

绿茶素(TP-91)抗肿瘤作用的实验研究

吴永方 韩志红 徐国华 刘晓康 罗仁峰 朱秀华 陈琼霞

摘要 目的:研究绿茶素对肿瘤的预防和辅助治疗作用。方法:采用我院从湖北绿茶提取的绿茶素(TP-91)进行了多项指标综合观察的抗肿瘤实验。瘤株为小鼠 S-180, Hela 细胞和 EAC。结果:(1) TP-91 具明显抗癌作用,对 S-180 的抑瘤率达 43.6%,体外试验对 Hela 细胞和 EAC 细胞均有抑制作用,药物作用 2 小时后癌细胞死亡率分别为 93%和 45%;(2) 给药后血液高凝状态缓解、cAMP 升高、SOD 活性增强,外周血 T 淋巴细胞百分率上升、以及肿瘤间质肥大细胞数增多;(3) 检出 TP-91 含有硒、锗等 20 种元素。结论:提示绿茶素(TP-91)在肿瘤一级预防和辅助治疗中具有良好发展前景。

关键词 绿茶素(TP-91);肿瘤;S-180;实验治疗

茶(Camellia Sinensis)为我国的传统饮料,也是一种植物药^[1,2],具有抗菌、利尿、降血脂等医用功效^[1,3]。近年来,随着研究的深入,茶的潜在疾病防治作用续有发现。流行病学调查表明,产茶区居民的癌死亡率低于非产茶区;有饮茶习惯人群的癌发生率低于不饮茶人群^[4~6]。提示茶对人类特定肿瘤的发生有保护作用。茶与肿瘤的关系已成为医学界关注的新课题。虽然动物实验中观察到茶叶浸泡液对诱发性和移植性肿瘤的生长均有抑制作用^[7~9]。但由于茶叶成份十分复杂^[2,3],并非各种成分皆有抑瘤作用,因此分离有效抗癌成分乃是首先应解决的问题。我们从湖北绿茶中筛选出一种茶叶通过化学方法处理提取出绿茶素(TP-91)结晶,对其抗癌作用进行了系统研究,在动物实验中首次采用多项指标观察以判断疗效,获得满意结果,现报道如下。

1 材料与方

1.1 实验动物

NIH 近交小鼠,体重 18~22g,雌雄兼有。瘤株为 S-180。按常规方法于无菌条件下每鼠右前肢腋部皮下注入生长 7 天的 1:3 瘤细胞悬液 0.1 ml (瘤细胞数 2.8×10^6 个),然后随机分组。

表 1 绿茶素(TP-91)对小鼠 S-180 实体瘤生长的抑制作用($\bar{x} \pm s$)

实验次数	组别	动物数(只)	剂量	给药方法	瘤重(g)	抑瘤率(%)
	对照*	9	N.S, 0.5 ml ×7	灌胃	2.10 ±0.51	-
	TP-91*	10	150 mg/kg ×7	灌胃	1.41 ±0.68	33.0
	对照**	9	N.S, 0.5 ml ×7	灌胃	1.40 ±0.47	-
	TP-91**	9	150 mg/kg ×7	灌胃	0.79 ±0.21	43.0
	对照***	30	N.S, 0.5 ml ×7	灌胃	1.27 ±0.31	-
	TP-91***	30	300 mg/kg ×7	灌胃	0.72 ±0.21	43.6

* $P < 0.005$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.01$

体外抑瘤实验用培养的 Hela 细胞和 EAC 细胞。

1.2 药物和剂量

实验用药绿茶素(TP-91)系我院从湖北某地绿茶中提取而得。为一含 EGCG 等黄烷醇及微量元素之复合物。提取工艺获国家专利(专利号: ZL92115082.2)。

肿瘤移植次日开始给药。TP-91 组每日每鼠 150 mg/kg (0.5 ml) 灌胃,连续 7 日为一疗程。对照组每鼠每日 0.5 ml 生理盐水灌胃。疗程结束后一天以拉断脊椎方法处死动物。取瘤称重和取血作诸项实验室检测。

