(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 101098623 B
(45)授权公告日 2012.10.10

(21)申请号 200580046215.6

(22)申请日 2005.11.09

(30)优先权数据
60/626,162 2004.11.09 US

(85)PCT申请进入国家阶段日
2007.07.09

(86)PCT申请的申请数据
PCT/US2005/040515 2005.11.09

(87)PCT申请的公布数据
WO2006/053010 EN 2006.05.18

(73)专利权人 希尔氏宠物营养品公司
地址 美国堪萨斯州

(72)发明人 S·C·齐克尔 I·佩陶-洛宾逊
K·J·韦德金德

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 刘冬 梁谋

(51)Int.Cl.
A61K 31/385(2006.01)
A61K 31/355(2006.01)
A61K 31/375(2006.01)
A61K 31/205(2006.01)
A61P 39/06(2006.01)

(56)对比文件

刘晓冬,马淑梅,郭英,苏旭,隋志仁. 维生素E及其与维生素C联用对老龄小鼠肝脏丙二醛和细胞增殖的影响. 白求恩医科大学学报第25卷第5期. 1999, 第25卷(第5期),606-607.

李艳平,马冠生. 蔬菜、水果的营养与健康. 中国食物与营养 第2期. 2002,(第2期),43-45.

向德栋. 维生素E抗肝纤维化研究进展. 重庆医学第29卷 第1期. 2000, 第29卷(第1期),79-80.

审查员 周宇

权利要求书 2 页 说明书 34 页 附图 5 页

(54)发明名称

抗氧化剂用于基因调节的用途

(57)摘要

本发明提供(1)通过将含抗氧化剂组合物给予衰老哺乳动物来调节其基因表达的方法和(2)能调节这种哺乳动物的基因表达和/或减少氧化应激的含抗氧化剂组合物。

CN 101098623 B

1. 包含一种或多种抗氧化剂的宠物食品组合物在制备药物中的用途，所述药物用于治疗或预防衰老伴侣动物中的认知或身体功能衰退，其中：

所述抗氧化剂包括维生素 E 和维生素 C；

所述宠物食品组合物中的所述抗氧化剂以有效调节一种或多种基因表达的总量存在；和

其中所述基因选自细胞色素 P450 家族基因、载脂蛋白家族基因、调节血液动力学特性的基因、热激蛋白基因、调节 DNA 损伤的基因、调节细胞周期途径的基因、促炎基因、嗜铬分泌的基因、调节基因转录的基因、NF-kB 基因、免疫功能的基因、编码糖酵解酶或线粒体氧化酶的基因和编码核糖体蛋白质的基因。

2. 权利要求 1 的用途，其中所述组合物还包含一种或多种选自以下的抗氧化剂：硫辛酸、虾青素、β－胡萝卜素、L- 肉碱、辅酶 Q10、谷胱甘肽、叶黄素、番茄红素、硒、N- 乙酰半胱氨酸、大豆异黄酮、S- 腺苷甲硫氨酸、牛磺酸、生育三烯醇、菠菜渣、番茄渣、柑橘浆、葡萄渣、胡萝卜粒、茎椰菜、绿茶、玉米、麸粗粉、米糠、藻类、姜黄色素、硒和它们的混合物。

3. 权利要求 1 的用途，其中所述哺乳动物是动物。

4. 权利要求 1 的用途，其中所述哺乳动物是犬科动物。

5. 权利要求 1 的用途，其中所述哺乳动物是猫科动物。

6. 权利要求 1 的用途，其中所述给予包括将所述组合物饲喂给所述哺乳动物。

7. 权利要求 1 的用途，其中所述组合物包含一种或多种选自维生素 E 和维生素 C 的抗氧化剂。

8. 权利要求 1 的用途，其中所述组合物包含一种或多种选自维生素 E、维生素 C、L- 肉碱和硫辛酸的抗氧化剂。

9. 权利要求 1 的用途，其中所述组合物包含一种或多种选自以下的抗氧化剂：维生素 E、维生素 C、硫辛酸、虾青素、β－胡萝卜素、L- 肉碱、辅酶 Q10、谷胱甘肽、叶黄素、番茄红素、硒、N- 乙酰半胱氨酸、大豆异黄酮、S- 腺苷甲硫氨酸、牛磺酸、生育三烯醇和它们的混合物。

10. 权利要求 1 的用途，其中所述组合物包含一种或多种选自以下的抗氧化剂：菠菜渣、番茄渣、柑橘浆、葡萄渣、胡萝卜粒、茎椰菜、绿茶、玉米麸粗粉、米糠、藻类、姜黄色素、硒和它们的混合物。

11. 权利要求 1 的用途，其中所述组合物包含一种或多种选自以下的抗氧化剂：胡萝卜粒、茎椰菜、绿茶、玉米麸粗粉、米糠、藻类、姜黄色素、硒和它们的混合物。

12. 权利要求 1 的用途，其中所述组合物包含一种或多种选自以下的抗氧化剂：维生素 E、维生素 C、水果、蔬菜、类胡萝卜素、类黄酮、多酚和它们的混合物。

13. 权利要求 1 的用途，其中所述一种或多种基因包括细胞色素 P450 家族基因。

14. 权利要求 1 的用途，其中所述一种或多种基因包括载脂蛋白家族基因。

15. 权利要求 1 的用途，其中所述一种或多种基因包括编码一种或多种调节血液动力学特性的产物的基因。

16. 权利要求 1 的用途，其中所述一种或多种基因包括热激蛋白家族基因。

17. 权利要求 1 的用途，其中所述一种或多种基因包括编码一种或多种指示 DNA 损伤的产物的基因。

18. 权利要求 1 的用途，其中所述一种或多种基因包括编码一种或多种调节细胞周期

的产物的基因。

19. 权利要求 1 的用途，其中所述一种或多种基因包括促炎基因。

20. 权利要求 1 的用途，其中所述一种或多种基因包括编码一种或多种与嗜铬分泌途径有关的蛋白质的基因。

21. 权利要求 1 的用途，其中所述一种或多种基因包括编码一种或多种调节基因转录的产物的基因。

22. 权利要求 1 的用途，其中所述一种或多种基因包括 NF-KB 途径基因。

23. 权利要求 1 的用途，其中所述一种或多种基因包括编码一种或多种涉及免疫功能的产物的基因。

24. 权利要求 1 的用途，其中所述一种或多种基因包括编码一种或多种糖酵解酶的基因。

25. 权利要求 1 的用途，其中所述一种或多种基因包括编码一种或多种线粒体氧化途径蛋白质的基因。

26. 权利要求 1 的用途，其中所述一种或多种基因包括编码一种或多种核糖体蛋白质的基因。

27. 权利要求 1 的用途，其中对一种或多种基因的表达的调节在肾上腺中实现。

28. 权利要求 1 的用途，其中对一种或多种基因的表达的调节在肝脏中实现。

29. 权利要求 1 的用途，其中对一种或多种基因的表达的调节在大脑皮层中实现。

30. 权利要求 1 的用途，其中对一种或多种基因的表达的调节在肾上腺、肝脏和大脑皮层之一者或多者中实现。

抗氧化剂用于基因调节的用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2004年11月9日提交的美国临时申请系列号60/626,162的优先权，该临时申请的公开内容通过引用结合到本文中。

[0003] 发明领域

[0004] 本发明主要涉及调节衰老哺乳动物中的基因表达的方法，更具体的说涉及通过给予含抗氧化剂组合物调节衰老哺乳动物中的基因表达的方法。本发明还主要涉及调节衰老哺乳动物中的基因表达和/或减少这些哺乳动物的氧化应激的含抗氧化剂组合物。

[0005] 发明背景

[0006] 活细胞在其正常机能过程中不断地产生自由基。自由基是高度反应性物质，能够与许多生物分子不可逆地反应，从而造成生物系统的渐进衰退。自由基通常由身体产生的抗氧化酶和衍自营养物的抗氧化剂中和。自由基引起的氧化应激是与老化有关的长期组织退化的主要因素。

[0007] 虽然对抗氧化剂及其在哺乳动物中的功能已知之甚多，但仍不断需要替代性的含抗氧化剂组合物和有关这些组合物对哺乳动物特别是对衰老哺乳动物的作用的知识。

[0008] 发明概述

[0009] 本发明提供调节衰老哺乳动物中的基因表达的方法。所述方法包括给予所述哺乳动物含抗氧化剂组合物（即包含一种或多种抗氧化剂和任选的另外成分的组合物）。组合物中的一种或多种抗氧化剂的总量足以实现对衰老哺乳动物一种或多种组织中一种或多种基因的表达的调节。

[0010] 在各个实施方案中，衰老哺乳动物是非人哺乳动物、伴侣动物、犬科动物或猫科动物。

[0011] 在一些实施方案中，一种或多种其表达受到调节的基因各自独立是细胞色素P450家族基因、载脂蛋白家族基因、编码一种或多种调节血液动力学特性的产物的基因、热激蛋白家族基因、编码一种或多种指示DNA损伤的产物的基因、编码一种或多种调节细胞周期的产物的基因、促炎基因、编码一种或多种与嗜铬分泌途径有关的蛋白质的基因、编码一种或多种调节基因转录的产物的基因、NF-KB途径基因、编码一种或多种涉及免疫功能的产物的基因、编码一种或多种糖酵解酶的基因、编码一种或多种线粒体氧化途径蛋白质的基因或编码一种或多种核糖体蛋白质的基因。

[0012] 在各个实施方案中，一种或多种其表达受到调节的基因包括细胞色素P450家族基因；载脂蛋白家族基因；编码一种或多种调节血液动力学特性的产物的基因；热激蛋白家族基因；编码一种或多种指示DNA损伤的产物的基因；编码一种或多种调节细胞周期的产物的基因；促炎基因；编码一种或多种与嗜铬分泌途径有关的蛋白质的基因；编码一种或多种调节基因转录的产物的基因；NF-KB途径基因；编码一种或多种涉及免疫功能的产物的基因；编码一种或多种糖酵解酶的基因；编码一种或多种线粒体氧化途径蛋白质的基因或编码一种或多种核糖体蛋白质的基因。

[0013] 在一些实施方案中，对一种或多种基因的调节是在肾上腺、肝脏或大脑皮层之一

者或多者中实现的。

[0014] 在一些实施方案中，将含抗氧化剂组合物饲喂给衰老哺乳动物。

[0015] 在一些实施方案中，所述组合物包含维生素 E、维生素 C 或两者。

[0016] 在一些实施方案中，所述组合物包含一种或多种选自以下的抗氧化剂：维生素 E、维生素 C、硫辛酸、虾青素、β－胡萝卜素、L－肉碱、辅酶 Q10、谷胱甘肽、叶黄素、番茄红素、硒、N－乙酰半胱氨酸、大豆异黄酮、S－腺苷甲硫氨酸、牛磺酸、生育三烯醇和它们的混合物。

[0017] 在一些实施方案中，所述组合物包含一种或多种选自以下的抗氧化剂：菠菜渣、番茄渣、柑橘浆、葡萄渣、胡萝卜粒、茎椰菜、绿茶、玉米麸粗粉、米糠、藻类、姜黄色素、硒和它们的混合物。

[0018] 在一些实施方案中，所述组合物包含一种或多种选自以下的抗氧化剂：胡萝卜粒、茎椰菜、绿茶、玉米麸粗粉、米糠、藻类、姜黄色素、硒和它们的混合物。

[0019] 在一些实施方案中，所述组合物包含一种或多种选自以下的抗氧化剂：维生素 E、维生素 C、水果、蔬菜、类胡萝卜素、类黄酮、多酚和它们的混合物。

[0020] 本发明还部分涉及调节衰老哺乳动物中的基因表达的含抗氧化剂组合物和涉及减少衰老哺乳动物的氧化应激的组合物。

[0021] 本发明的其他和更多的目标、特征和优点对本领域技术人员来说将是显而易见的。

[0022] 附图简述

[0023] 图 1 显示饲喂食物 A 和 B 的小鼠中基因表达的组织特异性调节。

[0024] 图 2 显示饲喂食物 A 和 B 的小鼠中其表达受到调节的肾上腺基因的功能类别和这些基因的相对分布。

[0025] 图 3 显示饲喂食物 A 和 B 的小鼠中其表达受到调节的肝脏基因的功能类别和这些基因的相对分布。

[0026] 图 4 显示饲喂食物 A 的小鼠中其表达受到调节的大脑皮层基因的功能类别和这些基因的相对分布。

[0027] 图 5 显示通过 mRNA 表达谱的“分级聚类分析”确定的对照食物与食物 A 和 B 对基因表达的差别效应。

[0028] 发明详述

[0029] 此详细描述只旨在让本领域其他技术人员熟悉本申请人的发明、发明的原理和实际应用，使得本领域其他技术人员可以以多种形式来改编和实施本发明，因为这些形式可最好地适合具体用途的要求。此详细描述及其具体实施例只旨在出于说明目的。因此，本发明并不限于本说明书中描述的实施方案，而是可作各种修改。

[0030] 在各个实施方案中，本发明提供调节衰老哺乳动物中的基因表达的方法。所述方法包括给予衰老哺乳动物含抗氧化剂组合物（即包含一种或多种抗氧化剂和任选的另外成分的组合物）。组合物中的一种或多种抗氧化剂的总量足以实现对衰老哺乳动物中一种或多种基因的表达的调节。

[0031] 设想到本发明的方法和组合物可对多种衰老哺乳动物有用。

[0032] 在本发明的各个实施方案中，哺乳动物是非人哺乳动物。例如，非人哺乳动物可以是伴侣哺乳动物（例如犬科动物、猫科动物）、灵长类哺乳动物（例如猴子、狒狒）、反刍哺

