

推测 LXJR 方药可能通过上调 Bcl-2 的表达、抑制 Bax 表达, 进而防止线粒体功能障碍, 使 DA 能神经元变性丢失现象有所减轻, 从而发挥一定的神经保护作用。

参考文献:

- [1] Kountouras J, Zavos C, Polyzos SA, et al. Helicobacter pylori infection and Parkinson's disease: apoptosis as an underlying common contributor[J]. Eur J Neurol, 2012, 19(6): e56.
- [2] Mori T, Hayashi T, Su TP. Compromising σ -1 receptors at the endoplasmic reticulum render cytotoxicity to physiologically relevant concentrations of dopamine in a nuclear factor- κ B/Bcl-2-dependent mechanism: potential relevance to Parkinson's disease[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2012, 341(3): 663-671.
- [3] 文晓东, 王春玲, 雒晓东. 帕病 2 号方对帕金森病大鼠多巴胺能神经元的保护作用[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(3): 568-571.
- [4] 陈玲, 黎锦如, 刘长征, 等. 美多巴对帕金森病大鼠模型多巴胺转运体影响的自显影[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2003, 24(6): 564-567.
- [5] Paxinos G, Watson C. 大鼠脑立体定位图谱[M]. 第 3 版.北京: 人民卫生出版社, 2005: 18.
- [6] Sanchez Lglesias S, Rey P, Mendez Alvarez E, et al. Time course of brain oxidative damage caused by intrastriatal administration of 6-hydroxydopamine in a rat model of Parkinson's disease[J]. Neurochem Res, 2007, 32(1): 99-105.
- [7] Shin DI, Oh YJ. Tumor Necrosis Factor-Associated Protein 1 (TRAP1) is Released from the Mitochondria Following 6-hydroxydopamine Treatment[J]. Exp Neurobiol, 2014, 23(1): 65-76.
- [8] Mullin S, Schapira A. α -Synuclein and mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease[J]. Mol Neurobiol, 2013, 47(2): 587-597.
- [9] Wilding C, Bell K, Beck S, et al. α -Synuclein antibodies have neuroprotective potential on neuroretinal cells via proteins of the mitochondrial apoptosis pathway[J]. PLoS One, 2014, 9(3): e90737.
- [10] Venderova K, Park DS. Programmed cell death in Parkinson's disease[J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2012, 2(8): a009365.
- [11] Kim TW, Moon Y, Kim K, et al. Dissociation of progressive dopaminergic neuronal death and behavioral impairments by Bax deletion in a mouse model of Parkinson's diseases [J]. PLoS One, 2011; 6(10): e25346.
- [12] Kavitha M, Nataraj J, Essa MM, et al. Mangiferin attenuates MPTP induced dopaminergic neurodegeneration and improves motor impairment, redox balance and Bcl-2/Bax expression in experimental Parkinson's disease mice[J]. Chem Biol Interact, 2013, 206 (2): 239-247.
- [13] Xu CL, Wang QZ, Sun LM, et al. Asiaticoside: attenuation of neurotoxicity induced by MPTP in a rat model of Parkinsonism via maintaining redox balance and up-regulating the ratio of Bcl-2/Bax[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2012, 100(3): 413-418.

(编辑: 邓响潮)

嘌呤类生物碱 Theacrine 对 SIRT3 调节的脂肪酸代谢相关基因影响

徐 军¹, 翟羽佳², 王国恩², 杨 影³, 李怡芳², 栗原博², 秦书俭¹, 何蓉蓉²(1. 辽宁中医药大学, 辽宁沈阳 110032; 2. 暨南大学中药及天然药物研究所, 广东广州 510632; 3. 中国科学院大连化学物理研究所, 辽宁医学院附属第一医院转化医学研究中心, 辽宁锦州 121001)

