

不同浓度绿茶及茶叶渣对黄曲霉毒素 B₁ 致大鼠肝癌作用的影响

广西肿瘤防治研究所

覃国忠 严瑞琪* 李 璇 覃柳亮 段小娟

在研究癌的化学预防中,寻找拮抗化学致癌物的物质,越来越受到重视^[1]。我们曾报道茶叶及不同品种的绿茶对黄曲霉毒素 B₁(AFB₁) 致肝癌作用有显著的抑制效果^[2,3],但在这些研究中,绿茶用量均为 5%,为找出绿茶的最低有效剂量,选择了 3 种不同浓度的绿茶作实验研究,并用茶叶渣作对比实验,现报告如下。

材料与方 法

一、材料 雄性 Wistar 大鼠,6 周龄,体重 $134 \pm 13\text{g}(\bar{x} \pm \text{SD})$; AFB₁、2-乙酰氨基苻(2-AAF) 为美国 Sigma 化学公司产品;绿茶为广西某县产品(I 级);茶叶渣为称取一定量的上述绿茶,用开水反复浸泡至无茶色,然后干燥而得;实验饲料将绿茶和茶叶渣粉碎后,按一定的浓度分别加入基础饲料中充分混合而成。

二、方法 动物按随机区域分组法分为 5 组,各组在实验饲料中绿茶浓度分别 0(称对照组),2%、4%、6%(统称绿茶组)及 6%茶叶渣(称茶叶渣组)。每鼠一笼,动物室温度控制在 $24 \pm 1^\circ\text{C}$,饲料和水任动物自由饮食。各实验组大鼠从注射 AFB₁ 前 10 天至停注后 3 天,分别饲实验饲料,对照组只饲基础饲料。

大鼠 8 周龄时,腹腔注射 AFB₁, $400\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重,每周 6 次,连续 2 周。停注 AFB₁ 2 周后,饲含 0.015% 2-AAF 饲料 2 周,并于饲此饲料的第 7 天,行肝大部切除。停 2-AAF 饲料后换饲基本饲料 2 天,然后禁食 1 天处死动物。解剖时,检查各主要器官,从肝右前叶、右后叶及尾叶的规定部位取 5 块组织,做 γ -谷氨酰转肽酶(GGT)染色^[4]及 HE 染色。用网形测微器,在显微镜下测出直径 $\geq 150\mu\text{m}$ 的 GGT 阳性灶的个数和面积,然后经计算机处理,计算出平均每 cm^2 肝切面 GGT 灶数(个/ cm^2)、总面积(mm^2/cm^2)和平均每个灶的面积($\text{mm}^2/\text{个}$)以及平均每 cm^3 肝组织中的 GGT 灶数(个/ cm^3)和

每个灶的体积($\text{mm}^3/\text{个}$)。

结 果

一、一般情况及肝脏病理变化

各实验组动物开始注 AFB₁ 时的平均体重与对照组相比,差别不显著。注毒期间各组体重增长明显减慢,停毒后体重增长速度则恢复。实验结束,对照组和茶叶渣组的体重、肝重、肝重体重比,都轻于或显著轻于各绿茶组(见表 1)。

对照组和茶叶渣组的大部分动物肝脏表面及切面可见较多散在的灰白色病灶,直径从针尖到 2mm 大小,对照组略多于茶叶渣组,而各绿茶组很少见或不见类似病变。镜下,各组动物可见到散在的肝细胞增生灶,嗜碱性,数量和大小不等。但以对照组动物为最多、最大,其次为茶叶渣组。卵圆形细胞增生、假胆管形成及肝细胞脂肪变性,也是对照组和茶叶渣组较为严重。

二、肝组织中 GGT 阳性灶发生情况

三个不同剂量绿茶组中,反映 GGT 灶数量的指标(个/ cm^2 及个/ cm^3),均显著少于对照组($P < 0.001$),也不同程度地少于茶叶渣组。三个绿茶组反映灶大小的指标($\text{mm}^2/\text{个}$ 、 $\text{mm}^3/\text{个}$)及肝切片单位面积中灶面积的指标(mm^2/cm^2),均小于对照组和茶叶渣组,其中各绿茶组的 mm^2/cm^2 、 $\text{mm}^2/\text{个}$ 及 4%、6%两个绿茶组的 $\text{mm}^3/\text{个}$ 与对照组比较,分别有显著和非常显著的差别;各绿茶组的 $\text{mm}^3/\text{个}$ 和浓度高的两个绿茶组的 $\text{mm}^3/\text{个}$ 、 mm^2/cm^2 与茶叶渣组比较,有显著的差别。茶叶渣组的各项指标均少于或小于对照组,但经统计学处理,除反映灶数量的指标显著少于对照组外,其余指标差别则不显著。不同剂量绿茶组之间相互比较,除剂量稍高两组的 $\text{mm}^2/\text{个}$ 显著小于低剂量组外,其余指标则无显著差别(见表 2)。

