研究论文

咖啡因影响肠道甜味感受和机体葡萄糖代谢平衡

郭会林， 秦玉梅， 蔡雯雯， 查丽玲， 袁飞飞， 邓少平*

（浙江工商大学 食品与生物工程学院，浙江 杭州 310012）

摘要：用质量浓度为 0.3 g/L 的咖啡因溶液对 6 周大 ICR 小鼠进行 21 d 的长期慢性暴露，暴露完成后采用实体显微镜观察、western-blotting、ELISA 及血糖测定等技术，分别检测了咖啡因对小鼠肠道小肠绒毛形态，甜味感受和味觉信号转导蛋白质表达，胰岛素和 GLP-1、血糖耐受性的影响。与对照组相比，咖啡因长期刺激增加了小鼠小肠绒毛高度，降低了隐窝深度，从而显著增加了绒毛绒腺比；咖啡因长期暴露增加了小鼠肠道中甜味受体蛋白质 T1R2 和 T1R3 的表达，降低了味觉信号传导分子 α-gustducin 表达，然而对 SNAP25 的表达无显著影响；此外，咖啡因长期暴露显著增加了小鼠肠道对 Insulin 和 GLP-1 的释放敏感度，因此也显著性增强了小鼠的血糖耐受性。结果表明，咖啡因暴露可以改变小鼠小肠内的甜味感受通路和对机体血糖动态平衡产生影响。

关键词：咖啡因；小肠绒毛；甜味受体；胰岛素；激素 GLP-1；血糖

中图分类号：Q 493　**文献标志码**：A　**文章编号**：1673—1689(2014)12—1256—08

Caffeine Affects Intestinal Sweet Perception and Glucose Homeostasis

GUO Huilin, *QIN Yumei*, *CAI Wenwen*, *ZHA Liling*, *YUAN Feifei*, *DENG Shaoping**

(College of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310035, China)

Abstract: Postnatal 6 week ICR mice were exposed to 0.3 g/L caffeine solution for 21 days. After exposure, the influence of caffeine on intestinal villi morphology, expression of sweet receptors and taste signal transduction protein, release of insulin and GLP-1, glucose tolerance of mice were detected respectively by using the methods of stereomicroscope observation, western-blotting, ELIASA and blood glucose measurement technology. Compared with the control, the height of intestinal villi increased, the depth of crypt of intestinal villi decreased, thereby the ratio of villi and crypt of mice after long-term chronic caffeine exposure. Besides, long-term bitter taste exposure of mice increased the expression of TIR2 and TIR3, but decreased the expression of taste signal transduction molecule α-gustducin, however had no remarkable effect on the expression of SNAP 25. In addition, long-term caffeine exposure significantly increased the release sensitivity of insulin and GLP-1 of mice intestine, so notably increased the blood glucose tolerance of mice. The results indicated that caffeine exposure could alter the sweet perception pathway in intestine, and affect the

收稿日期：2014-03-18

基金项目：国家自然科学基金项目(31271820)。

* **通信作者**：邓少平(1956—)，男，浙江杭州人，教授，博士研究生导师，主要从事质能感官和原细胞方面的研究。

E-mail：spdeng@zjgsu.edu.cn

blood glucose homeostasis of mice.

Keywords: caffeine, intestinal villi, sweet receptor, insulin, GLP-1, blood glucose

近年来，伴随着科技发展和生活水平的提高，人类饮食结构也发生了巨大变化，高糖高脂食物在人类食物结构中所占的比例越来越大。这种饮食结构的改变致使严重威胁人类健康的糖尿病、肥胖等代谢紊乱问题变得日益普遍和严重。据报道，目前全世界超过 1.5 亿人患有糖尿病，预计到 2015 年全球糖尿病患者将增加 30%，到 2025 年将增加一倍达到 3 亿人[1]。因此肥胖、糖尿病等代谢相关疾病的解决日益引起各领域科学家的关注。而咖啡因是从茶叶、咖啡果等天然植物中提取出来的一种甲基黄嘌呤类生物碱，是咖啡、茶叶、软饮料、食物及一些药物的重要组成或添加成分[2-4]。饮料中的咖啡因能够在摄入后快速并完全被胃肠道所吸收且在 30~60 min 内在血清中达到峰值[5]。动物学研究表明，在高糖和高脂膳食的情况下咖啡因具有降低血糖和抑制内脏脂肪组织增加的作用[6]，因此常被用来控制糖尿病和控制体质量增加等代谢相关疾病。众所周知，能量代谢相关疾病的产生是能量储存平衡被打破的结果，因此糖尿病、肥胖等疾病的发病原因除了能量消耗之外还与能量的摄入和消化吸收息息相关。然而，研究者对咖啡因在控制糖尿病和调节体质量作用机理的研究主要集中在其促进脂肪分解、增加机体产热这一能量消耗方面[7-8]，而对咖啡因在能量摄入和能量消化吸收方面的影响作用研究较少。味觉系统作为动物食物摄取与拒绝的决定性因素，在动物食物选择和摄入方面发挥着极其重要的作用。作者所在实验室前期研究结果表明，咖啡因长期摄入可以通过影响口腔中味觉感受系统来调节机体对食物的摄入[9]。近年来，随着对味觉感受系统研究的深入，越来越多的研究表明各种甜味受体[10-12]和甜味传导信号分子[13-14]不仅局限于口腔中而且存在于胃肠道[15-16]，且胃肠道中的甜味感受与葡萄糖的代谢平衡相关。因此，作者在实验室前期研究结果的基础上提出新的假设：咖啡因长期暴露除了影响口腔中的味觉感受系统，从而影响食物的摄入之外，还可能会通过影响肠道中的甜味感受系统来影响葡萄糖的代谢平衡。本研究中以 ICR 小鼠为动物模型，采用实体显微镜观察、Western-blotting、Elisa、试纸条血糖测定等方法，探究了咖啡因长期暴露对成年小鼠肠道甜味感受通路所介导的血糖代谢平衡的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 6 周大 ICR 雄性小鼠（购自浙江省动物医学科学院）饲养于动物房小鼠笼中。动物房温度控制在(23±2) ℃，湿度控制在 50%，室内照明按照白天 12 h(8:00—20:00)夜晚 12 h(20:00—8:00)日夜循环交替轮回。整个实验过程，小鼠自由饮水和摄取标准小鼠育成饲料(购自浙江省动物医学科学院)，符合国家实验动物饲养和使用规定。