摘要: **目的** 探讨嘌呤类生物碱 1, 3, 7, 9-四甲基尿酸(Theacrine)对 Sirtuin3(SIRT3)调节的脂肪酸代谢相关基因的影响。**方法** 对 3T3-L1 前脂肪细胞进行诱导分化, 并在诱导的第 5 天对细胞培养液中加入不同浓度的 Theacrine 孵育, 采用实时荧光 PCR(RT-PCR)方法测定细胞内 SIRT3 及脂肪酸代谢相关基因的表达。并对正常小鼠灌胃给予低、中、高剂量的 Theacrine(10, 20, 40 mg·kg⁻¹) 及 Caffeine(20 mg·kg⁻¹)1h 后, 采用 RT-PCR 测定小鼠肝脏组织、棕色脂肪组织中 SIRT3 及脂肪酸代谢相关基因 LCAD、ATP5c、UCP1、HTGL、FABP4 等基因的表达, 同时采用 Western Blotting 检测肝脏中 SIRT3 的蛋白表达。**结果** 与正常对照组比较, Theacrine 可以上调 3T3-L1 前脂肪细胞在分化过程中 SIRT3、LCAD、FABP4、LPL 的表达。低剂量的 Theacrine 可显著上调小鼠肝脏中 SIRT3 基因, 高剂量则表现为抑制作用, 与其蛋白表达结果一致。同时, 低、高剂量的

收稿日期: 2014-03-07

作者简介: 徐军, 男, 教授, 研究方向: 中西医结合基础。Email: xujun681101@163.com。通讯作者: 秦书俭, 男, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 中西医结合基础。Email: 15941628672@139.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81102485); 广东省自然科学基金项目(20120011316); 辽宁省科技厅项目(201202129)。

Theacrine 分别显著提升及抑制小鼠肝脏中 LCAD、FABP4、HTGL、ATP5c 等基因表达。此外, 低剂量的 Theacrine 对小鼠棕色脂肪中 SIRT3、LCAD 等基因表达的影响不大, 但显著上调了 UCP1 的基因表达。结论 一定剂量的 Theacrine 能调节相关基因影响脂肪酸代谢, 该作用可能与其上调 SIRT3 的表达相关。

关键词: 嘌呤类生物碱; 脂肪酸代谢; Theacrine; SIRT3

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)04-0409-06

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.04.006

Effects of Theacrine on Fatty Acid Metabolism Related Gene Regulated by SIRT3

XU Jun¹, ZHAI Yujia², WANG Guo'en², YANG Ying³, LI Yifang², HIROSHI Kurihara², QIN Shujian¹, HE Rongrong² (1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032 Liaoning, China; 2. Institute of Traditional Chinese Medicine and Natural Products, Jinan University, Guangzhou 510632 Guangdong, China; 3. Joint Center for Translational Medicine of the First Affiliated Hospital of Liaoning Medical University and Dalian Chemical Physics Institute of Chinese Academy of Sciences, Jinzhou 121001 Liaoning, China)

Abstract: Objective To observe the effects of 1, 3, 7, 9-tetramethyl uric acid(theacrine) on fatty acid metabolism related gene regulated by Sirtuin 3 (SIRT3). **Methods** On the fifth day of the induction of 3T3-L1 preadipocyte differentiation, various concentrations of theacrine were added into the culturing solution. RT-PCR was used to detect SIRT3 and fatty acid metabolism related genes expression in 3T3-L1 cells during differentiation. In in-vivo experiment, normal mice were given intragastric administration of 10, 20, 40 mg/kg of theacrine, 20 mg/kg of caffeine, respectively. One hour after later, gene expression levels of LCAD, ATP5c, UCP1, HTGL and FABP4 in mice hepatic tissue and brown adipose tissue were investigated by RT-PCR, and SIRT3 protein expression in the hepatic tissue was also detected by using Western blotting method. **Results** In vitro experiment showed that theacrine could activate SIRT3. Compared with the blank control group, theacrine could up-regulate SIRT3, LCAD, FABP4 and LPL gene expression levels obviously during the differentiation of 3T3-L1 preadipocyte. Theacrine(10 mg/kg) could up-regulate SIRT3 gene expression in the liver, but 40 mg/kg of theacrine showed inhibition on SIRT3, the results being in accordance with those obtained by Western blotting method. Low-dose theacrine(10 and 40 mg/kg) could up-regulate hepatic LCAD, FABP4, HTGL and ATP5c mRNA expression to various degrees, while high-dose theacrine(40 mg/kg) could down-regulate their levels. Moreover, low-dose theacrine had no obvious effects on SIRT3 and LCAD gene expression levels in the brown adipose tissue, but could obviously up-regulate UCP1 mRNA expression. **Conclusion** Theacrine at certain dosage has an effect on fatty acid metabolism through regulating fatty acid metabolism related gene, and the mechanism may be related with the up-regulation of SIRT3 expression.

