

茶多酚的生物活性及其对实验性肝损伤的保护作用

刘少锋, 韩 真

刘少锋, 韩真, 皖南医学院附属弋矶山医院消化科 安徽省芜湖市 241001
项目负责人: 韩真, 241001, 安徽省芜湖市赭山西路, 皖南医学院附属弋矶山医院消化科. lsflsf@ah163.com
电话: 0553-5738856-2316
收稿日期: 2004-01-15 接受日期: 2004-07-27

摘要

茶多酚是茶叶中一种主要的活性成分, 具有清除自由基和抗氧化作用等重要的生物活性, 以及抑癌抗癌等药理学作用. 茶多酚对 CCl₄、阻塞性黄疸、急性镉中毒、酒精等所致实验性肝损伤和肝癌癌前病变动物模型均有保护或抑制作用.

刘少锋, 韩真. 茶多酚的生物活性及其对实验性肝损伤的保护作用. 世界华人消化杂志 2004;12(10):2429-2431

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/2429.asp>

0 引言

茶多酚(tea polyphenols, TP)是从茶叶中提取的多酚类化合物, 由多种酚性物质组成, 其中儿茶素类含量最多, 约占TP的60-80%. 茶多酚具有清除自由基和抗氧化作用等重要的生物活性, 另外近来研究显示, TP具有一定的保肝和抑制肝脏肿瘤的功效. 现就TP的生物活性及其对实验肝损伤的保护作用综述如下.

1 生物活性和药理作用

清除自由基和抗氧化作用是TP最重要的生物活性, 抑癌抗癌是TP重要的药理作用之一, 以上作用与防治肝损伤密切相关.

1.1 清除自由基 在机体的新陈代谢过程中常出现活性氧或自由基过剩, 其中氧自由基占有重要地位. TP具有多个邻位酚羟基结构, 极易被氧化成为醌类而提供质子 H⁺, 故具有较强的供氢能力, 使其能够显著地清除体内的有害自由基. 同时TP自身生成稳定的自由基中间体, 抑制原来的自由基链锁反应, 从而保护细胞成分不受损伤. 与其他抗氧化剂相比, TP清除氧自由基具有高效性. 与自由基清除剂超氧化物歧化酶(SOD)相比, 1 mg TP清除 O₂⁻ 的效能相当于 9 μg Cu, Zn-SOD; 与强抗氧化剂 VitC, VitE 相比, 其清除 O₂⁻, ·OH 效能要高几倍甚至几十倍以上^[1].

TP清除氧自由基的化学构效关系表现在^[2]: (1)邻位取代效应; (2)氢键的相互作用; (3)质子氢首过效应作用: 指TP第一步有效地阻止 O₂⁻ 的形成继而阻截其他氧自由基的衍生. (4)TP清除氧自由基的生物化学修饰作用:

TP对 H₂O₂ 生成的 HO· 自由基的直接清除作用较差, 但TP能提高机体内抗氧化酶系的谷胱甘肽过氧化酶(GSH-PX)和SOD活力, 间接抑制HO· 的生成而互补.

1.2 抗氧化作用 抗氧化作用是一种综合效应, 除了通过直接清除自由基途径之外, 还与以下几点有关.

1.2.1 抑制氧化酶减少自由基生成 已有较多的动物或临床实验证明, TP对生物体内多种和自由基生成相关的氧化酶有抑制作用. 如TP对体内、外脂氧化酶, 黄嘌呤氧化酶, 环氧酶, 细胞色素 P 450 酶系, 髓过氧化物酶, 均有抑制作用^[3].

1.2.2 提高抗氧化酶的活性 协同增强效应机体的各种抗氧化酶如SOD, CAT, GSH-Px和谷胱甘肽硫转移酶, 不但协同地防止活性氧的损伤, 而且相互间起保护作用, 如SOD能保护GSH-Px免受O₂⁻ 的灭活, GSH则保护SOD不被H₂O₂ 灭活^[3]. 同样, TP不但通过灭活自由基保护抗氧化酶, 还能提高体内抗氧化酶的活性. TP具有SOD样活性, 可直接升高过氧化物酶、GSH-Px等抗氧化酶活力^[4], 进而提高机体的抗脂质过氧化能力, 显著降低其丙二醛的含量, 但对血清SOD的含量却无明显影响^[5]. 另外, 张晓刚 *et al*^[6] 的研究表明TP和肝脂酶相互协调, 减轻脂质过氧化物对肝细胞损害, TP通过清除自由基改善肝细胞合成肝脂酶的功能, 而后者又可以减轻肝细胞脂肪变性.

