

绿茶预防肝癌的系列动物实验研究

李 瑾 覃国忠 覃柳亮 段小娟 严瑞琪*

广西肿瘤研究所 (530021)

提 要 为了较全面地了解绿茶对黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁) 诱发肝癌的防护作用, 应用 AFB₁ 致肝癌作用动物实验模型, 对绿茶在 AFB₁ 致肝癌作用方面的影响从多个角度进行了一系列的实验探讨。所有实验结果一致显示绿茶对 AFB₁ 的致肝癌作用具有明显的抑制效果, 从而展现了绿茶作为一种安全、可靠、有效的化学预防物的广阔应用前景。

关键词 绿茶 肝细胞癌 化学预防 黄曲霉毒素 B₁

绿茶对人类健康的保护作用在国际生命科学的研究中正在受到越来越多的关注。已有一些研究结果提示了它在肿瘤发生发展中的保护性作用⁽¹⁾。

肝癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 已知其病因主要与 AFB₁ 在食品中的污染及 HBV 感染等因素有关。它在广西等地区的发病率高, 是严重威胁当地人民群众健康的疾病之一。

在对一大批可食性天然物质进行筛选, 初步发现绿茶对 AFB₁ 诱发大鼠肝癌及癌前病变具有抑制作用 (以下简称“绿茶抑癌作用”)⁽²⁾。从多个不同角度对绿茶抑癌作用进行了一系列实验研究, 所有结果一致显示了绿茶对肝癌具有卓越的预防作用。

材料与方 法

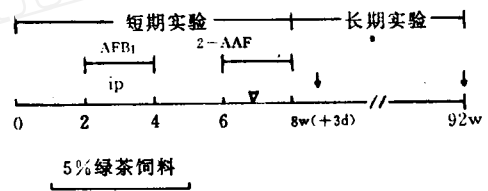
一、动物: 近交系 Wistar 大鼠, 雄性, 8 周龄, 由本所动物室提供。

二、饲料: 绿茶饲料 (除特指外) 为含 5% 绿茶粉末的饲料; 普通饲料即不含任何受试物或药物的饲料。

三、药品: AFB₁ 及 2-乙酰氨基芴 (2-AAF) 均为 Sigma 公司产品。二乙基亚硝胺 (DEN) 购自南京土壤研究所。

四、动物模型: 见下图。除实验 1 外, 其

余实验均用短期模型。



注: ▽肝大部分切除; ↓处死

图: AFB₁ 致肝癌作用的动物实验模型

五、实验程序:

实验 1. 自注射 AFB₁ 前 10 天至停止注射后 3 天, 绿茶组动物饲用 5% 绿茶饲料, 对照组用普通饲料。短期模型结束时, 各组随机处死 13 只动物, 肝组织作 γ -谷氨酰转移酶 (γ -GT) 染色。各组剩余的动物继续饲养至实验 92 周, 以观察肝癌的发生情况。

实验 2. 三个实验组 (前、中、后组) 的动物在本实验中饲用绿茶饲料的时间分别为摄入 AFB₁ (400 μ g/次/公斤体重, 腹腔注射) 前 2 周、摄入 AFB₁ 期内 2 周及摄入 AFB₁ 后 2 周。对照组在在此 6 周期间均用不含绿茶的普通饲料。

实验 3. 应用前述短期实验模型, 在动物

* 现在工作单位: 中山医科大学肿瘤研究所

暴露于 AFB₁ 前 10 天至后 3 天, 4 个实验组分别饲用绿茶含量分别为 1.0%、1.5%、2.0%、及 4.0% 的饲料, 对照组在此期间仍用不含绿茶的普通饲料。

实验 4. 两个实验组分别饲于 5% 绿茶饲料及 5000ppm 叔丁基对羟基茴香醚 (BHA) 饲料, 饲用时间同上。

实验 5. 本实验应用 Solt-Farber 的二乙基亚硝胺 (DEN) 致大鼠肝癌前病变模型⁽³⁾, 该模型与 AFB₁ 模型的主要区别在于以单剂 DEN (200mg/公斤体重, 腹腔注射)

取代连续二周的 AFB₁。绿茶饲料用于注射 DEN 前 2 周至后 1 周。

肝组织的处理: γ -GT 染色用改良的 Rutenberg 法⁽⁴⁾。 γ -GT 阳性灶 (γ -GT 灶) 的数量及大小的各项指标用电脑化图形分析系统⁽⁵⁾进行统计学处理。

结果与讨论

1. 绿茶对 AFB₁ 诱发的大鼠肝癌前病变和肝癌的影响

实验 1 短期观察部分的肝癌前病变—— γ -GT 灶在各组的发生情况见表 1-1。

表 1-1 绿茶对 AFB₁ 诱发 γ -GT 灶的影响

组别	动物数	γ -GT 灶 (X \pm s)		
		个/cra ²	mm ² /cm ²	mm ² /个
绿茶组	13	5.58 \pm 3.10**	0.45 \pm 0.037**	0.08 \pm 0.07***
对照组	12	10.53 \pm 4.8	1.35 \pm 1.24	0.13 \pm 0.16

