

儿茶素氧化聚合物体内外抗肿瘤作用及对正常小鼠免疫功能的影响

李春美 谢笔钧 华中农业大学食品科技系 武汉 430070

摘 要 测定了儿茶素氧化聚合物的体内外抗肿瘤活性及与其相关的免疫调节, 抗氧化和在模拟条件下对亚硝酸盐的清除作用。结果表明, 儿茶素氧化聚合物对人肝癌细胞株 SMMC-7721 和艾氏腹水癌实体型肿瘤均有明显的抑制作用, 且效果分别强于 EGCG 和儿茶素; 儿茶素氧化聚合物可明显地增强正常小鼠细胞免疫和非特异性免疫功能, 能显著提高老龄小鼠红细胞 SOD 活力降低血清 MDA 含量, 而且对模拟胃液条件下的亚硝酸盐有显著的清除作用。儿茶素氧化聚合物明显的抗氧化及免疫增强作用可能是其发挥抗肿瘤作用的机制之一。

关键词 儿茶素 氧化聚合物 抗肿瘤 免疫

Abstract The antitumor activity of tea catechin oxy-polymers (TCOP) was studied with Ehrlich ascites tumor and human hepatic carcinoma cell line (SMMC-7721); The immunomodulatory effects of TCOP were assayed by delayed type hypersensitivity (DTH), phagocytosing method and LDH method. The result suggested that TCOP strongly inhibited the growth of Ehrlich ascites tumor (solid tumor). The inhibitory rate in dose of 200 mg/kg. d and 400 mg/kg. d was 47.1% and 36.7% respectively for TCOP and 30.8% and 36.6% for respectively TC. MTT assay showed that the different concentrations of TCOP significantly inhibited the growth of human hepatic carcinoma cell line (SMMC-7721). The concentration-effect relationship was obvious. IC_{50} values of EGCG and TCOP were 192.1 μ g/ml and 115.0 μ g/ml respectively; It was found that TCOP (Po, 200 mg/kg. d \times 7 d) could significantly intensify DTH caused by DNFB, and TCOP (Po, 200 mg/kg. d \times 30 d) increase the activity of NK cell. It also showed that TCOP (100 mg/kg. d, 200 mg/kg. d, 400 mg/kg. d \times 30 d) could improve phagocytosing function of peritoneal macrophage (PM ϕ) by 11.35%, 31.97%, 50.8% respectively. TCOP could also activate red cell SOD and reduce the content of MDA of old mice very significantly. A remarkable effect of TCOP on inhibiting or clearing $NaNO_2$ was shown on imitating gastric juice. The antioxidant activity and immunomodulatory enhancing effects of TCOP might be one mechanism of TCOP's antimutagenicity.

Key words Tea catechins Oxypolymers Immunity Antitumor

大量的动物试验证实饮茶对化学物质引起的食道、前胃、肝、大肠、口腔等多处肿瘤的发生具有明显的预防作用^[1,2], 而且国内外学者大多认为茶多酚所具有的抗氧化、清除自由基、诱导解毒酶、调节机体免疫等作用是其发挥抗肿瘤作用的主要机制。以往的观点认为氧化聚合会对儿茶素类化合物的活性不利, 近年来也有研究表明儿茶素类氧化产物在预防肿瘤和抑菌抗病毒等方面的生物学活性并不亚于茶多酚。台湾国际 Cheng Hsing 大学的 Gow-Chin Yen, Hui-Yin Chen 等^[3]研究发现, 半发酵茶的抗氧化活性大于不发酵茶和发酵茶。本研究室的谢笔钧、胡慰望教授^[4]研究发现, 茶黄素单酯-2B (TFM-2B) 和茶黄素双酯 (TFD) 比 EGCG 抑制脂肪氧合酶的作用更强。湖南医科大学的曹进报道^[5] 茶色素具有比儿茶素单体更优异的抑菌和抗菌毒活性。浙江医科大学心血管专家楼福庆教授研究表明, 茶色素对高血脂症、血液高粘滞具有很好的预防和治疗作用^[6]。这表明茶多酚的氧化产物可能比茶多酚具有更优异的生物活性。为探讨氧

