

[文章编号] 1007-385X(2003)03-0206-04

茶多酚对 Lewis 肺癌的生长抑制、抗氧化及免疫调节作用的研究

刘淑红 李 堃, 王 美, 秦筱梅 (青岛大学医学院附属医院呼吸科, 山东 青岛 266003)

[摘要] **目的:** 研究茶多酚对小鼠肺癌的生长抑制、抗氧化及免疫调节作用。**方法:** 以接种 Lewis 肺癌的 C57BL/6J 小鼠为模型, 灌服茶多酚。**结果:** 125 mg/kg, 250 mg/kg 组抑瘤率分别为 27.2%, 18.8%, 前者与荷瘤对照组比较有显著差异 ($P < 0.05$)。接种 Lewis 肺癌后的小鼠, 胸腺重量及其指数减轻, 脾指数增高, 血清 MDA 含量明显增高, 对 SOD, GSH-Px 活性影响不明显。茶多酚可显著降低荷瘤小鼠血清 MDA 含量, 提高 SOD, GSH-Px 活性。同时降低其胸腺指数和脾指数, 表现出免疫抑制。**结论:** 茶多酚可抑制 Lewis 肺癌生长, 其抗癌作用机制与抗氧化作用有关。

[关键词] 茶多酚; Lewis; 肺癌; 抗氧化; 免疫调节

[中图分类号] R734.2; R967 **[文献标识码]** A

Effects of Polyphenol (TP) on Growth Inhibition, Anti-Oxidation and Immune Regulation of Lewis Lung Cancer in Mice

LIU Shu-hong, LI Kun, WANG Mei, QIN Xiao-mei (Department of Respiratory, The Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao 266003, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of Tea Polyphenol (TP) on inhibition of tumor growth, anti-oxidation and immune regulation in tumor-bearing mice. **Methods:** TP was administered by gavage to C57BL/6J mice implanted with Lewis lung cancer. **Results:** Inhibitory rates of TP at doses of 125 mg/kg and 250 mg/kg were 27.2% and 18.8% respectively, with significance over controls at dose of 125 mg/kg ($P < 0.05$). In tumor-bearing mice, weight of thymus and its index were declined and spleen index was increased, while serum MDA levels were increased significantly at the same time, SOD and GSH-Px activities had no change after mice were beared tumor. Serum MDA levels of tumor-bearing mice were decreased significantly and SOD and GSH-Px activities were increased by TP. Thymus index and spleen index were decreased at the same time. **Conclusion:** TP could inhibit the growth of Lewis lung cancer, the underlying mechanism of which was associated with anti-oxidation.

[Key words] Tea polyphenol; Lewis lung cancer; anti-oxidation; immune regulation

* 茶是深受人们喜爱的大众饮品, 具有多种生物学活性^[1], 茶中有效成分主要为茶多酚 (tea polyphenol, TP)。已有的实验研究证实了茶多酚可以抑制肉瘤 S180、艾氏腹水癌、肝癌等移植性肿瘤在小鼠体内的生长^[2]。近年来的研究表明, 在复杂的癌变过程中, 自由基可能起重要作用; 另一方面肿瘤的发生和发展与免疫功能失调亦有很大关系^[3,4]。本实验利用 C57BL/6J 小鼠接种 Lewis 肺癌, 以超氧化物歧化酶 (superoxid dismutase, SOD) 及谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 活力、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量、胸腺指数和脾指数为观测指标, 观察茶多酚对 Lewis 肺癌生长的影响、抗氧化及免疫调节作用。

1 材料与方法

1.1 主要材料

茶多酚 TP98, 由无锡世纪生物工程有限公司提供。C57BL/6J 原系小鼠, 雄性, 6~8 周龄, 18~22 g, 由中国科学院上海实验动物中心提供。Lewis 肺癌种鼠, 由中国医学科学院药物研究所引进。超氧化物歧化酶 (SOD) 测试盒、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活力测试盒、丙二醛 (MDA) 测定试剂盒, 均由南京建成