1.3 观察指标

肿瘤指标:瘤重、抑瘤率、体外抑瘤试验及肿瘤坏死程度。

血液学指标:凝血时间和血浆纤维蛋白原检测。

免疫学指标:外周血 T 淋巴细胞百分数和肿瘤间质肥大细胞数。

生化指标:血浆 cAMP 含量、红细胞 SOD 测定。

2 结果

2.1 绿茶素(TP-91)对肿瘤生长的影响

表 1 示荷瘤小鼠用 TP-91 治疗后肿瘤明显缩小 ($P < 0.01$),抑瘤率达 43.6%。

武汉市科委资助项目

作者单位:430016 武汉,武汉职工医学院

2.2 治疗组与对照组肿瘤坏死程度比较

表 2 将肿瘤组织灶性坏死定为轻度、坏死面积达 1/2 者为中度、1/2 以上者为重度坏死。观察结果表明 TP-91 组肿瘤坏死程度较对照组明显 ($P < 0.01$)。

表 2 绿茶素 (TP-91) 治疗组与对照组肿瘤组织坏死程度的比较

实验次数	组别	坏死程度(例数)		
		轻度	中度	重度
	对照 *	9	3	1
	TP-91 *	1	4	7
	对照 **	4	1	2
	TP-91 **	0	8	3

* $P < 0.01$ ** $P < 0.01$

2.3 体外抑瘤实验

当绿茶素 (TP-91) 的浓度在 2 mg/ml 时,培养中的 HeLa 细胞和 EAC 细胞在 2 小时后即显示生长抑制作用,癌细胞死亡率分别为 93% 和 45%。剂量加大则可全部抑制癌细胞生长。

2.4 绿茶素 (TP-91) 对血液凝固性的影响

从表 3 可知,荷瘤小鼠经 TP-91 治疗后血液凝固性降低。与对照组比较,凝血时间延长 ($P < 0.01$),纤维蛋白原含量下降 ($P < 0.01$)。

表 3 绿茶素 (TP-91) 对荷瘤小鼠血液凝固性的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	凝血时间(sec.)	血浆纤维蛋白原(g/L)
对照	99.26 ± 44.83 *	0.297 ± 0.159 **
TP-91	171.13 ± 154.82 *	0.116 ± 0.065 **

* $P < 0.01$ ** $P < 0.01$

2.5 绿茶素 (TP-91) 对荷瘤小鼠免疫的影响

表 4 指出,小鼠 S-180 经绿茶素治疗后外周血 T 淋巴细胞百分率升高 ($P < 0.05$)。肿瘤间质肥大细胞数增多 ($P < 0.01$)。

表 4 绿茶素 (TP-91) 对小鼠 S-180 免疫因素的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	外周血 T 淋巴细胞百分率 (%)	肿瘤间质肥大细胞数(个) (20 个 10 × 40 视野平均数)
对照	47.80 ± 6.40 *	6.0 ± 3.46 **
TP-91	59.67 ± 8.91 *	17.3 ± 7.21 **

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

2.6 绿茶素 (TP-91) 对荷瘤小鼠 SOD 的影响

检测结果,红细胞含量 (u/ml) 对照组为 143 ± 21,TP-91 组为 223 ± 29。两组比较, $P < 0.05$ 。

2.7 绿茶素 (TP-91) 对荷瘤小鼠血浆 cAMP 的影响

血浆 cAMP 检测结果,TP-91 组 cAMP (pg/ml) 为 361.19 ± 160.99,明显高于对照组的 187.60 ± 86.03 ($P < 0.05$)。