1.1.2 试剂 将 300 mg 的咖啡因（购自于生工生物工程(上海)有限公司）溶解于去离子水中，配制成最终质量浓度为 300 mg/L 的咖啡因溶液。小鼠暴露溶液保持在室温，且每 2 d 更换一次新鲜配制的溶液。

1.2 试验方法

1.2.1 慢性咖啡因暴露 6 周大雄性 ICR 小鼠根据体质量随机分为对照组和咖啡因暴露组。咖啡因暴露组小鼠以 300 mg/L 的咖啡因溶液作为唯一溶液来源，而空白组小鼠以水作为唯一溶液来源，分别进行 21 d 慢性长期刺激。

1.2.2 小肠绒毛形态观察

21 d 刺激完成之后，小鼠 12 h 禁食，氮气致死。根据标准解剖学方法，将小鼠小肠取出。取十二指肠、空肠、回肠各 1.5 cm 左右浸入质量分数 4%的多聚甲醛溶液中，立即将小肠纵向剖开展平，室温下在多聚甲醛溶液中固定 2 h。固定完成之后用 PBS 缓冲液(pH 7.2±0.1)清洗各段小肠组织，每次清洗 5 min。最后，将清洗好的小肠组织浸入到质量分数 30%蔗糖溶液中 4 ℃过夜并保存。

将小肠组织从质量分数 30%的蔗糖溶液中取出，切取 5 cm 左右的小肠组织置于加有冰冻切片包埋剂的样品盘中进行包埋处理。之后将包埋有小肠组织的样品盘安装到样品台上进行冰冻切片，切片厚度为 15 μm，连续收集 60 张左右的切片置于

涂有粘片剂的载玻片上。将切好的组织切片进行HE染色,之后用中性树胶封片。用实体显微镜软件测定小肠绒毛长度和隐窝深度,记录实验结果。

1.2.3 小肠组织甜味受体蛋白质和信号分子表达量测定 小鼠禁食12 h后氮气致死,按照标准解剖方法解剖出小鼠完整小肠。取出小鼠十二指肠、空肠和回肠各1~2 cm,称质量,然后按照每20 mg组织加入200 μL蛋白裂解液(购自碧云天公司)的比例匀浆提取各段小肠组织的全蛋白质。充分裂解后,匀浆在4 ℃条件下13 000*g*离心5 min,取上清液。对所提取蛋白质进行SDS-PAGE分离目的蛋白质,将目的蛋白质在60 V转膜2 h的条件下转移到聚偏二氟乙烯膜(购自BIO-RAD公司)。分别对各目的蛋白质孵育其对应的一抗和用辣根过氧化物酶标记的相应二抗,然后参考说明用化学发光试剂(购自BIO-RAD公司)对各目的蛋白质进行显色获取目的蛋白质条带。用Image J软件测定目的蛋白质的表达量并利用β-actin的表达水平对各目的蛋白质进行归一化处理。

1.2.4 GLP-1及Insulin浓度测定 小鼠禁食12 h后,对小鼠进行葡萄糖溶液灌胃,每千克体质量葡萄糖灌胃量为5 g/kg。在灌胃前0 min,灌胃后10、20、40、120 min对小鼠进行眼眶后静脉丛取血,血液收集后4 ℃下2 000~3 000*g*离心15 min,取上清液保存于-70 ℃备用。最后,用ELISA试剂盒(购自Millipore公司)对上清液中的GLP-1和Insulin进行检测,具体方法参考试剂盒说明书。