Keywords: Purine alkaloid; Fat metabolism; Theacrine; SIRT3

至今为止, 人们在促进中性脂肪分解中并未筛选到理想的降脂和减肥药物, 其原因是脂解的游离脂肪酸不能得到有效利用会再度循环合成甘油三酯, 结果形成一种无效循环而减弱药物效果^[1]。而促进脂肪酸进行线粒体脂肪酸氧化, 才是促进脂肪彻底分解的有效方法^[2]。天然嘌呤类生物碱 1, 3, 7, 9-四甲基尿酸(Theacrine)来源于中国云南省一种比较罕见的茶类植物苦茶(*Camellia assamica* var. *kucha*)。基于这类化合物具有促进脂解活性和 Sirtuin 3(SIRT3)在线粒体脂肪酸氧化上显示的重要调节作用, 本实验拟研究嘌呤生物碱 Theacrine 对 SIRT3 以及脂质代谢

相关基因表达的影响。

1 材料与方法

1.1 细胞株、品及试剂 3T3-L1 前脂肪细胞株, 来源于美国 ATCC 细胞库。Theacrine 是从植物苦茶(*Camellia assamica* var. *kucha*)中分离纯化得到的单体化合物, 纯度大于 98%(HPLC 分析); 1-甲基-3-异丁基-黄嘌呤(IBMx, 批号: 1108325), 上海 AL-ADDIN 公司; 地塞米松(Dex, 批号: D1756), 美国 Sigma 公司; 高糖 DMEM 培养基(批号: 984716), 美国 GIBCO 公司; 胎牛血清(TBD21HY), 天津灏洋公

司; BCA 蛋白含量检测试剂盒 (批号: 23277), 赛默飞公司; IP 裂解液 (批号: P0013), 碧云天公司; 兔抗 Sirtuin 3 (SIRT3, 批号: BM062)、山羊抗兔 IgG (批号: 54905), 联科生物有限公司; Trizol (批号: 13820), 上海 INVITROGEN 公司; 逆转录试剂盒、RT-PCR 反应试剂盒, 北京 TIANGEN 公司。

1.2 动物 昆明种小鼠, SPF 级, 雄性, 体质量 18~22 g, 购自广东省医学实验动物中心, 动物许可证号: SCXK(粤)2008-0002。

1.3 仪器 台式高速冷冻离心机, 美国 Sigma 公司; 电泳槽、电转槽, 日本 Mupid 公司; 电泳仪, 北京市六一仪器厂; ECL 试剂盒, 联科生物有限公司; 组织匀浆机, 德国 Stanfen IKA Labortechnik 公司; 2720 型 PCR 反应仪, 美国 Appliedbiosystems 公司; 4.6.2 版 Quantity One 图像分析软件。

1.4 细胞培养及处理 3T3-L1 前脂肪细胞以含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液, 37 °C, 5%CO₂ 条件下培养, 每 2 d 换液 1 次。细胞融合达到 90% 左右时, 以 0.25% 的胰蛋白酶消化细胞, 接种于培养皿, 细胞贴壁后, 吸除培养液, 以含 0.5 mmol·L⁻¹ 的 IBMX, 1 μmol·L⁻¹ Dex 以及 10 μg·mL⁻¹ 胰岛素的 DMEM 培养液培养 2d, 之后再以含 10 μg·mL⁻¹ 胰岛素的 DMEM 培养液培养 2d, 随后以含有 Theacrine (2, 0.5, 0.125, 0.03125 mmol/L) 的 DMEM 培养液继续培养 6 d, 空白对照组直接加入 DMEM 培养基。以 Trizol 提取总 RNA, 采用 RT-PCR 法逆转录为 cDNA, PCR 扩增检测线粒体酯酰辅酶 A 脱氢酶 (LCAD)、SIRT3、脂肪酸结合蛋白 4 (FABP4)、ATP 合酶亚基 (ATP5c) 及脂蛋白脂肪酶 (LPL) 基因表达 (引物序列见表 1)。取反应产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳分离, 以目的条带与 18S 的灰度比值进行半定量分析。

1.5 分组及给药 小鼠适应性喂养 1 周后用于实验。按体质量随机分为正常对照组, Caffeine 对照组 (Caffeine, 20 mg·kg⁻¹), Theacrine 低、中、高剂量组 (10, 20, 40 mg·kg⁻¹), 共 5 组, 每组 8 只, 灌胃给药, 正常对照组给予等容量蒸馏水, 给药 1 h 后, 乙醚麻醉处死动物, 取肝脏及棕色脂肪组织置于 -80 °C 冰箱备用。小鼠饲养温度 23 °C, 照明时间从 7:00~19:00。