2.8 绿茶素 (TP-91) 微量元素分析

用酸分解电感耦合等离子发射光谱法、砷分解样品离子电极法、酸分解催化极谱法、高温灰化酸溶

测定及高温灰化砷溶测定方法测得绿茶素 (TP-91) 含有包括硒、锗、铜、锌等 20 种微量元素。

3 讨论

自流行病学研究揭示茶与肿瘤发生有一定的联系以来^[4~6],人们试图通过动物实验来证实其抗癌作用。此前文献多以茶叶浸泡液进行试验^[7~9]。但由于茶的化学成分十分复杂,并非所含成分皆有抗癌作用。且不同产地的茶叶有效抗癌成分含量不一。因此,必需在筛选茶叶的基础上用化学方法提取出有效成分才能提高茶的抗癌作用。本文采用我室从湖北绿茶提取的绿茶素 (TP-91) 对小鼠移植性肿瘤进行了实验治疗。首次通过多项指标综合观察证实了湖北绿茶的抗肿瘤作用。体外试验显示对 HeLa 细胞和 EAC 细胞生长亦有明显抑制作用。

绿茶素 (TP-91) 是一种含黄烷醇类 (flavanols) 和硒、锗等微量元素的复合物。有关茶的抗肿瘤实验,既往文献多以单一指标来观察。我们则将肿瘤指标、血液、免疫及生化等多项指标来综合评价绿茶的抗癌作用,以便更客观和全面地揭示茶对肿瘤的抑制作用。并对阐明茶的抗癌机理提出了自己的见解。绿茶的抗癌机理可能是多方面的^[2,3],包括抗氧化抗突变等等。本文发现绿茶素 (TP-91) 能消除荷瘤宿主的血液高凝状态 (Hypercoagulation State),为文献首次记载。由于恶性肿瘤血液常呈高凝状态^[10],导致微血管内血小板粘集和纤维蛋白析出形成微血栓,影响化疗药物进入瘤内。我们推测,绿茶素 (TP-91) 的降低血浆纤维蛋白原含量和延长凝血时间作用有可能防止或消除微血栓形成,使肿瘤微血管血流畅通,有利于化疗药物较充分进入瘤内发挥抗癌作用,从而提高疗效。绿茶素 (TP-91) 增强免疫功能的作用亦十分明显。表现为荷瘤小鼠接受治疗后外周血 T 淋巴细胞和肿瘤间质肥大细胞数增多。肥大细胞是肿瘤间质抗癌反应的表现^[11,12],为判断预后的有用指标^[11]。有报道指出,绿茶能提高 T 淋巴细胞¹²⁵IuDR 参入值和增强 NK 细胞活性^[7]。均说明绿茶对免疫的促进作用。我们在实验中还发现绿茶素 (TP-91) 可增加 cAMP 和 SOD 含量,提示可能与细胞逆转和抗氧化有关。SOD 是体内自由基清除剂,可显著抑制癌细胞增殖^[13]。鉴于绿茶的抗癌作用已从抑瘤率、生命延长率和抑制癌细胞 DNA 合成^[14]等方面得到证实,以及本文在血液、免疫、生化方面的发现。作者认为,作为一种天然物质,绿茶素 (TP-91) 在癌的一级预防和辅助治疗中具有良好发展前景,值得进一步研究。

参 考 文 献

- 1 陈宗懋主编. 中国茶经. 上海文化出版社, 1993: 89 ~ 91, 101 ~ 109
- 2 明·李时珍著. 本草纲目. 北京: 人民卫生出版社, 1982: 1870 ~ 1875
- 3 Yang CS, Wang ZY. Tea and cancer. JNCI, 1993, 85 (13): 1038 ~