与对照组比较, ** : p<0.01; *** : p<0.001

实验 1, 长期观察部分肝癌在各组的发生情况见表 1-2。

表 1-2 绿茶对 AFB₁ 诱发 HCC 的影响

	绿茶组	对照组
HCC 发生率 (%)	2/22(9.10)	4/23(17.39)
第一例 HCC 发生时间(周)	60	54
HCC 最大直径	2.6	5.0
HCC 个数/例	1	1-3
肺转移(例)	0/2	2/4

以上结果不仅表明了绿茶具有抑制 AFB₁ 诱发肝癌前病变乃至肝癌的作用, 同

时也表明了 AFB₁ 诱癌早期出现的 γ -GT 灶与后期出现的肝细胞癌在发生上有平行关系, 从而进一步证实 γ -GT 灶在本系列研究所用的短期模型中是可靠的肝癌前病变的标志。

2. 绿茶抑制 AFB₁ 致肝癌作用的时间——效应关系

在实验 2 中, 动物在暴露于 AFB₁ 不同时期食用绿茶所发生的 γ -GT 灶的情况见表 2。

表 2 绿茶抑制 AFB₁ 致肝癌作用的时效关系

组别	动物数	γ -GT 灶 (X \pm s)		
		个/cm ²	mm ² /cm ²	mm ² /个
前	6	2.82 \pm 2.41***	0.25 \pm 0.28***	0.088 \pm 0.084*
中	6	4.90 \pm 3.05*	0.47 \pm 0.36**	0.097 \pm 0.126*
后	6	3.82 \pm 3.39**	0.30 \pm 0.16***	0.077 \pm 0.071**
对照	7	8.07 \pm 1.05	1.15 \pm 0.47	0.135 \pm 0.151

与对照组比较, * : p<0.05; ** : p<0.01; *** : p<0.001

上述数据表明绿茶无论用于动物暴露于 AFB₁ 之前、同时或之后, 均有显著的抑癌效果。绿茶的此种抑癌作用显然与某些化学物

如苯巴比妥不同, 后者在用于致癌物之前或当时, 可表现出抑癌作用; 但当用于致癌物之后时, 则表现出明显的促癌作用⁽⁶⁾。本结果

提示, 绿茶作为一种肝癌的化学预防剂应用于人群的安全性。

——效应关系

3. 绿茶抑制 AFB₁ 致肝癌作用的剂量

在实验 3 中, 不同含量的绿茶饲料对 AFB₁ 诱发 γ -GT 灶的影响见表 3:

表 3 绿茶抑制 AFB₁ 致肝癌作用的量——效关系

组别 (绿茶浓度%)	动物数	γ -GT 灶 (X±s)		
		个/cm ²	mm ² /cm ²	mm ² /个
A (0)	12	8.69±1.72	1.53±0.80	0.17±0.30
B (1.0)	12	5.60±3.91**	0.89±0.80*	0.15±0.31
C (1.5)	10	5.66±4.44*	0.83±1.60	0.13±0.38
D (2.0)	10	4.73±4.08**	0.64±0.75**	0.13±0.18
E (4.0)	11	3.95±2.93***	0.50±0.37***	0.07±0.08***

与 A 组比较, *: p<0.05; **: p<0.01; ***: p<0.001

从以上结果可看出 γ -GT 灶的数量及大小有随动物摄入的绿茶量增加而减少、减小的倾向, 从而提示绿茶抑制 AFB₁ 致肝癌作用的可靠性。

的效果比较

食品添加剂 BHA 是一已知的抑癌物⁽⁷⁾, 实验 4 将 5% 绿茶饲料 5000ppmBHA 饲料分别给予两组实验动物, 结果如表 4。

4. 绿茶与 BHA 抑制 AFB₁ 致肝癌作用

表 4 绿茶与 BHA 对 AFB₁ 致肝癌作用的抑制效果比较

组别	动物数	γ -GT 灶 (X±s)		
		个/cm ²	mm ² /cm ²	mm ² /个
绿茶 (5%)	13	5.58±3.10**	0.45±0.38**	0.081±0.077***
BHA (5000ppm)	13	1.64±0.93***	0.10±0.06***	0.059±0.050***
对照	12	10.53±4.84	1.35±1.24	0.125±0.162

与对照组比较, **: p<0.01; ***: p<0.001

以上结果表明 5% 绿茶饲料虽有明显的抑制 AFB₁ 致肝癌作用的效果, 但其效果低于 5000ppmBHA 饲料。将本结果与过去的实验结果⁽⁸⁾比较, 推测 5% 绿茶饲料的抑制效果介于 50ppm-500ppmBHA 之间。

5. 绿茶对 DEN 致肝癌作用的影响

实验 5 旨在探讨绿茶对 AFB₁ 以外的致肝癌物如 DEN 是否也同样具有抑制作用, 结果见表 5。

表 5 绿茶对 DEN 致肝癌作用的影响

组别	动物数	γ -GT 灶 (X±s)		
		个/cm ²	mm ² /cm ²	mm ² /个
绿茶	11	24.40±9.58***	1.63±1.08***	0.067±0.060***
对照 (DEN)	12	41.76±12.44	4.27±1.91	0.103±0.077

