboratory of Ministry of Education for Genetics, Breeding and Multiple Utilization of Crops, Fujian Agriculture and Forestry University; ²Agricultural Product Quality Institute, Fujian Agriculture and Forestry University; ³Fujian engineering and technology research center of breeding and utilization for special crop, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China

Abstract: The aim of this study was to investigate the hypolipidemic effect and mechanism of tea plant new strain *Camellia sinensis* CV. CFT-1 extract (CFT-1). Forty rats were randomly divided into 4 groups, the normal group (CON), the hyperlipidaemia model group (HFD), the CFT-1 green tea group (CFT-1) and the ordinary green tea group (Fuyun6). Hyperlipidaemia rats model were established by feeding rats with a high-fat diet. Green tea extracts of CFT-1 or Fuyun6 was administered once a day for eight weeks by gavage as pretreatment at 200 mg/kg. The blood lipid levels, the activities of ALT and AST in serum, antioxidant activity in serum and liver were analyzed. The levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) and interleukin-10 (IL-10) were analyzed by ELISA. The pathological changes of liver tissue were observed by hematoxylin and eosin staining. The protein and mRNA expression of fatty acid synthetase (FAS), low density lipoprotein receptor (LDLR), acetyl-coa carboxylase (ACC), sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c), CCAAT/enhancer binding protein α (C/EBP α), Peroxidase proliferation activated receptor-a (PPAR α), carnitine palmitoyltransferase-1 alpha (CPT-1 α) and 1-amino-cyclopropane-1-carboxylate oxidase (ACO)

genes related to lipid metabolism and anti-oxidant were assayed by Western blot and qRT-PCR. Green tea extract of CFT-1 significantly decreased the weight gains, levels of serum TC, TG, LDL-C induced by high-fat diet and significantly increased the

收稿日期: 2017-06-08 接受日期: 2017-08-02

基金项目: 国家科技部支撑计划 (2013BAD01B05); 福建省科学技术创新平台项目 (PTJH13001, PTJH12015)

* 通信作者 Tel: 86-591-83789231; E-mail: jgzhen231@163.com

level of serum HDL-C. Histologically, the extract reduced the formation of lipid droplets, alleviated the degree of fatty degeneration and prevented liver fibrosis in livers. The activities of SOD, GSH-Px and CAT were also significantly increased in serum and liver of rats treated with the extract, while the content of MDA was decreased. The pretreatment with green tea extract of CFT-1 significantly decreased levels of serum ALT, AST, IL-6, TNF- α and increased levels of serum IL-10, decreased the protein and mRNA expression degrees of ACC, FAS, SREBP-1c and C/EBP- α , while up-regulated the protein and mRNA expression degrees of LDLR, CPT-1 α , PPAR- α , and ACO in liver of hyperlipidemia rats. Moreover, these results reveals the green tea extract of CFT-1 has better hypolipidemic effects compared with the ordinary tea fuyun6, and its mechanism may be related to improve the antioxidant activity, anti-inflammatory effects and regulate fat metabolism.

Key words: Tea plant new strain *Camellia sinensis* CV. CFT-1; hyperlipidemia; hypolipidemic effects; antioxidant; anti-inflammatory

高脂血症被公认为是心血管疾病的主要危险因素之一,血脂代谢异常在动脉粥样硬化和脑血管病的发生和发展中起重要作用^[1]。《中国心血管病报告 2015》指出,我国高脂血症发病率高且日益低龄化,同时心血管患病率持续上升,目前我国有 2.9 亿人患心血管疾病^[2]。预防和治疗高脂血症是防治心脑血管疾病及脂肪肝的关键措施^[3]。通过药物与膳食干预能有效降低高脂血症发病的危险性,但现有的大多降血脂药物包括依泽替米贝血脂康、苯扎贝特和辛伐他汀等具有副作用^[4],不宜长期服用。因此,寻求疗效显著、安全可靠的调血脂的膳食饮品备受关注。

前人研究表明,茶叶具有抗脂质过氧化、预防高脂血症、减少心脑血管疾病发生的作用^[5,6]。Maramasu 等^[7]报道,高脂饲料中添加 1%~2% 绿茶提取物可以减少大鼠血浆内总胆固醇(TC)的升高。吴文华等^[8]研究发现,绿茶可显著降低大鼠的血脂水平,减轻脂肪组织,并推测该作用与其主要活性成分物质茶多酚有关。表没食子儿茶素没食子酸酯(Epigallocatechin-3-gallate, EGCG)是茶多酚的核心成分。研究表明,EGCG 可在蛋白质和 mRNA 水平抑制脂肪细胞内甘油三酯(TG)生物合成作用和增殖作用,从而表现出降脂作用^[9]。茶叶中含有丰富的黄酮类和多酚类化合物,能有效清除 O₂⁻、·OH 和 DPPH·,降低脂质过氧化水平,这尤其与提取物中的 EGCG 含量密切相关^[10]。Shu 和 Maria 等^[11,12]研究表明,EGCG 具有较强的抗氧化活性和抗动脉粥样硬化作用。李锋等^[13]研究表明,连续饲喂表没食子儿茶素(Epigallocatechin, EGC) 30 d 可显著降低高脂大鼠血清中 TG 的含量。

我国茶树[*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze]种质资源丰富。本课题前期同时以总儿茶素含量及其主要单体 EGCG、EGC、表儿茶素没食子酸酯(Epicate-

chin gallate, ECG) 和 儿茶素(Catechin, C),这 5 个主要活性成分为指标,通过地理远缘杂交及后代筛选获得了优质茶树新品系“福茶 1 号”(CFT-1),其夏季新稍(一芽二叶)干品中总儿茶素含量 $\geq 22\%$,其中 EGCG 含量 $\geq 12\%$,儿茶素 C 含量 $\geq 2\%$,ECG 含量 $\geq 3.5\%$,其 EGCG 含量是推广品种福云 6 号(5.28%)的 2.54 倍^[14]。本研究采用高脂饮食建立高脂血症 SD 大鼠模型,初步探讨 CFT-1 绿茶对高脂血症大鼠的降脂作用,同时从抗炎、抗氧化和脂代谢几个方面探讨其作用机制,为开发具有防治高脂血症的功能茶提供理论基础。

1 材料与仪器

1.1 实验动物和饲养条件

雄性 SD 大鼠,40 只,SPF 级,体质量 120~140 g,购自上海斯莱克实验动物有限公司,许可证号:SCXK(沪)2012-0002。动物饲养于福建医科大学实验动物中心的 SPF 屏障系统内,室内温度(23 \pm 2 $^{\circ}$ C),相对湿度(50 \pm 10)% ,昼夜明暗交替时间 12/12h,大鼠自由进食饮水。