1.2.5 血糖耐受性测定 小鼠禁食12 h后,对小鼠进行葡萄糖灌胃,每千克体质量葡萄糖灌胃量为2 g/kg,之后进行血糖测定。测定时间点设为灌胃前0 min,灌胃后15、30、45、60、90、120 min。取血方式采用尾静脉取血,测定方式采用血糖测定仪对血糖进行测定。

1.2.6 小鼠体质量测定 在暴露的开始(即暴露第0天)及暴露过程中每隔4 d记录小鼠体质量。暴露完成之后计算空白组及咖啡因组小鼠体质量的增加量。

1.3 数据分析

使用Oringin 8.5对数据进行统计分析,统计结果采用平均值±标准偏差(Mean±SEM)的方式表示。空白组和咖啡因暴露组之间的差异采用ANVOA分析,显著性差异定义为$P<0.05$。

2 结果与分析

2.1 咖啡因暴露对小肠绒毛形态的影响

如图1所示,无论空白组还是实验组小鼠,在不同小肠区段小肠绒毛的高度不同,从十二指肠、空肠到回肠小肠绒毛高度依次降低。

与空白组相比,小鼠经过咖啡因长期暴露之后,十二指肠、空肠和回肠的小肠绒毛高度都有所增加,且不同区段高度增加的程度不同。其中十二指肠和空肠小肠绒毛高度的增加都达到了显著的水平,而回肠小肠绒毛高度有所增加但并未达到显著水平。

与小肠绒毛高度区段变化不同,无论空白组还是实验组小鼠,小肠的隐窝深度都是在十二指肠的部位最深,回肠次之,空肠最浅。与空白组小鼠相比,小鼠经过咖啡因暴露之后隐窝深度都有所降低,且这种变化在十二指肠和回肠中都达到了显著水平,但是在空肠中并未达到显著水平。

由于咖啡因暴露对小鼠小肠绒毛高度和隐窝深度的综合作用的结果,导致小肠各区段的绒腺比都有所增加,且在十二指肠、空肠和回肠区段都达到极其显著的水平。

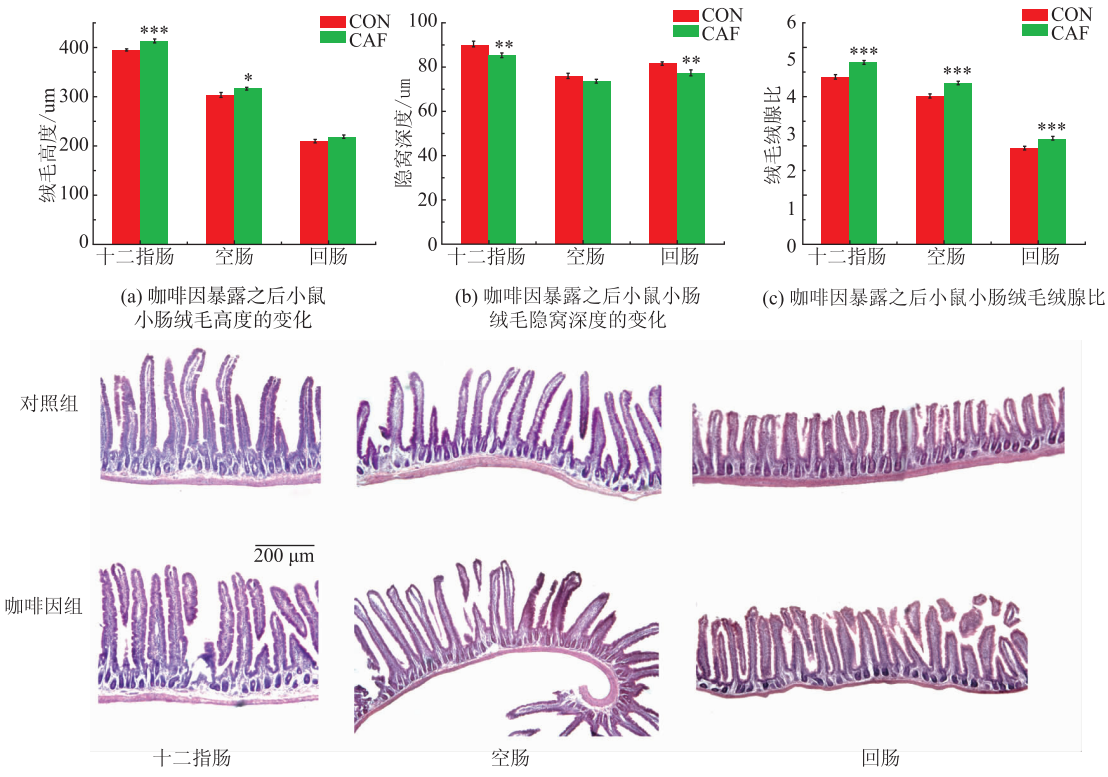
2.2 咖啡因暴露对小肠内甜味感受蛋白质表达的影响

咖啡因暴露之后,小鼠肠道内各种甜味感受相关蛋白质的表达情况各不相同。

由图2可知,咖啡因长期暴露之后,小鼠十二指肠内甜味受体蛋白质T1R2、T1R3的表达量都有所增加,且T1R2表达量的增加达到了显著水平。甜味信号转导因子α-gutsducin、SNAP25的表达量都有所降低,其中α-gutsducin表达丰度的降低达到显著水平。