1.2.3 螯合金属离子 金属离子常常促进或引起新的脂质过氧化反应, 通过螯合金属离子TP能更为显著地发挥抗氧化作用. 如Fe²⁺可催化Fenton反应; Cu²⁺介导LDL的氧化修饰, 生成Ox-LDL, 同时SOD活性下降^[7]. 众多体内外实验均已证明TP通过螯合Fe²⁺而减轻自由基对机体的损伤^[8], 并且TP不抑制食物中铁的吸收^[9], 也不会争夺络合态Fe²⁺; 还可以通过螯合Cu²⁺而抑制黄嘌呤氧化物的生长, 起抗氧化作用.

1.2.4 与VitC, VitE的协同作用 TP可以再生和保护体内VitC, VitE, 提高体内VitC, VitE的含量, 而后者分别是体内水溶性和脂溶性强抗氧化剂. 在TP抗LDL氧化过程中, TP可提供电子使α-VitE部分再生和循环利用, 并且TP可能同时以水溶性和脂溶性两种方式清除自由基, 比单一的还原剂更有效地保护α-VitE^[10]. 刘英莉 *et al*^[11]发现TP联合VitC、VitE应用后, 能显著降低染尘大鼠肺泡巨噬细胞DNA损伤率(拖尾率), 缩短损伤细胞拖尾的长度.

1.3 抗肿瘤的作用 目前有关TP抑癌、抗肿瘤的报道较多, 其作用机制与以下几方面有关.

1.3.1 诱导肿瘤细胞凋亡 茶多酚可诱导多种肿瘤细胞凋亡^[12-15], 包括裸鼠体内肠癌 PC-9 细胞、TRAMP 鼠体内前列腺癌 CaP 细胞、人类表皮状癌 A431 细胞、人类胃癌 KATO III 细胞、人类结肠癌细胞。焦酚型结构是儿茶素诱导细胞凋亡最基本的条件。迟万好 *et al*^[16]报道在不同的细胞系中 EGCG 诱导其凋亡可能有不同的作用途径。EGCG 在体外诱导肿瘤细胞凋亡的途径有可能有通过对拓扑异构酶的抑制、通过引起多种蛋白激酶 C 同工酶水平的下调调控、通过影响 P53 的表达, 也可能是通过活化 caspase-3/CPP32 样蛋白酶介导的。Suganuma *et al*^[17]证明了 TP 和其他抗肿瘤药(tamoxifen 等)一起使用会产生协同诱导凋亡的作用。另外 TP 诱导细胞凋亡具有选择性^[15], 如 EGC 可诱导亚 G1(sub-G1)期白血病细胞凋亡, 却不能诱导 low S, high G 和 G2/M 期白血病细胞凋亡。

1.3.2 阻滞信号传导通路 TP 对信号传导通路有选择性阻断作用, 从而抑制肿瘤生长^[13]。TP 可干预激活蛋白-1(AP-1)和核转录因子 B(NF- κ B)为主的信号传导通路: 通过作用于 MAPK/JNK 通路抑制促癌物诱导的 AP-1 活性; 通过降低抑制蛋白 I κ B 磷酸化从而调节 NF- κ B 的活性; 抑制上皮生长因子(EGF)与相应受体的结合和受体的磷酸化等。如 Suganuma *et al*^[17]报道了 EGC 的抗肿瘤作用与 MAPKs 有关, EGC 对 MAPK 的三个亚家族 -Erk, JNK/SAPK 及 P38 有细胞疏醇依赖性的刺激作用。

1.3.3 调控细胞周期/抑制肿瘤细胞 DNA 合成与复制 抑制肿瘤细胞生长的机制可能有: 抑制肿瘤细胞 DNA 合成与复制^[14]; 通过诱导细胞周期素依赖性蛋白激酶抑制物(cki)表达, 抑制细胞周期(cyc-lin)和细胞周期素依赖性蛋白激酶(cdk)表达使细胞周期停滞于某一时期^[18]; 干预与细胞增生有关的信号转导通路^[20]。如 Ahmad *et al*^[19]的实验用人类表皮状癌 A431 细胞研究了 EGCG 对 cki-cyclin-cdk 表达的抑制作用。

此外, 茶多酚还能抑制癌基因/诱导抗癌基因的表达^[21]; 抑制致癌物前体的代谢活化; 逆转肿瘤细胞的多药耐药性(MDR)^[22]; 抑制端粒酶: 端粒酶的活化是在肿瘤的晚期, 而且是细胞永生的关键一点, 黎丹戎 *et al*^[23]的体外实验证明茶多酚在一定浓度下能诱导肝 BEL-7404 细胞凋亡, 其抗癌机制与抑制端粒酶活性有关。