乳动物（例如牛、绵羊、山羊、马）或啮齿动物（例如小鼠、大鼠、豚鼠）。

[0033] 在各个实施方案中，非人哺乳动物是伴侣动物、犬科动物或猫科动物。

[0034] 本文所用的“衰老”哺乳动物指年老的哺乳动物。例如，衰老犬科动物是年龄至少七岁的犬科动物；衰老猫科动物是年龄至少七岁的猫科动物。

[0035] 本发明的方法设想到将各种含抗氧化剂组合物给予所述哺乳动物。设想的组合物包括例如食物、补充物、零食（treat）和玩具（通常是可咀嚼和可吞下的玩具）。含抗氧化剂组合物可饲喂给哺乳动物，作为其食物摄取的成分。哺乳动物的食物摄取能满足其一般营养需求，技术人员可根据哺乳动物的物种、年龄、性别、体重和其他因素来确定该营养要求。例如，年龄1-6岁的犬科动物的典型食物摄取含有约23％蛋白质（干物质％）、约15％脂肪（干物质％）、约0.6％磷（干物质％）和约0.3％钠（干物质％）；年老犬科动物和猫科动物的典型食物摄取（干物质％）在表1中提供。

[0036] 表1

[0037] 年老犬科动物和猫科动物的食物摄取

[0038]

成分	犬科动物	猫科动物
粗蛋白质	15-23	30-45
粗脂肪	7-15	10-25
粗纤维	＞2	＜10
钙	0.5-1.0	0.6-1.0
磷	0.25-0.75	0.5-0.7
钠	0.15-0.35	0.2-0.5
镁		0.05-0.1
能量密度（ME/kg食物（干物质）的kcal）	3.0-4.0	3.5-4.5

[0039] 在各个实施方案中，调节一种或多种基因的表达的方法包括给予哺乳动物一种或多种抗氧化剂，包括抗氧化剂的组合或混合物。抗氧化剂是直接猝灭自由基或间接使自由基被猝灭的任何材料。本领域技术人员知道，许多材料具有自由基猝灭或吸收能力。例如，以下是氧自由基吸收能力（“ORAC”）容量高的粗成分：菠菜渣、番茄渣、柑橘浆、葡萄渣、胡萝卜粒、茎椰菜、绿茶、银杏、玉米麸粗粉、藻类、姜黄色素、虾青素、β-胡萝卜素、胡萝卜、谷胱甘肽、绿茶、叶黄素、番茄红素、N-乙酰半胱氨酸、多酚、大豆异黄酮、菠菜、S-腺苷甲硫氨酸、含硫氨基酸、牛磺酸、生育三烯醇、维生素C和维生素E。例如，如果将菠菜渣、番茄渣、柑橘浆、葡萄渣和胡萝卜粒作为1％掺入物加入到组合物中（共取代5％的低ORAC成分如玉米），它们既增加总体组合物的ORAC容量也增加吃该组合物的动物的血浆ORAC容量。

[0040] 在许多实施方案中，抗氧化剂可以是例如虾青素（3,3′-二羟基-4,4′，-二酮

基-β-胡萝卜素)、β-胡萝卜素、辅酶Q10(泛醌)、谷胱甘肽、L-肉碱、硫辛酸、叶黄素、番茄红素、N-乙酰半胱氨酸、多酚如类黄酮、S-腺苷甲硫氨酸、硒、大豆异黄酮、牛磺酸、生育三烯醇、维生素C或维生素E。

[0041] 在其他实施方案中,抗氧化剂可以是食物或食物产品,例如菠菜(例如菠菜渣)、番茄(例如番茄渣)、柑橘类水果(例如柑橘浆)、葡萄(例如葡萄渣)、胡萝卜(例如胡萝卜粒)、茎椰菜、绿茶、银杏、玉米麸粗粉、米糠、藻类、姜黄色素、海产油(marine oil)或酵母(硒酵母)或者它们的混合物。

[0042] 在其他实施方案中,抗氧化剂可以是粗成分,例如粗菠菜渣、粗番茄渣、粗柑橘浆、粗葡萄渣、粗胡萝卜粒、粗茎椰菜、粗绿茶、粗银杏、粗玉米麸粗粉、粗米糠或者它们的混合物。

[0043] 在一些实施方案中,含抗氧化剂组合物可包含维生素E、维生素C或者维生素E和维生素C两者。

[0044] 在其他实施方案中,含抗氧化剂组合物可包含一种或多种选自维生素E、维生素C、L-肉碱和硫辛酸的抗氧化剂。

[0045] 在一些实施方案中,维生素E可作为某种生育酚、生育酚混合物和/或其各种衍生物来给予,所述衍生物如酯衍生物,例如维生素E的乙酸酯、琥珀酸酯或棕榈酸酯。本文所用的维生素E包括在哺乳动物摄取后能提供维生素E样活性的形式和衍生物。维生素E可以为α、β、γ或δ构型。此外,维生素E可以为其d-立体异构体构型或者作为外消旋混合物。

[0046] 维生素C可作为抗坏血酸或其各种衍生物给予哺乳动物,所述衍生物例如抗坏血酸的磷酸钙盐、抗坏血酸的胆甾醇盐(cholesteryl salt)或抗坏血酸-2-一磷酸盐。维生素C或其衍生物可为任何物理形式,例如液体、半固体、固体或热稳定形式。

[0047] 硫辛酸可以是α-硫辛酸或硫辛酸盐或酯,例如美国专利第5,621,117号描述的硫辛酸异构体。本文所用的"α-硫辛酸"与"硫辛酸"同义。硫辛酸可以以多种形式给予,例如外消旋混合物、盐、酯和/或酰胺。

[0048] L-肉碱可以为衍生物形式,例如盐(例如盐酸盐)、酯(例如富马酸酯或琥珀酸酯)或者乙酰化L-肉碱。

[0049] 在一些实施方案中,抗氧化剂或抗氧化剂混合物可作为其食物的成分或作为食物补充物饲喂给哺乳动物。在食物中给予的数量均以食物的wt%(干物质)计,按活性材料本身来计算,即按游离材料来测量。最大的抗氧化剂量不应引起毒性。优选地,抗氧化剂或其混合物以能有效调节其所饲喂哺乳动物中的一种或多种基因的量饲喂给哺乳动物。该量须根据哺乳动物的物种和抗氧化剂的类型而变。

[0050] 在一些实施方案中,组合物的维生素E含量为至少约250ppm、至少约500ppm或至少约1,000ppm。虽然不是必须的,通常不超过约2,000ppm或约1,500ppm的最大量。

[0051] 在一些实施方案中,组合物的维生素C含量为至少约50ppm、至少约75或至少约100ppm,直至约1,000ppm、直至约5,000ppm或直至约10,000ppm。

[0052] 在一些实施方案中,组合物的硫辛酸含量为至少约25ppm、至少约50ppm或至少约100ppm,直至约100ppm、直至约600ppm或直至对哺乳动物没有毒性的量。

[0053] 在其他实施方案中,硫辛酸含量的范围可从约100ppm至约200ppm。

[0054] 在一些实施方案中，对于犬科动物 L- 肉碱含量最低限度约 50ppm、约 200ppm 或约 300ppm。对于猫科动物，可采取稍高的 L- 肉碱最低量，例如约 100ppm、约 200ppm 或约 500ppm。可采取无毒性最大量，例如小于约 5,000ppm。对于犬科动物，可采取更低的量，例如小于约 5,000ppm。对于犬科动物，范围可从约 200ppm 至约 400ppm。对于猫科动物，范围可从约 400ppm 至约 600ppm。

[0055] 在各个实施方案中，约 1ppm 直至约 15ppm β - 胡萝卜素、约 0.1 直至约 5ppm 硒、至少约 5ppm 叶黄素、至少约 25ppm 生育三烯醇、至少约 25ppm 辅酶 Q10、至少约 50ppm S- 腺苷甲硫氨酸、至少约 500ppm 牛磺酸、至少约 25ppm 大豆异黄酮、至少约 50ppm N- 乙酰半胱氨酸、至少约 50ppm 谷胱甘肽、至少约 50ppm 银杏提取物可单独地或以各种组合加以使用。

[0056] 组合物中的一种或多种抗氧化剂的总量足以实现对哺乳动物中一种或多种基因或基因产物的表达的调节。本文所用的“调节”表达指改变一种或多种基因或基因产物的表达水平。基因或基因产物的表达的改变包括上调（或诱导），使得基因或基因产物以高于哺乳动物中常见的水平或哺乳动物食物中没添加抗氧化剂时所见的水平得到表达。或者，表达的改变可为基因或基因产物的下调（或阻抑），使得基因或基因产物以低于哺乳动物中常见的水平或哺乳动物食物中没添加抗氧化剂时所见的水平得到表达。

[0057] 在一些实施方案中，可调节的基因中可以是细胞色素 P450 家族基因、载脂蛋白家族基因、编码一种或多种调节血液动力学特性的产物的基因、热激蛋白家族基因、编码一种或多种指示 DNA 损伤的产物的基因、编码一种或多种调节细胞周期的产物的基因、促炎基因、编码一种或多种与嗜铬分泌途径有关的蛋白质的基因、编码一种或多种调节基因转录的产物的基因、NF-KB 途径基因、编码一种或多种涉及免疫功能的产物的基因、编码一种或多种糖酵解酶的基因、编码一种或多种线粒体氧化途径蛋白质的基因或编码一种或多种核糖体蛋白质的基因。

[0058] 在一些实施方案中，可调节上述基因的组合。

[0059] 在一些实施方案中，细胞色素 P450 家族基因可以是例如 P450 家族 2 亚家族 b 多肽 10(Cyp2b10)、P450 家族 2 亚家族 c 多肽 70(Cyp2c70)、P450 家族 2 亚家族 c 多肽 37(Cyp2c37)、P450 家族 2 亚家族 a 多肽 12(Cyp2a12)、P450 家族 2 亚家族 c 多肽 40(Cyp2c40)、P450 家族 3 亚家族 a 多肽 11(Cyp3a11)、P450 家族 3 亚家族 a 多肽 13(Cyp3a15)、P450 家族 3 亚家族 a 多肽 16(Cyp3a16)、P450 家族 3 亚家族 a 多肽 25(Cyp3a25)、P450 家族 2 亚家族 a 多肽 4(Cyp2a4) 或 P450 家族 4 亚家族 a 多肽 10(Cyp4a10)。

[0060] 在一些实施方案中，载脂蛋白家族基因可以是例如载脂蛋白 C-II(Apoc2)、载脂蛋白 A-I(Apoa1)、载脂蛋白 A-II(Apoa2)、载脂蛋白 A-V(Apoa5) 或载脂蛋白 H(Apoh)。

[0061] 在一些实施方案中，编码一种或多种调节血液动力学特性的产物的基因可以是例如编码纤维蛋白原 α 多肽 (Fga)、凝血因子 X(F10)、血管生成素 (Ang)、对氧磷酶 1(Pon1)、激肽原 (Kng)、凝血因子 XII β 亚单位 (F13b)、低密度脂蛋白受体相关蛋白 2(Lrp2)、凝血因子 V(F5)、纤溶酶原 (Plg)、凝血因子 II(F2)、血管紧张肽原 (Agt) 或纤维蛋白原 β 多肽 (Fgb) 的基因。

[0062] 在一些实施方案中，热激蛋白基因可以是例如编码热激蛋白 (Hsp105)、伴侣蛋白亚单位 5(ε)(Cct5)、伴侣蛋白亚单位 8(θ)(Cct8)、DnaJ(Hsp40) 同系物亚家族 A 成员

1(Dnaja1)、DnaJ(Hsρ40)同系物亚家族C成员2(Dnajc2)、DnaJ(Hsp40)同系物亚家族C成员7(Dnajc7)、热激70kD蛋白5(葡萄糖调节蛋白)(Hspa5)、热激蛋白(Hsp105)、热激蛋白1α(Hspca)、热激蛋白1β(Hspcb)、热激蛋白1A(Hspa1a)、热激蛋白1B(Hspa1b)、热激蛋白4(Hspa4)、热激蛋白4(Hspa4)、热激蛋白8(Hspa8)、渗透应激蛋白(Osp94)、蛋白质二硫键异构酶相关蛋白(P5悬垂)或应激诱导磷蛋白1(Stip1)的基因。

[0063] 在一些实施方案中,编码一种或多种指示DNA损伤的产物的基因可以是例如编码共济失调性毛细管扩张症突变同系物(人)(Atm)、损伤特异性DNA结合蛋白1(Ddb1)、切割修复交叉互补啮齿动物修复缺陷互补群3(Ercc3)、亨廷顿蛋白相关蛋白1(Hap1)、mutS同系物2(大肠杆菌)(Msh2)、骨髓亲嗜性病毒整合位点相关基因1(Mrg1)、成神经细胞瘤ras癌基因(Nras)、RAD21同系物(裂殖酵母)(Rad21)、成视网膜细胞瘤1(Rb1)、成视网膜细胞瘤结合蛋白4(Rbbp4)、成视网膜细胞瘤结合蛋白7(Rbbp7)、成视网膜细胞瘤结合蛋白9(Rbbp9)、脊髓小脑共济失调2同系物(人)(Sca2)、X连锁肌管性肌病基因1(Mtm1)或中国仓鼠细胞5的X射线修复互补缺损修复(Xrcc5)的基因。

[0064] 在一些实施方案中,编码一种或多种调节细胞周期的产物的基因可以编码例如细胞周期蛋白G1(Ccng1)、细胞周期蛋白D2(Ccnd2)、CDC23(细胞分裂周期23,酵母,同系物)(Cdc23)、细胞周期蛋白D3(Ccnd3)、细胞周期蛋白依赖性激酶5(Cdk5)、p21(CDKN1A)活化激酶2(Pak2)、RAS p21蛋白激活剂1(Rasa1)、细胞周期蛋白依赖性激酶8(Cdk8)、CDC42效应蛋白(Rho GTP酶结合)4(Cdc42ep4)、胱天蛋白酶8(Casp8)、胱天蛋白酶4凋亡相关半胱氨酸蛋白酶(Casp4)、胱天蛋白酶12(Casp12)、Bcl相关死亡启动子(Bad)、Bcl2样2(Bcl2l2)、程序性细胞死亡6相互作用蛋白(Pdcd6ip)、程序性细胞死亡8(Pdcd8)、程序性细胞死亡2(Pdcd2)、膜联蛋白A1(Anxa1)、膜联蛋白A2(Anxa2)或为信号诱导增殖相关基因1(Sipa1)。