与十二指肠中各甜味感受蛋白质的变化情况相似,小鼠经过咖啡因长期暴露之后,甜味受体蛋白质T1R2、T1R3在空肠中的表达量都有所增加,且两者都达到显著水平。而甜味信号转导因子α-gutsducin、SNAP25的表达量都有所降低,但降低程度并不显著。

在回肠中,咖啡因暴露组小鼠的甜味受体蛋白质T1R2、T1R3和味觉信号分子SNAP25的表达量都有所增加,且T1R3表达量的增加达到显著水平,而α-gutsducin的表达量有所降低但并不显著。



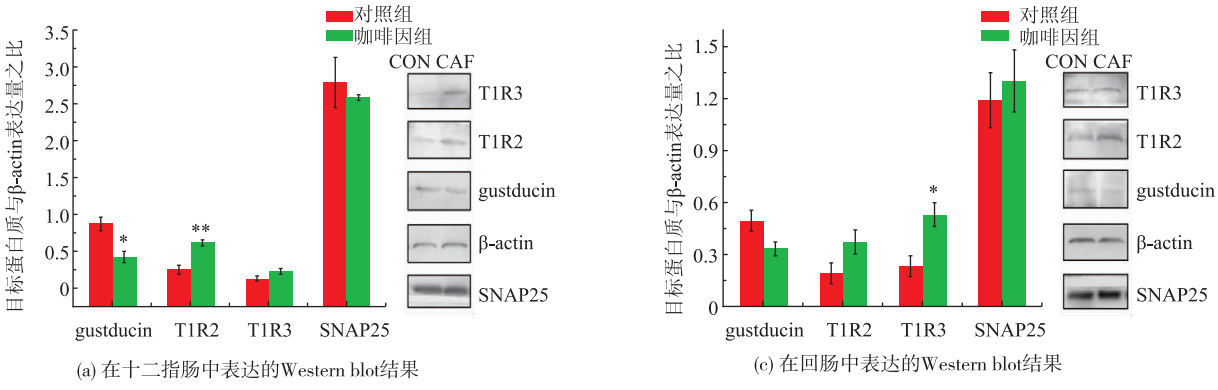
(a) 咖啡因暴露之后小鼠小肠绒毛高度的变化　(b) 咖啡因暴露之后小鼠小肠绒毛隐窝深度的变化　(c) 咖啡因暴露之后小鼠小肠绒毛绒腺比

(d) 小肠不同区段绒毛形态

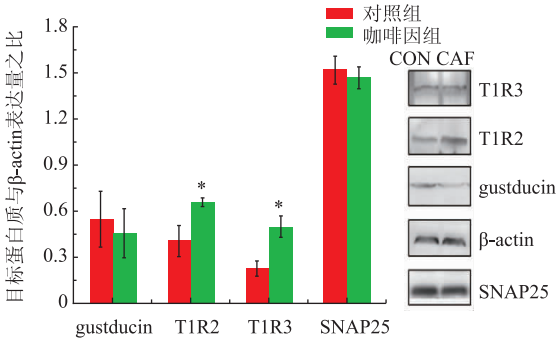
CON：对照；CAF：咖啡因；每组 5 只小鼠。*，** 和 *** 分别表示显著性为 $P<0.05$，$P<0.01$，$P<0.001$，ANOVO。标尺=200 μm。

图 1　咖啡因长期暴露对小鼠小肠不同部位绒毛形态的影响

Fig. 1　Effects of long-term caffeine exposure on intestinal villus morphology in different intestinal segments of mice



(a) 在十二指肠中表达的Western blot结果　(c) 在回肠中表达的Western blot结果



(b) 在空肠中表达的Western blot结果

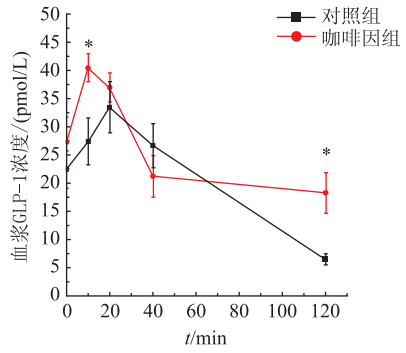
CON：空白；CAF：咖啡因；每组 5 只小鼠。α-gustducin，T1R2，T1R3 和 SNAP25 的表达结果用内参 β-actin 的表达水平进行归一化。* 和 ** 分别表示显著性为 $P<0.05$，$P<0.01$，ANOVO。

图 2　咖啡因暴露对小鼠肠道中甜味感受相关蛋白质表达的影响

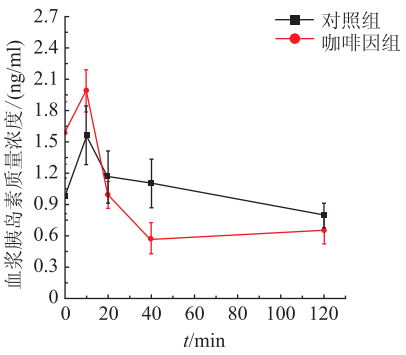
Fig. 2　Modification of sweet taste related protein expression in the intestines of mice after chronic caffeine exposure