1.6 对肝组织中 LCAD、SIRT3、FABP4、ATP5c 及肝脂肪酶 (HTGL) 基因表达的影响 取新鲜肝组织

表 1 RT-PCR 中引物序列

Table1 Sequences of the primers used for RT-PCR

Gene Name	Sequence	Product Size/bp
ATP5c	(F) 5' - TCAAGTCTGTTATCTCCTAC -3'	142
	(R) 5' - GAGGTTGCCAGATTCTAC -3'	
FABP4	(F) 5' - AAGACAGCTCCTCTCGAAGGTT -3'	180
	(R) 5' - TGACCAAATCCCAATTACGC -3'	
UCP1	(F) 5' -TACACGGGACCTACAATGCT- 3'	307
	(R) 5' -TCGCACAGCTTGCTACGCTT- 3'	
LPL	(F) 5' - CTAAGTGCACCTTCAACC - 3'	320
	(R) 5' - CAGACTTCTGTACGC - 3'	
HTGL	(F) 5' - TGGACGGGAAGAACAAG - 3'	326
	(R) 5' - GGAGTCAATGAAGAGGTGC - 3'	
LCAD	(F) 5' - TCAACAGCAGTTACTTGG - 3'	220
	(R) 5' - GACAATATCTGAGTGGAG - 3'	
SIRT3	(F) 5' - GCTGCTTCTGCGGCTCTATAC - 3'	130
	(R) 5' - GAAGGACCTTCGACAGACCGT - 3'	
18s	(F) 5' - GGGAGAGCGGGTAAGAGA -3'	241
	(R) 5' - ACAGGACTAGCCGGAACA -3'	

60 mg, 以 Trizol 提取总 RNA, 先逆转录为 cDNA, PCR 扩增检测 LCAD、SIRT3、FABP4、ATP5c 及 HTGL 引物特异性。取反应产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳分离, 以目的条带与 18S 的灰度比值进行半定量分析。

1.7 棕色脂肪组织中 LCAD、SIRT3、FABP4、ATP5c 及解偶联蛋白 UCP1 基因表达的影响 方法同 1.6 项下。

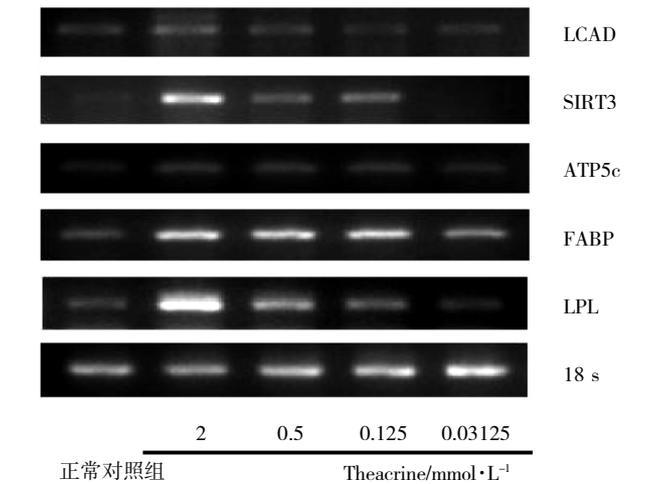
1.8 肝脏中 SIRT3 蛋白表达检测 上清液采用 BCA 蛋白含量检测试剂盒测定蛋白浓度。约 6 mg·mL⁻¹ 的蛋白样品以 4:1 加入 5 × 蛋白上样缓冲液, 混合后置于沸水浴 5 min 进行蛋白变性。制备 10% 的聚丙烯酰胺凝胶 (SDS-PAGE) 后, 对蛋白含量调成等量的样品进行电泳。用电转印法将电泳条带转移到聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜上, 并对膜上非特异性抗原封闭 2 h 以上。SIRT3 (1:3000) 抗体室温孵育 4 h, 用 TBST 洗涤 3 次, 再与山羊抗兔 IgG (1:2000) 室温孵育 1.5 h, 用 TBST 洗涤 3 次, 最后用 ECL 试剂盒进行化学发光显影, 用 Quantity One 图像分析软件分析。

1.9 统计学处理方法 数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学分析, 利用 ANOVA 和 Dunnett's 进行统计学检验。