[基金项目] 山东省卫生厅资助 (编号为 2001CA1CKB1)

[作者简介] 刘淑红 (1967-), 女, 山东人, 主治医师, 医学硕士, 主要从事肺癌方面的研究。

生物工程研究所提供。

1.2 方法

将小鼠随机分为正常对照、正常给药、荷瘤对照及荷瘤小鼠灌服茶多酚(大、中、小剂量)组,共6组。每组均为10只。

取传代后14 d Lewis 肺癌瘤源小鼠,剥取其肿瘤组织,制成 1×10^4 /L 瘤细胞悬液。取0.2 ml 移植于小鼠右腋部皮下。接种次日起开始灌胃给药,正常对照及荷瘤对照组每天每只灌服蒸馏水0.4 ml,正常给药组每天每只灌服0.625%茶多酚0.4 ml[125 mg/(kg·d)],小、中、大剂量组每天每只灌服茶多酚0.4 ml,浓度分别为0.313%(62.5 mg/kg),0.625%(125 mg/kg),1.125%(250 mg/kg),各组均连续应用至第13天,大剂量茶多酚组小鼠死亡2只,于第14天处死小鼠。

小鼠称重摘眼球取血后处死,剥取瘤块称重,计算抑瘤率。取小鼠胸腺组织及脾脏,分别称重,计算胸腺及脾指数。方法为胸腺(或脾)重量/体重(mg/g),体重为小鼠体重减去瘤重后的差值。将其血液制备血清置4℃备用测定SOD,GSH-Px活力及MDA含量;分别采用黄嘌呤氧化酶法、DTNB法、TBA法测定。各组实验数据均经实验重复,结果一致。

1.3 统计学处理

用统计软件 Spss7.5, *t* 检验处理数据。

2 结果

2.1 茶多酚对小鼠体内 Lewis 肺癌增殖的影响

62.5 mg/kg 组对肿瘤生长无抑制作用,125 mg/kg 组,250 mg/kg 组抑瘤率分别为27.2%,18.8%。其中125 mg/kg 组与荷瘤对照组比较有显著性差异($P < 0.05$,见表1。)

2.2 茶多酚对小鼠免疫器官的影响

荷瘤小鼠与正常对照组比较,胸腺指数明显降低($P < 0.01$),脾指数明显增高($P < 0.01$)。茶多酚不仅可明显降低正常小鼠胸腺指数($P < 0.01$),而且可引起荷瘤小鼠胸腺指数的进一步下降,其中125 mg/kg 组较荷瘤对照组有显著性差异($P < 0.05$)。茶多酚对正常小鼠脾指数无影响,但可使荷瘤小鼠脾指数下降,125 mg/kg,250 mg/kg 组与荷瘤对照组比较有显著差异(见表2)。

2.3 茶多酚对 SOD 的影响

由(表3)可见,正常小鼠灌服茶多酚后,SOD活力有一定程度的提高,而荷瘤小鼠SOD活力则有所下降。不同浓度茶多酚对荷瘤小鼠所致的SOD活力下降有不同程度的保护作用,其中125 mg/kg 组SOD活力明显提高,与荷瘤对照组比较有显著性差异($P < 0.05$)。

表1 茶多酚对小鼠 Lewis 肺癌生长的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Effect of TP on the tumor growth in mice with Lewis lung cancer

Groups	Dose (mg/kg)	Number (end/begin)	Tumor weight(g)	Inhibitory rate(%)
Tumor-bearing control		10/10	1.45 ± 0.35	
TP	62.5	10/10	1.47 ± 0.43	--
	125	10/10	1.06 ± 0.42	27.2*
	250	8/10	1.18 ± 0.53	18.8

Compared with control: * $P < 0.05$

表2 茶多酚对胸腺及脾指数的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Effect of TP on thymus index and spleen index