[0065] 在一些实施方案中,促炎基因可以是例如编码组氨酸脱羧酶(Hdc)、活化白血病黏着分子(Alcam)、原钙粘蛋白α4(Pcdha4)、嗜中性粒细胞胞质因子4(Ncf4)、肥大细胞蛋白酶5(Mcpt5)、组织蛋白酶S(Ctss)、钙黏着蛋白2(Cdh2)、连接细胞黏着分子3(Jcam3)、巨噬细胞表达基因1(Mpeg1)、组织蛋白酶B(Ctsb)、钙细胞周期蛋白结合蛋白(Cacybp)、对氧磷酶2(Pon2)、P溶菌酶结构(Lzp-s)、白三烯B4 12-羟基脱氢酶(Ltb4dh)、溶酶体酸性脂肪酶1(Lip1)、溶菌酶(Lyzs)或组氨酸氨裂解酶(Hal)的基因。

[0066] 在一些实施方案中,编码一种或多种与嗜铬分泌途径有关的蛋白质的基因可以编码例如液胞膜蛋白p24(Vmp)、分泌用Ca^{2+}依赖性激活蛋白(Cadps)、分泌粒蛋白III(Scg3)、突触结合蛋白4(Syt4)、核输出蛋白1,CRM1同系物(酵母)(Xpo1)、突触结合蛋白样4(Sytl4)、离子型谷氨酸受体AMPA2(α2)(Gria2)、突触小体相关蛋白25(Snap25)、神经毡蛋白(Nrp)、突触小体相关蛋白25结合蛋白(Snap25bp)、突触小体相关蛋白91(Snap91)、突触结合蛋白1(Syt1)、突触小泡蛋白(Syp)、发动蛋白1样(Dnm1l)、细胞毒性颗粒相关RNA结合蛋白1(Tia1)、Rab接触蛋白5(Rab5ep悬垂)、发动蛋白(Dnm)、微管相关蛋白τ(Mapt)、突触融合蛋白4A(胎盘)(Stx4a)、分泌颗粒神经内分泌蛋白1,7B2蛋白(Sgne1)、液胞膜蛋白p24(Vmp)、冠蛋白,肌动蛋白结合蛋白1A(Coro1a)、嗜铬粒蛋白A(Chga)、突触结合蛋白样4(Sytl4)、外被体蛋白复合体亚单位α(Copa)、动力蛋白,细胞质,轻链2A(Dnclla)、外被体蛋白复合体亚单位γ1(Copg1)、小泡相关膜蛋白4(Vamp4)、

sec13 样蛋白 (Sec131 悬垂)、钙联接蛋白 (Canx)、突触融合蛋白结合蛋白 3(Stxbp3)、空泡蛋白分选 16(酵母)(Vps16)、SEC22 小泡运输蛋白样 1(酿酒酵母)(Sec2211)、外被体蛋白复合体亚单位 β2(β′)(Copb2)、蛋白聚糖分泌颗粒 (Prg)、突触融合蛋白 6(Stx6)、微管蛋白 α3(Tuba3)、加帽蛋白 α1(Cappa1) 或分泌载体膜蛋白 1(Scamp1)。

[0067] 在一些实施方案中,编码一种或多种调节基因转录的产物的基因可以是例如编码剪接因子 3b 亚单位 1(Sf3b1)、Trf(TATA 结合蛋白相关因子)-近侧 p(Trfp)、RNA 结合基序蛋白 10(Rbm10)、转录因子 4(Tcf4)、转录因子 12(Tcf12)、聚合酶 (DNA 指导的) β (Polb)、CCR4-NOT 转录复合物亚单位 2(Cnot2)、切割刺激因子,3′ pre-RNA,亚单位 2,64kDa,τ 变体 (Cstf2 τ 变体)、剪接因子,富精氨酸 / 丝氨酸 1(ASF/SF2)(Sfrs1)、通用转录因子 II I(Gtf2i)、YY1 转录因子 (Yy1)、CCAAT/ 增强子结合蛋白 α (C/EBP),相关序列 1(Cebpa-rs1)、PRP4 pre-mRNA 加工因子 4 同系物 B(酵母)(Prpf4b)、剪接因子 3a,亚单位 3,60kDa(Sf3a3) 或聚合酶 (RNA)II(DNA 指导的) 多肽 H(Polr2h) 的基因。

[0068] 在一些实施方案中,NF-KB 途径基因可以编码血清淀粉样蛋白 A 3(Saa3)、淋巴毒素 B(Ltb)、B 细胞中 κ 轻链多肽基因增强子核因子 2,p49/p100(Nfkb2)、B 细胞中 κ 轻链多肽基因增强子核因子抑制剂 α (Nfkbia)、CCPAT/ 增强子结合蛋白 α (C/EBP),相关序列 1(Cebpa-rs1)、肿瘤坏死因子受体超家族,成员 1a(Tnfrsf 1a) 或 B 细胞中 κ 轻链多肽基因增强子核因子 1,p105(Nfkb1)。

[0069] 在一些实施方案中,编码一种或多种涉及免疫功能的产物的基因可以是编码免疫球蛋白 λ 链,可变 1(Ig1-V1)、组织相容性 2,II 类,基因座 Mb1(H2-DMb1)、淋巴毒素 B(Ltb)、趋化因子 (C-C 基序) 配体 5(Ccl5)、免疫球蛋白重链 4(血清 IgG1)(Igh-4)、带三十四肽的干扰素诱导蛋白 (Ifit2)、组织相容性 2,II 类,基因座 Mb2(H2-DMb2)、血清类黏蛋白 2(orm2)、免疫球蛋白重链 6(Ig1 的重链)(Igh-6)、CD52 抗原 (Cd52)、免疫球蛋白 κ 链可变 8(V8)(Igk-V8)、CD24a 抗原 (Cd24a)、趋化因子 (C-X-C 基序) 受体 4(Cxcr4)、干扰素调节因子 4(Irf44)、嗜中性粒细胞胞质因子 1(Ncf1)、淋巴母细胞性白血病 (Ly11)、淋巴细胞特异性 1(Lsp1)、趋化因子 (C-X-C 基序) 配体 13(Cxcl13)、血清淀粉样蛋白 A 2(Saa2) 或 CD79B 抗原 (Cd79b) 的基因。

[0070] 在一些实施方案中,编码一种或多种糖酵解酶或线粒体氧化酶的基因可以是例如编码丙酮酸脱氢酶激酶,同工酶 3(Pdk3)、丙酮酸激酶,肌肉 (Pkm2)、磷酸果糖激酶,血小板 (Pfkp)、腺苷酸琥珀酸裂解酶 (Ads1)、醛缩酶 1,A 同种型 (Aldo1)、己糖激酶 1(Hk1)、甘油醛 -3- 磷酸脱氢酶 (Gapd)、磷酸果糖激酶,肝脏,B 型 (Pfk1)、葡糖磷酸异构酶 1(Gpi1)、6- 磷酸葡糖内酯酶 (Pgls)、转醛醇酶 1(Taldo1)、转酮醇酶 (Tkt)、2,3- 二磷酸甘油变位酶 (Bpgm)、ATP 柠檬酸裂解酶 (Acly)、ATP 酶,H+ 转运,V0 亚单位 B(Atp6v0b)、ATP 酶,H+ 转运,V0 亚单位 D 同种型 1(Atp6v0d1)、细胞色素 c 氧化酶亚单位 VIIa 多肽 2 样 (Cox7a21)、ATP 酶,H+ 转运,V1 亚单位 A,同种型 1(Atp6v1a1)、NADH 脱氢酶 (泛醌) 1α 亚复合体,3(Ndufa3) 或烯醇酶 1,α 非神经元 (Eno1) 的基因。

[0071] 在一些实施方案中,编码一种或多种核糖体蛋白质的基因可以是例如编码线粒体核糖体蛋白 L54(Mrp154)、核糖体蛋白 S11(Rps11)、核糖体蛋白 S19(Rps19)、线粒体核糖体蛋白 L44(Mrp144)、核糖体蛋白 L13a(Rpl13a)、核糖体蛋白 S8(Rps8)、核糖体蛋白 S 12(Rps12)、核糖体蛋白 S26(Rps26)、核糖体蛋白 L27a(Rpl27a)、核糖体蛋白

L8(Rpl8)、核糖体蛋白 S23(Rps23)、核糖体蛋白 L37(Rpl37)、核糖体蛋白 L13(Rpl13)、核糖体蛋白 S3(Rps3)、核糖体蛋白 L3(Rpl3)、核糖体蛋白 L18(Rpl18)、线粒体核糖体蛋白 S15(Mrps15)、真核生物翻译起始因子 3，亚单位 7(ζ)(Eif3s7)、核糖体蛋白 S5(Rps5)、核糖体蛋白 L36(Rpl36)、核糖体蛋白 S4，X 连锁 (Rps4x) 或核糖体蛋白 L19(Rpl19) 的基因。

[0072] 在各个实施方案中，本发明设想到增加细胞色素 P450 家族基因的表达，增加增加载脂蛋白家族基因的表达，增加编码调节血液动力学特性的产物的基因的表达，减少热激蛋白家族基因的表达，减少指示 DNA 损伤的基因产物的表达，减少其产物调节细胞周期的基因的表达，减少促炎基因的表达，减少编码与嗜铬分泌途径有关的蛋白质的基因的表达，减少其表达产物调节基因转录的基因的表达，减少 NF-KB 途径基因的表达，减少编码涉及免疫功能的产物的基因的表达，减少编码糖酵解酶的基因的表达，减少编码线粒体氧化途径蛋白质的基因的表达或减少编码核糖体蛋白质的基因的表达。

[0073] 在各个实施方案中，基因（或基因产物）的表达可在许多不同组织和器官（例如肾上腺、肝脏或大脑皮层）中得到调节。在其他实施方案中，基因（或基因产物）的表达可在肾上腺中、肝脏中或大脑皮层中得到调节。在更多的实施方案中，本发明提供改变衰老哺乳动物的行为的方法，所述方法包括给予衰老哺乳动物包含一种或多种抗氧化剂的组合物。

[0074] 在一些实施方案中，本发明提供治疗、预防、抑制或逆转哺乳动物与年老有关的认知和 / 或身体功能衰退的方法，所述方法包括给予哺乳动物一种或多种其总量能有效调节一种或多种基因的表达的抗氧化剂。在一些实施方案中，这些方法可改善哺乳动物的氧化状态。

[0075] 与年老有关的认知功能可指例如以下精神衰退的症状：记忆力下降或缺损、学习能力缺损、定向力障碍和精神警觉下降。

[0076] 与年老有关的身体功能可包括例如以下症状：肌肉功能的衰退或缺损、血管功能的衰退或缺损、视力的衰退或缺损、听力的衰退或缺损、嗅觉的衰退或缺损、皮肤或皮毛质量的衰退或缺损、骨头和关节健康的衰退、肾脏健康的衰退、肠功能的衰退或缺损、免疫功能的衰退或缺损、胰岛素敏感性的衰退或缺损和 / 或炎症反应的衰退或缺损。

[0077] 在一些实施方案中，本发明提供评估哺乳动物的氧化状态的方法。这些方法可包括测定一种或多种基因的表达水平，例如本文描述的基因。在各个实施方案中，这些方法可进一步包括测定一种或多种组织例如肾上腺、肝脏或大脑皮层中的这些基因中至少一种基因的表达水平。

[0078] 在一些实施方案中，本发明提供模拟热量限制对哺乳动物中基因表达的作用的方法。在一些方面，热量限制减少化学代谢过程造成的损害，特别是氧化损害。在其他方面，热量限制对体重控制有益。这些方法可包括给予哺乳动物一种或多种抗氧化剂，给予的量能有效调节一种或多种编码与线粒体氧化途径有关的糖酵解酶或蛋白质的基因。因此，本发明的方法还可用于控制哺乳动物的体重。本文所用的“控制 ..... 体重”可涉及减轻体重、增加体重或保持现有体重。

[0079] 在一些实施方案中，本发明提供阻抑免疫功能相关基因并且可用于治疗、预防或抑制炎症的方法和减少 DNA 损伤的方法，DNA 损伤的减少由所诱导的 DNA 修复机制的减少来证明。

[0080] 在一些实施方案中，本发明组合物的给予能减少细胞死亡，细胞死亡的减少由热激蛋白 mRNA 和细胞周期周转 mRNA 的表达水平降低来证明。

[0081] 在一些实施方案中，本发明组合物的给予导致基因如肾上腺中细胞色素 p450 家族成员的上调，从而增加肾上腺组织中细胞色素 P450 代谢。肾上腺中细胞色素 P450 代谢的增加可调节神经内分泌 / 肾上腺系统的类固醇生成活性，以减轻哺乳动物的应激和焦虑。

[0082] 在一些实施方案中，本发明提供通过下调炎症 / 免疫相关基因减少炎症反应的方法。给予本发明一种或多种抗氧化剂能通过诱导（上调）特异性 mRNA 来改变血液动力学特性。在其他实施方案中，本发明提供治疗、预防或抑制动脉粥样化形成的方法。

[0083] 在各个实施方案中，本发明提供评估哺乳动物养生方案 (regimen) 的功效的方法。哺乳动物可以是正在进行该养生方案、已经进行该养生方案或考虑进行该养生方案的任何哺乳动物。养生方案可例如用以改善或防止氧化状态的恶化；模拟热量限制的作用；控制体重；治疗、预防或抑制动脉粥样化形成；治疗、预防或抑制应激或焦虑；治疗、预防或抑制炎症；或者改变行为，例如改善或防止认知和 / 或身体功能的衰退。

[0084] 在一些实施方案中，评估养生方案的功效的方法包括测定一种或多种独立选自以下的基因的表达水平：细胞色素 P450 家族基因、载脂蛋白家族基因、编码调节血液动力学特性的产物的基因、热激蛋白家族基因、编码指示 DNA 损伤的产物的基因、编码调节细胞周期的产物的基因、促炎基因、编码与嗜铬分泌途径有关的蛋白质的基因、编码调节基因转录的产物的基因、NF-KB 途径基因、编码涉及免疫功能的产物的基因、编码糖酵解酶的基因、编码线粒体氧化途径蛋白质的基因和编码核糖体蛋白质的基因；将所述表达水平与参考表达水平进行比较，使得所述表达水平相对于参考表达水平能指示所述养生方案的功效。