与对照组比较, ***: p<0.001

本结果表明绿茶对 DEN 的致肝癌作用也具有明显的抑制效果, 从而提示绿茶对化

学致肝癌物所具有的广谱抑癌倾向。

以上实验结果从各个不同角度显示了绿

茶对 AFB₁ 致肝癌作用的显著抑制效果, 展现了绿茶作为一种安全有效的化学预防剂应用于人群的广阔前景。

参考文献

1. Katiyar SK, Agarwal R and Mukhtar H. Green tea in Chemoprevention of Cancer. Comprehensive Therapy, 1992; 18 (10): 3
2. 陈志英, 严瑞琪, 覃国忠, 等. 茶叶等 6 种食用植物对黄曲霉毒素 B₁ 致大鼠肝癌作用的影响, 中华肿瘤杂志, 1987; 9 (2): 109
3. Solt D, Farber E. New principle for the analysis of chemical carcinogenesis. Nature, 1976; 263: 701
4. Ogawa K, et al. Phenotypic diversity as an early property of putative preneoplastic hepatocyte populations of liver carcinogenesis. Cancer Res. 1980; 40: 725
5. 李瑗, 严瑞琪, 覃国忠, 等. 电脑化图形分析系

统的建立及其在肝癌研究中的应用. 广西医学院学报, 1989; 6 (2): 5

6. Pereira MA, et al. Dose-response Relationship of Phenobarbital Promotion and Diethylnitrosamine Initiated tumors in rat liver. Cancer Letters, 1986; 32305
7. Ito N, Tsuda H, Sakata T, et al. Inhibitory effect of butylated hydroxyanisole and ethoxyqin on the induction of neoplastic lesions in rat liver after an initial treatment with N-ethyl-N-hydroxyethylnitrosamine. Gann, 1983; 74: 466
8. 严瑞琪, 陈志英, 覃国忠, 等. 应用体内短期实验模型研究叔丁基对羟基苯氧基抑制黄曲霉毒素致肝癌作用的剂量效应关系. 广西医学院学报, 1984; 1: 6

(本文曾在“1996年上海国际肝炎、肝癌会议”上交流)

1998 年肿瘤医学杂志联合征订一览表

请读者向各地邮局或编辑部征订

刊名	刊期	单价	全年订价	邮发代号	编辑部地址	邮编
白血病	季	3.00	12.00	22-107	太原市职工新街3号	030013
中华肿瘤杂志	双月	8.00	48.00	2-47	北京市朝阳区潘家园	100021
中华放射肿瘤学杂志	季	8.50	34.00	*	北京市朝阳区潘家园	100021
中国医学文摘·肿瘤学	季	5.00	20.00	48-33	南宁市滨湖路6号	530021
中国癌症杂志	季	10.00	40.00	4-575	上海市徐汇区零陵路399号	200032
中国癌症研究(英文版)	季	5.00	20.00	自办发行	北京市西城区大红罗厂街1号	100034
中国肿瘤	月	2.00	24.00	32-100	杭州市半山桥广济路38号	310022
中国肿瘤生物治疗杂志	季	8.00	32.00	4-576	上海市杨浦区翔殷路800号	200433
中国肿瘤临床	月	8.00	96.00	6-18	天津市河西区体院北环湖西路	300060
中国肿瘤临床与康复	季	6.00	24.00	82-601	北京市海淀区羊坊店383号	100038
抗癌	季	5.00	20.00	自办发行	上海市徐汇区零陵路399号	200032
齐鲁肿瘤杂志	季	7.00	28.00	自办发行	济南市济兗路440号	250117
国外医学肿瘤学分册	双月	3.50	21.00	24-64	济南市经十路89号	250062
实用肿瘤杂志	双月	3.00	18.00	32-87	杭州市延安路353号	310006
实用肿瘤学杂志	季	6.00	24.00	14-159	哈尔滨市哈平路	150040
实用癌症杂志	季	8.00	32.00	44-37	黑龙江省肿瘤防治办公室 南昌市北京东路519号	330029
肿瘤	双月	5.00	30.00	4-289	上海市斜土路2200弄25号	200032
四川肿瘤防治	季	2.50	10.00	自办发行	成都市人民南路四段55号	610041
肿瘤防治研究	双月	6.00	36.00	38-70	武汉市武昌卓刀泉	430070
肿瘤研究与临床	季	3.00	12.00	22-137	太原市职工新街3号	030013
河南肿瘤学杂志	双月	2.00	12.00	36-133	郑州市大学路河南医科大学	450052
浙江肿瘤	季	5.00	20.00	32-37	杭州市半山桥广济路38号	310022
癌症	双月	7.00	42.00	46-21	广州市东风东路651号 中山医大肿瘤防治中心	510060
癌变·畸变·突变	双月	3.00	18.00	4-548	上海市翔殷路932弄18号107室	200433

* 该杂志由北京市东城区崇文门内小报房邮局代办发行业务, 邮编 100005