2 TP 对实验性肝损伤的保护作用

2.1 CCl₄ 致肝损伤 CCl₄ 致肝损伤主要是 CCl₄ 经过肝微粒体细胞色素 P450 代谢生成的自由基 CCl₃ 产生脂质过氧化损伤。李建祥 *et al*^[24]观察了儿茶素类化合物对 CCl₄ 致大鼠慢性肝损伤的保护作用。中、高剂量给药组(100, 200 mg/kg)均能降低血清 ALT 的活力以及脂质过氧化产物 MDA 和肝组织羟脯氨酸的含量($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 抗膜脂质过氧化作用优于联苯双酯, 并且有减轻肝脏病理损伤的作用, 给药组的肝纤维化程度也轻于 CCl₄ 模型组(对照组)。肖继平 *et al*^[25]的实验表明不仅绿茶取

物抑制四氯化碳所致的肝纤维化, 并且显著降低肝组织 TGF- β_1 mRNA 的表达, 而 TGF- β_1 介导的肝纤维在肝硬化的发展发挥重要的作用。张清俊 *et al*^[26]的实验也表明, 在 CCl₄ 诱发的肝自由基损伤体中, TP 和 VitC 对脂质过氧化均有明显的抑制作用, 但二者之间无显著差异。

2.2 阻塞性黄疸肝脏过氧化损伤 阻塞性黄疸时产生肠源性毒血症, 引起枯否细胞激活, 产生大量氧自由基, 消耗 SOD, 并使其活性下降, 导致组织过氧化反应增强, 同时具有抗氧化功能的 VitE, VitC 明显减少。窦若兰 *et al*^[27]用胆总管结扎的方法制备阻塞性黄疸大白兔模型, 观察了 TP 对阻塞性黄疸肝脏过氧化损伤的保护作用, 结果表明 TP 对阻塞性黄疸肝损伤的保护, 主要是由于减少氧化应激, 阻断氧化应激产物对肝细胞的毒性影响, 达到抗氧化、保肝作用, 并且保护了体内自身抗氧化能力。

2.3 急性镉中毒致肝损伤 肝脏、肾脏是镉毒性作用的主要靶器官, 镉引起的氧化反应已被看作镉毒性损伤的一个重要机制^[28]。陈慧中 *et al*^[29]研究了 TP 和 VitC 预处理对急性镉中毒所致的肝损伤的预防作用, 结果表明 TP 和 VitC 预处理后急性染镉大鼠血清中的 ALT 和 LDH 活性及肝脏中 GSH, MDA 含量明显低于单纯染镉组, 而 GSH-Px 活性高于单纯染镉组, 并提示其机制与清除氧自由基和螯合金属离子有关。

2.4 酒精性肝损伤 林春兰 *et al*^[30]采用了离体和整体实验的方法, 研究了 TP 对酒精性致肝损伤的防治作用。乙醇和乙醛的直接毒性作用是导致酒精性肝损伤的主要因素。乙醇在代谢过程中, 使 NAD⁺ 转变为 NADH, 使 NADH/NAD⁺ 的比值增高, 影响糖代谢, 乙醛可通过黄嘌呤氧化酶系统产生氧自由基, 使膜脂质过氧化增强, 进而损伤肝细胞, 并促进肝纤维化的形成。预先给予 TP, 能阻止自由基对肝细胞膜中不饱和脂肪酸的氧化损伤, 保护肝细胞, 减少了 ALT 的释放、抑制肝脏 MDA 含量的升高。张幸国 *et al*^[31]研究表明, TP 可能通过抗氧化作用和降低体内内毒素水平而抑制 SD 大鼠酒精性肝纤维化的发展。

2.5 抑制肝癌癌前病变和癌细胞生长 宫芸芸 *et al*^[32]报道了茶多酚对以二甲基亚硝胺启动、切除部分肝组织、腹腔注射 CCl₄(DEN/PH/CCl₄)方法制备的肝癌癌前病变模型的抑制作用。实验结果提示茶多酚主要通过有效调节大鼠体内 II 相代谢酶(GSH 家族)的活性, 提高后者对脂质过氧化产物的清除能力、对环氧化物的解毒能力, 从而减少致癌物及其中间活性产物、氢过氧化物等对机体的损伤, 对大鼠肝癌癌前病变发挥抑制作用。并且 TP 和茶色素能够在不同水平上拮抗谷胱甘肽硫转移酶(GST-Pi)的过度表达^[33]。另一项 DEN/PH/CCl₄ 肝癌癌前病变模型的研究^[34]进一步表明抑制细胞增生、诱导细胞凋亡可能是 TP 抗癌的重要机制。并观察到 TP 抑制细胞增生标志物 p21^{WAF} 的表达, 抑制 Bel-2 蛋白的表达,