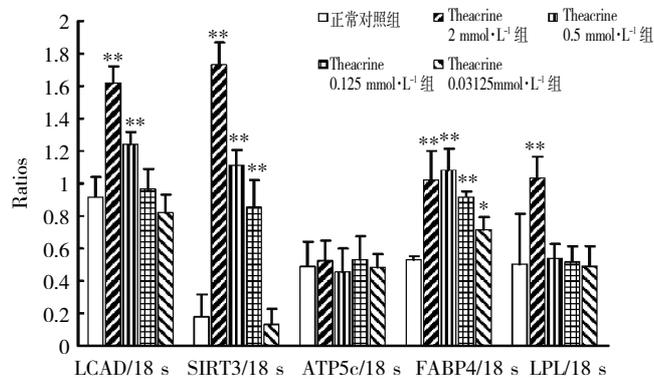
2 结果

2.1 Theacrine 对诱导分化过程中的 3T3-L1 前脂肪细胞 SIRT3、LCAD、ATP5c、FABP4、LPL 基因

表达的影响 与正常对照组比较, 0.5 mmol·L⁻¹ 与 2 mmol·L⁻¹ 的 Theacrine 可以明显上调细胞中 LCAD 的 mRNA 表达($P<0.01$); 0.125~2 mmol·L⁻¹ 的 Theacrine 可以显著提高细胞中 SIRT3 mRNA 表达水平 ($P<0.01$); 0.03125~2 mmol·L⁻¹ 的 Theacrine 显著上调该细胞内 FABP4 的 mRNA 表达($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 2 mmol·L⁻¹ 的 Theacrine 能提高细胞中 LPL 的 mRNA 表达($P<0.01$)。几种 Theacrine 的孵育浓度对细胞内 ATP5c 的 mRNA 表达均无显著影响, 上述结果见图 1。



A. Agarose gel electrophoresis of RT-PCR amplification in the 3T3-L1 cells



注: 与正常对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

B. Ratios of mRNA expressions

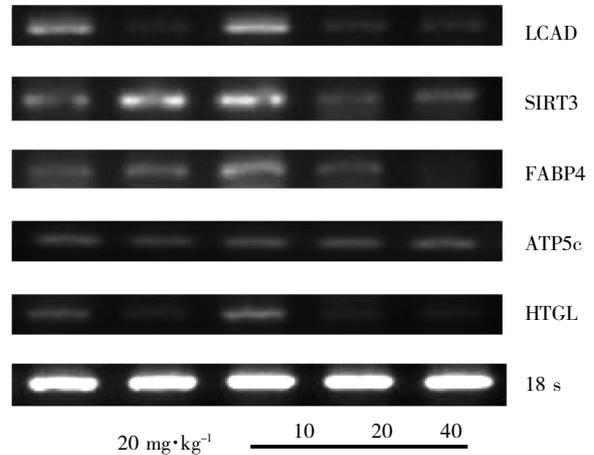
图 1 Theacrine 对诱导分化过程中的 3T3-L1 细胞 SIRT3、LCAD、ATP5c、FABP4、LPL 基因表达的影响

Figure 1 Effect of Theacrine on LCAD, SIRT3, ATP5c, FABP4 and LPL mRNA expression in 3T3-L1 cells

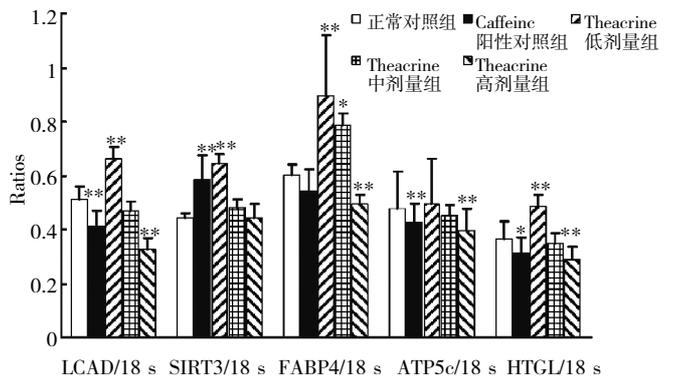
2.2 Theacrine 对小鼠肝脏中 SIRT3、LCAD、FABP4、ATP5c、HTGL 基因表达的影响

与正常对照组比较, 低剂量组 Theacrine(10 mg·kg⁻¹)可以显著提高小鼠肝脏中 SIRT3、LCAD、FABP4 和 HTGL 的 mRNA 表达 ($P<0.01$), 而高剂量组 Theacrine (40 mg·kg⁻¹) 却