化对儿茶素生物活性的影响, 本实验通过一定方法制得儿茶素氧化聚合物, 并对其体内外抗肿瘤作用及与抗肿瘤作用有关的抗氧化、对正常小鼠免疫功能的影响和在模拟胃液条件下对亚硝酸盐的清除等作用进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 儿茶素 (tea catechins): 四川筠连茶多酚厂生产, EGCG 含量大于 85% (以下简称 TC)。

1.1.2 儿茶素氧化聚合物 (tea catechins' oxy-polymers): 自行制备, 含量大于 90%。(以下简称 TCOP)

1.1.3 试验动物: 昆明种雌性小鼠, 清洁级, 由同济医科大学实验动物中心提供 (动物合格证: 鄂医动字 19-052 号), 其中老龄小鼠 (2 月龄) 40 只, 体重 47.6 ± 3.9 g, 幼龄小鼠 (2 月龄) 10 只, 体重 18.5 ± 1.4 g。

- 1.1.4 SOD MDA 试剂盒 南京建成生物工程有限公司
 1.1.5 人肝癌细胞株 SMMC-7721: 购自武汉大学中国典型培养物保藏中心
 1.1.6 DMEM RPMI 完全培养粉 Sigma 公司产品 ;小牛血清 : 购自中国医学科学院基础医学研究所。

1.2 方法

1.2.1 儿茶素氧化聚合物的制备及纯化: 取 10% 的茶多酚水溶液 (EGCG 含量 > 85%) , 加入 2.5% (v/v) 的氧化剂 H_2O_2 , 在 45℃ 条件下于磁力搅拌器上 , 反应 5h , 终止反应后冷冻干燥即得儿茶素氧化聚合物粗品 (tea catechins' oxy-polymers, 以下简称 TCOP)。

取 0.5g 上述儿茶素氧化聚合物粗品 , 溶于 1ml 95% 的乙醇中 , 上 Sephadex LH-20 柱 (26mm i. d × 800mm) , 先用 95% 的乙醇洗脱以除去残留的少量儿茶素 (EGCG, ECG) 、咖啡因及叶绿素等 , 然后用 50% 的丙酮溶液洗脱氧化聚合物 , 收集 50% 丙酮溶液洗脱所得组分 , 回收溶剂冷冻干燥即得较纯的儿茶素氧化聚合物 (TCOP) 。经高效液相色谱 (HPLC) , 质谱 (MS) 和凝胶渗透色谱分析表明由此所得组分分子量分布范围为 433-2000 , 其中 TCOP 含量大于 90% , EGCG , ECG , 咖啡因含量分别为 5.3% , 0.7% 和 2.6% 。

1.2.2 儿茶素氧化聚合物体外抗肿瘤作用

参照徐叔云^[7]的方法进行。SMMC-7721 细胞生长于 DMEM 培养基中 (含 15% 灭活小牛血清 , 100U/ml 青霉素 , 100ug/ml 链霉素) , 37℃ , 5% CO₂ 潮湿环境中培养。儿茶素氧化聚合物和对照纯品 EGCG 用生理盐水配制成贮存液 , 0.45um 微孔滤膜过滤除菌备用。

将处于对数生长期的 SMMC-7721 细胞用 0.25% 胰蛋白酶消化后配制成 2×10^5 个/ml 单细胞悬液 , 在 96 孔板中每孔加入 0.1ml , 然后加入不同浓度的儿茶素氧化聚合物和 EGCG (25、50、100、200、400、800μg/ml) , 每组 3 复孔 , 置 37℃ , 5% CO₂ 环境中培养 48h , 实验终止前 4 小时每孔加入 MTT 磷酸盐缓冲液 (2.5mg/ml) 20μl , 继续培养 4 小时后将 96 孔板离心 (1000r/min × 10min) , 弃去上清 , 每孔加入 SDS (100g/L 含 0.01mol/L HCl) 100μl 终止反应 , 置 37℃ 1h , 最后用震荡器振荡 10min , DG3022 型酶联免疫检测仪测定各孔的吸光度 (A_{550nm}) , 按下式计算各用药组的生长抑制率 IR (%) :

$$\text{生长抑制率 IR (\%)} = \left(1 - \frac{\text{用药组平均 } A_{550nm}}{\text{对照组平均 } A_{550nm}} \right) \times 100\%$$