[0085] 在各个实施方案中，本教导内容公开了基因微阵列或蛋白质组筛选 (proteomic screen)。本文所用的术语“微阵列”包括 Schena（编辑），DNA Microarrays：A Practical Approach(Practical ApproachSeries)，Oxford University Press(1999)(ISBN：0199637768)；NatureGenet.21(1)(suppl)：1-60(1999) 和 Schena（编辑），Microarray Biochip：Tools and Technology，Eaton Publishing Company/BioTechniques BooksDivision(2000)(ISBN：1881299376) 中所谓的所有装置，这些文献通过引用整体结合到本文中。本发明各实施方案的微阵列可以是配置成用以测量至少一种指示哺乳动物氧化状态的基因的表达的微阵列。在一些实施方案中，微阵列可以配置成用以测量指示氧化状态的基因组合的表达。这些实施方案的基因可以是例如上文描述的基因。在一些实施方案中，微阵列可用来测量任何这些基因或这些基因组合的表达。

[0086] 本文所用的术语“蛋白质组筛选”指蛋白质分析测定或蛋白质结合筛选，包括涉及许多蛋白质的并行测定或筛选。蛋白质分析的蛋白质组方法描述于例如 BioTechniques 33：1308-1316(2002)，该文献的公开内容通过引用整体结合到本文中。

[0087] 本发明并不限于本文描述的具体方法、方案 (protocol) 和试剂，因为它们是可以变化的。此外，本文所用的术语只是出于描述具体实施方案的目的，并不旨在限制本发明的范围。在本文中和所附权利要求书中用到的名词单数形式还包括复数含义，除非上下文清楚表明本非如此，例如当提到“哺乳动物”时，指包括多个这种哺乳动物。术语“含”、“包含”应作包括性涵义来解释而不是作排他性涵义来解释。

[0088] 除非另有定义，否则本文所用的全部技术和科学术语及任何首字母缩略词的意义

与本发明领域普通技术人员通常理解的相同。虽然在本发明的实施中可使用类似于或相当于本文所述的任何方法和材料，本文描述了优选的方法、装置和材料。

[0089] 本文提到的所有专利、专利申请和出版物通过引用结合到本文中至法律允许的程度，目的是描述和公开其中所报告的可能可用于本发明的组合物、化合物、方法和其他信息。但是，本文决不能解释为承认本发明没有权利作为在先发明而在时间上早于这种公开内容。

[0090] 实施例

[0091] 本发明通过以下其优选实施方案的实施例作进一步的说明，不过要了解到，包括这些实施例仅仅出于说明的目的，并不旨在限制本发明的范围，除非另有具体指明。

[0092] 实施例 1

[0093] 本实施例说明饲喂各种抗氧化剂的衰老小鼠所经受到的氧化应激的缓解，所述缓解用还原型与氧化型谷胱甘肽比 (GSH ： GSSG) 这个生化度量作为氧化应激的指标来测定。

[0094] GSH ： GSSG 比通过 Jones，D.P.，Redox Potential ofGSH/GSSG Couple :Assay and Biological Significance，METHODSENZYMOL.，348 :93-112(2002) 中描述的方法来测量。

[0095] 提供年老模型系统的衰老加速小鼠 (SAM) 品系获自日本东京大学的 T.Takeda 博士和 SAM 研究委员会 (Takeda T.etal.，Senescence-accelerated mouse(SAM) :A novel murine model ofsenescence，Exp Gerontol，32 :105-109(1997) ;Takeda T.et al.，Pathobiology of the senescence-accelerated mouse(SAM)，Exp Gerontol，32 :117-127(1997) ;Takeda T.，Senescence-accelerated mouse(SAM) :Abiogerontological resource in aging research，Neurobiol Aging，20 :105-110(1999))。

[0096] C57BL6 小鼠是长寿的实验室小鼠品系。

[0097] 所有的衰老加速小鼠和 C57BL6 在转换到食物 A 或食物 B 之前都饲喂对照食物，除非另外指明。转换到食物 A 或食物 B 的小鼠饲喂对照食物达至少六个月之久 (对照小鼠只饲喂对照食物)。食物 A 在 5-13 月龄饲喂，食物 B 在 7-17 月龄饲喂，除非另外指明。所用的食物组合物如表 2 所列，除非另外指明。表 2 中的数量是以占总重量百分比表示的加入到组合物中的原料数量。

[0098] 表 2

[0099] 食物组合物

[0100]

成分	对照食物	食物 A	食物 B
食物基料 A	100	～ 100	未加入
食物基料 B	未加入	未加入	～ 95.7
L- 肉碱	未加入	0.026	未加入
硫辛酸	未加入	0.014	未加入

维生素 C	未加入	0.025	0.025
50%维生素 E	未加入	0.110	0.110
茎椰菜	未加入	未加入	1.5
米糠	未加入	未加入	1
海产油	未加入	未加入	0.88
谷胺酰胺二肽	未加入	未加入	0.5
甲硫氨酸	未加入	未加入	0.17
硒 - 酵母	未加入	未加入	0.03
藻类	未加入	未加入	0.025
L- 苏氨酸	未加入	未加入	0.025
5%叶黄素	未加入	未加入	0.015
5%番茄红素	未加入	未加入	0.015
8%虾青素	未加入	未加入	0.0094
10% β - 胡萝卜素	未加入	未加入	0.0075
姜黄色素	未加入	未加入	0.005

[0101] 食物基料 A 内容：玉米、禽肉粉、稻谷、豆粉下脚料、玉米麸质粉、大豆油、脂肪、杂项成分（即维生素、矿物质等）。

[0102] 食物基料 B 内容：玉米、豆粉下脚料、大豆粉、玉米麸质粉、脂肪、杂项成分（即维生素、矿物质等）。

[0103] 对照食物、食物 A 和食物 B 之间的主要成分差异在表 3 中给出。表 3 中的数量是以占总重量百分比表示的加入到组合物中的数量。

[0104] 表 3

[0105] 主要成分差异

[0106]

成分	对照食物	食物 A	食物 B
玉米	69.9	69.7	65.2
禽肉粉	10.4	10.4	未加入

稻谷	4	4	未加入
豆粉下脚料	4	4	3.9
大豆粉	未加入	未加入	8.75
玉米麸质粉	3.2	3.2	8.2
大豆油	2.1	2.1	未加入
脂肪	2.1	2.1	4.1
茎椰菜	未加入	未加入	1.5
米糠	未加入	未加入	1
海产油	未加入	未加入	0.88
谷胺酰胺二肽	未加入	未加入	0.5
甲硫氨酸	未加入	未加入	0.17
硒－酵母	未加入	未加入	0.03
藻类	未加入	未加入	0.025
L-苏氨酸	未加入	未加入	0.025
5%叶黄素	未加入	未加入	0.015
5%番茄红素	未加入	未加入	0.015
8%虾青素	未加入	未加入	0.0094
10% β－胡萝卜素	未加入	未加入	0.0075
姜黄色素	未加入	未加入	0.005
氯化胆碱	0.26	0.26	0.5

[0107] 分析表明对照食物含有17％蛋白质、10％脂肪、大约200ppm维生素E和＜32ppm维生素C。分析表明食物A含有17％蛋白质、10％脂肪、大约500ppm维生素E、大约80ppm维生素C、大约300ppm L-肉碱和大约125ppm硫辛酸。分析表明食物B含有19％蛋白质、10％脂肪、大约500ppm维生素E和大约80ppm维生素C。

[0108] 测定了富含抗氧化剂的食物A和B对氧化应激的作用。在一个实验中，测量饲喂对照食物或食物A的衰老加速小鼠和饲喂对照食物的一组正常小鼠(C57BL/6)的血浆中的还原型谷胱甘肽(GSH)和氧化型谷胱甘肽(GSSG)浓度这一氧化平衡的度量。饲喂对照食

物的衰老加速小鼠的 GSH ： GSSG 比低于饲喂对照食物的 C57BL/6 小鼠或饲喂食物 A 的衰老加速小鼠的 GSH ： GSSG 比。这些结果证实，饲喂对照食物的衰老加速小鼠比正常小鼠处在更多的氧化应激下。结果还证实，食物 A（即补充维生素 E、维生素 C、硫辛酸和 L- 肉碱的食物）减轻这一氧化应激，这由 GSH ： GSSG 比的改进证实。

[0109] 在另一个实验中，测定食物 B（即复合抗氧化剂强化食物）对 17 月龄衰老加速小鼠血浆中的 GSH ： GSSG 比。饲喂食物 B 的衰老加速小鼠的 GSH ： GSSG 比高于饲喂对照食物的衰老加速小鼠。这些结果证实，食物 B 减轻衰老加速小鼠所经受到的氧化应激。

[0110] 在另一个实验中，测定饲喂对照食物或食物 A 的衰老加速小鼠的组织中的还原型与氧化型谷胱甘肽比的作用。与饲喂对照食物的衰老加速小鼠相比，饲喂食物 A 的衰老加速小鼠的骨骼肌中 GSH ： GSSG 比有改进。见表 4。这些结果证实，补充的食物 A 除改进血浆中的氧化应激标记物外，还改进至少一种组织——骨骼肌中的相同标记物，且能有效地对氧化应激进行胞内缓冲。

[0111] 表 4

[0112] 饲喂对照食物和食物 A 的衰老加速小鼠的线粒体中

[0113] GSH 和 GSSG 的浓度

[0114]

组织	GSH(nmol/mg 蛋白质)	GSSG(nmol/mg 蛋白质)
肝脏		
对照食物	7.172±0.479	0.176±0.025
食物 A	7.213±0.236	0.182±0.027
肾脏		
对照食物	1.787±0.153	0.0083±0.0002
食物 A	1.883±0.272	0.0102±0.0019
心脏		
对照食物	4.545±0.327	0.298±0.039
食物 A	4.035±0.446	0.281±0.052
大脑		
对照食物	4.216±0.247	0.031±0.005
食物 A	4.286±0.231	0.031±0.004
骨骼肌		
对照食物	1.122±0.092	0.102±0.012
食物 A	1.122±0.101	0.040±0.007#

[0115] # 对照小鼠 (n ＝ 5) 和实验小鼠 (n ＝ 4) 之间有显著差异 (P ＜ 0.05)

[0116] 在另一个实验中，测定饲喂对照食物或食物 B 的衰老加速小鼠的组织中的还原型与氧化型谷胱甘肽比。与年龄和性别匹配的对照相比，食物 B 改进了所有组织（肝脏、肾脏、心脏、大脑皮层和骨骼肌）中的 GSH ： GSSG 比。见表 5。这些结果证实，食物 B 除改进血浆中的 GSH ： GSSG 比外，还改进胞内 GSH ： GSSG 比。这些结果还证实，食物 B 能有效减

轻衰老加速小鼠中的自由基过量产生，这可能会导致即使年龄增长健康状况却有改进。

[0117] 表 5

[0118] 饲喂对照食物和食物 B 的衰老加速小鼠的线粒体中

[0119] GSH 和 GSSG 的浓度

[0120]

组织	GSH(nmol/mg 蛋白质)	GSSG(nmol/mg 蛋白质)
肝脏		
对照食物（雄性）	6.10±0.07	0.175±0.019
食物 B(雄性)	5.65±0.36	0.162±0.019
对照食物（雌性）	6.20±0.53	0.428±0.063
食物 B(雌性)	6.47±0.35	0.175±0.024#
肾脏		
对照食物（雄性）	2.23±0.27	0.021±0.004
食物 B(雄性)	2.86±0.27#	0.018±0.002
对照食物（雌性）	2.42±0.48	0.021±0.001
食物 B(雌性)	3.72±0.20#	0.012±0.001#
心脏		
对照食物（雄性）	4.25±0.45	0.322±0.009
食物 B(雄性)	7.09±0.44#	0.290±0.022#
对照食物（雌性）	4.08±0.28	0.349±0.011
食物 B(雌性)	4.55±0.44	0.319±0.002#
大脑		
对照食物（雄性）	4.86±0.15	0.059±0.001
食物 B(雄性)	6.02±0.32#	0.030±0.001#
对照食物（雌性）	5.29±0.26	0.034±0.002
食物 B(雌性)	6.23±0.20#	0.027±0.001#
骨骼肌		
对照食物（雄性）	1.76±0.10	0.113±0.021
食物 B(雄性)	2.49±0.40#	0.125±0.027
对照食物（雌性）	1.80±0.06	0.147±0.016
食物 B(雌性)	2.43±0.39#	0.098±0.010#

[0121] # 衰老加速小鼠对照组和实验组之间有显著差异 ($P < 0.05, n = 4$)

[0122] 实施例 2

[0123] 通过 mRNA 表达分析测定饲喂各种含抗氧化剂食物的衰老加速小鼠对抗氧化剂的基因组响应 (genomic response)。

[0124] 如以上实施例 1 所述给三组 5-6 只衰老加速小鼠饲喂对照食物、食物 A 或食物 B。食物的组成也和以上实施例 1 一样。

[0125] 分子生物学技术遵循本领域技术人员公知的标准方案，如 Sambrook 等，Molecular

Cloning:A Laboratory Manual,2nd ed.ColdSpring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,NY(1989) 中提出的方案。从小鼠获取组织,并从该组织提取 RNA。提取的 RNA 依据组织(肝脏、肾上腺和大脑皮层)和食物(对照、A 或 B) 进行集中,结果共得九个集中的 RNA 样品。根据厂商说明书使用 Mu74Av2 高密度寡核苷酸测定法 (Mu74Av2 GeneChip, Affymetrix,Santa Clara,CA),对集中的总 RNA 样品作进一步的处理,获得基因 (mRNA) 表达情况。用 Microarray Analysis Suite(MAS)5.0(Affymetrix) 计算杂交的生物素酰化 RNA 片断的荧光强度。所有统计分析均用 MAS 5.0 进行。每种 mRNA 都用 32 个不同的探针进行分析——16 个探针分析特异性结合,另外 16 个探针分析非特异性结合。所有 $p < 0.05$ 的信号均认为显著,并用于生物效应的分析。检测了大约 4,000-8,000 个基因。检测值的范围为 10-6,000。p 值的范围为 0.0001-0.05。通过将该基因的所有 32 个探针在一组中的强度与在另一组中的强度进行比较来确定显著差异,p 值 < 0.05 认为是显著差异。