• 中山医科大学肿瘤中心

表1 各组大鼠体重、肝重、肝重体重比情况 ($\bar{x} \pm SD$)

组别	绿茶浓度 (%)	动物数	体重(g)		肝重 (g)	肝重/体重 (g/100g)
			开始	结束		
A	0	11	135 ± 12	297 ± 28	6.73 ± 1.53	2.24 ± 0.13
B	2	10	134 ± 13	331 ± 35 ^{a, b}	7.95 ± 1.23 ^{a, c}	2.39 ± 0.17 ^b
C	4	11	135 ± 11	319 ± 14 ^{a, b}	7.85 ± 0.54 ^{a, c}	2.46 ± 0.11 ^b
D	6	11	135 ± 11	301 ± 24	7.37 ± 0.53 ^b	2.45 ± 0.14 ^{a, c}
E	6	10	134 ± 10	290 ± 39	6.60 ± 1.02	2.27 ± 0.13

(茶叶渣)

注: 与A组相比, a: $P < 0.05$; 与E组相比, b: $P < 0.05$, c: $P < 0.01$.

表2 各组肝组织中 GGT 灶发生情况 ($\bar{x} \pm SD$)

组别	绿茶浓度 (%)	动物数	GGT 灶平面指标			GGT 立体指标	
			个/cm ²	mm ² /mm ²	mm ² /个	个/cm ³	10 ⁻⁴ mm ³ /个
A	0	11	15.10 ± 6.20	1.67 ± 1.81	0.12 ± 0.17	534 ± 167	298 ± 311
B	2	10	6.63 ± 4.30 ^c	0.45 ± 0.36 ^a	0.07 ± 0.06 ^{c, e}	277 ± 141 ^c	148 ± 76
C	4	11	4.83 ± 3.28 ^{c, d}	0.24 ± 0.27 ^{b, d}	0.05 ± 0.05 ^{c, f}	263 ± 166 ^c	92 ± 52 ^{a, e}
D	6	11	4.67 ± 3.78 ^{c, d}	0.27 ± 0.21 ^{b, d}	0.06 ± 0.05 ^{c, f}	221 ± 197 ^c	133 ± 73 ^{a, d}
E	6	10	9.04 ± 5.67 ^a	0.97 ± 1.11	0.11 ± 0.18	332 ± 136 ^b	273 ± 231

(茶叶渣)

注: 与A组相比, a: $P < 0.05$; b: $P < 0.01$. c: $P < 0.001$.
与E组相比, d: $P < 0.05$; e: $P < 0.01$; f: $P < 0.001$.

讨 论

肝细胞增生性病变, 已被广泛认为是肝细胞癌前病变^[5], 许多作者把它作为化学致癌物质诱发动物肝癌形成的分析指标^[6, 7]. GGT 染色是显示肝细胞增生性病变敏感和可靠的方法之一^[8]. GGT 灶的数量、大小与后期肝癌的发生率有明确的相关关系^[8-9]. 故本研究用 GGT 灶作为主要观察指标. 实验结果显示, 绿茶组的动物, 不论是 GGT 灶的数量、总面积, 还是灶的大小, 都少于或小于对照组, 从而证明绿茶对 AFB₁ 致肝癌作用有非常显著的抑制效果. 另外, 由 AFB₁ 毒性作用所引起的肝细胞增生性病变、卵圆细胞增生和假胆管形成以及肝细胞脂肪变性等中毒性病变, 在各绿茶组中, 明显轻于对照组, 说明绿茶还有抵抗 AFB₁ 致肝损害的作用.

实验所用的三个不同剂量的绿茶, 对 AFB₁ 致肝癌作用均有抑制效果, 它们的抑制程度相近, 故未能显示出剂量效应关系. 因而提示, 绿茶浓度 2% 对 AFB₁ 致肝癌作用已有抑制效果. 至于最低有效浓度是多少还有待进一步的研究.

在日常生活中, 人们都是喝茶水, 而不是吃茶叶, 为了证明绿茶抑癌作用的有效成分是否是水溶性物质, 故同时应用茶叶渣做佐证实验. 结果发现, 茶叶渣(6%)对 AFB₁ 致肝癌作用的抑制, 显著低于各绿茶组. 而茶叶渣组与对照组相比, 除 GGT 灶的数量显著少于对照组外, 其他指标均无显著差别, 从而提示绿茶抑癌作用的有效成分绝大部分为水溶性物质.

