

绿茶和硒抗促癌作用的初步研究

李 龙¹ 陈国华¹ 宋瑞琨¹ 宋彩凤² 刘毓谷¹

摘要 用刻痕标记荧光扩散试验,可观察到促癌物 12-O-四癸酰基-伏波-13-乙酸钠 (TPA) 抑制细胞间隙连接性通讯 (GJIC)。本文对绿茶和硒的研究结果表明,绿茶水浸出液、亚硒酸钠和硒酸钠均可明显拮抗 TPA 对小鼠 NIH/3T3 细胞 GJIC 的抑制作用,且在一定范围内与作用浓度和时间呈明显的正相关关系,其中亚硒酸钠的拮抗作用显著大于硒酸钠的作用。绿茶水浸出液和硒的联合抗 TPA 作用也很明显,表明硒化合物可促进绿茶的抗 TPA 作用,其中以亚硒酸钠的作用更强。本研究还初步表明,硒化合物抗 TPA 作用的强弱与其存在的形式有关。

关键词 绿茶; 硒; 抗促癌作用; 间隙连接性细胞通讯

中图分类号 R599.1, R979.1+9

在肿瘤的预防中,寻找拮抗化学致癌物的物质已越来越受到人们的关注。自 70 年代以来,大量的流行病学调查和动物实验研究都证实,茶叶和硒均有抗癌防癌作用^[1~3],并且与人类肿瘤的发生率呈负相关^[4,5]。迄今为止,在探索茶叶和硒防癌抗癌作用方面虽然取得了一些成果,但其作用机制仍不十分清楚。本文采用细胞培养技术,用刻痕标记荧光扩散试验^[6]对茶叶和硒及其联合抗促癌作用进行了初步研究,现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 试剂 12-O-四癸酰基-伏波-13-乙酸钠 (TPA) 为 Sigma 公司产品。荧光素钠 (分子量 376.27) 为西安化学试剂厂产品。硒酸钠 (Na_2SeO_4) 和亚硒酸钠 (Na_2SeO_3) 纯度在 99.0% 以上,为沈阳化学试剂厂产品。茶叶为市售绿茶 (四川万县一级绿茶)。

1.2 绿茶水浸出液的制备 称取绿茶 3 g,加沸水 30 ml,并于沸水浴中浸泡 5 min,过滤除去茶叶即为

10%的绿茶水浸出液。

1.3 细胞培养 NIH/3T3 细胞培养在含 10% 小牛血清的 1640 培养基中,放置在含 5% CO_2 的 37℃ 培养箱内培养。试验前将 NIH/3T3 细胞接种于 30 mm 直径的玻璃平皿中,接种量约为 1×10^6 个/皿,使细胞贴壁并单层生长达到饱和和密度。

1.4 刻痕标记荧光扩散试验 该试验用以检测间隙连接性细胞通讯。将上述生长好的细胞平皿按实验设计随机分组,每个时间点各 3 皿。试验时,弃去平皿中的培养液,用 pH 7.0 的磷酸缓冲液 (PBS) 洗涤 3 次,加入 0.01% 的荧光素钠 PBS 浸没细胞,用手术刀片轻压平皿底部以造成刻痕,37℃ 保温 15 min,弃去荧光素钠液并用 PBS 洗去残留的荧光液和脱落的细胞,立即于荧光显微镜下观察。若细胞的间隙连接处于开放状态,由刻痕处直接进入细胞内的荧光素将向刻痕两边相邻的细胞内扩散,由于浓度稀释作用,其荧光强度将随扩散距离的增加而逐渐减弱。细胞间间隙连接性通讯能力的评估,采用荧光素在细胞内的扩散距离表示。抗促癌物的抗促癌作用,采用抗 TPA 作用的百分率来表示。

2 结果

2.1 绿茶与硒抗 TPA 的作用

在细胞生长达饱和的平皿中,分别加入不同浓度的绿茶水浸出液 (200、400、800 mg/L)、硒酸钠 (0.5、2.5、7.5 $\mu\text{mol/L}$) 和

¹ 同济医科大学公共卫生学院环境毒理学研究室, 武汉 430030

² 湖北省卫生防疫站, 武汉 430070

李 龙, 男, 1962 年生, 讲师

亚硒酸钠 (0.5、2.5、7.5 $\mu\text{mol/L}$) 处理 15、30 和 45 min, 再加入 TPA (100 $\mu\text{g/L}$) 孵育 3 h, 对照组平皿内不加受试物, 只相应加入相同量的 TPA。其结果见图 1~3。