[0126] 测定了食物 A 和 B 对各种组织中的总体基因表达的作用。表 6 显示 GeneChip 测定所检测到的基因总数。

[0127] 表 6

[0128] GeneChip 测定所检测到的基因总数

[0129]

食物	肾上腺	大脑皮层	肝脏
对照	7218	6062	6094
食物 A	6809	6175	4389
食物 B	7288	6206	4402

[0130] 将食物 A 和 B 的作用与从饲喂对照食物的小鼠获得的三种组织的基因表达谱比较。来自三个食物组的组织的基因总数检测差异可部分由基因在受影响组织中的净阻抑 (net repression) 来解释。

[0131] 在来自饲喂对照食物的小鼠的三种组织中检测了相似数量的基因。在饲喂食物 A 的小鼠的肝脏和肾上腺中检测到较少的基因(分别为 28%和 6%),这提示了基因表达的净阻抑。食物 B 对肝脏基因组的活性具有类似的作用。对于肾上腺基因组,食物 B 显示了对该基因组的活性的净诱导。肝脏基因组的活性受食物 A 和 B 的影响相似。三个食物组小鼠的大脑皮层对食物 A 和 B 的响应最少,这提示大脑基因组对两种食物的膳食成分有较高的稳定性。这可能归因于“血脑屏障”所施加的对膳食抗氧化剂及其推定代谢产物的透性障。

[0132] 总之,以上研究证实了食物 A 和 B 对肾上腺基因组的活性的不同作用,以及食物 A 和 B 对肝脏和大脑皮层基因组的活性的相似作用。略见图 1。

[0133] 实施例 3

[0134] 用上述 GeneChip 测定法测定食物 A 和 B 对衰老加速小鼠各种组织中各种类别基因的表达的作用。

[0135] 图 2、3 和 4 总结了在饲喂食物 A 和 B 的小鼠中其表达受到调节的基因的功能类别和这些基因对基因谱变化的相对分布。

[0136] 图 2 和 3 分别概述了受食物 A 和 B 影响的肾上腺基因和肝脏基因的功能类别及它

们的相对分布。食物 A 和 B 对图 2 和 3 所示的基因的功能类别具有阻抑作用。受影响基因中最多的是调节免疫功能的基因。类似地，肝脏和肾上腺中调节炎症、分泌、对 DNA 损伤的响应和热激的基因也被食物 A 和 B 下调。编码糖酵解、线粒体氧化和蛋白质合成的酶的基因在肝脏中受到食物 A 和 B 的下调。

[0137] 食物 A 和 B 影响到分泌途径。由于肝脏和肾上腺是分泌器官，这些结果提示所述食物可调节血液和淋巴的组成和其他器官的功能。

[0138] 图 4 显示饲喂食物 A 的小鼠的大脑皮层中差异表达的基因的功能类别和相对分布。在饲喂食物 B 的小鼠的大脑皮层中检测到差异表达的基因的类似分布。饲喂食物 A 和 B 的小鼠的大脑皮层中 DNA 修复和热激蛋白家族基因没有受到阻抑（虽然这些基因在饲喂食物 A 和 B 的小鼠的肝脏和肾上腺中受到阻抑）。

[0139] 实施例 4

[0140] 用上述 GeneChip 测定法测定食物 A 和 B 对衰老加速小鼠肾上腺中各种类别基因的表达的作用。

[0141] 对基因表达谱的比较分析提示，肾上腺是微量营养物状态的重要“传感器”。由于该器官是下丘脑 - 垂体 - 肾上腺轴的组成部分，它还可能是抗氧化性微量营养物的重要效应器。

[0142] 细胞色素 P450 家族：功能基因分析显示细胞色素 P450 家族的成员受食物 A 和 B 的诱导。此家族的受影响成员列表在表 7 中显示。

[0143] 表 7

[0144] 肾上腺中细胞色素 P450 家族成员的诱导

[0145]

细胞色素 P450 的名称	食物 A 倍数变化	食物 B 倍数变化	基因代号
P450 家族 2 亚家族 b 多肽 10	3.0	2.6	Cyp2b10
P450 家族 2 亚家族 c 多肽 70	3.5	6.5	Cyp2c70
P450 家族 2 亚家族 c 多肽 37	3.7	8.0	Cyp2c37
P450 家族 2 亚家族 a 多肽 12	4.3	8.0	Cyp2a12
P450 家族 2 亚家族 c 多肽 40	4.9	7.5	Cyp2c40
P450 家族 3 亚家族 a 多肽 11	5.3	9.8	Cyp3a11
P450 家族 3 亚家族 a 多肽 13	7.5	5.3	Cyp3a15
P450 家族 3 亚家族 a 多肽 16	7.5	13.0	Cyp3a16
P450 家族 3 亚家族 a 多肽 25	9.2	13.0	Cyp3a25

P450 家族 2 亚家族 a 多肽 4	13.9	21.1	Cyp2a4
P450 家族 4 亚家族 a 多肽 10	24.3	29.9	Cyp4a10

[0146] 这些结果证实，食物 A 和 B 诱导了细胞色素 P450 家族基因。细胞色素 P450 家族基因的产物在生物异源物质 (xenobiotics)、花生四烯酸和类甾醇的代谢中起到重要的作用。这提示食物 A 和 B 能调节这一极其重要的神经内分泌器官的类甾醇生成活性。

[0147] 载脂蛋白家族：功能基因分析显示载脂蛋白家族的成员受食物 A 和 B 的诱导。此家族的受影响成员列表在表 8 中显示。

[0148] 表 8

[0149] 肾上腺中载脂蛋白家族成员的诱导

[0150]

基因名称	食物 A 倍数变化	食物 B 倍数变化	基因 代号
载脂蛋白 C-II	2.8	35	Apoc2
载脂蛋白 A-V	4.6	6.5	Apoa5
未命名载脂蛋白，类似于载脂蛋白 B-100	6.1	4.3	---
载脂蛋白 A-I	6.1	5.7	Apoa1
载脂蛋白 A-II	6.5	9.8	Apoa2
载脂蛋白 H	13.0	13.9	Apoh

[0151] 这些结果证实，食物 A 和 B 诱导了载脂蛋白家族基因。载脂蛋白在类甾醇的代谢中起到协同性的重要作用。这提示食物 A 和 B 能调节类甾醇生成特性。

[0152] 编码调节血液动力学特性的产物的基因：功能基因分析显示调节血液动力学特性的基因受到食物 A 和 B 的诱导。此家族的受影响成员列表在表 9 中显示。

[0153] 表 9

[0154] 肾上腺中调节血液动力学特性的基因的诱导

[0155]

基因名称	食物 A 倍数变化	食物 B 倍数变化	基因 代号
纤维蛋白原 α 多肽	2.0	3.0	Fga
凝血因子 X	2.6	4.0	F10
血管生成素	3.2	3.2	Ang

对氧磷酶 1	4.0	7.5	Pon1
激肽原	4.3	4.0	Kng
凝血因子 XIIβ 亚单位	4.6	6.5	F13b
低密度脂蛋白受体相关蛋白 2	5.3	4.3	Lrp2
凝血因子 V	6.5	9.2	F5
纤溶酶原	9.2	10.6	Plg
凝血因子 II	9.2	13.9	F2
血管紧张肽原	9.8	9.2	Agt
纤维蛋白原 β 多肽	9.8	12.1	Fgb

[0156] 这些结果证实，食物 A 和 B 诱导了编码调节血液动力学特性的产物的基因。此外，对氧磷酶 1 的 mRNA 的诱导提示食物 A 和 B 具有抗动脉粥样化作用。对氧磷酶 1 的高血浆水平与动脉粥样化形成的低发生率有关。

[0157] 编码热激蛋白的基因：功能基因分析显示编码热激蛋白的基因家族的表达水平受到阻抑。此家族受影响成员列表示于表 10。

[0158] 表 10

[0159] 肾上腺中热激蛋白基因的阻抑

[0160]

基因名称	食物 A 倍数变化 *	食物 B 倍数变化	基因 代号
热激蛋白	-5.7	NC#	Hsp105
热激蛋白 1A	-4.0	NC	Hsp1a
热激蛋白 1B	-3.0	NC	Hsp1b
热激蛋白 4	-3.0	NC	Hspa4
渗透应激蛋白	-2.8	NC	Osp94
应激诱导磷蛋白 1	-2.6	NC	Stip1
热激蛋白 1α	-2.5	NC	Hspca
DnaJ(Hsp40) 同系物亚家族 A 成员 1	-2.3	NC	Dnaja1

DnaJ(Hsp40) 同系物亚家族 C 成员 7	-2.1	NC	Dnajc7
伴侣蛋白亚单位 5(ε)	-2.1	NC	Cct5
伴侣蛋白亚单位 8(θ)	-2.0	NC	Cct8
蛋白质二硫键异构酶相关蛋白	-2.0	NC	P5 悬垂

[0161] *数字前的连字号 (-) 表示减少。例如，-5.7 的倍数变化表示基因表达水平减少至 5.7 分之一。#NC 指基因表达水平的变化小于两倍。

[0162] 这些结果证实食物 A 阻抑了热激蛋白基因。热激蛋白的诱导与生理应激的增加有关。肾上腺和肝脏中编码热激蛋白、伴侣蛋白和蛋白质二硫键异构酶的基因的活性下降，提示了食物 A 的抗氧化作用（另见表 19）。这些结果值得注意的是，缺乏对经典抗氧化基因如 SOD 和过氧化氢酶基因的表达的作用。这些结果还提示，食物 A 提供了对生理应激的保护作用。

[0163] 编码指示 DNA 损伤的产物的基因：功能基因分析显示编码指示 DNA 损伤的产物的基因家族的表达水平受到阻抑。此家族的受影响成员列表在表 11 中显示。

[0164] 表 11

[0165] 肾上腺中编码指示 DNA 损伤的产物的基因的阻抑

[0166]

基因名称	食物 A 倍数变化 *	食物 B 倍数变化	基因 代号
共济失调性毛细管扩张症突变同系物（人）	-3.0	NC#	Atm
骨髓亲嗜性病毒整合位点相关基因 1	-2.5	NC	Mrg1
损伤特异性 DNA 结合蛋白 1	-2.1	NC	Ddb1
mutS 同系物 2(大肠杆菌)	-2.1	NC	Msh2
中国仓鼠细胞 5 的 X 射线修复 互补缺损修复	-2.1	NC	Xrcc5
成视网膜细胞瘤结合蛋白 9	-2.1	NC	Rbbp9
X 连锁肌管性肌病基因 1	-2.1	NC	Mtm1
切割修复交叉互补啮齿动物修复 缺陷互补群 3	-2.1	NC	Ercc3
成视网膜细胞瘤结合蛋白 7	-2.0	NC	Rbbp7
脊髓小脑共济失调 2 同系物（人）	-2.0	NC	Sca2

亨廷顿蛋白相关蛋白 1	-2.0	NC	Hap1

[0167] *数字前的连字号 (-) 表示减少。例如，-3.0 的倍数变化表示基因表达水平减少至 3.0 分之一。#NC 指基因表达水平的变化小于两倍。

[0168] 这些结果证实食物 A 阻抑了编码指示 DNA 损伤的产物的基因。这些结果还提示食物 A 减少了肾上腺组织中的 DNA 损伤。

[0169] 细胞周期基因 :功能基因分析显示编码调节细胞周期的产物的基因的表达水平受到阻抑。此家族的受影响成员列表在表 12 中显示。

[0170] 表 12

[0171] 肾上腺中编码细胞周期蛋白质的基因的阻抑

[0172]

基因名称	食物 A 倍数变化 *	食物 B 倍数变化	基因 代号
细胞周期蛋白 G1	-2.6	NC#	Ccng1
细胞周期蛋白 D2	-2.6	NC	Ccnd2
CDC23(细胞分裂周期 23,酵母,同系物)	-2.3	NC	Cdc23
细胞周期蛋白 D3	-2.1	NC	Ccnd3
细胞周期蛋白依赖性激酶 5	-2.1	NC	Cdk5
p21 CDKN1A) 活化激酶 2	-2.1	NC	Pak2
RAS p21 蛋白激活剂 1	-2.1	NC	Rasa1
细胞周期蛋白依赖性激酶 8	-2.0	2.0	Cdk8
CDC42 效应蛋白 (Rho GTP 酶结合)4	-2.0	NC	Cdc42ep4
胱天蛋白酶 8	-3.2	NC	Casp8
胱天蛋白酶 4 凋亡相关半胱氨酸蛋白酶	-3.0	NC	Casp4
胱天蛋白酶 12	-2.3	NC	Casp12
Bcl 相关死亡启动子	-2.3	NC	Bad
Bcl2 样 2	-2.1	NC	Bcl2l2
程序性细胞死亡 6 相互作用蛋白	-2.1	NC	Pdcd6ip
程序性细胞死亡 8	-2.0	NC	Pdcd8

程序性细胞死亡 2	-2.0	NC	Pdcd2
膜联蛋白 A1	-2.0	NC	Anxa1
膜联蛋白 A2	-2.0	NC	Anxa2
信号诱导增殖相关基因 1	-2.6	NC	Sipa1

[0173] *数字前的连字号 (-) 表示减少。例如，-2.6 的倍数变化表示基因表达水平减少至 2.6 分之一。#NC 指基因表达水平的变化小于两倍。

[0174] 这些结果证实食物 A 阻抑了编码调节细胞周期的产物的基因。

[0175] 促炎基因 :功能基因分析显示促炎基因的表达水平受到阻抑。此家族的受影响成员列表在表 13 中显示。

[0176] 表 13

[0177] 肾上腺中促炎基因的阻抑

[0178]

基因名称	食物 A 倍数变化 *	食物 B 倍数变化 *	基因 代号
组氨酸脱羧酶	-3.7	NC#	Hdc
活化白血病黏着分子	-3.5	NC	Alcam
原钙粘蛋白 α 4	-3.5	NC	Pcdha4
嗜中性粒细胞胞质因子 4	-3.5	-2.0	Ncf4
肥大细胞蛋白酶 5	-2.8	NC	Mcpt5
组织蛋白酶 S	-2.6	NC	Ctss
钙黏着蛋白 2	-2.6	NC	Cdh2
连接细胞黏着分子 3	-2.6	NC	Jcam3
巨噬细胞表达基因 1	-2.5	NC	Mpeg1
组织蛋白酶 B	-2.3	NC	Ctsb
钙细胞周期蛋白结合蛋白	-2.3	NC	Cacybp
对氧磷酶 2	-2.3	NC	Pon2
P 溶菌酶结构	-2.1	NC	Lzp-s