1.2.3 儿茶素氧化聚合物体内抗肿瘤作用

试验动物、剂量和给药途径 : 昆明小鼠 16-20g。每批动物性别一致。实验前将所需浓度的儿茶素氧化聚合物溶液配成混悬液 , 以 200mg/kg. d , 400mg/kg. d 剂量灌胃 , 同时设溶剂对照和 FT-207 (呋喃尿嘧啶片) 200mg/kg. d 阳性对照。

试验方法 : 每批实验取小鼠 40 只 , 在无菌条件下抽取艾氏腹水癌瘤液 , 以生理盐水稀释成 3×10^6 个/0.2ml , 取 0.2ml 注入小鼠右腋皮下。24h 后称重 , 随机分为 0.5% CMC 对照组、FT-207 组、各儿茶素氧化聚合物组、每组 10 只。连续灌胃 7

天。停药次日处死小鼠 , 称体重 , 剥离皮下瘤块 , 称瘤重。计算各组瘤体的平均重量及抑瘤率。

1.2.4 儿茶素氧化聚合物对老年小鼠红细胞 SOD 活力和血清 MDA 含量的影响

小鼠试验方法与剂量分组 : 将 40 只老龄小鼠按体重随机分为 4 组 , 每组 10 只 , 设 100mg/kg. b. w、200mg/kg. b. w、400mg/kg. b. w 三个儿茶素氧化聚合物剂量组 , 同时设老龄对照和幼龄对照各一组 , 以生理盐水灌胃。各组动物每周称体重一次 , 连续灌胃一个月。试验结束后小鼠断头取血 , 测血清 MDA 含量和红细胞 SOD 活力。

SOD , MDA 测定方法 : 按试剂盒说明书操作测红细胞 SOD 活力和血清 MDA 含量。SOD 活力以亚硝酸单位表示 , 即 NU/ml。

1.2.5 儿茶素氧化聚合物对正常小鼠免疫功能的影响

1.2.5.1 试验分组、给药方法及剂量

40 只小鼠随机分为 4 组 , 每组 10 只 , 即溶剂对照组和儿茶素氧化聚合物三个不同剂量组。实验前将儿茶素氧化聚合物按所需浓度用 0.5% CMC 溶液配成混悬液。DTH 试验以 50mg/kg. d、100mg/kg. d、200mg/kg. d 三个剂量连续灌胃 7 天 ; 腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞试验三个剂量为 100mg/kg. d、200mg/kg. d、400mg/kg. d 连续灌胃 30 天 ; NK 细胞活性试验剂量为 200mg/kg. d 连续灌胃 30 天。空白对照均灌以 0.5% CMC 溶液。

1.2.5.2 DTH 反应的产生和测定

按徐叔云^[7]的方法。每鼠腹部去毛 , 范围为 $3 \times 3 \text{ cm}^2$ 大小 , 实验第二天将 1% 的二硝基氟苯 (DNFB) 的丙酮溶液 100μl 均匀涂于小鼠腹部以致敏。致敏后第五天将 1% DNFB 10μl 均匀涂于小鼠右耳 (两面) 进行攻击。攻击后 24h , 颈椎脱臼处死小鼠 , 以游标卡尺测量左右耳厚度之差为肿胀度 , 同时取小鼠脾脏称重 , 以每 10g 小鼠的脾重 (mg) 作为脾指数。

1.2.5.3 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞试验

细胞涂片 : 参照徐叔云^[7]和王桂枝^[8]的方法进行。试验第 30 天每鼠腹腔注射 5% 的鸡红细胞生理盐水悬液 0.5ml , 30min 后颈椎脱臼处死小鼠 , 正中剪开腹部皮肤 , 经腹部注入生理盐水 2ml , 轻轻按揉腹部 1min , 然后吸出腹腔洗液 1ml , 分滴于两片载玻片上 , 37℃ 温育 30min , 生理盐水漂洗 , 以除去未粘片的细胞。晾干 , 10% 甲醛溶液固定 5min , Wright's 染色。