1.2 试剂和药品

茶树新品系 CFT-1 绿茶,2015 夏茶,由福建农林大学农产品品质研究所提供;普通绿茶(福云 6 号绿茶),2015 夏茶,购于福安市闻天茶叶有限公司。

高脂饲料的配方:78.8% 基础饲料 + 1.0% 胆固醇 + 10.0% 蛋黄粉 + 10.0% 猪油 + 0.2% 胆酸钠^[3],由福建医科大学动物实验中心代为加工。基础饲料由福建医科大学动物实验中心提供。

没食子酸、儿茶素、EGCG 等标准品购自 Sigma 公司,纯度 $\geq 98.0\%$ 。总蛋白定量试剂盒、TC 试剂盒、TG 试剂盒、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试剂盒、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)试剂盒、谷丙转

氨酶 (ALT) 比色法试剂盒、谷草转氨酶 (AST) 比色法试剂盒、尿酸 (UA) 试剂盒、肌酐 (Cr) 试剂盒、丙二醛 (MDA) 试剂盒、过氧化氢酶 (CAT) 试剂盒、超氧化物歧化酶 (SOD) 试剂盒和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。检测血清白细胞介素-10 (IL-10)、白细胞介素-6 (IL-6) 和肿瘤坏死因子 (TNF- α) 的 ELISA 试剂盒购于武汉博士德有限公司。SYBR[®] Premix Ex Taq[™] 试剂盒购于日本 TaKaRa 公司, 反转录实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 引物由中国上海生物工程技术有限公司合成。脂肪酸合成酶 (FAS)、乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC)、核因子 CCAAT 增强子结合蛋白 α (C/EBP- α)、和固醇调节原件结合蛋白-1c (SREBP-1c)、低密度脂蛋白受体 (LDLR) 和抗氧化相关基因过氧化物酶增殖激活的受体-a (PPAR- α)、1-氨基环丙烷-1 羧酸氧化酶 (ACO) 和肉碱棕榈酰转移酶 I (CPT-1 α) 等抗体均购于美国 Cell Signaling 公司。Western blot 试剂盒和 ECL 化学发光显色试剂盒购于中国上海生物工程技术有限公司。

1.3 实验仪器

高速冷冻离心机 (3K15 型, 美国 sigma 公司), 纯水机 (Spring-S15 型, 广州誉维生物科技仪器有限公司), 酶标仪 (TECAN Infinite M200, 奥地利 TECAN 公司), 普析通用紫外分光光度计 (T6 系列, 北京普析通用仪器有限责任公司), 电子天平 (FA2004 型, 成都一科仪器设备有限公司), 石蜡切片机 (RM 2235, 上海 LEICA 公司), 生物显微镜 (NIKON E200, 日本尼康公司), 荧光定量 PCR 仪 (ABI7500, 美国应用生物系统公司), 超微量分光光度计 (NanoDrop 2000/2000c, 美国 Thermo 公司)。

2 实验方法

2.1 茶叶水提取物的制备

临用前将 2 种茶叶粉碎, 茶粉按 3: 100 的料液比, 80 °C 蒸馏水中浸泡 5 min 后超声 200 W 浸提 10 min, 重复提取 2 次, 合并提取液, 稍微冷却, 用四层纱布过滤, 离心, 旋转蒸发器浓缩至一定浓度, 于 -80 °C 预冷 12 h 后真空冷冻干燥 24 h。收集干粉, 密封包装, -20 °C 保存备用。

茶叶水浸出物含量的测定方法参照 GB/T8305-2002《茶水浸出物测定》; 咖啡碱、茶多酚和儿茶素类物质含量的测定参照国标 GB/T 8313-2008《茶咖啡碱测定》和《茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检

测方法》; 游离氨基酸含量测定参照国标 GB/T8314-2002《茶游离氨基酸测定》; 茶多糖含量测定参照葱酮比色法^[15]。

2.2 动物实验分组与给药剂量

上述 SD 大鼠适应性喂养 1 周后, 按体重随机分为 4 组: 正常对照组 (Control, 10 只)、高脂模型组 (HFD, 13 只)、CFT-1 组 (CFT-1, 13 只) 和普通绿茶组 (Fuyun6, 13 只)。除 Control 组的大鼠饲喂基础饲料外, 其余各组大鼠每天饲喂高脂饲料, 连续造模 4 周。于第 4 周末, 空腹 16h 后眼眶采血, 测定血清 TC、TG、HDL-C、LDL-C 水平, 以验证造模是否成功。第 5 周开始, 高脂造模各组选择造模成功的大鼠 (每只 10 只), 继续饲喂高脂饲料, 同时每天早上 9:00 ~ 11:00 给予绿茶提取物 200 mg/kg · d^[10] 灌胃干预, 持续 8 周。

2.3 指标测定

实验期间观察动物精神、活动、毛色, 及尿量粪便变化情况, 每天定时测定每组动物摄食量和摄水量, 每周测定体重 1 次。

试验结束时, 动物禁食 16 h 后, 使用戊巴比妥钠 30 ~ 50 mg/Kg 剂量麻醉, 在腹主动脉采集非抗凝血, 血液室温静置 3 h, 4000 rpm 离心 10 min, 取上清液 -80 °C 保存备用。处死大鼠后, 迅速取出大鼠脏器生理盐水洗净, 滤纸吸干, 称重以计算各脏器指数, 并取部分肝脏加预冷的生理盐水制备 10% 的肝脏匀浆液, 3500 rpm 离心 10 min, 取上清液 -80 °C 保存备用。

2.3.1 血脂水平检测

根据试剂盒操作说明书测定 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 水平, 并计算动脉硬化指数 (Atherosclerosis Index, AI) 值 $AI = (TC - HDL-C) / HDL-C$ ^[15]。

2.3.2 血生化指标检测

采用 ELISA 试剂盒检测血清炎症因子 TNF- α 、IL-6、IL-10 含量, 血清中 ALT、AST 活性以及 UA、Cr 含量按照南京建成生物工程研究所的试剂盒操作说明书测定。

2.3.3 血清和肝组织抗氧化活性指标的检测

取出 10% 的肝脏匀浆液, 采用试剂盒测定大鼠血清和肝脏的 CAT、SOD、GSH-PX 活性及 MDA 含量。

2.3.4 肝脏组织病理分析

处死大鼠后立即取 0.5 cm × 0.5 cm × 0.3 cm 块状的肝脏组织用预冷的生理盐水冲洗后擦干, 快速置于中性福尔马林溶液中固定, 48 ~ 72 h 后依次