诱导 Bax 蛋白的表达(后二者与细胞凋亡密切相关)。

此外, 詹皓 *et al*^[35] 观察了重复 +10Gz 暴露对大鼠脑脂质过氧化反应和肝肾功能的影响以及天然抗氧化剂 TP 的防护作用。结果表明重复高 + Gz 作用可损害肝肾功能, 而 TP 具有明显的保护作用。饶光宇 *et al*^[36] 的研究显示 TP 在四氯化碳、硫代乙酰胺、醋氨酚、氯化镉、乙醇、dl- 乙硫氨酸等多种毒物致肝脏损伤中, 均具有保护作用。

总之, 茶多酚对肝损伤具有保护作用, 从理论、动物实验和流行病学调查等方面均已得到证实, 对不同原因造成的肝损伤茶多酚发挥保护作用的机制也不完全相同。但以上机制还不完全明了, 目前尚缺乏可靠的临床资料。茶多酚具有多种生物活性和药理作用, 有关研究已引起国内外医学界, 药学界和茶叶界等各方面的极大关注, 但当前对除儿茶素外的其他有效成分(茶多糖, 茶黄酮等)的药理作用和相互作用方面的研究较少, 需要广泛地从分子、细胞、组织、器官等各个层次进行研究。

3 参考文献

- 李叶云, 江昌俊, 王秀丽. 茶多酚的生物活性及药理学研究进展. 安徽中医学院学报 2002;21:57-59
- 艾寒松, 梁仕声, 艾长荣. 茶多酚清除氧自由基的化学和药理作用的研究. 现代诊断与治疗 1998;9:314-315
- 胡秀芳, 沈生荣, 朴宰日, 杨贤强. 茶多酚抗氧化机制研究现状. 茶叶科学 1999;19:93-103
- 刘淑红, 李莹, 王美, 秦筱梅. 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. 中国肿瘤生物治疗杂志 2003;10:206-209
- 彭章平, 程普新, 葛瑶, 白菁. 茶多酚对血清超氧化物歧化酶和丙二醛水平影响的临床研究. 中国疗养医学 2001;10:36-37
- 张晓刚, 陈运贞, 雷寒, 王周碧. 实验性兔脂肪肝肝脂酶活性变化及茶多酚的作用. 中华肝脏病杂志 2003;11:77-80
- 刘忠民, 张华征. 茶多酚和维生素 E 对血浆脂蛋白氧化修饰的比较观察. 上海医学 1997;20:578-580
- Guo Q, Zhao B, Li M, Shen S, Xin W. Studies on protective mechanisms of four components of green tea polyphenols against lipid peroxidation in synap-tosomes. *Biochim Biophys Acta* 1996;1304:210-222
- 沈新南, 陆瑞芳, 吴岷. 茶多酚对老龄大鼠血脂及体内抗氧化能力的影响. 中华预防医学杂志 1998;32:34-37
- 吴文华, 吴镇洲. 茶多酚的抗低密度脂蛋白氧化作用. 中国茶叶 2002;24:6-7
- 刘英莉, 张艳淑, 王广增, 姚林, 赵伯阳. 茶多酚联合维生素 C、维生素 E 对染尘大鼠肺泡巨噬细胞 DNA 损伤的保护实验研究. 中国职业医学 2000;27:21-22
- Li HC, Yashiki S, Sonoda J, Lou H, Ghosh SK, Byrnes JJ, Lema C, Fujiyoshi T, Karasuyama M, Sonoda S. Green tea polyphenols induce apoptosis in vitro in peripheral blood T lymphocytes of adult T-cell leukemia patients. *Jpn J Cancer Res* 2000;91:34-40
- 刘刚, 陆劲松. 茶多酚对肿瘤防治作用的研究进展. 中国癌症杂志 2002;12:265-268
- 陈清勇, 钱利生, 郭勇, 郑筱洋. 茶多酚抗肿瘤的分子生物学研究进展. 中国现代应用药学杂志 2001;18:175-178
- Smith DM, Dou QP. Green tea polyphenol epigallo-catechin inhibits DNA replication and consequently induces leukemia cell apoptosis. *Int J Mol Med* 2001;7:645-652
- 迟万好, 曹明富, 朱睦元. 茶多酚诱导肿瘤细胞凋亡的作用. 杭州师范学院学报(自然科学版) 2001;18:46-48
- Suganuma M, Okabe S, Kai Y, Sueoka N, Sueoka E, Fujiki H. Synergistic effects of (—)-epigallocatechin gallate with (—)-epicatechin, sulindac, or tamoxifen on cancer-preventive activity in the human lung can-cer cell line PC-9. *Cancer Res* 1999;59:44-47