2.3 咖啡因长期暴露对肠道激素 GLP-1、胰岛素分泌的影响

对小鼠进行葡萄糖灌胃之后,咖啡因暴露组小鼠能对葡萄糖的摄入做出更加迅速和强烈的反应。由图 3 可知,葡萄糖灌胃之后,咖啡因组小鼠血浆中的促胰岛素分泌激素 GLP-1 迅速升高,在 10 min 后达到峰值,然后缓慢下降并趋于稳定。而对照组小鼠在灌胃之后血浆中的 GLP-1 浓度上升比较缓慢,在 20 min 后才达到峰值,且峰值水平低于咖啡因暴露组小鼠,之后缓慢下降趋于稳定。对整个过程而言,咖啡因暴露组小鼠血浆中的 GLP-1 浓度普遍高于空白组小鼠,在灌胃操作 10 min 后达到显著水平, 且在 2 h 之后咖啡因暴露组小鼠血浆 GLP-1 浓度仍然显著高于空白组。



(a) 葡萄糖加载之后120 min内小鼠GLP-1的分泌情况



(b) 葡萄糖加载之后120 min内小鼠胰岛素分泌情况

每组各 6~7 只小鼠。* 表示显著性为 $P<0.05$,ANOVA

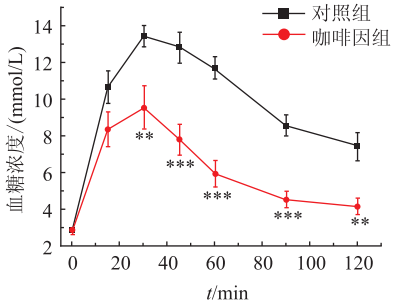
图 3 咖啡因长期暴露对小鼠胰岛素、GLP-1 释放的影响

Fig. 3 Effects of caffeine long-term exposure on insulin and GLP-1 secretion of the mice

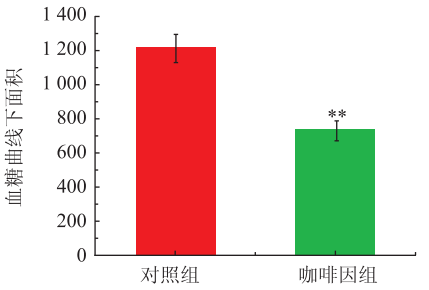
与 GLP-1 的响应相同,灌胃之后,咖啡因暴露组小鼠表现出更敏感的胰岛素分泌反应。葡萄糖灌胃之后,空白组和咖啡因暴露组小鼠血浆中的胰岛素质量浓度迅速升高, 都在 10 min 后达到峰值,之后缓慢下降并趋于稳定。但是,咖啡因暴露组小鼠灌胃 10 min 后血浆胰岛素峰值质量浓度高于空白组,且之后下降比较迅速,在 20 min 之后下降到低于空白组,并在灌胃后 20 min 到 2 h 的时间段内始终低于空白组。

2.4 咖啡因长期暴露对血糖代谢的影响

葡萄糖灌胃后,血浆葡萄糖耐受性检测结果如图 4 所示,咖啡因长期暴露可以增强小鼠对葡萄糖的耐受性。灌胃之后,咖啡因组和空白组小鼠血浆葡萄糖变化趋势相似,均在 30 min 内浓度上升并达到峰值,之后缓慢下降并在 2 h 后趋于平衡状态。然而,在整个变化过程中,咖啡因组小鼠血浆葡萄糖浓度始终低于空白组小鼠,并且在峰值处饱和随后下降的过程中显著低于空白组。



(a) 鼠葡萄糖加载之后120 min内的血糖变化情况



(b) 空白组小鼠和咖啡因暴露组小鼠血糖曲线下面积

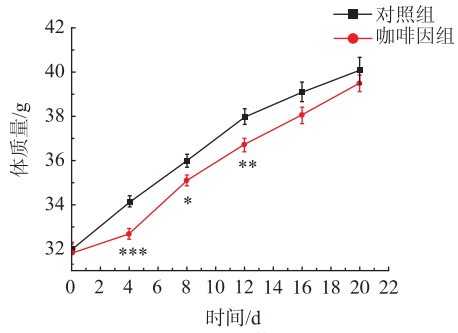
$n=10$。** 和 *** 分别表示显著性为 $P<0.01$ 和 $P<0.001$,ANVOA。

图 4 咖啡因暴露对小鼠血糖耐受性的影响

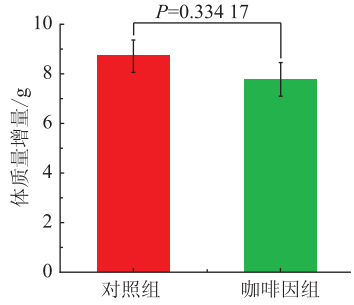
Fig. 4 Effects of chronic caffeine exposure on blood glucose with OGTT