用 75%、95% 和 100% 乙醇梯度脱水,石蜡包埋。

苏木精-伊红(HE)染色切片制作具体步骤如下:石蜡切片(5 μ m)用 95% 和 85% 乙醇梯度脱蜡水化,HE 染色切片,于光学显微镜下病理学观察每组切片中肝脏的脂肪变性、炎症细胞及组织坏死程度。

Masson 染色切片制作具体步骤如下:石蜡切片(5 μ m)常规脱蜡至水,Masson 复合染料染色 5 min, 0.2% 的酸性乙醇水洗,再用 5% 的磷钨酸洗 5 ~ 10 min 后,0.2% 的酸性乙醇水洗 2 次,Masson 蓝化液返蓝 5 min,0.2% 的酸性乙醇水洗 2 次,无水乙醇脱水 3 次,每次 5 ~ 10s,二甲苯透明 3 次,每次 1 ~ 2min,中性树脂封固。胶原纤维呈绿色或蓝色,红细胞呈桔黄色。光学显微镜下病理学观察每组切片中肝脏的纤维化程度。

2.3.5 Western blot 实验

取保存于液氮中的肝组织检测大鼠肝脏脂质代谢和抗氧化相关基因蛋白的表达情况。具体步骤如下^[16]:称取不同组别大鼠的肝脏组织 0.1 g,剪碎,加入 PIPA 蛋白裂解液于冰上裂解 30 min,4 $^{\circ}$ C 条件下 12 000 rpm 离心 10 min,取上清,采用 BCA 试剂盒进行蛋白定量后,降蛋白变性取 20 μ g 蛋白上样,采用 10% SDS-聚丙烯酰胺电泳分离蛋白后,将蛋白

转印至 PVDF 膜,用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h 后,加入相应的一抗(ACC、FAS、SREBP-1c、C/EBP- α 、LDLR、CPT-1 α 、PPAR- α 和 ACO)4 $^{\circ}$ C 封闭过夜,TBST 洗 3 次,加二抗封闭液室温液封闭 1 h,采用 ECL 发光法显色,ChemiDoc XRS + 系统成像,扫描记录,用 Quantity One 软件进行分析。

2.3.6 实时荧光定量 PCR 实验

取保存于液氮中的肝组织检测大鼠肝脏脂质代谢和抗氧化相关基因 mRNA 表达的情况。具体步骤如下:采用 Trizol 提取肝脏组织总 RNA(按 Trizol 说明书操作),再根据 TaKaRa 公司的逆转录试剂盒的操作方法进行 cDNA 的合成,AceQTM qPCR SYBR[®] Premix Ex Taq[™] 进行 qRT-PCR 反应, β -Actin 基因做内参。qRT-PCR 反应体系采用 20 μ L 体系:1 μ L cDNA 模板,10 μ L AceQTM qPCR SYBR[®] Green Master Mix,正反引物各 0.5 μ L,加灭菌双蒸水至 20 μ L。反应程序为:95 $^{\circ}$ C 30 s 预变性;95 $^{\circ}$ C 10 s 变性,60 $^{\circ}$ C 34 s 退火延伸;循环 40 次。反应结果采用 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 方法分析相对基因表达的差异。引物设计采用 Beacon Designer 8.1 软件设计,并用 NCBI 验证后由上海生工生物技术有限公司合成。引物序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 试验的基因引物序列

Table 1 Primers sequences used in qRT-PCR analysis

Gene	NCBI ID	Forward primer(5'-3')	Reverse primer(5'-3')
C/EBP- α	NM_001287577.1	CAAGAAGTCGGTGGATAAGAACAG	GCGGTCAATTGTCCTACTGGTC
FAS	NM_017332.2	GGACATGGTCCACAGACGATGAC	GTCGAACTTGGACAGATCCTTCA
CPT-1a	NM_031559	TGGATGGCTATGGTCAAGGT	ATGGCGTAGTAGTTGCTGTG
LDLR	NM_175762	AGACTGGGATTGCCTGGAT	TGGGATGATACACTCACTACT
PPAR- α	NM_013196	TGGAGTCCACGCATGTGAAG	CGCCAGCTTTAGCCGAATAG
SREBP-1c	XM_213329	TTCCTGACCTT TCCCTT	GCTGGAATGACAGCTTCA
ACC	NM_022193	ACCAGCCTCTGTCAGTCAG	CCCCAAAACGAGTAACAAA
ACO	NM_017340	ACGTGGCTGTTAAGGCTTCTCA	CCATAGAGAGAATACAAGAGACACAGTT
β -Actin	NM_031144.2	GGAATCGTGCCTGACATTA	AGGAAGGAAGGCTGGAAGAG

2.4 统计学处理

数据采用 SPSS13.0 统计软件分析,GraphPad Prism v5.0 处理图片,所有数据均以 $\bar{x} + SD$ 表示,组间采用 One Way ANOVA 分析(单因素方差分析)和 Tukey's 检验差异显著性。

3 结果与分析

3.1 2 个品种绿茶的活性成分含量比较

如表 2 所示,2 个品种绿茶的总儿茶素及其部

分单体含量存在明显差异,CFT-1 绿茶的总儿茶素含量、EGCG 含量分别高达 224.9、134.2 mg/g,均比普通品种福云 6 号绿茶高近 1 倍。另外,CFT-1 绿茶中 C、EGC、咖啡因含量也明显高于普通茶叶。提示茶树新品系 CFT-1 绿茶可作为儿茶素、EGCG、咖啡因等提取物的重要来源。

3.2 绿茶提取物喂饲前大鼠的血脂水平

绿茶提取物干预前对大鼠血脂水平的检测结果显示(表 3),造模各组大鼠血清中 TC、LDL-C 水

表 2 CFT-1 和福云 6 号绿茶主要成分和水浸出物的含量 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

Table 2 Contents of the main components and water extract of CFT-1 and Fuyun6 green teas ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

Components (mg/g)	CFT-1	Fuyun6	Components (mg/g)	CFT-1	Fuyun6
GC	4.5 ± 0.0	1.5 ± 0.1	CG	3.0 ± 0.1	0.9 ± 0.1
EGC	31.7 ± 0.9	27.8 ± 0.9	Caffeine	53.8 ± 3.1	26.1 ± 0.4
(+) -Catechin	30.0 ± 1.0	0.6 ± 0.0	Total catechins ^d	238.1 ± 15.1	124.7 ± 4.1
EC	6.4 ± 0.9	11.9 ± 0.5	Total polyphenols	295.4 ± 16.7	184.1 ± 10.8
EGCG	134.2 ± 9.8	52.8 ± 6.5	Free amino acid	23.8 ± 10.5	20.8 ± 1.1
GCG	4.9 ± 0.3	1.8 ± 0.1	Tea polysaccharide	13.6 ± 0.5	12.7 ± 0.9
ECG	35.8 ± 3.1	23.6 ± 2.1	Water extracts	407.9 ± 20.6	371.4 ± 12.8