白三烯 B412- 羟基脱氢酶	-2.1	NC	Ltb4dh
溶酶体酸性脂肪酶 1	-2.0	NC	Lip1
溶菌酶	-2.0	NC	Lyzs
组氨酸氨裂解酶	2.3	3.2	Hal

[0179] *数字前的连字号 (-) 表示减少。例如，-3.7 的倍数变化表示基因表达水平减少至 3.7 分之一。#NC 指基因表达水平的变化小于两倍。

[0180] 这些结果证实与炎症有关的基因受到食物 A 的阻抑。这些作用中有些可归因于特定细胞群体如肥大细胞和侵袭性巨噬细胞的减少。这些基因的阻抑可部分由编码促炎转录因子的亚单位、核因子 κB(NF-kB)、促分裂原活化蛋白 (MAP) 激酶和转录的刺激剂和活化剂 (STAT) 的基因的阻抑来解释。

[0181] 编码与嗜铬分泌途径有关的蛋白质的基因：功能基因分析显示调节该分泌途径的基因的表达水平受到阻抑。此家族的受影响成员列表在表 14 中显示。

[0182] 表 14

[0183] 肾上腺中调节嗜铬分泌途径的基因的阻抑

[0184]

基因名称	食物 A 倍数变化 *	食物 B 倍数变化	基因 代号
液胞膜蛋白 p24	-4.3	NC#	Vmp
分泌用 Ca^{2+} 依赖性激活蛋白	-3.7	NC	Cadps
分泌粒蛋白 III	-3.0	NC	Scg3
突触结合蛋白 4	-3.0	NC	Syt4
核输出蛋白 1，CRM1 同系物 (酵母)	-3.0	NC	Xpo1
突触结合蛋白样 4	-3.0	NC	Syt14
离子型谷氨酸受体 AMPA2(α 2)	-3.0	NC	Gria2
突触小体相关蛋白 25	-2.8	NC	Snap25
神经毡蛋白	-2.6	NC	Nrp
分泌粒蛋白 III	-2.6	NC	Scg3
突触小体相关蛋白 25 结合蛋白	-2.6	NC	Snap25bp

突触小体相关蛋白 91	-2.6	NC	Snap91
突触结合蛋白 1	-2.5	NC	Syt1
突触小泡蛋白	-2.5	NC	Syp
发动蛋白 1 样	-2.5	NC	Dnm1l
细胞毒性颗粒相关 RNA 结合蛋白 1	-2.5	NC	Tia1
Rab 接触蛋白 5	-2.5	NC	Rab5ep
发动蛋白	-2.5	NC	Dnm
微管相关蛋白 τ	-2.5	NC	Mapt
突触融合蛋白 4A(胎盘)	-2.3	NC	Stx4a
分泌颗粒神经内分泌蛋白 1,7B2 蛋白	-2.3	NC	Sgne1
液胞膜蛋白 p24	-2.3	NC	Vmp
冠蛋白,肌动蛋白结合蛋白 1A	-2.3	NC	Coro1a
嗜铬粒蛋白 A	-2.1	NC	Chga
突触结合蛋白样 4	-2.1	NC	Syt14
外被体蛋白复合体亚单位 α	-2.1	NC	Copa
动力蛋白,细胞质,轻链 2A	-2.1	NC	Dnc12a
外被体蛋白复合体亚单位 γ 1	-2.1	NC	Copg1
小泡相关膜蛋白 4	-2.1	NC	Vamp4
sec13 样蛋白	-2.1	NC	Sec13l
钙联接蛋白	-2.1	NC	Canx
突触融合蛋白结合蛋白 3	-2.1	NC	Stxbp3
空泡蛋白分选 16(酵母)	-2.1	NC	Vps16
SEC22 小泡运输蛋白样 1(酿酒酵母)	-2.1	NC	Sec22l1
外被体蛋白复合体亚单位 β2(β′)	-2.1	NC	Copb2

蛋白聚糖分泌颗粒	-2.0	NC	Prg
突触融合蛋白 6	-2.0	NC	Stx6
微管蛋白 α 3	-2.0	NC	Tuba3
加帽蛋白 α 1	-2.0	NC	Cappa1
分泌载体膜蛋白 1	-2.0	NC	Scamp1

[0185] *数字前的连字号 (-) 表示减少。例如，-4.3 的倍数变化表示基因表达水平减少至 4.3 分之一。#NC 指基因表达水平的变化小于两倍。

[0186] 这些结果证实食物 A 阻抑了编码与嗜铬分泌途径有关的蛋白质的基因。

[0187] 编码调节基因转录的产物的基因 :功能基因分析显示调节转录的基因的表达水平受到阻抑。此家族的受影响成员列表在表 15 中显示。

[0188] 表 15

[0189] 肾上腺中调节基因转录的基因的阻抑

[0190]

基因名称	食物 A 倍数变化 *	食物 B 倍数变化	基因 代号
剪接因子 3b 亚单位 1	-2.5	NC#	Sf3b1
Trf(TATA 结合蛋白相关因子)- 近侧 蛋白质同系物 (果蝇)	-2.5	NC	Trfp
RNA 结合基序蛋白 10	-2.5	NC	Rbm10
转录因子 4	-2.3	NC	Tcf4
转录因子 12	-2.3	NC	Tcf12
聚合酶 (DNA 指导的) β	-2.3	NC	Polb
CCR4-NOT 转录复合物亚单位 2	-2.3	NC	Cnot2
切割刺激因子,3′ pre-RNA,亚单位 2, τ	-2.3	NC	Cstf2 τ - 悬垂
剪接因子,富精氨酸 / 丝氨酸 1(ASF/SF2)	-2.3	NC	Sfrs1
通用转录因子 III	-2.1	NC	Gtf2i

YY1 转录因子	-2.1	NC	Yy1
CCAAT/ 增强子结合蛋白 α (C/EBP), 相关序列 1	-2.1	NC	Cebpa-rs1
PRP4pre-mRNA 加工因子 4 同系物 B(酵母)	-2.1	NC	Prpf4b
剪接因子 3a, 亚单位 3,60kDa	-2.0	NC	Sf3a3
聚合酶 (RNA)II(DNA 指导的) 多肽 H	-2.0	NC	Polr2h

[0191] *数字前的连字号 (-) 表示减少。例如，-2.5 的倍数变化表示基因表达水平减少至 2.5 分之一。#NC 指基因表达水平的变化小于两倍。

[0192] 这些结果证实，食物 A 阻抑了编码转录机制的关键酶的基因。这可解释肾上腺中基因表达的净下降。

[0193] NF-kB 途径基因 :功能基因分析显示编码作为活性 NF-kB 途径的指示物或其活性的关键调节物的产物的基因其表达水平受到阻抑。此家族的受影响成员列表在表 16 中显示。

[0194] 表 16

[0195] 肾上腺中 NF-kB 途径基因的阻抑

[0196]

基因名称	食物 A 倍数变化 *	食物 B 倍数变化 *	基因代号
血清淀粉样蛋白 A 3	-8.0	-5.3	Saa3
淋巴毒素 B	-4.6	NC#	Ltb
B 细胞中 κ 轻链多肽基因增强子核因子 2, p49/p100	-2.6	NC	Nfkb2
B 细胞中 κ 轻链多肽基因增强子核因子抑制剂 α	-2.3	NC	Nfkbia
CCPAT/ 增强子结合蛋白 α (C/EBP), 相关序列 1	-2.1	NC	Cebpa-rs1
肿瘤坏死因子受体超家族, 成员 1a	-2.1	NC	Tnfrsf1a
B 细胞中 κ 轻链多肽基因增强子核因子 1, p105	-2.0	NC	Nfkb1

[0197] *数字前的连字号 (-) 表示减少。例如，-8.0 的倍数变化表示基因表达水平减少

至 8.0 分之一。#NC 指基因表达水平的变化小于两倍。

[0198] 这些结果证实，食物 A 阻抑了编码作为活性 NF-kB 途径的指示物或其活性的关键调节物的产物的基因的表达。此外，食物 B 阻抑了血清淀粉样蛋白 A 3 基因。编码转录因子 NF-kB 亚单位的基因的协同阻抑可解释造成炎症和调节免疫反应的基因的阻抑（另见图 2）。

[0199] 实施例 5

[0200] 用上述 GeneChip 测定法测定食物 A 和 B 对衰老加速小鼠肝脏中各种类别基因的表达的作用。

[0201] 免疫功能相关基因：功能基因分析显示免疫功能相关基因受到食物 A 和 B 的阻抑。此家族的受影响成员列表在表 17 中显示。

[0202] 表 17

[0203] 肝脏中免疫功能相关基因的阻抑

[0204]

基因名称	食物 A 倍数变化 *	食物 B 倍数变化 *	基因代号
免疫球蛋白 λ 链，可变区 1	-78.8	-78.8	Ig1-V1
组织相容性 2，II 类，基因座 Mb1	-52.0	-6.1	H2-DMb1
淋巴毒素 B	-39.4	-128.0	Ltb
趋化因子（C-C 基序）配体 5	-34.3	-27.9	Cc15
带三十四肽的干扰素诱导蛋白	-29.9	-10.6	Ifit2
组织相容性 2，II 类，基因座 Mb2	-29.9	-8.6	H2-DMb2
血清类黏蛋白 2	-24.3	-13.0	Orm2
免疫球蛋白重链 6(IgM 的重链)	-24.3	-29.9	Igh-6
免疫球蛋白重链 4(血清 IgG1)	-24.3	-19.7	Igh-4
CD52 抗原	-22.6	-32.0	Cd52
CD24a 抗原	-21.1	-24.3	Cd24a
趋化因子（C-X-C 基序）受体 4	-21.1	NC#	Cxcr4
干扰素调节因子 4	-19.7	-17.1	Irf4
嗜中性粒细胞胞质因子 1	-19.7	-13.0	Ncf1

淋巴母细胞性白血病	-18.4	-64.0	Ly11
淋巴细胞特异性 1	-18.4	-48.5	Lsp1
趋化因子 (C-X-C 基序) 配体 13	-16.0	-36.8	Cxcl13
血清淀粉样蛋白 A 2	-16.0	-6.1	Saa2
免疫球蛋白 κ 链可变 8(V8)	-16.0	-13.0	Igk-V8
CD79B 抗原	-14.9	-14.9	Cd79b

[0205] *数字前的连字号 (-) 表示减少。例如,-78.8 的倍数变化表示基因表达水平减少至 78.8 分之一。#NC 指基因表达水平的变化小于两倍。

[0206] 这些结果证实,食物 A 和 B 阻抑了与免疫功能有关的基因。编码免疫球蛋白的重和轻 (可变区,抗原结合) 肽链的基因的协同阻抑提示,食物 A 和 B 可调节免疫系统的体液“武器”,表明了各自在调节淋巴细胞功能中的重要性。由于这些转录物通常与淋巴细胞有关且转录物在肝脏中检测出,这些数据提示食物 A 和 B 可靶向淋巴系统,至少肝脏的淋巴系统。食物 A 和 B 对淋巴细胞功能的阻抑作用由 CD 79、CD 52 和 CD24 的 mRNA 的阻抑得到进一步证实。如表 17 所示,食物 B 在抑制淋巴细胞的活性上似乎更有力。

[0207] 食物 A 和 B 在肾上腺和肝脏中具有抗炎症谱 (profile)。这些基因的阻抑可部分由编码促炎转录因子的亚单位、核因子 κ B(NF-kB)、促分裂原活化蛋白 (MAP) 激酶和转录的刺激剂和活化剂 (STAT) 的基因的阻抑来解释。

[0208] 编码糖酵解酶和线粒体氧化途径蛋白质的基因 :功能基因分析显示编码糖酵解酶和线粒体氧化途径蛋白质的基因受到食物 A 和 B 的阻抑。此家族的受影响成员列表在表 18 中显示。

[0209] 表 18

[0210] 肝脏中编码糖酵解酶和线粒体氧化途径蛋白质的基因的阻抑

[0211]

基因名称	食物 A 倍数变化 *	食物 B 倍数变化 *	基因 代号
丙酮酸脱氢酶激酶,同工酶 3	-9.2	-13.9	Pdk3
丙酮酸激酶,肌肉	-6.5	-5.7	Pkm2
磷酸果糖激酶,血小板	-4.6	-5.7	Pfkp
腺苷酸琥珀酸裂解酶	-4.3	-3.7	Ads1
醛缩酶 1,A 同种型	-3.7	-3.2	Aldo1
己糖激酶 1	-3.2	-2.3	Hk1

甘油醛 -3- 磷酸脱氢酶	-3.2	-2.1	Gapd
磷酸果糖激酶，肝脏，B 型	-3.2	NC#	Pfk1
葡糖磷酸异构酶 1	-3.0	-2.3	Gpi1
6- 磷酸葡糖内酯酶	-3.0	-2.1	Pgls
转醛醇酶 1	-3.0	-2.1	Taldo1
转酮醇酶	-3.0	NC	Tkt
2,3- 二磷酸甘油变位酶	-2.8	-2.6	Bpgm
ATP 柠檬酸裂解酶	-2.6	-2.5	Acly
ATP 酶，H+ 转运，V0 亚单位 B	-2.6	-1.9	Atp6v0b
ATP 酶，H+ 转运，V0 亚单位 D 同种型 1	-2.6	-1.9	Atp6v0d1
细胞色素 c 氧化酶亚单位 VIIa 多肽 2 样	-2.6	-1.9	Cox7a21
ATP 酶，H+ 转运，V1 亚单位 A，同种型 1	-2.6	NC	Atp6v1a1
NADH 脱氢酶（泛醌）1 α 亚复合体，3	-2.6	NC	Ndufa3
烯醇酶 1，α 非神经元	-2.5	-1.7	Eno1

