

茶色素和茶多酚防癌作用的研究

刘泽焱 韩 驰

(中国疾控中心营养与食品安全所,北京 100050)

摘 要:为了解茶色素和茶多酚的防癌作用,用 1 组体外短期试验,检测茶多酚和茶色素在肿瘤的“启动”、“促癌”和“增殖”3 个不同阶段的作用。结果表明茶多酚和茶色素对丝裂霉素(MMC)的致突变性及致微核形成均有明显的抑制作用;茶多酚和茶色素可明显阻断促癌物 12 - 0 - 四萜酰基 - 佛波 - 13 - 乙酸酯(TPA)的促癌作用;明显抑制 HeLa 细胞在软琼脂中形成集落的能力和降低 HeLa 细胞的存活率;对荷瘤小鼠体内瘤体生长有一定的抑制作用。在本实验条件下茶多酚和茶色素对癌症形成 3 个阶段均有抑制作用。

关键词:茶;肿瘤;化学预防

Studies on cancer prevention by tea polyphenols and tea pigments

LIU Ze-qin, HAN Chi

(National Institute for Nutrition and Food Safety, Chinese CDC, Beijing 100050, China)

Abstract: A group of short-screening tests were used to investigate the preventive effects of tea polyphenols and tea pigments on different phases (initiation, promotion and progression) of carcinogenesis. The results showed that tea polyphenols and tea pigments significantly inhibited the mutation and micronuclei formation induced by MMC. They also significantly inhibited the colonizing ability of HeLa cells in soft agar and the survival of HeLa cells, and showed significant inhibitive effect on the carcinogenicity of TPA; In addition, tea polyphenols and tea pigments inhibited the growth of solid tumors of mice. In conclusion, tea polyphenols and tea pigments had inhibitory effects over the three phases of carcinogenesis under the present conditions.

Key word: Tea; Neoplasms; Chemoprevention

许多动物试验证实饮茶对化学物质引起的食道、前胃、肝、大肠、口腔等多种肿瘤的发生具有明显的预防作用^[1,2]。许多国内外学者都认为茶多酚是茶叶防癌的主要有效成分,因为茶多酚具有抗氧化、诱导解毒酶、调节机体免疫等作用。然而,我们最近的研究结果表明茶叶中另一类主要成分茶色素对实验性肿瘤也具有不亚于茶多酚的预防作用。茶色素是红茶的主要成分,其主要由茶红素和茶黄素组成。已有报导,茶色素也具有很强的抗氧化作用。为了进一步研究茶多酚氧化成茶色素后是否仍具有很强的防癌作用,本研究根据癌症发生的多阶段理论^[3,4],选择一组体外短期检测试验,对茶色素和茶多酚在致癌过程的启动、促进、增殖阶段的作用进行检测和比较。

1 材料和方法

1.1 材料 茶多酚(纯度 40%)和茶色素(40%茶多酚的氧化后产物,含 21.5%的茶黄素)由中国农业科学院杭州茶科所提供。中国地鼠 V79 细胞(6TG 敏感型)、M 细胞(6TG 耐受型)、BALB/C3T3 细胞株均购自中国医学科学院肿瘤医学研究所。HeLa 细胞株购自中国医学科学院基础医学研究所。丝裂霉素 C(以下简称 MMC)、2 - 0 - 四萜酰基 - 佛波 - 13 - 乙酸酯(以下简称 TPA)均购自 Sigma 公司。

1.2 方法 V79 细胞基因正向突变试验参照 Cajelli 等的方法进行^[5];V79 细胞周期阻滞法微核实验参照 Krishna 等的方法进行^[6];V79 细胞代谢协作实验参照 Yotti 等的方法进行^[7]。TPA 诱发小鼠耳皮肤炎性水肿实验参照 Gschwendt 的方法进行^[8];HeLa 细胞存活率及软琼脂生长能力的测定参照吴德丰的方法进行^[9];小鼠 S₁₈₀ 实体瘤的检测参照 Yamaguchi T 的方法进行^[10]。

1.3 统计学方法 实验数据均用 PEMS2.0 统计分析软件包分析,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