2.5 咖啡因长期暴露对小鼠体质量的影响

咖啡因对小鼠体质量的影响如图 5 所示。从图 5(a)中可以看出,暴露过程中咖啡因组小鼠体质量始终低于空白组小鼠, 且在暴露的第 4、8、12 天达到了显著水平。图 5(b)表明,21 d 暴露之后,咖啡因组小鼠的体质量增加量低于空白组小鼠,尽管并未达到显著水平。



(a) 咖啡因暴露过程中小鼠体质量变化情况



(b) 空白组小鼠和咖啡因暴露组小鼠体质量增加量

n=10。*,** 和 *** 分别表示显著性为 P<0.05,P<0.01 和 P<0.001,ANVOA。

图 5　咖啡因暴露对小鼠体质量的影响

Fig. 5　Effects caffeine exposure on bodyweight of mice

3 讨　论

肥胖及肥胖相关疾病，如高血压、高胆固醇、糖尿病等，与人类健康息息相关。近年来伴随肥胖疾病的日益增多，从天然产物中寻找具有减肥作用的活性物质成为人们关注的焦点。咖啡因是目前普遍认为具有明显减肥作用的并已广泛应用于饮料中的活性物质。研究结果证明，咖啡因在控制体质量和糖尿病方面的作用是由于其对腺苷受体的抑制作用，因为成熟脂肪组织中含有腺苷受体 A1，这种受体可以抑制脂肪分解，咖啡因则通过抑制腺苷受体 A1 的活性来达到促进脂肪分解的作用[7-8]。但研究者对其减肥机理的研究尚不充分，仅仅是局限于其对能量的消耗方面。然而除了增加能量消耗的作用之外，作者所在实验室前期研究结果证实，长期摄入咖啡因能够通过影响口腔中的味觉感受系统来影响机体对味觉物质的敏感程度和偏好程度，进而会影响机体对能量的摄入[9]。近年来随研究的深入越来越多地发现，同口腔味觉感受相似，在肠道中同样存在能够感受味觉的内分泌细胞，被称为味觉样细胞，在肠道中同样发挥着味觉感知和调节能量代谢平衡的功能[10-11,15-18]。

肠道是动物主要的消化吸收器官，而肠道中小肠绒毛是吸收营养物质的关键部位。小肠绒毛内有大量毛细血管，小肠绒毛壁和毛细血管壁很薄，都只是由一层上皮细胞构成，这种结构特点使得营养物质很容易被吸收进入血液。如上所述，在肠道同样存在味觉感受，肠道味觉样细胞的表面表达有甜味受体及甜味信号转导分子，肠道就是通过这种甜味感受来感知营养物质的进入并使机体做出相应的代谢吸收反应。Sutherland 等人的研究结果表明，甜味感受相关蛋白质主要表达于小肠绒毛的中间和顶端部位[19]，因此小肠绒毛形态的改变必然会影响到甜味感受相关蛋白质的表达。本研究结果显示，长期的咖啡因暴露增加了小肠绒毛的长度，降低了隐窝的深度，综合结果就是增加了小鼠小肠绒毛的绒腺比，即增加了小肠绒毛中间和顶端部位所占的比例。因此，可以说明用咖啡因对小鼠进行长期慢性暴露之后可以通过改变小肠绒毛的形态来影响肠道中甜味受体的表达，进而影响到肠道的甜味感受。

甜味受体蛋白质 T1R2 和 T1R3 属于 C 型 G 蛋白质偶联受体(GPCRs)第 3 亚种 T1Rs 家族的两个成员。T1R2 和 T1R3 共表达形成的异质二聚体是人工甜味剂的功能性受体和糖类甜味剂的高亲和力受体[20-21]，而 T1R3 单独表达形成的同源二聚体是糖类甜味剂的低亲和力受体[21-22]。甜味感受的产生则起始于甜味物质与甜味受体蛋白质的结合。Damak 及 Zhao 等人利用基因敲出的手段证实 *Tas1r2* 和 *Tas1r3* 基因缺失小鼠对各种甜味剂的行为学和神经学反应表现出了显著的降低，而 *Tas1r2/Tas1r3* 双基因敲除小鼠对甜味剂的味觉完全消失了，从而证实了甜味受体 T1R2/T1R3 在甜味感受中的重要作用[22-23]。甜味感受信号的产生依赖于甜味物质与甜味受体的结合，而产生的甜味信号传递到大脑中枢神经系统的过程则需要下游味觉转导信号分子的参与。α-gustducin 是味觉受体 G 蛋白质的 α 亚基，是一种重要的味觉信号分子，参与甜味、苦味和鲜味的味觉传导。α-gustducin 敲除鼠对苦味化合物的厌恶感明显减弱，对甜味物质、鲜味物质和苦味物质的反应性均显著降低[24-25]。SNAP25 是一种分子量为 25 kDa 的与突触前膜相关的特定神经元蛋白质，存在于轴突和轴突末端[26-27]，参与神经递质释放