- Opore Kennedy D, Kojima A, Hasuma T, Yano Y, Otani S, Matsui-Yuasa I. Growth inhibitory effect of green tea extract and (-)epigallocatechin in Ehrlich ascites tumor cells involves a cellular thiol-depend-ent activation of mitogenic-activated protein kinases. *Chem Biol Interact* 2001;134:113-133
- Ahmad N, Cheng P, Mukhtar H. Cell cycle dysregulation by green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;275:328-334
- Chung JY, Huang C, Meng X, Dong Z, Yang CS. Inhibition of activator protein 1 activity and cell growth by purified green tea and black tea poly-phenols in H-ras-transformed cells: structure-activity relationship and mechanisms involved. *Cancer Res* 1999;59:4610-4617
- Okabe S, Fujimoto N, Sueoka N, Suganuma M, Fujiki H. Modulation of gene expression by (-)-epi-gallocatechin gallate in PC 9 cells using a cDNA expression array. *Biol Pharm Bull* 2001;24:883-886
- 冉铁成, 王毅, 刘新起, 褚泰伟, 魏雄辉, 王祥云, 郭振泉, 魏冰. 茶多酚主要成分对肿瘤多药耐药性的逆转作用. 核化学与放射化学 2003;25:74-80
- Li DR, Zhang W, Tang DP, Zhang LS. Inhibitory effects of tea polyphenols on telomerase and its ability to induce apoptosis of BEL-7404 human hepatocellular carcinoma cell. *Chin Pharmacol Bull* 2003;19:934-939
- 李建祥, 陈跃进, 章瑜, 周立人. 儿茶素类化合物对四氯化碳致大鼠慢性肝损伤的保护作用. 工业卫生与职业病 2003;29:20-23
- 肖继平, 陆瑞芳, 沈新南, 吴岷. 绿茶提取物对四氯化碳所致大鼠肝硬化的保护作用. 中华预防医学杂志 2002;36:243-246
- 张清俊, 李彤, 詹皓, 辛益妹. 茶多酚和维生素 C 对 FeSO₄- 半胱氨酸诱发离体人血浆脂质过氧化及 CCL₄ 诱发肝自由基损伤的抑制作用. 航天医学与医学工程 2001;14:50-53
- 窦若兰, 刘书德, 胡若梅, 孙志慧, 杨宏伟, 沈伟. 茶多酚对阻塞性黄疸肝脏过氧化损伤的保护作用. 营养学报 2000;22:328-332
- Shaikh ZA, Vu TT, Zaman K. Oxidative stress as a mechanism of chronic cadmium-induced Hepatotoxicity and renal toxicity and protection by anti-oxidants. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999;154:256-263
- 陈慧中, 徐兆发, 裴秀丛, 郑霄, 李晶, 李北利. 茶多酚、维生素 C 对镉急性毒性影响的实验研究. 中国工业医学杂志 2003;16:12-14
- 林春兰, 蒋建伟, 严玉霞, 周羽竝, 赵迎社, 吴美玉. 茶多酚对酒精诱导的小鼠肝脂质过氧化和血清 ALT 活性变化的影响. 中国病理生理杂志 2003;19:110-112
- 张幸国, 虞朝辉, 秦玉娥, 张宇, 陈韶华, 厉有名. 茶多酚抗大鼠肝纤维化及其机制研究. 中国中药杂志 2003;28:1070-1072
- 宫芸芸, 韩驰, 陈君石. 茶多酚、茶色素对肝癌癌前病变大鼠肝脏 II 相解毒酶的诱导及其在化学预防中的作用. 卫生研究 2000;29:159-162
- 宫芸芸, 韩驰, 陈君石. 茶多酚、茶色素对大鼠肝癌癌前病变抑制作用的研究. 卫生研究 1999;28:294-296
- 贾旭东, 韩驰, 陈君石. 茶多酚、茶色素对大鼠肝癌癌前病变抑制作用及机制研究. 卫生研究 2001;30:168-169
- 詹皓, 陈立敏, 辛益妹, 唐桂香, 温静. 茶多酚对重复 +Gz 暴露大鼠脑脂质过氧化反应和肝肾功能的影响. 航天医学与医学工程 1999;12:1-5
- 饶光宇, 陈秀芬, 于燕妮. 茶多酚对小鼠实验性肝损伤的保护作用. 中国中药杂志 2001;26:191-193