作者简介:刘泽焱 女 副主任技师
通讯作者:韩驰 女 研究员

2 结果

2.1 对启动阶段的作用 茶多酚和茶色素对 MMC 诱发 V79 细胞基因正向突变及微核发生均有明显的抑制作用并呈剂量反应关系。剂量在 100 mg/L 时茶多酚及茶色素对 V79 细胞基因正向突变的抑制率分别为 59.5% 和 76.7% (见表 1), 对微核形成的抑制率为 62.0% 和 50.8% (见表 2)。结果表明茶多酚与茶色素均有明显的抗突变作用, 对癌症发生的启动有明显阻断作用。

表 1 茶多酚及茶色素对 V79 细胞基因正向突变的影响

处理	剂量 mg/L	突变集落数 (个/10 ⁶ cells)	存活率 %	突变数 (个/10 ⁶ cells)	抑制率 (%)
MMC ^a		61	32.4	188.3	
茶多酚	10	43	32.4	132.7	29.5
	50	34	32.3	105.3	45.3
	100	19	24.9	76.3	59.5
MMC ^a		27	30.8	219.0	
茶色素	10	12	37.8	79.0	43.9
	50	12	41.3	73.0	66.7
	100	8	39.5	51.0	76.7

注:a: MMC 终浓度为 0.5 μg/ml。

表 2 茶多酚和茶色素对 MMC 诱发 V79 细胞微核发生的影响

处理	剂量 mg/L	微核数 (%双核细胞)	抑制率 %
MMC ^a		73.2	
茶多酚	10	52.9	27.5
	50	41.7	42.2
	100	27.4	62.0
MMC ^a		70.0	
茶色素	10	48.0	33.3
	50	42.0	43.1
	100	37.0	50.8

注:a: MMC 终浓度为 0.5 μg/ml。

2.2 对促癌阶段的作用 以 TPA 为促癌剂, 选用 V79 细胞代谢协作检测。该试验是检测细胞间信息交流的一种有效手段, 这种细胞间信息交流与细胞的生长调控密切相关, 控制细胞间代谢协作是许多促癌物的共同机制。茶色素对 TPA 作用的阻断率明显高于茶多酚 (见表 3), 茶色素浓度在 12.5 mg/只时, 即可减轻小鼠耳皮肤炎性水肿程度, 并有剂量反应关系 (见表 4)。

2.3 对癌细胞增殖的作用 以 HeLa 细胞存活和在软琼脂生长试验作为检测方法, 结果表明茶色素对 HeLa 细胞存活和在软琼脂生长能力均有不同程度的抑制作用 (见表 5); 对 HeLa 细胞软琼脂生长抑制与动物体内成瘤抑制有良好的相关性 (见表 6)。结果提示茶多酚和茶色素均可抑制癌细胞生长。

3 讨论

在短期试验中, 茶色素对 MMC 诱发的 V79 细胞基因正向突变、V79 细胞代谢协作试验及 HeLa 细

表 3 茶多酚及茶色素对 V79 细胞代谢协作的影响

处理	剂量 mg/L	相对存活率 (%) (混合接种 M 细胞及 V79 细胞)	阻断率 %
阴性对照组		20.8 ±10.5	
TPA ^a		79.5 ±9.9	
茶多酚	10	81.8 ±2.1	- 3.77
	20	68.5 ±2.0	18.70
	50	62.5 ±6.1	29.00
阴性对照组		22.2 ±7.9	
TPA ^a		83.6 ±8.4	
茶色素	4	83.4 ±18.8	0.33
	10	75.0 ±19.2	14.00
	20	66.6 ±12.5	27.00