注: ^dTotal catechins = EGC + C + EC + EGCG + ECG

平显著高于正常对照组 ($P < 0.01$), HDL-C 水平显著降低 ($P < 0.01$), 表明高血脂症模型大鼠已成功建立。

表 3 绿茶提取物饲喂前大鼠的血脂水平 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Table 3 The blood lipid levels of rats before green teas feeding ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)
Control	2.21 ± 0.41	0.60 ± 0.15	0.41 ± 0.22	1.23 ± 0.41
HFD	3.33 ± 0.71 ^{##}	0.63 ± 0.19	1.43 ± 0.29 ^{##}	0.80 ± 0.39 ^{##}
CFT-1	3.20 ± 0.78 ^{##}	0.60 ± 0.15	1.51 ± 0.35 ^{##}	0.88 ± 0.30 ^{##}
Fuyun6	3.26 ± 0.61 ^{##}	0.57 ± 0.20	1.17 ± 0.31 ^{##}	0.73 ± 0.27 ^{##}

注: 与 Control 组比较, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$ 。

Note: compared with Control group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$.

3.3 绿茶提取物对高血脂症大鼠摄食量、体重和脏器指数的影响

实验结束时, 与正常组比较, 模型组大鼠的摄食

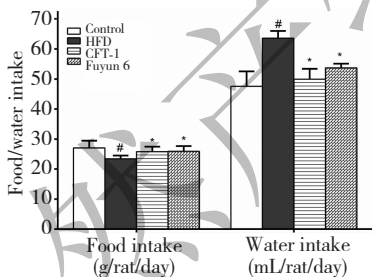


图 1 绿茶提取物对高血脂症大鼠摄食量和饮水量的影响 ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

Fig. 1 Effects of green teas on food intake and water intake in hyperlipidemia rats ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

注: 与 Control 组比较, [#] $P < 0.05$; 与 HFD 组比较, ^{*} $P < 0.05$ 。

Note: compared with Control group, [#] $P < 0.05$; compared with HFD group, ^{*} $P < 0.05$

量显著降低 ($P < 0.05$), 饮水量明显提高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, CFT-1 组和 Fuyun6 组大鼠的摄食量显著提高 ($P < 0.05$), 饮水量显著降低 ($P < 0.05$), 并且与正常组比较均无显著性差异 ($P >$

0.05) (图 1)。实验期间各组未见大鼠死亡现象。上述结果提示, 试验中所用剂量的绿茶提取物对大鼠的一般生理状况未产生明显的不良影响。

长期患有高血脂症的大鼠, 其内脏会有一定程度的损坏, 其相应指数较正常大鼠高^[3]。由表 4 可知, 实验结束时, 模型组的大鼠体重、脂体比、肝脏指数和脾脏指数较正常组明显提高, 差异达显著水平 ($P < 0.01, P < 0.05$); 与模型组比较, CFT-1 组的大鼠体重、脂体比、肝脏指数和脾脏指数显著降低 ($P < 0.01, P < 0.05$), Fuyun6 组的肝脏指数和脾脏指数虽低于 HFD 组, 但无统计学差异 ($P > 0.05$)。结果表明, 高脂饮食诱导大鼠体重、脂体比、肝脏指数和脾脏指数异常升高, 茶树新品系 CFT-1 绿茶提取物能有效减缓高脂血症大鼠的体重增长, 减少体内脂肪。

3.4 大鼠肝脏病理学的变化

实验结束时解剖肉眼观察发现, 正常对照组大鼠肝脏呈鲜红色, 表面光滑, 有弹性, 边缘锐利; 模型组大鼠的肝脏色泽黄腻脆弱、边缘变钝, 表面粗糙、外形饱满, 与周围组织有粘连, 切面油腻, 部分出现糜烂, 呈典型脂肪肝病变, 少数大鼠还出现黄疸、腹

表4 CFT-1 和福云6号绿茶提取物对高血脂大鼠体重和脏器指数的影响($n = 10, \bar{x} \pm s$)Table 4 Effects of CFT-1 and Fuyun6 green teas on weight gain and the index of organ in hyperlipidemia rats ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	结束时体重 Weight at the end (g)	体重增长 Weight gain(g)	脂体比 fatindex (%)	肝脏指数 Liver index (%)	脾脏指数 Spleenindex (%)	肾脏指数 Kidney index (%)
Control	448.70 ± 43.08	306.45 ± 15.41	3.45 ± 0.72	2.49 ± 0.20	0.18 ± 0.02	0.58 ± 0.029
HFD	579.40 ± 40.69 ^{##}	437.98 ± 22.25 ^{##}	4.95 ± 1.43 ^{##}	3.59 ± 0.34 ^{##}	0.33 ± 0.09 [#]	0.65 ± 0.15
CFT-1	447.70 ± 16.63 ^{**}	306.78 ± 12.23 ^{**}	3.55 ± 1.40 ^{**}	2.87 ± 0.25 [*]	0.21 ± 0.11 [*]	0.60 ± 0.38
Fuyun6	466.40 ± 16.02 ^{**}	324.15 ± 10.56 ^{**}	3.59 ± 0.98 ^{**}	2.96 ± 0.19 [#]	0.29 ± 0.12	0.62 ± 0.20

注:与 Control 组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与 HFD 组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。

Note: compared with Control group,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$; compared with HFD group,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。