参 考 文 献

- [1] Watterberg LW: Cancer Res 1985, 45: 1
- [2] 陈志英等: 中华肿瘤杂志 1987, 9(2): 109
- [3] 严瑞琪等: 癌症 1987, 6(2): 83
- [4] Ogawa K et al: Cancer Res 1980, 40: 725
- [5] Farber E: Biochem Biophys Acta 1980, 605: 149
- [6] Schere E et al: Cancer Res 1976, 36: 2544
- [7] Tatematsu M et al: Gann 1979, 70: 125
- [8] Solt DB et al: Am J Pathol 1977, 88: 595
- [9] Meaura Y et al: Cancer Res 1984, 44: 1604

(1989年7月31日收稿)

EFFECT OF GREEN TEA AND INFUSED TEA RESIDUE ON AFLATOXIN B₁-INDUCED HEPATOCARCINOGENESIS IN RATS

Qin Guo-zhong, Yan Rui-qì, Li Yuan et al
Guang-xi Institute for Cancer Research, Nanning

The effect of green tea at three dosages (2,4 and 6%) and the infused tea residue (6%) on aflatoxin B₁ (AFB₁)-induced precancerous gamma glutamyltranspeptidase (GGT) positive hepatocellular foci (GGT foci) in rats was studied by using the short term in vivo experimental model. The results showed that green tea at anyone dosage had remarkable inhibitory effect on AFB₁-induced hepatocarcinogenesis. The number and size of the GGT foci in these groups were significantly lesser and smaller than the controls. But the effect of the infused tea residue was much weaker, suggesting the effective ingredients are mainly water soluble. The results indicate that drinking green tea daily can prevent cancer.

TUMOR(Shanghai)1990, 10:121

含人 N-ras 反意密码的逆转录病毒对人肝癌裸小鼠 移植瘤(LTNM₄)的抑制作用

许秀兰¹ 贾立斌¹ 郑亚海¹ 顾健人¹ 张素胤² 陈陵际³ 爰裕华³

N-ras 基因是人体肝癌细胞的转化基因之一, 在肝癌细胞中 N-ras 基因有过量表达。为了研究 N-ras 基因对人体肝癌细胞的生长调控作用, 我们曾报道了含 N-ras cDNA 反意密码顺序的假型病毒的构建、组装和它对入肝癌细胞的生物学作用。体外试验表明此病毒对人肝癌细胞(PLC/PRF/5 细胞)的生长有明显的抑制作用, 并表现 N-ras 基因产物 P21 表达下降, 提示了人 N-ras cDNA 反意密码基因有控制肝癌细胞生长的可能性。其后进一步观察了含人 N-ras cDNA 反意密码逆转录病毒对接种在裸小鼠体内的人肝癌移植瘤 LTNM₄ 的抑制作用。用 5~6 周龄 Swiss 裸小鼠, 按过去报道接种方法用套管针将直径为 2×2×2mm³ 瘤块接种在裸小鼠右侧腋部皮下, 实验共四组, 每组 4 只鼠, 三组治疗组分别为不含人 N-ras cDNA 密码病毒组; 含人 N-ras cDNA 正意密码病毒组及含人 N-ras cDNA 反意密码病毒组, 另一组为仅注射生理盐水的对照组。治疗组病毒于每次使用前新鲜制备, 浓度为每

0.2ml 含病毒 10⁵。裸小鼠于接种肿瘤后即刻开始治疗, 给治疗组小鼠的肿瘤周围皮下注射病毒液 0.2ml, 每周治疗 3 次, 共治疗 3 周。于停药后次日解剖称肿瘤重量, 并与不给药对照组小鼠比较, 计算出给药组的肿瘤抑制率。结果表明含人 N-ras cDNA 反意密码逆转录病毒对 LTNM₄ 产生明显的抑制作用, 肿瘤抑制率为 78%, 与对照组比较有显著差异 ($P < 0.05$), 含人 N-ras cDNA 正意密码逆转录病毒对 LTNM₄ 肿瘤抑制率为 39%, 与对照组比较无显著差异 ($P > 0.05$), 而不含人 N-ras cDNA 密码的逆转录病毒对 LTNM₄ 的生长无影响, 这表明体内试验结果与体外试验的一致性。迄今为止, 国内外尚未见到这方面报道。这一结果将为应用基因治疗恶性肿瘤迈出第一步, 进一步工作尚在进行中。

(1990年3月5日收稿)

1 上海市肿瘤研究所
2 中科院上海药物所