- 1049
- 4 Oguni I, Chen SJ, Lin PZ, et al. Protection against cancer risk by Japanese green tea. *Prev Med*, 1992, 21 :332
 - 5 Kono S, Ikeda M, Tokudome S, et al. A case-control study of gastric cancer and diet in northern Kyusu Japan. *Jpn J Cancer Res*, 1988, 79:1067
 - 6 Yu GP, Shieh CC. Risk factor for stomach cancer: A population based case-control study in Shanghai. *Cancer Causes Control*, 1991, 2:169
 - 7 闰玉林, 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制作用, *中华预防医学杂志*, 1992, 26:5
 - 8 蔡海英, 卢圣贤. 乌龙茶对小鼠前胃鳞状上皮癌变的影响. *肿瘤防治研究*, 1988, 15:182
 - 9 Oguni I, Nasu K, Yamamoto S, et al. On the antitumor activity of fresh green tea leaf. *Agric Biol Chem*. 1988, 52:1879
 - 10 吴永方. 抗凝剂和纤溶物质治疗肿瘤的临床研究进展. *天津医药肿瘤学附刊*, 1979, 6:254
 - 11 Takafumi U, Katsuyuki A, Masahiko T, et al. Prognostic significance of mast cells in soft tissue sarcoma. *Cancer*, 1988, 62:2416
 - 12 吴永方, 郑庄安. 胃癌间质肥大细胞的形态及分布观察. *中华肿瘤杂志*, 1983, 5(3):221
 - 13 喻伦银, 田鸿生, 舒清波, 等. 超氧化物歧化酶对 A549 肺癌细胞一些生物学特性的作用. *肿瘤防治研究*, 1992, 19:139
 - 14 范贤骏, 王云霞, 冯素瑜. 绿茶儿茶素对体外培养细胞生长的影响. *中华肿瘤杂志*, 1992, 14:190

An Experimental Approach of the Anticancer Activity of Luchasu (TP-91) Against Mice Transplantable Tumor

Wu Yongfang, Han Zhihong, Xu Guohua, et al

Department of Oncology, Wuhan Postgraduate Medical College, Wuhan 430016

This paper presents our recent results from a multi-parameter observation of the anticancer activity of Luchasu (TP-91) against mice tumor systems. TP-91 was isolated from Chinese green tea. NIH mice were transplanted with S-180 subcutaneously, and randomly divided into two groups, viz., Luchasu (TP-91) group and control group. Dosage of TP-91 was 150 mg/kg/day, oral administration for seven days. control group received N. S. only. The results showed that Luchasu (TP-91) possessed tumor suppressive effect. The inhibition rate for mice S-180 was 43.6%. Luchasu (TP-91) also inhibited growth of cultured Hela cells as well as EAC cells, as in vitro studies showed. Laboratory tests demonstrated that Luchasu (TP-91) reduced blood coagulability, increased cAMP and SOD levels, and increased numbers of peripheral T-lymphocytes and stromal mast cells. Chemically, Luchasu (TP-91) is a compound mainly contains EGCG and trace elements such as selenium and germanium. In the paper, mechanisms of action were discussed. It is of the authors opinion that Luchasu (TP-91) is promising in chemoprevention and adjuvant therapy for human cancer. Further study is worth continuing.

Key words: Luchasu (TP-91) green tea extract; tumor; S-180; experimental therapy

恶性淋巴瘤合并白塞氏综合症 1 例

张永义

某女, 53 岁。因咳嗽, 胸闷, 右锁骨上肿块 10 天来诊。于 1997 年 4 月 5 日入院。患者于 2 年前不明原因出现口腔及大小阴唇痛性溃疡, 伴不规则低热, 关节疼痛, 皮肤红斑, 继之出现畏光, 视力模糊。曾就诊于多家医院, 均诊断为白塞氏综合症。虽经多方治疗病情仍迁延不愈。体格检查: 神清, 慢性病容, 右锁骨上淋巴结 1 枚如蚕豆大小。两眼稍充血, 两瞳孔不等圆。心率 94 次/分, 律齐, 无杂音。肺部: 右上中肺可闻及湿罗音, 左肺正常。腹软, 肝脾未及。妇检: 大小阴唇唇缘处溃疡, 部分疤痕形成。实验室检查: 血常规正常,

血沉 44 mm/N, 类风湿因子 (+), 心电图正常, 胸部 CT: 纵隔内多发结节 (恶性淋巴瘤可能) 伴右中上肺炎性变。右锁骨上淋巴结活切, 病理报告: 弥漫型恶性淋巴瘤, B 系, 小裂细胞性。临床诊断: 恶性淋巴瘤合并白塞氏综合症。

讨论: 恶性淋巴瘤合并白塞氏综合症临床较为罕见, 病因至今未明。多数学者认为恶性淋巴瘤及白塞氏综合症均与机体免疫功能紊乱有关, 但二者有无内在联系有待进一步探讨。

作者单位: 236018 安徽省阜阳肿瘤医院内科