结果判定 : 油镜下计数巨噬细胞 , 每片 200 个 , 按下式计算吞噬指数及吞噬百分率:

$$\text{吞噬百分率} = \frac{\text{吞噬鸡红细胞的巨噬细胞数}}{200 \text{ 个巨噬细胞 (吞噬及未吞噬的)}} \times 100\%$$

$$\text{吞噬指数} = \frac{\text{被吞噬的鸡红细胞}}{200 \text{ 个巨噬细胞}} \div 2$$

1.2.5.4 儿茶素氧化聚合物对 NK 细胞活性的影响

脾细胞的制备 : 无菌取出脾脏 , 按常规方法制备脾细胞悬液 , 用注射器心将脾细胞磨成细胞悬液 , 经 200 目铜网过滤除去杂质。离心收集细胞后用 Tris-NH₄Cl 缓冲液溶解红细胞 , 用 Hanks 液洗两遍。将脾细胞悬于 1ml RPMI-1640 液中 , 计数 , 并

用 5% FCS - RPMI 完全培养液将细胞调至 1×10^7 个细胞/ml。用台盼蓝排斥试验测细胞存活率在 95% 以上。

NK 细胞活性检测^[9] (乳酸脱氢酶释放试验):用 5% FCS - RPMI 完全培养液调细胞浓度为 1×10^7 个/ml。靶细胞为传代培养的 YAC - 1 细胞, 用完全 5% FCS - RPMI - 1640 完全培养液调整细胞浓度至 1×10^5 个/ml。反应体系在 96 孔 U 型培养板中进行, 实验孔加靶细胞各 100 μ l, 同时设靶细胞自然释放对照孔 (加靶细胞, 培养液各 100 μ l) 和最大释放对照孔 (100 μ l 靶细胞 100 μ l 1% NP - 40 液), 每孔均做 3 个平行孔。低速离心 1000r/min, 2min 后, 置 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 培养箱中孵育 24h, 取出后离心, 取 100 μ l 上清于另一 96 孔板中, 再于个孔加入新鲜配制的 LDH 底物溶液 100 μ l (NAD⁺ 10mg, PMS 1.0mg, NBT 4.0mg 加双蒸水 2ml 溶解, 混匀后取上清 1.6ml 加乳酸钠 0.4ml, 然后加入 0.1mol/L pH7.4 PBS 至 10ml), 室温避光反应 15min, 每孔加入 1mol/L 柠檬酸终止液 30 μ l 以终止酶促反应; 用酶联仪在 570nm 波长测各孔 OD 值, 并按下式计算 NK 细胞活性(%):

$$\text{NK 细胞活性 (\%)} = \frac{\text{样品释放孔 OD 值} - \text{自然释放孔 OD 值}}{\text{最大释放孔 OD 值} - \text{自然释放孔 OD 值}} \times 100\%$$

1.2.6 在模拟胃液条件下对亚硝酸钠的消除作用

参照廖惠珍等^[10]的方法。分别取一定浓度的样品 1ml 每管加入 0.2mg/ml NaNO₂ 标液 100 μ l (同时做不加 NaNO₂ 标液的本底管) 以 pH3 的柠檬酸液加至 5ml, 混匀后加塞避光置 37 $^{\circ}$ C 保温 1h, 准时取出各管。用校正比色法 (马卫兴等, 1995) 测各管光密度 按下式计算消除率 NaNO₂ 消除率 = $[A_{\text{标}} - (A_{\text{样}} - A_{\text{本底}})] / A_{\text{标}} \times 100\%$ 。

1.2.7 统计学方法

本实验数据均用 PEMS2.0 统计分析软件分析, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组间比较用 t 检验。

2 结果与分析

2.1 儿茶素氧化聚合物的体外抗肿瘤作用

2.1.1 儿茶素氧化聚合物的急性毒性试验

以不同剂量的儿茶素氧化聚合物及儿茶素灌胃小鼠, 经测定它们对昆明小鼠的半致死剂量 LD₅₀ 值分别为 6.40g/kg 和 2.64g/kg, 说明儿茶素氧化后毒性降低。