过程中的膜融合和胞吐作用[28],对甜味感受信号传递过程中神经递质的释放具有调节作用。在本研究中，咖啡因长期暴露增加了甜味受体蛋白质 T1R2 和 T1R3 在肠道中的表达，这一作用可能会增强肠道甜味感受能力进而促进机体对摄入的甜味物质做出更加强烈的反应。然而,咖啡因暴露之后却降低了甜味信号转导因子 a-gustducin 在肠道中的表达,a-gustducin 作为甜味感受的下游信号转导分子，这一作用理论上会降低小鼠甜味感受能力,与上述咖啡因对甜味受体表达量上调的作用相反。然而,a-gustducin 作为味觉感受信号分子除了在甜味感受中发挥作用之外,在苦味和鲜味感受同样发挥传递味觉感受的作用,因此咖啡因对味觉信号分子 a-gustducin 表达水平的改变也有可能并不影响到甜味感受而是影响到苦味和鲜味感受。因此,除了通过影响甜味受体蛋白质 T1R2/T1R3,咖啡因是否也可以通过影响味觉信号分子 a-gustducin 来影响肠道甜味感受？这有待深入探索研究。此外,与空白组相比，咖啡因组小鼠中 SNAP25 的表达量并无显著变化,说明咖啡因长期暴露可能并不影响小鼠肠道中甜味感受神经信号的传递。

GLP-1 是肠道激素中的主要激素,它由分散于整个肠道内的分泌细胞 L 型细胞所分泌。动物体内存在调节 GLP-1 分泌的甜味受体通路,甜味物质与甜味受体结合后可以促进肠内分泌细胞分泌 GLP-1。Jang 等与 Margolskee 等人[15,29]利用甜味阻断和基因敲除的手段分别从细胞和动物两个层面证明甜味物质通过甜味受体通路诱导 L 细胞分泌 GLP-1,进而通过调节胰岛素的分泌来调节能量摄入。肠道所分泌的 GLP-1 既可以通过神经信号传递到大脑中枢神经系统产生饱腹感,也可以通过血液循环作用于远端靶位点胰岛直接作用于胰岛 β 细胞来影响胰岛素的分泌,因此它对摄食后葡萄糖代谢平衡和食欲控制具有重要作用。本研究结果显示,长期咖啡因刺激可以增强小鼠 GLP-1 和胰岛素的分泌水平及分泌敏感性。另外,葡萄糖受性实验中,咖啡因暴露组小鼠相对于空白组小鼠葡萄糖耐受性显著有所增强,因此 OGTT 实验结果也证实了上述结论。咖啡因对体内葡萄糖动态平衡的调节最表观的标志体现在体质量上,本研究结果表明,咖啡因暴露可以抑制小鼠体质量的增加,这一结果有力证实了咖啡因对小鼠体内葡萄糖动态平衡的作用。

4 结 语

综上,本实验研究结果表明,在肠道中由甜味受体、甜味感受信号分子、饱腹感激素、胰岛素和体内葡萄糖代谢共同构成一个完整的甜味感受通路,咖啡因长期暴露后小鼠肠道中的甜味受体和甜味感受信号分子的表达量、饱腹感激素和胰岛素的释放水平,以及葡萄糖耐受性均发生变化。这一结论为咖啡因在控制糖尿病和体质量方面的作用机理研究提供了新的理论依据和研究思路。然而,咖啡因本身也是一种中枢神经刺激物,并具有苦味。因此,咖啡因对肠道中甜味感受的影响是通过其对神经系统的刺激作用所产生？还是通过其自身苦味影响到小鼠的甜味感受而产生？这一问题有待进一步探索。

参考文献:

[1] The E. Circulation research thematic synopsis diabetes and obesity[J]. **Circ Res**,2013,113(7):e62-e75.

[2] Liu Y,Xu D,Feng J,et al. Fetal rat metabonome alteration by prenatal caffeine ingestion probably due to the increased circulatory glucocorticoid level and altered peripheral glucose and lipid metabolic pathways [J]. **Toxicology and Applied Pharmacology**,2012,262(2):205-216.

[3] Fredholm B B,Battig K,Holmen J,et al. Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use[J]. **Pharmacological Reviews**,1999,51(1):83-133.

[4] Smith A. Effects of caffeine on human behavior[J]. **Food and Chemical Toxicology**,2002,40(9):1243-1255.

[5] Arnaud M J. Pharmacokinetics and metabolism of natural methylxanthines in animal and man [J]. **Handbook of Experimental Pharmacology**,2011,200(200):33-91.

[6] Conde S V,da Silva T N,Gonzalez C,et al. Chronic caffeine intake decreases circulating catecholamines and prevents diet-induced insulin resistance and hypertension in rats[J]. **British Journal of Nutrition**,2012,107(1):86-95.

[7] Jacobson K A. Introduction to adenosine receptors as therapeutic targets [J]. **Handbook of Experimental Pharmacology**,2009,193:1-24.