泻、脾脏肿大、左右肾大小不一等现象。普通茶叶组大鼠肝脏颜色呈浅灰色,病变较模型组轻微。CFT-1组大鼠肝脏病变明显较普通茶叶组轻微,与正常组

较接近,颜色为血红色,组织较坚韧(图2)。实验过程中,各组大鼠未见明显中毒病症和死亡现象。

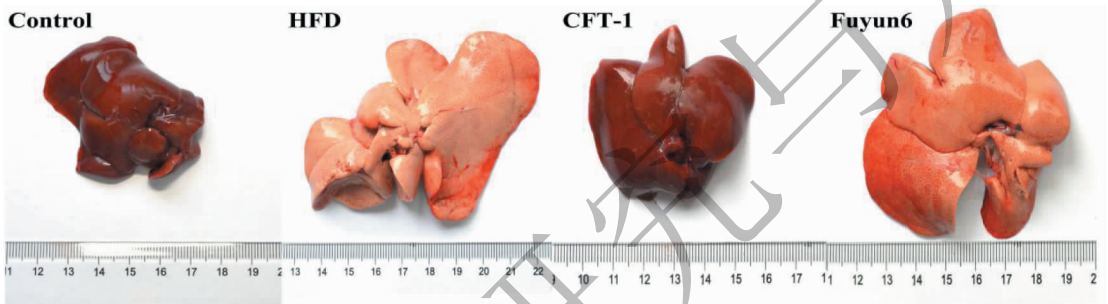


图2 各组大鼠的肝脏图

Fig. 2 Images of liver tissues from different groups

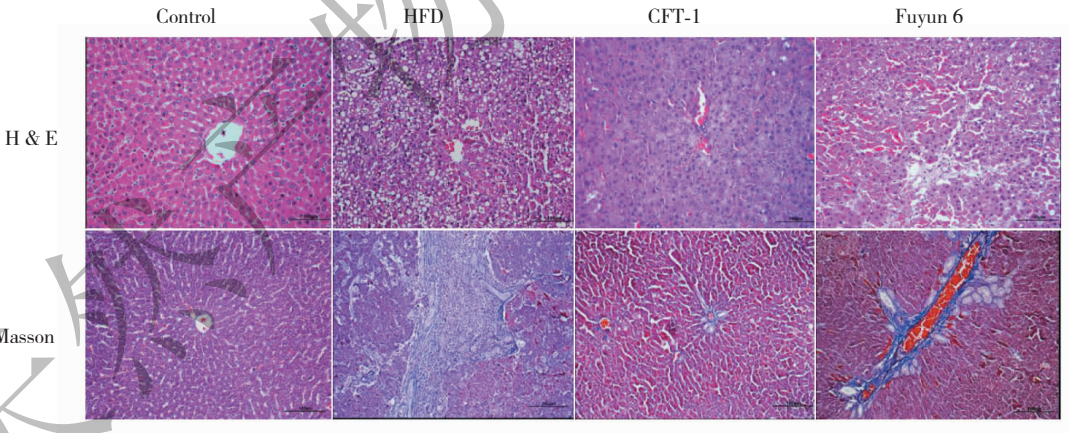


图3 H&E 和 Masson 染色分析各组大鼠的肝脏组织病理变化(200 ×)

Fig. 3 The pathological changes of liver in different groups rats using H&E and Masson staining(200 ×)

图3的HE结果显示,模型组的大鼠肝细胞排列常松散且肿大,肝小叶界限不清,肝索排列紊乱,细胞内和细胞间隙可见许多大小不一的空泡,并呈弥漫性中度至重度脂肪变性,甚至可见炎性细胞浸润。Fuyun6组的病变较模型组轻微,肝细胞间隙可见脂肪滴而形成的空泡和轻度的肝细胞坏死现象,

肝纤维化现象明显。CFT-1组的肝脏组织除中央静脉周围有轻微病变外,肝细胞较正常,脂肪滴空泡少见,病变较Fuyun6组轻微。图3的Masson染色结果显示,HFD组门静脉及其分支扩张,血管壁变厚,胶原纤维明显增生,肝血窦扩大,肝细胞的形态明显异常。与模型组比较,CFT-1组的肝纤维化程度有

明显改善,肝组织及汇管区纤维组织减少,炎症细胞明显减少,肝纤维化减轻。上述结果表明,茶树新品系 CFT-1 的绿茶提取物能明显改善肝脏损伤,减少脂质变性和肝纤维化。

3.5 绿茶提取物对高血脂症大鼠血脂水平的影响

由表 5 可知,与 Control 组比较,HFD 组的大鼠的血清 TC、TG 和 LDL-C 水平显著升高($P < 0.01$),HDL-C 水平显著降低($P < 0.01$)。与 HFD 组比较,CFT-1 组大鼠的血清 TC、TG 和 LDL-C 水平分别降低 37.8%、34.29% 和 31.97% ($P < 0.01$),HDL-C

水平提高 38.62% ($P < 0.05$),AI 指数也显著降低 ($P < 0.05$)。检测肝功能指标结果显示,CFT-1 组大鼠的血清 ALT 和 AST 活性较 HFD 组显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。另外,CFT-1 组大鼠血清中 TC、TG 水平和 ALT、AST 活性也显著低于 Fuyun6 组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),HDL-C 水平显著高于 Fuyun6 组 ($P < 0.05$)。结果表明,CFT-1 绿茶提取物具有调节高血脂症大鼠血脂水平,预防高脂饮食对肝功能损伤的作用,效果优于普通茶叶。

表 5 CFT-1 和福云 6 号绿茶提取物对高血脂症大鼠血脂水平的影响 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Table 5 Effect of CFT-1 and Fuyun6 green teas on serum lipid levels and biochemical parameters in hyperlipidemia rats ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	Control	HFD	CFT-1	Fuyun6
TC (mmol/L)	2.15 ± 0.36	4.55 ± 1.05 ^{##}	2.83 ± 0.55 ^{* *}	3.50 ± 0.60 ^{* * ##}
TG (mmol/L)	0.64 ± 0.23	1.40 ± 0.48 ^{##}	0.92 ± 0.54 ^{* *}	1.13 ± 0.66
LDL-C (mmol/L)	0.56 ± 0.15	2.44 ± 0.53 ^{##}	1.66 ± 0.60 ^{* * ##}	1.69 ± 0.62 ^{* * ##}
HDL-C (mmol/L)	1.47 ± 0.30	0.88 ± 0.12 ^{##}	1.22 ± 0.26 ^{* #}	0.83 ± 0.19 ^{##}
AI	0.75 ± 0.17	1.59 ± 0.21 ^{##}	1.11 ± 0.10 ^{* #}	1.29 ± 0.21 ^{##}
AST (mg/dL)	145.56 ± 0.65	183.12 ± 10.51 [#]	142.87 ± 19.51 ^{* *}	167.18 ± 12.52
ALT (mg/dL)	45.29 ± 5.61	101.13 ± 9.64 ^{##}	70.73 ± 23.19 ^{* ##}	88.58 ± 16.21 ^{##}
UA (mg/dL)	1.62 ± 0.46	2.13 ± 0.23 ^{##}	1.79 ± 0.19 [*]	1.87 ± 0.59
Cr (mg/dL)	0.67 ± 0.13	0.57 ± 0.23	0.58 ± 0.16	0.59 ± 0.11