显著地降低了肝脏中 LCAD、FABP4、ATP5c 及 HTGL 的 mRNA 表达 ($P<0.01$)。中剂量 Theacrine (20 mg·kg⁻¹)对肝脏中 FABP4 的 mRNA 表达产生显著的影响($P<0.05$), 见图 2。



A. Agarose gel electrophoresis of RT-PCR amplification in the brown adipose tissue (BAT)



注: 与正常对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

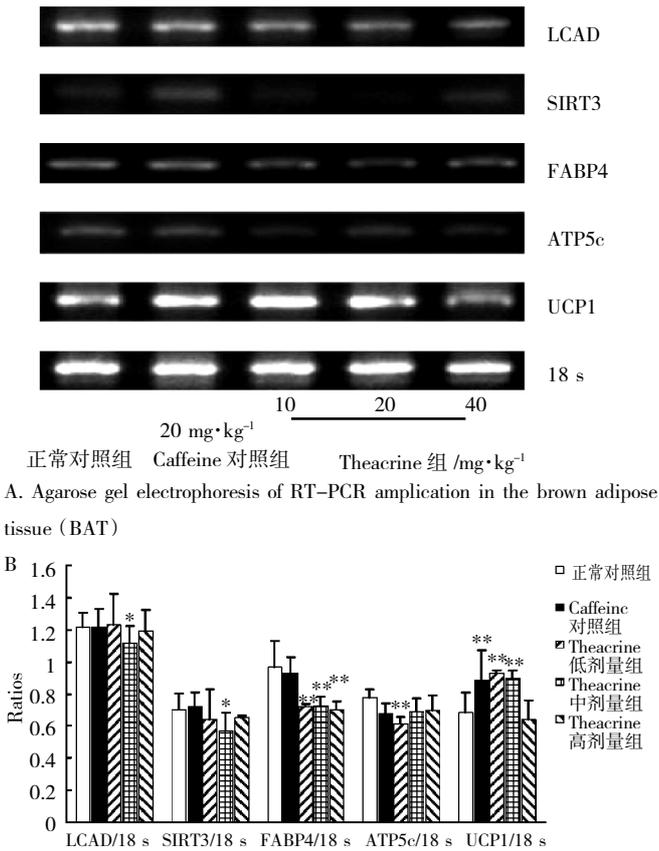
B. Ratios of mRNA expressions

图 2 Theacrine 对小鼠肝脏中 LCAD、SIRT3、FABP4、ATP5c、HTGL 基因表达的影响

Figure 2 Effect of Theacrine on LCAD, SIRT3, FABP4, ATP5c and HTGL mRNA expression in the liver of mice

2.3 Theacrine 对小鼠棕色脂肪中 LCAD、SIRT3、FABP4、ATP5c、UCP1 基因表达的影响

与正常对照组比较, 中剂量组的 Theacrine 可以显著下调小鼠棕色脂肪中 LCAD 和 SIRT3 的 mRNA 表达 ($P<0.05$)。3 种剂量 Theacrine 均可显著下调 FABP4 的 mRNA 表达($P<0.01$)。低、中剂量组 Theacrine 可以显著上调小鼠棕色脂肪组织中 UCP1 的 mRNA 表达($P<0.01$)。低剂量组 Theacrine 可以显著抑制 ATP5c 的 mRNA 表达($P<0.01$), 见图 3。



注：与正常对照组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

B. Ratios of mRNA expressions

图 3 Theacrine 对小鼠棕色脂肪中 LCAD、SIRT3、FABP4、ATP5c、UCP1 基因表达的影响

Figure 3 Effect of Theacrine on LCAD, SIRT3, FABP4, ATP5c and UCP1 mRNA expression in the brown adipose tissue of mice