[0212] *数字前的连字号 (-) 表示减少。例如，-9.2 的倍数变化表示基因表达水平减少至 9.2 分之一。#NC 指基因表达水平的变化小于两倍。

[0213] 这些结果证实，食物 A 和 B 阻抑了编码葡萄糖和丙酮酸代谢中的速度控制酶的基因的表达。食物 A 和 B 对编码中间代谢的酶的基因的作用表明了它们独特的和组织特异性的作用。这些作用模拟了热量限制作用。

[0214] 编码核糖体蛋白质的基因：功能基因分析显示编码核糖体蛋白质的基因受到食物 A 和 B 的阻抑。此家族的受影响成员列表在表 19 中显示。

[0215] 表 19

[0216] 肝脏中编码核糖体蛋白质的基因的阻抑

[0217]

基因名称	食物 A 倍数变化 *	食物 B 倍数变化 *	基因 代号
线粒体核糖体蛋白 L54	-4.3	NC#	Mrpl54
核糖体蛋白 S11	-4.0	-3.2	Rps11

核糖体蛋白 S19	-4.0	-2.3	Rps19
线粒体核糖体蛋白 L44	-3.7	-1.9	Mrpl44
核糖体蛋白 L13a	-3.5	-3.2	Rpl13a
核糖体蛋白 S8	-3.5	-3.0	Rps8
核糖体蛋白 S12	-3.5	-2.8	Rps12
核糖体蛋白 S26	-3.5	-2.6	Rps26
核糖体蛋白 L27a	-3.5	-2.5	Rpl27a
核糖体蛋白 L8	-3.2	-2.8	Rpl8
核糖体蛋白 S23	-3.2	-2.8	Rps23
核糖体蛋白 L37	-3.2	-2.6	Rpl37
核糖体蛋白 L13	-3.2	-2.5	Rpl13
核糖体蛋白 S3	-3.2	-2.5	Rps3

[0218] *数字前的连字号 (-) 表示减少。例如，-4.3 的倍数变化表示基因表达水平减少至 4.3 分之一。#NC 指基因表达水平的变化小于两倍。

[0219] 这些结果证实，食物 A 和 B 阻抑了编码核糖体蛋白质的基因的活性。这两种食物的这些作用的可能结果将是蛋白质合成的抑制，且可把它与表 17 所示的葡萄糖和丙酮酸代谢的抑制联系起来。

[0220] 编码热激蛋白的基因：功能基因分析显示编码热激蛋白的基因受到阻抑。此家族的受影响成员列表在表 20 中显示。

[0221] 表 20

[0222] 肝脏中编码热激蛋白的基因的阻抑

[0223]

基因名称	食物 A 倍数变化 *	食物 B 倍数变化 *	基因 代号
热激蛋白	-5.7	-2.6	Hsp105
热激蛋白 1 α	-5.3	-3.2	Hspca
DnaJ(Hsp40) 同系物亚家族 C 成员 7	-4.3	-2.8	Dnajc7
热激蛋白 1 β	-3.2	-2.3	Hspcb

热激蛋白 4	-2.8	NC#	Hspa4
热激蛋白 8	-2.8	NC	Hspa8
DnaJ(Hsp40) 同系物亚家族 C 成员 2	-2.6	NC	Dnajc2
热激 70kD 蛋白 5(葡萄糖调节蛋白)	-2.6	NC	Hspa5

[0224] *数字前的连字号 (-) 表示减少。例如，-5.7 的倍数变化表示基因表达水平减少至 5.7 分之一。#NC 指基因表达水平的变化小于两倍。

[0225] 这些结果证实，食物 A 和 B 阻抑了编码热激蛋白的基因。这些基因在转录水平上被调节，并因响应细胞应激如氧化物应激而被诱导。如前所讨论，食物 A 和 B 的抗氧化作用由肝脏和肾上腺中编码热激蛋白、伴侣蛋白和蛋白质二硫键异构酶的基因活性的下降来显示 (另见表 9)。这些结果值得注意的是，缺乏对经典抗氧化基因如 SOD 和过氧化氢酶基因的表达的作用。

[0226] 编码 DNA 修复酶的基因 :功能基因分析显示编码 DNA 修复酶的基因受到阻抑。此家族的受影响成员列表在表 21 中显示。

[0227] 表 21

[0228] 受 DNA 损伤诱导的基因的阻抑

[0229]

基因名称	食物 A 倍数变化 *	食物 B 倍数变化 *	基因 代号
成神经细胞瘤 ras 癌基因	-3.5	-2.6	Nras
成视网膜细胞瘤结合蛋白 7	-3.2	-2.5	Rbbp7
成视网膜细胞瘤结合蛋白 4	-3.2	-2.3	Rbbp4
RAD21 同系物 (裂殖酵母)	-2.8	-2.1	Rad21
成视网膜细胞瘤 1	-2.8	NC#	Rb1

[0230] *数字前的连字号 (-) 表示减少。例如，-3.5 的倍数变化表示基因表达水平减少至 3.5 分之一。#NC 指基因表达水平的变化小于两倍。

[0231] 这些结果证实，食物 A 和 B 阻抑了肝脏中编码 DNA 修复酶的基因。这些基因在转录水平上被调节，并因响应细胞应激如氧化物应激或 DNA 损伤而被诱导。

[0232] 实施例 6

[0233] 用上述 GeneChip 测定法测定食物 A 和 B 对 SAM 大脑皮层中各种类别基因的表达的作用。这些测定得到的结果在表 22(食物 A) 和 23(食物 B) 中给出。

[0234] 表 22

[0235] 食物 A 对大脑皮层中的基因的表达的作用

[0236]

基因名称	食物 A 倍数变化 *
Ia 相关可变链	-3.0
环指蛋白 4	-2.8
T 细胞特异性 GTP 酶	-2.8
衔接头相关蛋白复合体 2，β1 亚单位	-2.6
双相情感分裂障碍 1 同系物（人类）	-2.6
Proprotem 转化酶枯草杆菌蛋白酶 /kexin 5 型	-2.5
homer 类似物 1（果蝇）	-2.5
转基因插入位点 737，插入突变，多囊肾病	-2.5
同源异型框 A4	-2.5
RIKEN cDNA D930018N21 基因	-2.3
父本表达的 10	-2.3
葡萄糖磷酸异构酶	-2.3
免疫球蛋白 κ 链可变 8(V8)	-2.1
含缬酪肽蛋白	-2.1
微管蛋白 β2	-2.1
A 激酶 (PRKA) 锚定蛋白 8	-2.1
HLA-B 相关转录物 2	-2.1
鸟苷酸结合蛋白 2	-2.1
B 细胞受体相关蛋白 37	-2.1
组织相容性 2，Q 区基因座 7	-2.1
聚合酶 (DNA 指导的)，δ1，催化亚单位	-2.1
主要尿蛋白 1	-2.1

RAS 相关 C3 肉毒杆菌底物 2	-2.0
红细胞蛋白条带 7.2	-2.0
含 BTB(POZ) 结构域 3	-2.0
主要尿蛋白 3	-2.0
促生长素抑制素受体 2	-2.0
runt 相关转录因子 2	-2.0
胎盘特异性 8	-2.0
蛋白酶,丝氨酸,25	-2.0
整联蛋白 α 3	-2.0
假设蛋白 MGC41229	-2.0
DiGeorge 综合征关键区域基因 6	-2.0
波形蛋白	-2.0
氨基乙酰丙酸合酶 2,红细胞	-2.0
含 SRY 盒基因 18	-2.0
钙 / 钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II α	-2.0
成蛋白样	-2.0
成蛋白样	-2.0
血红蛋白, β 成人主链	-2.0
突触融合蛋白 3	2.0
forkhead 盒 C1	2.0
distal-less 同源异型框 1	2.1
跨膜 4 超家族成员 8	2.1
带三十四肽重复序列的干扰素诱导蛋白质	2.1
磺基转移酶家族 1A,酚偏好,成员 1	2.3

前 B 细胞白血病转录因子 3	2.3
eomesodermin 同系物（光滑爪蟾）	2.3

[0237] *数字前的连字号 (-) 表示减少。例如，-3.5 的倍数变化表示基因表达水平减少至 3.5 分之一。#NC 指基因表达水平的变化小于两倍。

[0238] 表 23

[0239] 食物 B 对大脑皮层中的基因的表达的作用

[0240]

基因名称	食物 A 倍数变化 *
髓细胞瘤病癌基因	-3.7
间隙连接膜通道蛋白 β 6	-3.6
基团特异性成分	-3.4
细胞色素 P450 家族 3 亚家族 a 多肽 11	-3.4
锌指蛋白 146	-3.3
主要尿蛋白 1	-3
DNA 甲基转移酶 3A	-3
微管蛋白 β 5	-2.9
HLA-B 相关转录物 2	-2.7
干扰素可诱导的 GTP 酶	-2.4
衔接头相关蛋白复合体 2，β 1 亚单位	-2.2
主要尿蛋白 1	-2.2
RIKEN cDNA 2610016K11 基因	-2.1
酸性（富亮氨酸）核磷蛋白 32 家族成员 A	2
腮腺分泌蛋白	2.1
钙黏着蛋白	2.2
EST	2.7

RIKEN cDNA 1110061004 基因	4.5
尾突	6.3

[0241] *数字前的连字号 (-) 表示减少。例如，-3.5 的倍数变化表示基因表达水平减少至 3.5 分之一。#NC 指基因表达水平的变化小于两倍。

[0242] 如前所讨论，图 4 显示饲喂食物 A 的小鼠的大脑皮层中差异表达的基因的功能类别和相对分布。在给予食物 B 的小鼠的大脑皮层中检测到差异表达的基因的类似分布。

[0243] 图 5 说明对上述 GeneChip 分析所获得的 mRNA 表达谱的“分级聚类分析”确定的对照食物、食物 A 和食物 B 的差别性作用。在图 5 中，显示低相对表达的基因具有“浅”或“柔和”的颜色，而显示高相对表达的基因具有明亮的颜色。变化范围是 2 个标准偏差单位。

[0244] 受食物 A 和 B 影响的大脑皮层基因的总数比在肝脏和肾上腺中检测到的低得多，这可提示该器官对膳食成分直接作用的“保护”更大。大脑除受影响基因数目较少外，对其基因的表达的影响范围也较窄。例如，在肝脏中，对基因表达的影响在 130 分之一至 +3 倍的范围，在肾上腺中为 10 分之一至 +45 倍，而在大脑皮层中表达的变化范围为 3 分之一至 +7 倍。

[0245] 如图 4 所示，与免疫功能和转录因子有关的基因构成了最大的受影响基因群体。这些数据特别值得注意的是，缺乏对编码热激蛋白和细胞周期蛋白的基因的作用。但是，许多调节突触功能的基因如“Homer 1”受到食物 A 和 B 相似程度的阻抑。Homer 1 调节谷氨酸受体特异性亚单位向突触膜的靶向和调节钙离子的作用。类似地，食物 A 和 B 两者也阻抑钙 / 钙调蛋白依赖性蛋白激酶的基因的表达，进一步证实了食物 A 和 B 调节钙依赖性信号转导途径的这一意见。还有，双特异性磷酸酶（蛋白激酶调节信号转导途径的重要酶）的 mRNA 被食物 B 诱导～ 20 倍。

[0246] 在以上说明书中，已公开了本发明的典型优选实施方案，虽然采用了特定的术语，但它们只以一般的和非限定的意义使用，并不出于限制目的，本发明的范围由所附权利要求书阐明。显然，根据以上教导，本发明可能有许多修改和变化方案。因此应了解到，在所附权利要求书的范围内，本发明可按本文的具体描述以外的方式来实施。