Groups	Dose(mg/kg)	Number(end/begin)	Thymus index(mg/g)	Spleen index(mg/g)
Control		10/10	4.11 ± 0.39	4.92 ± 0.47
Treatment	125	10/10	2.78 ± 0.48*	4.37 ± 0.69
Tumor-bearing control		10/10	2.25 ± 0.80*	22.34 ± 3.61*
TP	62.5	10/10	1.69 ± 0.60	18.85 ± 4.40
	125	10/10	1.39 ± 0.42**	15.67 ± 4.38***
	250	8/10	1.61 ± 0.42	16.37 ± 4.97**

Compared with contrl: * $P < 0.01$; Compared with tumor-bearing control: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.05$

表3 茶多酚对 SOD, GSH-Px, MDA 的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Effect of TP on SOD and GSA-Px activities and MDA content

Groups	Dose (mg/kg)	Number (end/begin)	SOD activity(NU/ml)	GSH-Px activity (active unit)	MDA content ($\mu\text{mol/L}$)
Control		10 /10	266.2 \pm 59.81	42.67 \pm 10.93	7.97 \pm 1.19
Treatment	125	10 /10	369.48 \pm 106.48	140.00 \pm 28.51 *	5.93 \pm 1.95
Tumor-bearing control		10/10	185.80 \pm 165.53	45.60 \pm 11.96	22.67 \pm 9.43 *
TP	62.5	10/10	218.39 \pm 107.62	83.20 \pm 25.91 ***	6.56 \pm 1.77 **
	125	10/10	316.18 \pm 88.34#	125.60 \pm 44.79 **	6.44 \pm 3.73 **
	250	8/10	224.10 \pm 159.15	88.00 \pm 29.63 ***	6.81 \pm 2.55 **

Compared with control: * $P < 0.01$; compared with tumor-bearing control; # $P < 0.05$; ** $P < 0.001$; *** $P = 0.001$

表4 茶多酚对 GSH-Px/MDA 的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Effect of TP on GSH-Px/MD

Groups	Dose(mg/kg)	Number(end/begin)	GSH-Px/MDA
Control		10 /10	5.88 \pm 3.03
Treatment	125	10 /10	26.89 \pm 12.88 *
Tumor-bearing control		10/10	2.77 \pm 2.33 [△]
TP	62.5	10/10	13.41 \pm 5.87 **
	125	10/10	24.56 \pm 15.81 **
	250	8/10	14.35 \pm 6.74 **

Compared with control: * $P < 0.01$; $\Delta P = 0.05$; compared with tumor-bearing control; ** $P < 0.01$

2.4 茶多酚对 GSH-Px 的影响

小鼠荷瘤后 GSH-Px 活力无明显变化。茶多酚不仅可明显提高正常小鼠血清 GSH-Px 活力($P < 0.01$), 且可显著提高荷瘤小鼠体内 GSH-Px 活力($P \leq 0.01$), 以 125 mg/kg 组作用明显(见表 3)。

2.5 茶多酚对 MDA 的影响

荷瘤小鼠体内 MDA 含量明显增加,与正常对照组比较有显著性差异($P < 0.01$)。茶多酚对正常小鼠 MDA 含量影响不大,但可显著降低荷瘤小鼠体内 MDA 含量,甚至恢复至正常小鼠血清水平。3 个剂量组与荷瘤对照组比较均有统计学意义($P < 0.001$,见表 3)。

2.6 GSH-Px 与 MDA 比值的变化

荷瘤小鼠 GSH-Px/MDA 比值下降,茶多酚可明显提高正常小鼠及荷瘤小鼠血清 GSH-Px/MDA 比值($P < 0.01$,见表 4)。

3 讨论

肺癌的临床死亡率在过去 20 年并未取得明显改善。如何提高肺癌治疗的效果,一直是当今新药研究

的重要途径和发展趋势^[5]。

研究表明茶及其提取物具有抗癌防癌等多种生物学活性和药理效应^[1]。但其抗癌机制复杂,认为其基础是抗氧化作用,并与其免疫调节作用有关。本研究表明茶多酚对小鼠肺癌生长有抑制作用。在一定剂量范围内,随着剂量的增大,茶多酚的抑瘤作用逐渐增强;达到一定水平后,其抑瘤作用开始减弱,表明茶多酚对肿瘤生长的抑制作用有一最适合的作用剂量^[6]。