注:与 Control 组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与 HFD 组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。

Note:compared with Control group,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;compared with HFD group,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。

3.6 绿茶提取物对高血脂症大鼠血清抗氧化活性的影响

由表 6 可知,摄食高脂饲料后,模型组的大鼠血清和肝脏 SOD、GSH-PX 和 CAT 活性显著降低 ($P < 0.01$),MDA 含量显著升高 ($P < 0.01$),表明肝脏组织中发生严重的氧化损伤。而补充不同品种绿茶提取物后,大鼠血清和肝脏的抗氧化活性均有不同程度的提高,其中 CFT-1 的绿茶提高抗氧化活性效果较为明显。与模型组比较,CFT-1 组大鼠血清的 SOD、GSH-PX 和 CAT 的活性分别提高 59.41%、13.49% 和 27.73% ($P < 0.01$),MDA 含量降低了 29.09% ($P < 0.01$),肝脏的 SOD、GSH-PX 和 CAT 活性分别提高 29.48%、38.84% 和 96.58% ($P < 0.01$),MDA 含量降低 40.30% ($P < 0.01$)。另外,CFT-1 组血清 SOD 活性与肝脏中 SOD、GSH-PX 和 CAT 活性也都显著高于 Fuyun6 组 ($P < 0.01$ 或 $P <$

0.05),血清和肝脏的 MDA 含量显著低于 Fuyun6 组 ($P < 0.01$)。结果表明,茶树新品系 CFT-1 的绿茶提取物可明显提高机体抗氧化活性,减轻高脂血症大鼠的脂质过氧化,效果优于普通茶叶。

3.7 绿茶提取物对高血脂症大鼠血清炎症因子的影响

从图 4 可知,饲喂高脂饲料后,与正常对照组比较,HFD 组的大鼠血清炎症因子 TNF- α 和 IL-6 的含量显著提高 ($P < 0.01$),IL-10 的含量显著降低 ($P < 0.01$)。与 HFD 组比较,CFT-1 组大鼠血清 TNF- α 和 IL-6 含量分别降低了 53.85% 和 32.12% ($P < 0.01$),IL-10 的含量提高了 89.61% ($P < 0.01$)。

3.8 绿茶提取物对高血脂大鼠肝脏脂质代谢与抗氧化相关基因表达的影响

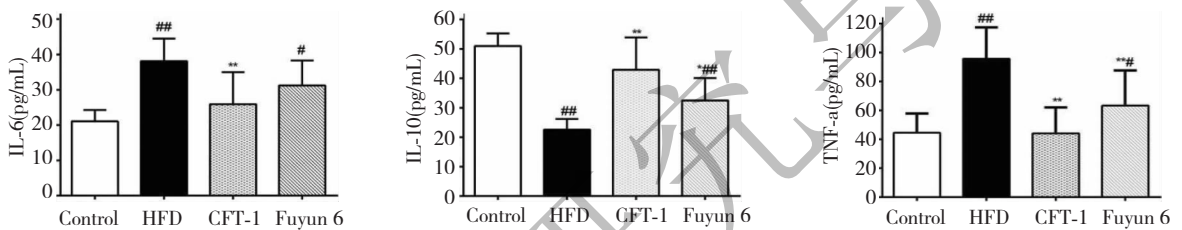
通过 Western blot 和 qRT-PCR 对脂质代谢相关基因 ACC、C/EBP- α 、FAS 和 SREBP-1c、LDLR 和抗

表6 CFT-1 和福云6号绿茶提取物对高血脂症大鼠血清和肝脏抗氧化活性的影响($n = 10, \bar{x} \pm s$)Table 6 Effects of CFT-1 and Fuyun6 green teas on serum and liver antioxidant activity in hyperlipidemia rats ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别 Group		Control	HFD	CFT-1	Fuyun6
Serum	SOD(U/mL)	44.92 ± 3.64	31.36 ± 5.19 ^{##}	49.99 ± 5.83 ^{**}	39.63 ± 6.17 ^{**}
	GSH-PX(U/mL)	465.53 ± 24.22	403.99 ± 43.51 ^{##}	458.47 ± 22.20 ^{**}	420.54 ± 47.54 [#]
	CAT(U/mL)	21.42 ± 1.70	12.37 ± 1.89 ^{##}	15.80 ± 2.32 ^{**}	16.69 ± 3.59 ^{**}
	MDA(nmol/mL)	4.81 ± 1.77	9.59 ± 2.16 ^{##}	6.80 ± 1.32 ^{**}	8.52 ± 2.58 ^{##}
Liver	SOD(U/mg prot)	10.64 ± 1.56	7.43 ± 0.52 ^{##}	9.62 ± 0.99 ^{**}	7.83 ± 0.33 ^{##}
	GSH-PX(U/mg prot)	116.03 ± 7.24	89.26 ± 10.94 [#]	123.93 ± 7.58 ^{**}	82.11 ± 6.65 ^{##}
	CAT(U/mg prot)	2.77 ± 0.77	1.46 ± 0.65 ^{##}	2.87 ± 0.46 ^{**}	1.54 ± 0.43 ^{##}
	MDA(nmol/mg prot)	1.38 ± 0.36	2.68 ± 0.84 ^{##}	1.60 ± 0.31 ^{**}	2.25 ± 0.41 ^{##}

注:与 Control 组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与 HFD 组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。

Note: compared with Control group,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$; compared with HFD group,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。

图4 CFT-1 和福云6号绿茶提取物对高血脂症大鼠血清IL-10、IL-6和TNF-α的影响($n = 10, \bar{x} \pm s$)Fig. 4 Effects of CFT-1 and Fuyun6 green teas on serum contents of IL-10, IL-6 and TNF-α in hyperlipidemia rats ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

注:与 Control 组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与 HFD 组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$

Note: compared with Control group,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$; compared with HFD group,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$

氧化相关基因 PPAR-α、ACO 和 CPT-1α 的蛋白和 mRNA 的表达情况进行了检测和分析,结果如图 5 所示。与 HFD 组比较,CFT-1 组的大鼠肝脏 ACC、C/EBP-α、FAS 和 SREBP-1c 基因的蛋白和 mRNA 下调表达($P < 0.01$),LDLR、ACO 和 CPT-1α 基因的蛋白和 mRNA 上调表达($P < 0.05$ 或者 $P < 0.01$)。这一结果与前述的血脂水平和抗氧化水平的影响相一致。结果提示,CFT-1 绿茶提取物可能通过调节脂质代谢与抗氧化相关基因的表达,提高抗氧化活性,抑制脂肪细胞分化途径,进而改善机体脂代谢紊乱。