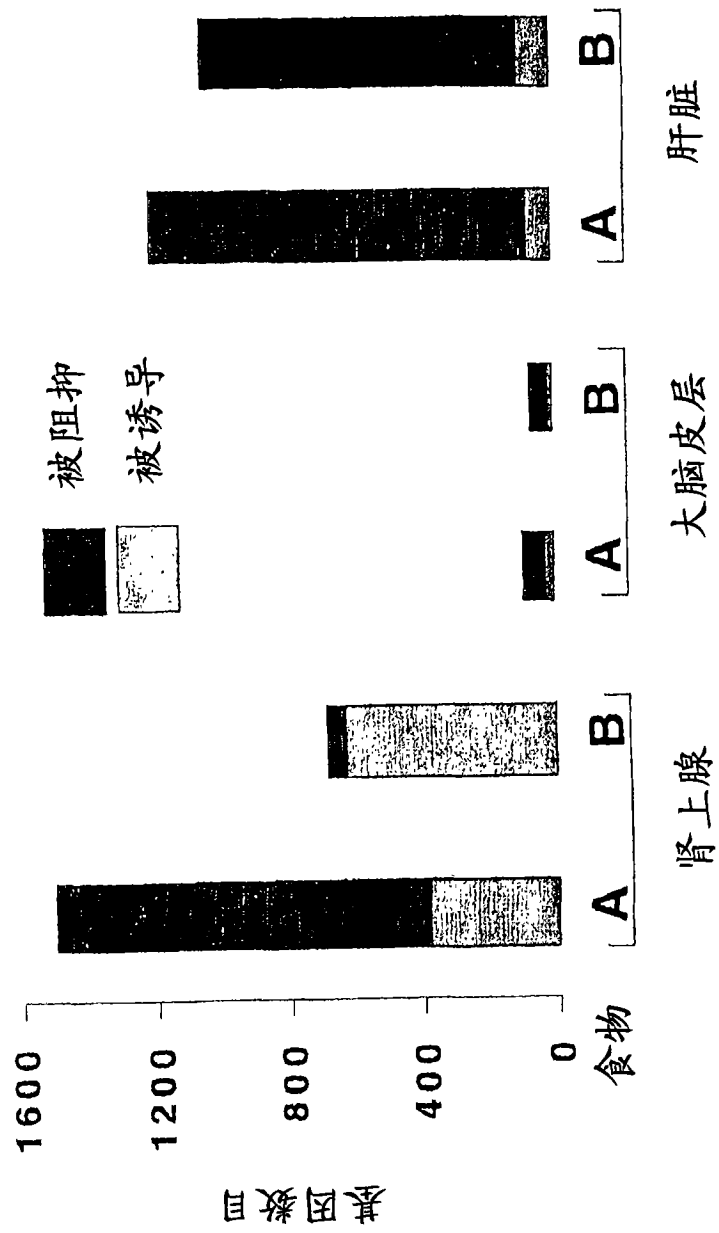


图 1

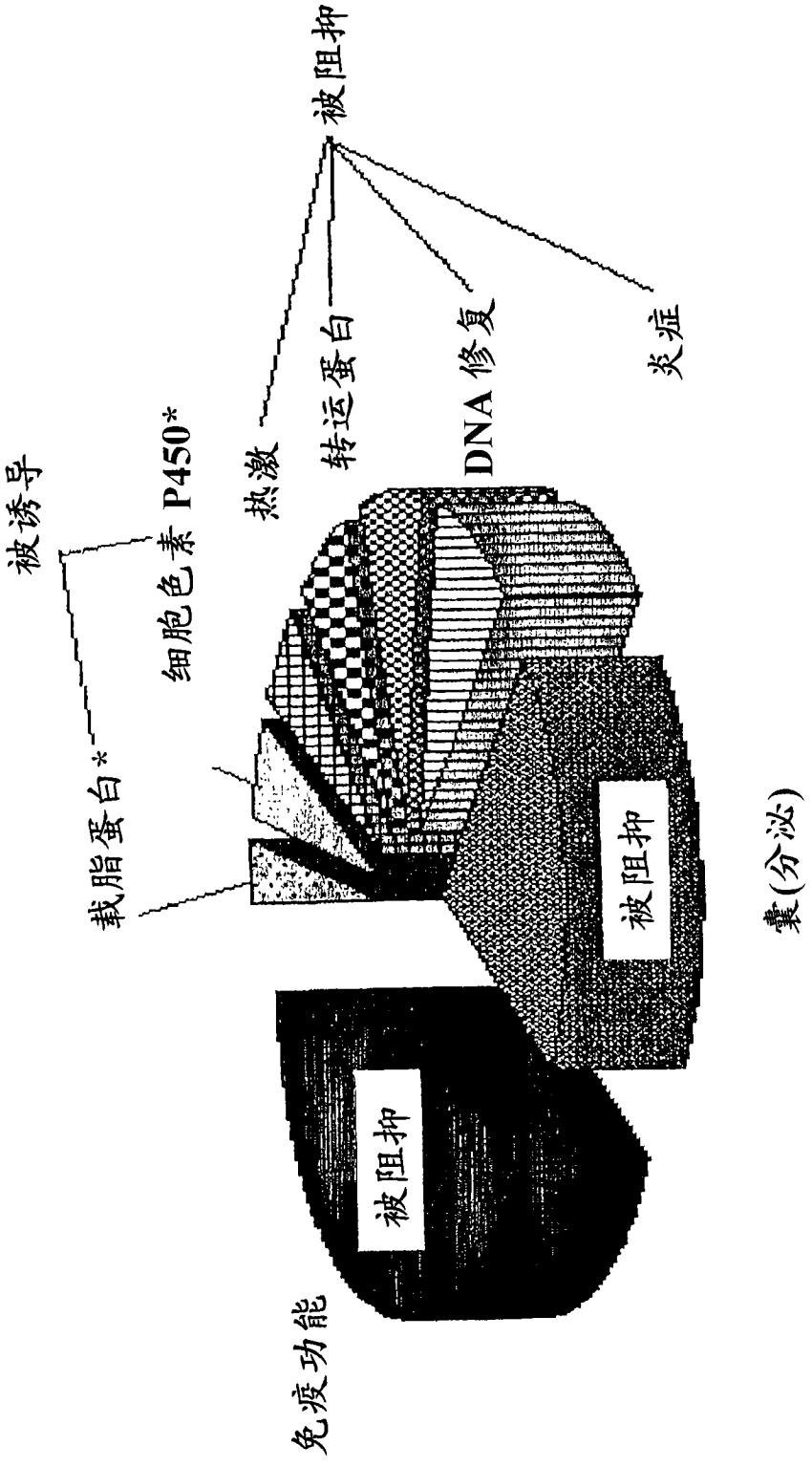


图 2

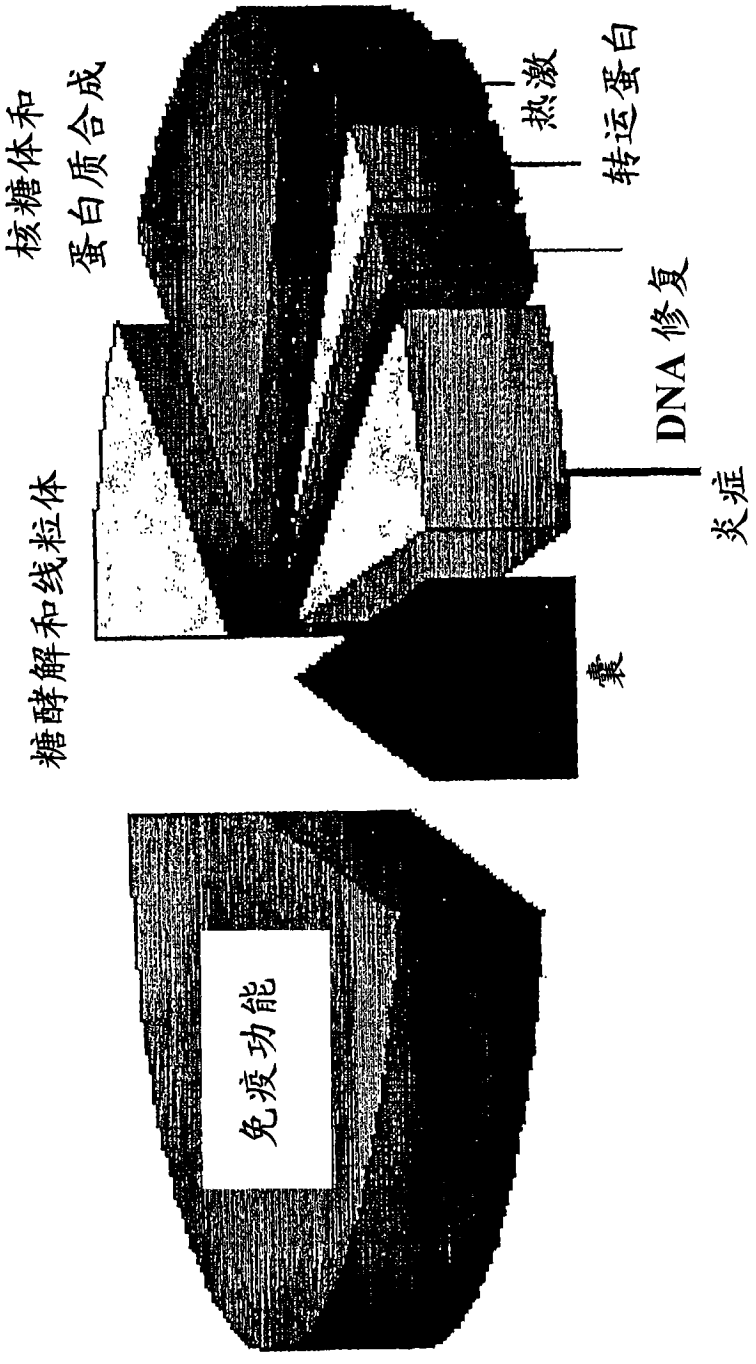


图 3

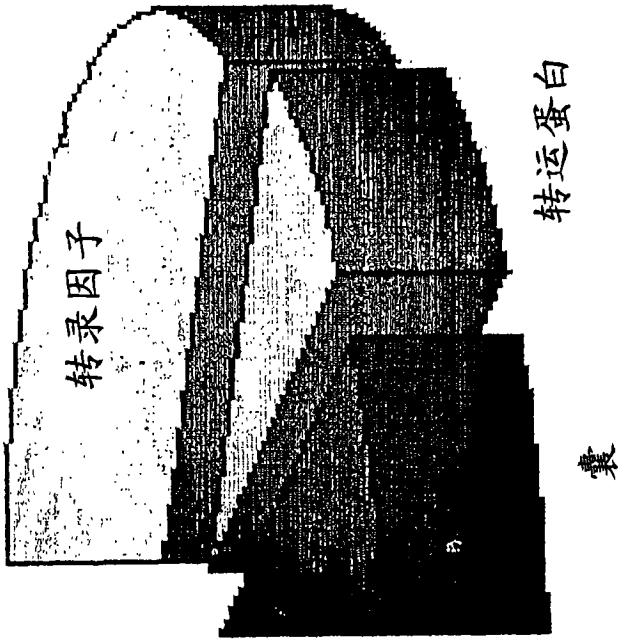
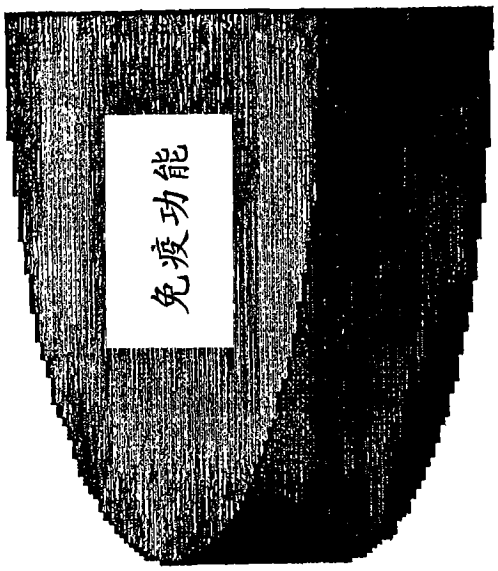


图 4



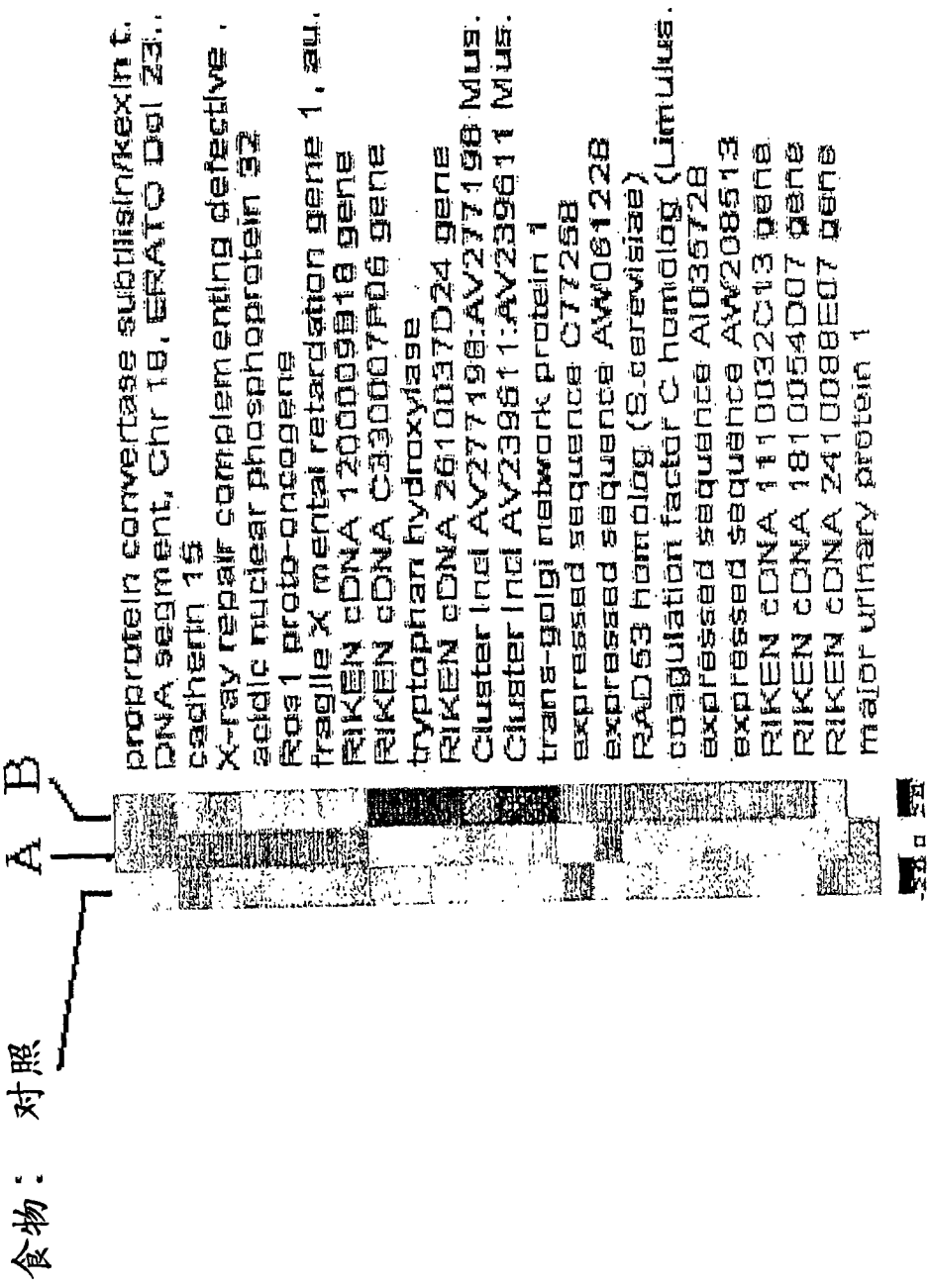

食物：
对照
A
B
proprotein convertase subtilisin/kexin t.
DNA segment, Chr 18, ERATO Dgl 23..
cadherin 15
X-ray repair complementing defective .
acidic nuclear phosphoprotein 32
Ros1 proto-oncogene
fragile X mental retardation gene 1, au.
RIKEN cDNA 1200009B18 gene
RIKEN cDNA C330007F06 gene
tryptophan hydroxylase
RIKEN cDNA 2610037D24 gene
Cluster Incl AV277198:AV277198 Mus.
Cluster Incl AV239611:AV239611 Mus.
trans-golgi network protein 1
expressed sequence C77258
expressed sequence AW061228
RAD53 homolog (S.cerevisiae)
coagulation factor C homolog (Limulus.
expressed sequence AI036728
expressed sequence AW208513
RIKEN cDNA 1110032C13 gene
RIKEN cDNA 1810054D07 gene
RIKEN cDNA 2410088E07 gene
major urinary protein 1

图 5