注:a: TPA 终浓度为 0.1 μg/ml。

表 4 茶多酚、茶色素对 TPA 诱发小鼠耳皮肤炎性水肿的影响

性 别	茶多酚 处理组	右耳 - 左耳 (μg)		抑制率 (%)	茶色素 处理组	右耳 - 左耳 (μg)		抑制率 (%)
		右耳	左耳			右耳	左耳	
雄	丙酮对照	33.4 ±5.4			丙酮对照	34.7 ±4.0		
	12.5 mg	31.2 ±5.7	6.6		12.5 mg	30.7 ±4.0 ^a	11.5	
	50.0 mg	28.1 ±4.3 ^a	15.9		50.0 mg	27.4 ±6.0 ^a	21.0	
雌	丙酮对照	31.2 ±5.2			丙酮对照	31.6 ±4.0		
	12.5 mg	26.7 ±5.0 ^a	14.4		12.5 mg	27.6 ±5.0	12.7	
	50.0 mg	25.6 ±4.8 ^b	17.9		50.0 mg	24.5 ±5.0 ^a	22.4	

注:与阳性对照组比较,经²检验,a: P < 0.05; b: P < 0.01。

表 5 茶多酚及茶色素对 HeLa 细胞存活和软琼脂生长能力的影响

处理	剂量 mg/L	存活集落数	抑制率 %	集落数	抑制率 %
阴性对照		476.3 ±19.5		284.0 ±9.7	
茶多酚	20	456.7 ±11.0	4.1	269.1 ±21.2	5.0
	50	426.0 ±7.9	10.6	250.3 ±16.8	11.9
	100			180.7 ±9.7	36.4
阴性对照		226.0 ±5.5		226.0 ±5.5	
茶色素	10	221.0 ±5.6	2.2	221.0 ±5.6	2.2
	50	176.0 ±16.3	22.1	176.0 ±16.3	22.1
	100			149.0 ±14.4	34.1

胞存活和软琼脂生长试验均表现出与茶多酚相类似的抑制作用; 在小鼠 S₁₈₀ 肿瘤模型中, 茶色素也显示对肿瘤生长有明显抑制作用。这些结果与国外文献和我们实验室过去得到的有关红茶的防癌作用的结果相一致^[11,12]。本研究表明茶色素的防癌作用至少不弱于茶多酚。茶色素对肿瘤的抑制和预防作用机理可能与其抗氧化作用及诱导 相代谢酶的作用有关。体外对 HepG₂ 细胞作用的研究结果提示茶色素可能通过诱导 相代谢酶活性, 加速致癌剂的结合反应, 促进对致癌物活性代谢产物的排泄, 从而降低其进一步对 DNA、蛋白质等生物大分子的毒性作用^[13]。对谷胱甘肽硫转移酶 1 - 1 (GST1 - 1) 茶多酚和茶色素有着相同强度的作用, 诱导作用比其它亚型表现明显; 对 GST1 - 2 的诱导作用以茶多酚为主, 茶色素对 GST 3 - 3 有较强的诱导作用。GST 1 - 1、1 - 2 都在肝癌前病变模型中, 阳性对照组动物的 GST 活性较正常动物低, 给茶色素、茶多酚后水平有明显升高。

表6 茶多酚、茶色素对小鼠 S₁₈₀ 实体瘤的影响

性别	茶多酚 (mg/d)	动物数	瘤重 ($\bar{x} \pm s$) (g)	抑制率 (%)	茶色素 (mg/d)	动物数	瘤重 ($\bar{x} \pm s$) (g)	抑制率 (%)
雄	阳性对照	27	2.682 ±0.964		阳性对照	27	2.682 ±0.96	
	12.5	27	2.447 ±0.702	8.8	12.5	27	2.073 ±0.724 ^a	22.7
	25.0	28	2.073 ±0.724 ^a	22.7	25.0	28	2.065 ±0.389 ^a	23.0
	50.0	27	1.828 ±0.417 ^b	31.8	50.0	26	1.859 ±0.597 ^b	30.7
雌	阳性对照	28	2.424 ±0.706		阳性对照	28	2.424 ±0.706	
	12.5	27	2.405 ±0.591	7.8	12.5	28	2.197 ±0.621	9.3
	25.0	26	2.055 ±0.512 ^a	15.2	25.0	25	1.900 ±0.753 ^a	21.6
	50.0	26	1.728 ±0.580 ^b	28.7	50.0	26	1.680 ±0.945 ^a	30.7