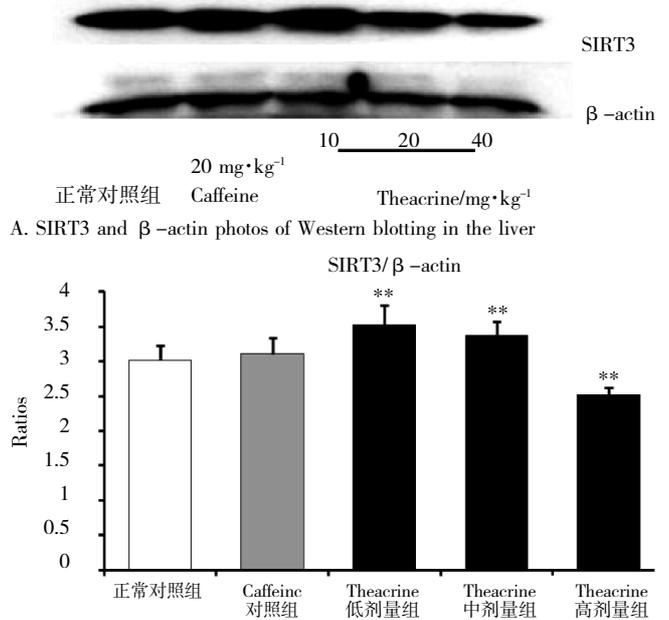
2.4 Theacrine 对小鼠肝脏中 SIRT3 蛋白表达的影响

与正常对照组比较，低、中剂量组 Theacrine 可以显著上调小鼠肝脏中 SIRT3 的蛋白表达 ($P < 0.01$)，而高剂量组 Theacrine 对 SIRT3 的蛋白表达却有着显著的抑制作用 ($P < 0.01$)。该结果提示了低、中剂量的 Theacrine 可能具有激活 SIRT3 的作用，见图 4。

3 讨论

一些嘌呤类生物碱因能够促进脂肪酸进行 β 氧化及增强氧化磷酸化，同时增强机体组织脂肪燃烧，达到减肥和降血脂的作用^[3]。从苦茶中得到的 Theacrine 属嘌呤类生物碱，为苦茶的主要活性成分之一，鉴于这类化合物在促进脂解活性和 SIRT3 在线粒体脂肪酸氧化上的调节作用，本研究旨在探讨天然嘌呤类生物碱 Theacrine 对脂肪代谢的影响，并初步分析其可能的机制。

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD) 依赖性高度保守



注：与正常对照组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

B. Ratios of SIRT3/β-actin protein expression

图 4 Theacrine 对小鼠肝脏中 SIRT3 蛋白表达的影响

Figure 4 Effect of Theacrine on SIRT3 protein expression in the liver of mice

蛋白家族 Sirtuins(SIRT3)的生物活性与机体组织能量代谢等生理功能密切相关^[4]，其中，SIRT3 是线粒体中最主要的去乙酰化酶之一，直接参与线粒体脂肪酸氧化过程^[5]。LCAD 是酰基 CoA 脱氢酶类中的一种，在脂肪酸的代谢中有着重要的作用。研究表明^[6]，SIRT3 能够通过其去乙酰化作用调节 LCAD 的蛋白活性，进而促进脂肪酸氧化，减少甘油三酯和脂肪酸氧化中间产物蓄积。本实验显示， $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 Theacrine 可以显著上调小鼠肝脏中 SIRT3 的 mRNA 及蛋白表达，并上调肝脏中 LCAD 的 mRNA 表达，表明 Theacrine 可能通过上调 SIRT3，以增加 LCAD 的表达来促进细胞内脂肪酸氧化代谢。

肝和棕色脂肪是脂肪代谢旺盛的器官组织。脂肪动员时，中性脂肪通过脂肪酶的作用，分解成为脂肪酸及甘油，释放入血的脂肪酸能与血浆中的清蛋白结合，再运输至相关组织进行脂肪酸氧化产能。HTGL 与 LPL 同属脂酶家族，可以催化甘油三酯 (triglyceride, TG) 分解为甘油和脂肪酸，以供组织氧化利用或贮存^[7-8]。脂肪酸结合蛋白 (Fatty acid-binding proteins, FABPs) 是细胞内脂质结合蛋白的成员，是脂肪酸代谢的关键蛋白之一。它与肥胖、脂肪肝、糖尿病等密切相关^[9]。本研究显示，低剂量的 Theacrine 可以上调肝脏中 HTGL 的基因表达，而高

剂量则会抑制其表达,作用结果与 FABP4 一致。该结果提示了一定剂量的 Theacrine 对脂肪酸代谢起到促进作用。此外,本研究结果还表明,低、中剂量的 Theacrine 能上调 UCP1 的 mRNA 表达。解偶联蛋白 UCPs 是一种跨膜转运蛋白,在非震颤产热过程中起着重要的作用。许多报道表明 SIRT3 能通过调节 PPAR γ 共激活因子 (PGC1 α) 间接调节 UCP1,进而影响非震颤产热而对能量的产生进行调节^[10-11]。但结果显示 10 mg/kg 的 Theacrine 对棕色脂肪中 SIRT3 的基因表达影响不大。以上结果说明正常小鼠一次给予 Theacrine 1 h 能上调 UCP1 的表达进而介导棕色脂肪产热增强脂肪酸代谢,但与棕色脂肪中 SIRT3 的变化无关,这可能与 Theacrine 的给药的时间有关;结果也说明了 Theacrine 上调 UCP1 的作用可能是多途径的。