国内外关于茶多酚抗癌防癌的实验研究已有较多的报道,但关于其免疫调节方面的作用各学者有不同意见^[2,7-10]。胸腺和脾脏是机体重要免疫器官,胸腺指数和脾指数在一定程度上反映了机体免疫功能的强弱,因此长期以来将增加免疫器官重量作为免疫功能提高的客观指标之一。有文献报道^[11-13],肿瘤所引起的免疫反应有其增强与消失的变化过程。本实验中荷瘤小鼠脾脏增大、胸腺减小考虑可能因其器官结构的特异性,从而对外来刺激反应有所不同。但茶多酚不仅可使荷瘤小鼠的胸腺指数下降,而且可使其脾指数下降,亦即茶多酚对荷瘤小鼠表现出免疫抑制。茶多

酚同时可降低正常小鼠胸腺指数,对正常小鼠亦表现出免疫抑制,与部分文献报道相一致^[9-10]。因此茶多酚在免疫功能上的调节作用主要是抑制免疫反应,从而表明茶多酚的抗肿瘤作用可能主要是通过其他途径来实现的。

近年来,自由基反应及脂类过氧化损伤的理论研究揭示了自由基反应与肿瘤的发生和发展密切相关,活性氧自由基在复杂的多步癌变过程中起重要的作用^[14]。SOD,GSH-Px 等是细胞内的主要抗氧化酶;血液 SOD,GSH-Px 等活力高低间接反映了机体清除自由基的能力,GSH-Px/MDA 比值亦可反映机体抗氧化的潜在能力。MDA 为脂质过氧化产物。它们可以反映机体 LPO 生成速率和强度,也间接反映组织 LPO 损伤程度。本实验发现茶多酚可增强小鼠尤其是荷瘤小鼠体内血清 SOD,GSH-Px 活性,对荷瘤小鼠 MDA 含量的增加有显著性的改善,明显提高 GSH-Px/MDA 比值,提示茶多酚可通过增强体内抗氧化酶的活性、抑制脂质过氧化反应而产生抗癌作用。

本研究显示,茶多酚无论在调节免疫还是抗氧化方面都与剂量有相关性,在 3 个不同剂量组中均以 125 mg/kg 组作用最大,而高于或低于该剂量则作用减弱,说明茶多酚作用是与剂量有关的,其最大作用有一最适剂量,高剂量茶多酚可能对正常细胞有不良作用^[6],茶多酚对不同类型肿瘤的抑制作用其最适剂量也是有差别的^[7]。从而也说明茶多酚作用可能存在“双刃性”,即超过一定剂量其作用减弱甚至相反。本实验中大量组小鼠死亡 2 只可能因剂量高影响小鼠进食等所致。有关茶多酚最适作用剂量还有待于更进一步的研究。

本研究中,茶多酚对荷瘤小鼠一方面有免疫抑制作用,不利于限制肿瘤生长;另一方面有抗氧化作用,可抑制肿瘤的形成;其作用具有双面性。最终结果是茶多酚对肿瘤生长有抑制作用,其机制考虑主要是通过抗氧化,而不是免疫调节。由于本研究的局限性,且目前对茶多酚的免疫调节作用尚有争议,因此有待于

今后更深入的探讨和研究。

茶多酚抗肿瘤作用及其机制是复杂的,不同实验研究结论存在差异,说明其作用可能是多分子、多靶点的,且与剂量有关,具有“双刃性”。要使茶多酚用于临床抗癌中,仍需更多的实验研究来摸索和探讨。