2.1.2 儿茶素氧化聚合物体外抗肿瘤作用

如表 1 所示, 不同浓度的儿茶素氧化聚合物和 EGCG 作用于人肝癌细胞株 SMMC - 7721 细胞 48h 后, 对肿瘤细胞的生长

均有不同程度的抑制作用, 且有明显的浓度依赖性。当用药浓度大于 100 μ g/ml 时, 对细胞生长均有显著的抑制作用 ($P < 0.01$ 或 0.05)。不同浓度的儿茶素氧化聚合物对细胞生长的抑制率均高于对应浓度的 EGCG, 经统计学处理有显著性差异 ($P < 0.05$)。儿茶素氧化聚合物及 EGCG 的 IC₅₀ 值分别为 111.5 μ g/ml 和 192.1 μ g/ml。

表 1 儿茶素氧化聚合物体外抗肿瘤 MTT 试验结果

药物浓度 (μ g/ml)	TCOP $A_{550}(\bar{x} \pm s)$	抑制率 IR (%)	EGCG $A_{550}(\bar{x} \pm s)$	抑制率 IR (%)
0	0.80 ± 0.03	0	0.85 ± 0.03	
25	0.83 ± 0.02	2.4	0.84 ± 0.03	1.2
50	0.66 ± 0.02	22.4	0.78 ± 0.03	8.2
100	0.47 ± 0.01	44.7*	0.54 ± 0.02	36.5*
200	0.29 ± 0.01	65.9**	0.37 ± 0.02	56.5**
400	0.13 ± 0.03	84.7**	0.24 ± 0.02	71.8**
800	0.08 ± 0.01	90.6**	0.17 ± 0.01	80.0**

与对照组比较 compared with control * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.1.3 儿茶素氧化聚合物对艾氏腹水瘤实体型生长的影响 (表 2)

由表 2 可见, 儿茶素氧化聚合物在 200mg/kg, 400mg/kg 剂量下对艾氏腹水实体型均有较强的抑制作用 ($P < 0.05$ 或 0.01), 但并不呈剂量 - 效应关系, 其中 200mg/kg 剂量组作用最强, 达 47.1% ($P < 0.01$), 且氧化聚合物抑瘤作用强于相同剂量下的儿茶素。

2.2 儿茶素氧化聚合物对老龄小鼠红细胞 SOD 活力和血清 MDA 含量的影响

小鼠灌胃后, 老龄对照和各剂量组体重均无明显差异, 说明儿茶素氧化聚合物对小鼠的生长无明显不良影响。幼鼠体重增加较快, 是由于其处于旺盛的生长期所致。

从表 3 可以看出给予儿茶素氧化聚合物后各剂量组小鼠红细胞 SOD 活性极显著地高于老龄对照组, 且 200mg/kg, d 和 400 mg/kg, d 剂量组 SOD 活性与幼龄对照组相比, 已无显著性差异; 各剂量组血清 MDA 含量也极显著的低于老龄对照组, 而与幼龄对照组相比, 已无显著差异, 200mg/kg, d 和 400 mg/kg, d 剂量组血清 MDA 含量甚至低于幼龄对照组 (但无显著性差异), 且呈剂量 - 效应关系。

2.3 儿茶素氧化聚合物对小鼠免疫功能的影响

2.3.1 儿茶素氧化聚合物对 DNFB 所致正常小鼠 DTH 反应

表 2 儿茶素氧化聚合物对小鼠艾氏腹水瘤实体型生长的影响

组别	动物数 (只)	体重 (g) 开始 ($\bar{x} \pm SD$)	结束 (\bar{x})	瘤重 ($\bar{x} \pm SD$)	抑制率 (%)
50% CMC	10	18.0 ± 1.3	$22. \pm 1.4$	1.04 ± 0.3	
FT - 207 (100mg/kg)	10	18.2 ± 1.5	$18. \pm 1.8$	0.36 ± 0.2	65.4**
TCOP (200mg/kg)	10	17.9 ± 1.1	$20. \pm 2.7$	0.70 ± 0.3	47.1**
TCOP (400mg/kg)	10	17.2 ± 1.2	$19. \pm 2.8$	0.66 ± 0.3	36.7**
TC (200mg/kg)	10	17.2 ± 1.1	$19. \pm 2.6$	0.72 ± 0.3	30.8*
TC (400mg/kg)	10	17.9 ± 0.9	$19. \pm 1.8$	0.66 ± 0.2	36.6*

与对照组比较 compared with control * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表3 儿茶素氧化聚合物对老龄小鼠红细胞 SOD 活力和血清丙二醛含量的影响