综上所述,Theacrine 能调节相关基因影响脂肪酸代谢,该作用可能与它上调 SIRT3 的表达相关。该研究结果能为今后采用一些转基因及肥胖动物模型的研究提供有益的理论基础和实验依据。

参考文献:

- [1] Acheson KJ, Gremaud G, Meirim I, et al. Metabolic effects of caffeine in humans: lipid oxidation or futile cycling? [J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2004, 79(1): 40-46.
- [2] Schreurs M, Kuipers F, Van DLF. Regulatory enzymes of mitochondrial β -oxidation as targets for treatment of the metabolic syndrome [J]. *Obesity Reviews*, 2010, 11(5): 380-388.
- [3] Duncan MJ, Oxford SW. The effect of caffeine ingestion on mood state and bench press performance to failure [J]. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 2011, 25(1): 178.
- [4] Verdin E, Hirschey MD, Finley LWS, et al. Sirtuin regulation of mitochondria: energy production, apoptosis, and signaling [J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2010, 35(12): 669-675.
- [5] Kong X, Wang R, Xue Y, et al. Sirtuin 3, a new target of PGC-1 α , plays an important role in the suppression of ROS and mitochondrial biogenesis [J]. *PLoS One*, 2010, 5(7): e11707.
- [6] Hirschey MD, Shimazu T, Goetzman E, et al. SIRT3 regulates mitochondrial fatty-acid oxidation by reversible enzyme deacetylation [J]. *Nature*, 2010, 464(7285): 121-125.
- [7] Yokota T, Nagashima M, Ghazizadeh M, et al. Increased effect of fucoidan on lipoprotein lipase secretion in adipocytes [J]. *Life Sciences*, 2009, 84(15-16): 523-529.
- [8] Phillips C, Owens D, Collins P, et al. Low density lipoprotein non-esterified fatty acids and lipoprotein lipase in diabetes [J]. *Atherosclerosis*, 2005, 181(1): 109-114.
- [9] Maeda K, Cao H, Kono K, et al. Adipocyte/macrophage fatty acid binding proteins control integrated metabolic responses in obesity and diabetes [J]. *Cell Metabolism*, 2005, 1(2): 107-119.
- [10] Shi T, Wang F, Stieren E, et al. SIRT3, a mitochondrial sirtuin deacetylase, regulates mitochondrial function and thermogenesis in brown adipocytes [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280(14): 13560.
- [11] Lombard DB, Alt FW, Cheng HL, et al. Mammalian Sir2 homolog SIRT3 regulates global mitochondrial lysine acetylation [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2007, 27(24): 8807-8814.

(编辑: 宋威)

基于胃实寒证的 10 味温中散寒药温热药性与温通作用研究

柳俊辉, 秦华珍, 刘颖, 余腾飞, 黄燕琼, 李文强, 谭喜梅, 翁铭钻, 张兴燊, 王勤(广西中医药大学, 广西南宁 530001)

摘要: 目的 观察干姜、肉桂、丁香、吴茱萸、小茴香、高良姜、荜茇、荜澄茄、花椒、胡椒 10 味温中散寒中药对胃实寒证大鼠甲状腺机能及肠系膜微循环的影响, 研究其温热药性与温通血脉的作用, 揭示温中散寒药的性效本质与科学内涵。方法 实验设空白对照组、模型对照组、附子对照组、10 个受试药物组和 2 个寒性药对照组, 予以灌服寒凉药知母冰水提液复制大鼠胃实寒证模型。模型复制成功后分别灌胃给药, 连续 3 次, 分别进行血清促甲状腺激素 (TSH)、甲状腺素 T₃ (T₃)、甲状腺素 T₄ (T₄) 含量检测与肠系膜微循环观察。结果

收稿日期: 2014-03-11

作者简介: 柳俊辉, 男, 博士研究生, 研究方向: 中药理论与中药药效学研究。Email: 451947085@qq.com。通讯作者: 秦华珍, 女, 教授, 研究方向: 中药理论与中药药效学研究。Email: qinhuazhen@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金 (81060348)。