4 讨论与结论

本研究中 SD 大鼠摄入高脂饮食后,体重和脂体比与正常对照组相比显著增加,摄食量显著降低,饮水量显著增加,而摄入 2 种绿茶提取物均可有效抑制高脂饮食大鼠腹部脂肪的过多累积,降低大鼠体重,起到减肥的功效,这与前人的研究类似^[17,18]。研究表明,茶叶中 EGCG、EGC 均可明显减少模型鼠

体重的增加,降低高脂模型大鼠血清中 TC、TG 及 LDL-C 的含量,提高 HDL-C 的含量^[19]。本研究结果显示,富含 EGCG、C 和 ECG 等活性成分的茶提取物能显著降低高脂血症大鼠体重、脂体比以及血清 TG、TC 和 LDL-C 含量,显著提高 HDL-C 含量,且效果较普通茶叶明显。结果表明,其抑制高脂血症大鼠内脏脂肪的增长和调节血脂作用可能与其儿茶素单体 EGCG、C 和 ECG 等成分有关。具体的协同成分今后需作进一步研究。

高脂肪食物中的脂质会激活免疫细胞,并迁移至肝脏,与肝细胞作用,引发一系列肝病,比如脂肪性肝病^[20]。本研究的模型组肝脏指数异常升高,AST 和 ALT 含量显著升高,炎症因子 TNF-α 水平也显著升高,IL-10 含量显著降低,HE 结果也显示肝脏中有大量的脂质沉积,并呈弥漫性中度至重度脂肪变性,甚至可见炎性细胞浸润和肝细胞坏死现象,说明高脂饮食会诱发肝脏脂质变性,并产生炎症反应。CFT-1 绿茶提取物可显著降低肝脏指数,调节

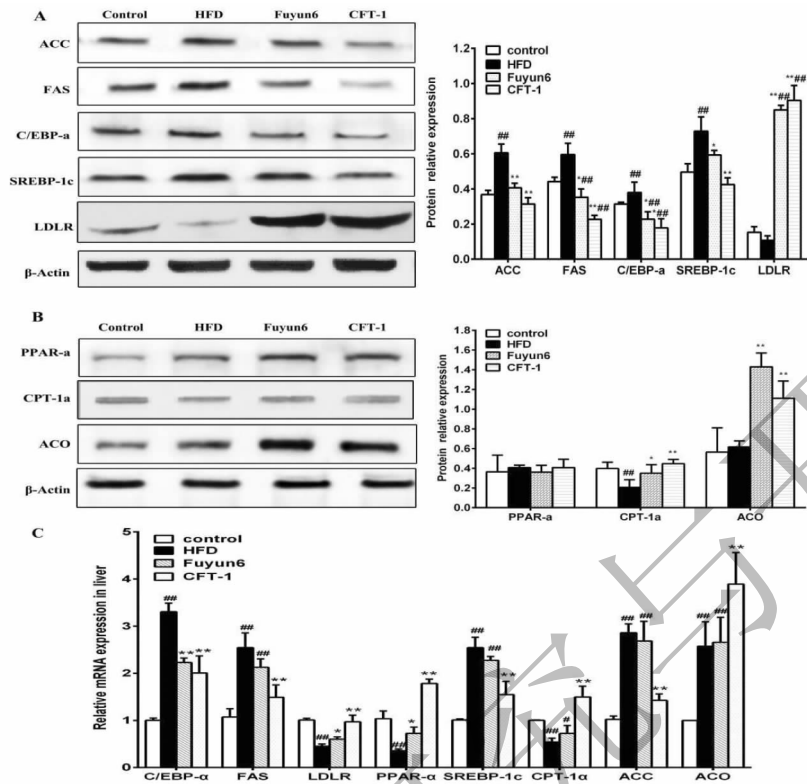


图5 大鼠肝脏的脂质代谢与抗氧化相关基因蛋白和 mRNA 的相对表达量 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

Fig. 5 The protein and mRNA expression of lipid metabolism and antioxidant related gene in rat liver tissue ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

注: (A) 肝脏组织中 ACC、FAS、C/EBP- α 、SREBP-1c 和 LDLR 的蛋白表达条带和相对表达量; (B) 肝脏组织中 PPAR- α 、CPT-1 α 和 ACO 的蛋白表达条带和相对表达量; (C) 肝脏组织中 ACC、FAS、CPT-1 α 、C/EBP- α 、SREBP-1c、PPAR- α 、ACO 和 LDLR 的 mRNA 相对表达量。与 Control 组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; 与 HFD 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Note: (A) Protein levels of ACC, FAS, C/EBP- α , SREBP-1c and LDLR in rat liver tissue analyzed by Western blot. (B) Protein levels of PPAR- α , CPT-1 α and ACO in rat liver tissue. (C) Relative mRNA expression of ACC, FAS, CPT-1 α , C/EBP- α , SREBP-1c, PPAR- α , ACO and LDLR in rat liver tissue analyzed by qRT-PCR. Compared with Control group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; compared with HFD group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

AST 和 ALT 水平, 显著降低炎症因子 TNF- α 、IL-6 含量, 提高 IL-10 含量, 明显减轻肝脏的病变程度, 减少炎症细胞浸润, 提示 CFT-1 绿茶可能通过抗炎作用保护肝脏作用。

鉴于氧化应激在高血脂症发生发展中的作用, 我们观察了 CFT-1 绿茶提取物对高血脂症大鼠血清和肝脏氧化应激的影响。本研究发现, HFD 组的大鼠血清和肝脏 MDA 含量显著增加, 而机体重要的抗氧化酶 CAT、GSH-PX 和 SOD 活性极显著下降, 表明高血脂症大鼠脂质过氧化水平增加和自由基清除能力下降。补充 CFT-1 绿茶提取物后, 大鼠血清和肝脏的 CAT、GSH-PX 和 SOD 活性均显著提高, MDA 含量显著降低, 效果优于普通茶叶。结果表明, CFT-1 绿茶提取物可能通过提高机体抗氧化活性, 降低体内自由基的水平, 改善高血脂症大鼠体内氧化—抗氧化失衡状态。