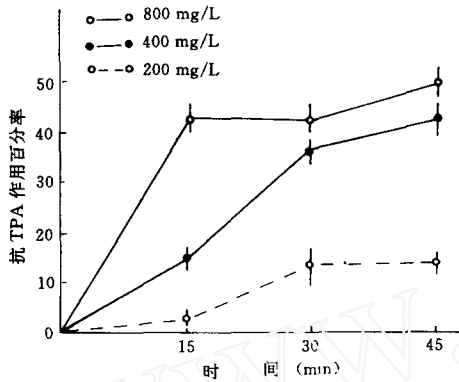


图 1 绿茶水浸出液对 TPA 抑制细胞间隙连接性通讯的影响

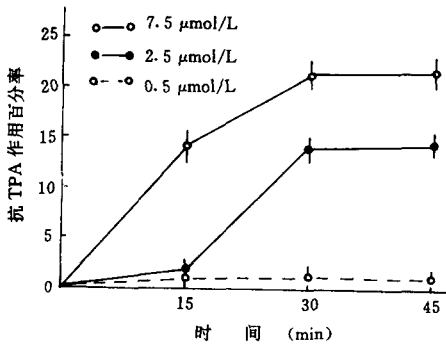


图 2 亚硒酸钠对 TPA 抑制细胞间隙连接性通讯的影响

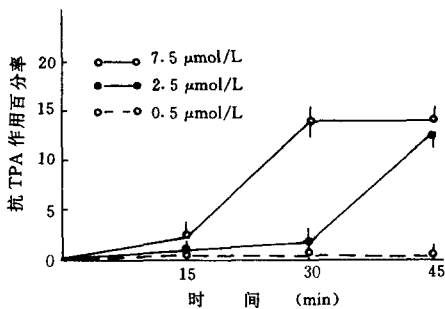


图 3 硒酸钠对 TPA 抑制细胞间隙连接性通讯的影响

结果表明, 绿茶水浸出液、硒酸钠和亚硒酸钠在一定程度上均具有抗 TPA 抑制细胞间隙连接性通讯的作用, 且随作用时间和作用浓度的增加而增强。从图 1~3 可以看出, 绿茶水浸出液和硒化合物抗 TPA 的作用与其浓度和作用时间呈明显正相关, 且在相同条件下, 亚硒酸钠的抗 TPA 作用明显高于硒酸钠, 提示硒抗 TPA 作用的强弱与硒化合物存在的形式有关。

2.2 绿茶和硒联合抗 TPA 的作用

用绿茶水浸出液加亚硒酸钠 (每 L 含茶叶 400 mg, 亚硒酸钠 2.5 μmol) 和绿茶水浸出液加硒酸钠 (剂量同前), 按上述方法分别处理培养细胞, 同时设 TPA 对照, 结果见图 4。

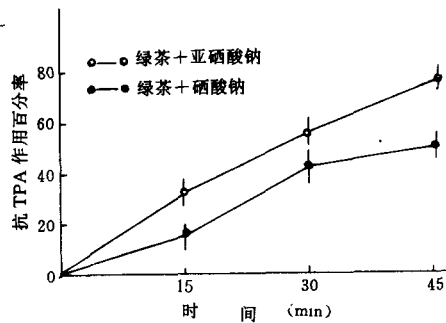


图 4 绿茶水浸出液加硒化合物对 TPA 抑制细胞间隙连接性通讯的影响

图 4 结果表明, 绿茶和硒具有联合抗 TPA 抑制细胞间隙连接性通讯的作用, 并存在明显时间效应关系。其中以绿茶水浸出液加亚硒酸钠的联合作用更为明显, 用其处理细胞 45 min 时的抗 TPA 作用百分率可达 78.6%, 而绿茶水浸出液加硒酸钠仅为 50%。此结果进一步证实硒的抗 TPA 作用强弱取决于硒化合物所存在的形式。