组别	剂量 (mg/kg, d)	动物数	红细胞 SOD 活力 (Nu/ml) $\bar{X} \pm SD$	血清丙二醛含量 (nmol/ml) $\bar{X} \pm SD$
Old control	0	10	20074.7 \pm 152.3	12.26 \pm 2.55
TCOP	100	10	22027.7 \pm 1247.9 * *	8.66 \pm 1.79 * *
	200	10	23802.3 \pm 1353.1 * *	7.67 \pm 1.87 * *
	400	10	24216.0 \pm 1445.0 * *	7.28 \pm 1.54 * *
Young Control	0	10	24696.7 \pm 1585.7 * *	8.37 \pm 1.72 * *

* *: P < 0.01 与老龄对照组比较, compared with the old control

表4 儿茶素氧化聚合物对 DNFB 所致正常小鼠 DTH 反应的影响
(N = 10 $\bar{X} \pm SD$)

组别	剂量 (mg/kg, d)	肿胀度 (mm)	脾脏指数 (mg/10g)
control		0.284 \pm 0.037	23.41 \pm 2.86
CY	50	0.220 \pm 0.046	18.43 \pm 3.67 *
TCOP	100	0.272 \pm 0.074	30.71 \pm 4.10
	200	0.304 \pm 0.019	26.40 \pm 10.70
		0.332 \pm 0.016 *	24.52 \pm 6.68

与对照组比较 compared with control * P < 0.05.

的影响

儿茶素氧化聚合物以 50, 100, 200mg/kg, d 剂量对小鼠口服给药, 环磷酰胺 (CY) 阴性对照组在涂耳前三天每天皮下注射环磷酰胺 40mg/kg, d, 对 DNFB 所致的正常小鼠 DTH 反应的影响如表 4 所示。与溶剂对照组相比较, 氧化聚合物各剂量组对小鼠的脾脏指数均无明显的影响。环磷酰胺可使小鼠脾脏萎缩 ($P < 0.05$)。氧化聚合物 200mg/kg, d 剂量组小鼠耳片肿胀度增高, 与对照组比较有显著差异 ($P < 0.05$)。表明连续给药 7 天可显著增强 DNFB 所致的小鼠 DTH 反应。

2.3.2 儿茶素氧化聚合物对正常小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响

如表 5 所示, 与溶剂对照组比较, 氧化聚合物各剂量组小鼠 PM 吞噬鸡红细胞百分率及吞噬指数均有提高, 且呈剂量-效应关系。其中儿茶素氧化聚合物 200mg/kg, d 和 400mg/kg, d 剂量组与对照组相比有显著性差异 ($P < 0.05$) 和 ($P < 0.01$), 以 400mg/kg, d 剂量组作用最强。表明儿茶素氧化聚合物 200, 400 mg/kg, d 剂量连续给药 30 天能明显增强小鼠 PM 吞噬功能, 提示儿茶素氧化聚合物可增强小鼠的非特异性免疫功能。

2.3.3 儿茶素氧化聚合物对正常小鼠体内 NK 细胞活性的影响

试验结果表明, 儿茶素氧化聚合物 200mg/kg 剂量可显著地提高小鼠 NK 细胞活性 ($P < 0.05$), 提示儿茶素氧化聚合物对 NK 细胞可能有直接激活作用。

2.4 模拟胃液条件下对亚硝酸盐的清除作用

人体摄入的亚硝酸盐或在体内转化而成的亚硝酸盐主要在胃中与胺类物质结合形成致癌物亚硝胺(吴永宁等, 1988)。表 7 结果显示, 在模拟胃液条件下, 浓度为 100 μ g/ml - 800 μ g/ml 的 TCOP 对亚硝酸钠的清除率均在 75% 以上。

3 讨论

表5 儿茶素氧化聚合物对正常小鼠 PM 吞噬功能的影响
(N = 10 $\bar{X} \pm S$)

组别	剂量 (mg/kg/d)	吞噬百分率 (%)	吞噬指数
Control		31.28 \pm 4.29	0.51 \pm 0.03
TCOP	100	34.84 \pm 4.05	0.61 \pm 0.14
	200	41.28 \pm 4.17 *	0.63 \pm 0.16 *
	400	47.14 \pm 4.41 * *	0.97 \pm 0.19 * *