[8] Gharibi B, Abraham A A, Ham J, et al. Contrasting effects of A1 and A2b adenosine receptors on adipogenesis [J]. **International Journal of Obesity**, 2012, 36(3): 397–406.

[9] 熊艺姣，秦玉梅，郭会林，等. 长期绿茶暴露改变小鼠菌状味蕾基础特征及味觉传导蛋白 α–gustducin 和 PLCβ2 的表达[J]. 中国细胞生物学学报，2013，35(5)：595–601.
XIONG Yijiao, QIN Yumei, GUO Huilin, et al. Effects of chronic administration of green tea on anatomical characters and the expression of taste transduction protein α–gustducin and PLCβ2 in fungiform taste buds of the mice[J]. **Chinese Journal of Cell Biology**, 2013, 35(5): 595–601.(in Chinese)

[10] Dyer J, Salmon ksh, Zibrik L, et al. Expression of sweet taste receptors of the T1R family in the intestinal tract and enteroendocrine cells[J]. **Biochemical Society Transactions**, 2005, 33(1): 302–305.

[11] Hass N, Schwarzenbacher K, Breer H. T1R3 is expressed in brush cells and ghrelin–producing cells of murine stomach [J]. **Cell and Tissue Research**, 2010, 339(3): 493–504.

[12] Iwatsuki K, Nomura M, Shibata A, et al. Generation and characterization of T1R2–LacZ knock–in mouse [J]. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 2010, 402(3): 495–499.

[13] Hofer D, Puschel B, Drenckhahn D. Taste receptor–like cells in the rat gut identified by expression of alpha–gustducin [J]. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 1996, 93(13): 6631–6634.

[14] Rossler P, Kroner C, Freitag J, et al. Identification of a phospholipase C beta subtype in rat taste cells [J]. **European Journal of Cell Biology**, 1998, 77(3): 253–261.

[15] Margolskee R F, Dyer J, Kokrashvili Z, et al. T1R3 and gustducin in gut sense sugars to regulate expression of Na+–glucose cotransporter 1 [J]. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 2007, 104(38): 15075–15080.

[16] Batchelor D J, AL–Rammahi M, Moran A W, et al. Sodium/glucose cotransporter–1, sweet receptor, and disaccharidase expression in the intestine of the domestic dog and cat: two species of different dietary habit [J]. **American Journal of Physiology–Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, 2011, 300(1): R67–R75.

[17] Wu S V, Rozengurt N, Yang M, et al. Expression of bitter taste receptors of the T2R family in the gastrointestinal tract and enteroendocrine STC–1 cells[J]. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 2002, 99(4): 2392–2397.

[18] Sternini C. Taste receptors in the gastrointestinal tract IV: Functional implications of bitter taste receptors in gastrointestinal chemosensing[J]. **American Journal of Physiology–Gastrointestinal and Liver Physiology**, 2007, 292(2): G457–461.

[19] Sutherland K, Young R L, Cooper N J, et al. Phenotypic characterization of taste cells of the mouse small intestine [J]. **American Journal of Physiology: Gastrointestinal and Liver Physiology**, 2007, 292(5): G1420–1428.

[20] Li X, Staszewski L, Xu H, et al. Human receptors for sweet and umami taste[J]. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 2002, 99(7): 4692–4696.

[21] Nelson G, Hoon M A, Chandrashekar J, et al. Mammalian sweet taste receptors[J]. **Cell**, 2001, 106(3): 381–390.

[22] Zhao G Q, Zhang Y, Hoon M A, et al. The receptors for mammalian sweet and umami taste[J]. **Cell**, 2003, 115(3): 255–266.

[23] Damak S, Rong M, Yasumatsu K, et al. Detection of sweet and umami taste in the absence of taste receptor T1r3 [J]. **Science**, 2003, 301(5634): 850–853.

[24] Caicedo A, Pereira E, Margolskee R F, et al. Role of the G–protein subunit alpha–gustducin in taste cell responses to bitter stimuli[J]. **J Neurosci**, 2003, 23(30): 99447–99452.

[25] He W, Yasumatsu K, Varadarajan V, et al. Umami taste responses are mediated by α–transducin and α–gustducin [J]. **J Neurosci**, 2004, 24(35): 7674–7680.

[26] Branks P L, Wilson M C. Patterns of gene expression in the murine brain revealed by in situ hybridization of brain–specific mRNAs[J]. **Molecular Brain Research**, 1986, 387(1): 1–16.

[27] Oyler G A, Higgins G A, Hart R A, et al. The identification of a novel synaptosomal–associated protein, SNAP–25, differentially expressed by neuronal subpopulations[J]. **J Cell Biol**, 1989, 109(6): 3039–3052.

[28] Yang R, Crowley H H, Rock M E, et al. Taste cells with synapses in rat circumvallate papillae display SNAP–25–like immunoreactivity[J]. **J Comp Neurol**, 2000, 424(2): 205–215.

[29] Jang H J, Kokrashvili Z, Theodorakis M J, et al. Gut–expressed gustducin and taste receptors regulate secretion of glucagon–like peptide–1[J]. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 2007, 104(38): 15069.