3 讨论

近年来, 国内外许多学者对茶叶和硒的抗突变、抗癌作用进行了诸多研究, 但其抗

癌机制仍不十分清楚。目前认为,肿瘤的发生过程分为引发、促长和演进三个阶段,并有研究证实,促癌物可以明显抑制细胞间的间隙连接性通讯^[7]。Trosko 等人也提出了细胞间隙连接性通讯功能受抑制在肿瘤形成的多阶段过程中起着重要的作用^[8,9]。

本文采用刻痕标记荧光扩散试验,对绿茶和硒及其联合抗促癌物 TPA 的促癌作用进行了初步研究。结果表明,绿茶和硒均能抑制 TPA 对 NIH/3T3 细胞 GJIC 的作用,且硒化合物可促进茶叶的这种抗 TPA 作用,说明绿茶和硒均具有抗促长作用的能力。周宗灿等人^[10]的研究证实,绿茶具有抗脂质过氧化化的作用,由于细胞脂质过氧化及自由基生成是促长剂的共同特点,因此抗脂质过氧化化作用的存在提示具有抗促长作用,这从另一个方面表明了绿茶的抗促长作用,与本研究结果是相符的。但由于茶叶的化学成分复杂,且产地、品种和加工方式都有很大差异,因此探讨其抗促癌作用的有效成分尚需进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Milner J A. Effect of selenium on virally induced and transplantable tumor models. *Fed Proc*, 1985; 44: 2 568
- 2 Oguni I, Nasu K, Yamamoto S *et al.* On the

- antitumor activity of fresh green tea leaf. *Agric Biol Chem*, 1988; 52 (7): 1 879
- 3 Clement I P. Selenium inhibition of chemical carcinogenesis. *Fed Proc*, 1985; 44: 2 573
- 4 wang Z Y. Protection against polycyclic aromatic hydrocarbininduced skin tumor initiation in mice by green tea polyphenols. *Carcinogenesis*, 1989; 10 (2): 411
- 5 Kano S, Ikeda M, Tokudome S *et al.* A case-control study of gastric cancer and diet in Northern Kyushu, Japan. *Jpn J Cancer Res*, 1988; 79 (10): 1 067
- 6 Elfouly M H, Trosko J E, Chang C C *et al.* Scrape-loading and dye transfer: A rapid and simple technique to study gap junctional intercellular communication. *Experimental Cell Res*, 1987; 168: 422
- 7 Fitzgerald D J, Knowles S E, Ballard F J *et al.* Rapid and reversible inhibition of junctional communication by tumor promoters in a mouse cell line. *Cancer Res*, 1983; 43: 3 614
- 8 Trosko J E, Chang C C, Madhukar B V. Symposium: Cell communication in normal and uncontrolled growth-Modulation of intercellular communication during radiation and chemical carcinogenesis. *Radiat Res*, 1990; 123 (3): 241
- 9 Trosko J E, Chang C C. Non-genotoxic mechanisms in carcinogenesis: Role of inhibited intercellular communication. in: Hart RW, Setlow RB eds. *Banbury report 31: New directions in qualitative and quantitative aspects in carcinogen risk assessment*. Cold Spring Harbor: Cold Spring Laboratory, 1990; 35-48
- 10 周宗灿,付娟玲,王莹等. 绿茶及几种茶酚的体外抗突变和抗脂质过氧化作用. *卫生毒理学杂志*, 1988; 2 (1): 10

(1993-10-28 收稿)

Studies on the Antipromotion of Green Tea and Selenium

Li Long, Chen Guohua, Song Ruikun *et al*

*Institute of Environmental Toxicology, School of Public Health,
Tongji Medical University, Wuhan 430030*

Abstract In this study, tumor promoter 12-O-tetradecanoyl phorbol 13-acetate (TPA) inhibited gap junctional mediated intercellular communication (GJIC), which can be detected by a scrape-loading/dye transfer technique. It was found that TPA-caused GJIC inhibition in NIH/3T3 cells was obviously removed by green tea extract, sodium selenite (Na_2SeO_3) and sodium selenate (Na_2SeO_4), and a obvious dose-effect and a time-effect relationship were observed. The effect of Na_2SeO_3 was higher than that of Na_2SeO_4 . The combined action of green tea and selenium was developed suggesting that antipromotion of green tea was heightened by selenium. In addition, this preliminary results indicated that antipromotion of selenium chemical compound was related to its existing form.

Key words green tea; selenium; antipromotion; gap junction mediated intercellular communication