[参考文献]

- [1] 何皎. 茶多酚的药理学研究概况[J]. 数理医药学杂志, 1999, 4(12): 372-374.
- [2] 阎玉森,王球达,邹玉珍,等. 绿茶对荷瘤小鼠细胞免疫功能的影响及其抑瘤作用[J]. 中华预防医学杂志, 1992, 26(1): 5-7.
- [3] Kadish AS, Doyle AT, Steinhauer EH, *et al.* Natural cytotoxicity and interferon production in human cancer: Deficient inatural killer activity and normal interferon production in patients with advanced disease[J]. J Immunol, 1981, 127: 1817-1822.
- [4] 宁耀瑜,杨志平,张明安. 绿茶 AFB 致大鼠肝癌作用中对免疫功能的影响[J]. 广西医学院学报, 1990, 7(1): 27-29.
- [5] 吴久鸿,李炜. 天然产物活性筛选在新药研究中的重要地位[J]. 药学学报, 2000, 35(增刊): 90-92.
- [6] 沈声荣,杨贤强,赵宝路,等. 茶多酚体外助氧化作用的自由基机理[J]. 茶叶科学, 1992, 12(2): 145-148.
- [7] 曹明富,邵慧琴. 茶多酚复合物抑癌及对细胞免疫功能的影响[J]. 药物生物技术, 1999, 6(4): 212-217.
- [8] 朱茂祥,龚治芬,葛桂秀. 绿茶对小鼠 Lewis 肺癌生长的抑制及免疫调节[J]. 中华预防医学杂志, 1997, 31(6): 325-329.
- [9] 洪宗元,孙瑞元. 茶多酚对正常小鼠免疫功能的影响[J]. 九江医学, 1999, 14(3): 129-131.
- [10] 董群,吴敏毓,等. 茶多酚治疗膜性肾小球肾炎机理的探讨[J]. 中药药理与临床, 1999, 15(5): 22-24.
- [11] Whitney RB, Levy JG, Smith AG, *et al.* Influence on tumor size and surgical resection on cell-mediated immunity in mice[J]. J Natl Cancer Inst, 1974, 53(1): 11-16.
- [12] 王柏昆,邢善田,周金黄,等. 枸杞子多糖 S180 荷瘤小鼠细胞免疫功能影响及其抑瘤作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1988, 2(2): 127-131.
- [13] Varesio L, Giovarelli M, Landolfo S, *et al.* Suppressin of proliferative response and lymphokine production during the progression of a spontaneous tumor[J]. Cancer Res, 1979, 39(12): 4983-4988.
- [14] Sun Y. Free radicals antioxidant enzymes and carcinogenesis[J]. Free Rad Biol and Med, 1990, 8(6): 583-599.

[收稿日期] 2002-12-05

[修回日期] 2003-02-10

《肿瘤研究与临床》征订启事

《肿瘤研究与临床》杂志是反映肿瘤学领域科研成果、学术动态及临床经验的肿瘤学科专业学术期刊。国内统一刊号 CN14-1036/R, 国际连续出版物号 ISSN1006-9801, 邮发代号:22-137。主要栏目有述评、基础研究、临床研究、综述、讲座、调查报告、技术改进、短篇报道等。读者对象为中、高级肿瘤防治工作者及医药卫生人员。

《肿瘤研究与临床》杂志为双月刊,大 16 开本,72 页,双月 25 日出版,每期定价 6.00 元,全年定价 36.00 元。国内总发行太原市邮政局,欢迎到全国各地邮局订阅,也可直接向本刊编辑部邮购(免邮寄费)。凡订阅本刊全年刊物的作者,向本刊投稿时可凭 2004 年邮局订阅存根复印件,免交稿件处理费。

编辑部地址:山西省太原市职工新街 3 号; 邮政编码: 030013; 电话:(0351)4651415,4650389