肝脏是动物体内脂质代谢的中心器官。PPAR- α 在诱导肝脏脂肪酸的氧化和调节脂质以及脂蛋白代谢方面起着至关重要的作用^[21]。CPT-1 α 是脂肪酸氧化过程中的一种限速酶^[22]。本研究中, CFT-1 绿茶提取物明显上调大鼠肝脏 PPAR- α 和 CPT-1 α 的表达, 与脂体比呈负相关, 提示其可能通过提高大鼠肝脏内与脂肪酸氧化相关的基因表达来增加产热和促进脂肪分解。Chu 等^[23] 研究表明, 茶叶可通过 PI3K/Akt 信号通路抑制 FAS 的表达, 提示茶叶极有可能是一种非常有效的脂肪酸合酶抑制剂。SREBP-1c 是控制肝脏 TC、FFA 和 TG 等脂质代谢相关酶的重要转录因子^[24]。FAS 是动物体内长链脂肪酸从头合成途径中的一步关键酶, 其 mRNA 的表达受 SREBP-1c 的调节。本实验结果发现, CFT-1 绿茶提取物干预后大鼠肝脏内 SREBP-1c, FAS 和 C/EBP- α mRNA 的表达显著降低, 可能与其抑制脂肪

生成和体重增长有关。LDLR 是调节血液 LDL-C 水平的细胞表面蛋白,在降低血液 LDL-C 水平中起着重要的作用^[22]。本研究中,CFT-1 绿茶提取物显著上调 LDLR 基因表达,与其减少血液中 TC 和 LDL-C 的含量结果相一致,提示 LDLR 介导的胆固醇载脂蛋白的内吞作用可能是其降低血清脂质水平的机制之一。具体的机制还需进一步研究。

综上所述,茶树新品系 CFT-1 绿茶提取物能明显降低高血脂症大鼠的体重和肝脾指数,调节血脂水平,改善肝功能,减轻高脂饮食诱导的肝脂肪变性,效果优于普通绿茶。其作用机制可能通过调控机体氧化应激状态和炎症状态,上调 PPAR α 、CPT-1a、LDLR 和 ACO 基因的表达,下调 ACC、SREBP-1c、FAS 和 C/EBP- α 基因的表达,抑制脂肪细胞分化途径,减少脂肪细胞聚集,进而改善机体脂代谢紊乱。因此,茶树新品系 CFT-1 绿茶可能成为预防高脂血症的保健茶。

参考文献

- Gerald FW, Fredrik K. Republished review: Triglycerides and atherogenic dyslipidaemia: extending treatment beyond statins in the high-risk cardiovascular patient. *Postgrad Med J*, 2011, 87: 776-782.
- Chen WW (陈伟伟), Gao RL (高润霖), Liu LS (刘力生), et al. Summary of the China cardiovascular disease report 2015. *Chin Circul J* (中国循环杂志), 2016, 31: 521-528.
- Jemil I, Abdelhedi O, Nasri R, et al. Hypolipidemic, antiobesity and cardioprotective effects of fermented protein hydrolysates from sardinelle (*Sardinella aurita*) in high-fat and fructose diet fed Wistar rats. *Life Sci*, 2016, 16: 30422-30424.
- Sun KY (孙康悦), Li Y (李颖), Li YQ (李悦琪), et al. Domestic research progress on cholesterol-lowering agents. *Northwest Pharm J* (西北药学杂志), 2017, 32: 122-124.
- Gao H, Long Y, Jiang X, et al. Beneficial effects of Yerba Mate tea (*Ilex paraguariensis*) on hyperlipidemia in high-fat-fed hamsters. *Exp Gerontol*, 2013, 48: 572-578.
- Wang QP, Peng CX, Gao B, et al. Influence of large molecular polymeric pigments isolated from fermented Zijuan tea on the activity of key enzymes involved in lipid metabolism in rat. *Exp Gerontol*, 2012, 47: 672-679.
- Muramatsu K, Fukuyo M, Hara Y. Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol-fed rats. *J Nutr Sci Vitaminol*, 1986, 32: 613-622.
- Friedrich M, Petzke K, Raederstorff D, et al. Acute effects of

- epigallocatechin gallate from green tea on oxidation and tissue incorporation of dietary lipids in mice fed a high-fat diet. *Int J Obesity*, 2005, 36: 735-743.
- Roghani M, Baluchnejadmojarad T. Hypoglycemic and hypolipidemic effect and antioxidant activity of chronic epigallocatechin-gallate in streptozotocin-diabetic rats. *Pathophysiology*, 2010, 17: 55-59.
- Imbe H, Sano H, Miyawaki M, et al. "Benifuuki" green tea, containing O-methylated EGCG, reduces serum low-density lipoprotein cholesterol and lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 ligands containing apolipoprotein B: A double-blind, placebo-controlled randomized trial. *J Funct Foods*, 2016, 25: 25-37.
- Tak E, Park GC, Kim SH, et al. Epigallocatechin-3-gallate protects against hepatic ischaemia-reperfusion injury by reducing oxidative stress and apoptotic cell death. *J Int Med Res*, 2016, 44: 1-15.
- Santamarina AB, Carvalho SM, Gomes LM, et al. Decaffeinated green tea extract rich in epigallocatechin-3-gallate prevents fatty liver disease by increased activities of mitochondrial respiratory chain complexes in diet-induced obesity mice. *J Nutr Biochem*, 2015, 26: 1348-1356.
- Li F (李锋), Wang XB (王贤波). Study on effects of EGC in tea on decreasing blood lipid of high-lipid rats. *J Zhejiang Agric Sci* (浙江农业科学), 2012, 1: 32-34.
- Cheng ZX (程祖铤), Xu M (许明), Zheng JG (郑金贵), et al. A preliminary report of excellent crop germplasm with rich functional ingredients. *Fujian Agric Sci Technol* (福建农业科技), 2016, 7: 83-84.
- Wang YF (王元凤), Jin ZY (金征宇). Composition of tea polysaccharides by different solvent extraction and their hypoglycemic effects. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2006, 18: 813-817.
- Furuyashiki T, Nagayasu H, Aoki Y, et al. Tea catechin suppresses adipocyte differentiation accompanied by down-regulation of PPAR γ 2 and C/EBP α in 3T3-L1 cells. *Biosci Biotech Biochem*, 2004, 68: 2353-2359.
- Lin JK, Lin SY. Mechanisms of hypolipidemic and anti-obesity effects of tea and tea polyphenols. *Mol Nutr Food Res*, 2006, 50: 211-217.
- Chen N, Bezzina R, Hinch E, et al. Green tea, black tea, and epigallocatechin modify body composition, improve glucose tolerance, and differentially alter metabolic gene expression in rats fed a high-fat diet. *Nutr Res*, 2009, 29: 784-793.
- Wang XB (王贤波), Zhou J (周健), Chen H (成浩), et al. Study on effects of epigallocatechin gallate in tea on decreasing blood lipid of high-lipid rats. *J Anhui Agric Sci* (安徽农业科学), 2011, 39: 10731-10732.