注:与阳性对照组比较,经 *t* 检验, a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$ 。

茶多酚能清除脂质过氧化产物,对抗脂质过氧化损伤;而茶色素则对致癌剂的解毒作用更有意义,这可能与它们的防癌作用有关。

考虑到茶色素在红茶中的含量大致与茶多酚在绿茶中的含量(30%~40%)相当,而且其化学性质远比茶多酚稳定,因此,茶色素可能是一种较为理想的癌症化学预防剂。如同茶多酚一样,茶色素是混合物,主要包括茶红素、茶黄素和茶褐素,在进一步研究茶色素的作用时,有必要同时对茶色素各种单一组分的作用进行比较。鉴于国内在茶色素预防心血管病的临床观察方面已取得初步结果^[14],所以茶色素是一种很值得进一步研究和开发的茶组分。

参考文献

- [1] Han C, Xu Y. The effect of Chinese tea on the occurrence of esophageal tumor induced by N-nitrosomethylbenzylamine in rats[J]. Biomed Environ Sci, 1990, 3:35-42.
- [2] Yang C S, Wang Z Y. Tea and cancer[J]. J Natl cancer Inst, 1993, 85:1038.
- [3] Bertram J, Kolone L N, Meyskens F L. Rationale and strategies for chemoprevention of cancer in humans[J]. Caancer Res, 1987, 47:328.
- [4] Lutz W K, Majer P. Genotoxic and epigenetic chemical carcinogenesis: One process, different mechanisms. Trends pharmacol Sci, 1988, 9:322.
- [5] Cajelli E, Canonero R, Martelli A. Methylglyoxal-induced mutation to 6-thioguanine resistance in V79 cells[J]. Mutat Res, 1987, 190:47-50.
- [6] Krishnaa G, Kropko ML, Theiss J C. Use of the cytokinesis-block method for the analysis of micronuclei in V79 Chinese hamster lung cells, results with mitomycin c and

cyclophosphamid[J]. Mut Res, 1989, 222:63.

- [7] Yüti L P, Chang C C, Trosko J E. Elimination of metabolic cooperation in Chinese hamster cells by a tumor promoter[J]. Science, 1979, 206:1089.
- [8] Puignero V, Turull A, Queralt. Arachidonic acid (AA) and tetradecanoyl-phorbol acetate (TPA) exert systemic effects when applied topically in the mouse[J]. J Inflammation, 1998, 22(3):307-314.
- [9] 吴德丰. 冬虫夏草与中国拟青霉对体外培养的子宫颈癌细胞的抑制作用[J]. 癌症, 1986, 5:337.
- [10] Yamaguchi T, Ikezaki K, Kishiye T, et al. Potentiation of anticancer agents by new synthetic isoprenoids. Inhibition of the growth of transplantable murine tumors[J]. J Natl Cancer Inst, 1984, 73(4):903-907.
- [11] Yang G Y, Liu Z J, Darren N Seril, et al. Black tea constituents, theaflavins, inhibit 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK)-induced lung tumorigenesis in A/J mice[J]. Carcinogenesis, 1997, 18:2361.
- [12] Zangar R C, Springer D L, McCrary J A, et al. Changes in adult metabolism of aflatoxin B1 in rats neonatly exposed to diethylstilbestrol. Alterations in a-class glutathione S-transferases[J]. Carcinogenesis, 1992, 13:2375-2379.
- [13] Delong M J, Prochaska H J, Talalay P. Induction of NAD(P)H-quinone reductase in murine hepatoma cells by phenolic antioxidants, azo dyes, and other chemoprotectors: a model system for the study of anticarcinogens[J]. Proc Natl Acad Sci, 1986, 83:787.
- [14] 楼福庆, 张美芳, 张晓岗, 等. 茶色素对家兔实验性动脉粥样硬化和人纤维蛋白原增多症的作用. 中华医学杂志, 1986, 63(10):632-634.

[收稿日期:2005-04-04]

中图分类号:R15;TS272;R979.1

文献标识码:A

文章编号:1004-8456(2005)04-0312-03