与对照组比较 compared with control * P < 0.05, * * P < 0.01

本实验结果表明, 儿茶素氧化聚合物对 SMMC-7721 细胞株及艾氏腹水瘤实体型生长均有明显的抑制作用, 且效果强于 EGCG 或儿茶素, 具有统计学意义。这与国内外文献报道的茶色素的抗癌作用结果一致。

儿茶素类化合物优异的抗氧化作用被认为是其发挥抗肿瘤作用的主要机制。SOD 能清除机体产生的超氧阴离子自由基, 保护细胞免受损伤, 其活性的高低间接反应了机体清除自由基的能力; MDA 为自由基攻击机体生物膜系统中的多不饱和脂肪酸 (PUFA), 引发脂质过氧化反应而形成的产物, 其含量的高低间接反应了机体受自由基攻击的严重程度。对儿茶素氧化聚合物的抗氧化作用研究表明氧化聚合物可极显著地提高老龄小鼠红细胞 SOD 活力和降低血清 MDA 含量, 说明儿茶素氧化聚合物具有优异的抗氧化活性。因此, 作者认为儿茶素氧化聚合物的抗氧化作用也是其发挥抗肿瘤作用的机制之一。

临床和实验研究表明, 肿瘤的发生、发展与免疫功能及免疫功能失调有关^[11, 12] (Zhang et al, 1987; Kadish et al, 1981)。天然杀伤细胞 (NK 细胞) 是细胞免疫中的非特异性成分, 是机体天然存在的抗肿瘤细胞, 因为其活化不需抗原致敏, 故 NK 细胞处于机体抗肿瘤的第一道防线。儿茶素氧化聚合物可使 DNFB 所致小鼠皮肤 DTH 反应增强, 提示儿茶素氧化聚合物对小鼠 T 细胞免疫功能有增强作用; 儿茶素氧化聚合物体内给药, 可明显增强小鼠 PM ϕ 吞噬功能, 且呈剂量效应关系。说明儿茶素氧化聚合物可通过激活单核 M 发挥增强机体非特异性免疫功能的作用。儿茶素氧化聚合物的抗肿瘤作用可能与其明显地增强细胞免疫和非特异性免疫的作用有关。

此外, 儿茶素氧化聚合物能有效地清除模拟胃液条件下亚硝酸盐, 这可能对其预防某些癌症的发生有重要意义。

近年来, 有关儿茶素的抗氧化, 防癌方面的研究比较多。最近, 关于儿茶素氧化产物防癌方面的研究也有一些报道^[13, 14], 但这些报道多以红茶提取物和茶色素为研究对象, 红茶提

表 6 儿茶素氧化聚合物对正常小鼠 NK 细胞活性的影响

组别	剂量 (mg/kg)	动物 (只)	NK 细胞活性 (%)
Control		10	51.03 ± 5.72
TCOP	200	10	58.92 ± 4.41 *

* 与对照组相比, compared with control :P <0.05

表 7 儿茶素氧化聚合物在模拟胃液条件下对亚硝酸钠的清除作用

样品	浓度 (μg/ml)	消除率 (%)
TCOP	100	75.7
	200	80.1
	400	86.0
	800	75.0

取物和茶色素均为复杂的混合物除含有儿茶素氧化产物外还含有大量的其它成分如儿茶素、黄酮醇、咖啡碱等,因此,红茶及茶色素所表现出来的药理活性并不能完全代表儿茶素氧化产物的药理活性。本研究揭示由儿茶素经轻度氧化聚合所形成的低聚产物仍然具有很优异的抗肿瘤、增强免疫、抗氧化等作用,这充分证明,适度的氧化聚合(聚合度<5)不仅不会破坏儿茶素类化合物的生物活性,还有可能会利于某些方面活性的提高。但关于儿茶素氧化聚合物聚合度与生物活性的关系以及氧化聚合物的抗肿瘤作用及免疫增强作用机制还有待于进一步研究。

参考文献

1 Han C, Xu Y. The effect of Chinese tea on the occurrence of esophageal tumor induced by N – nitrosomethylbenzylamine in rats. Biomed Environ Sci, 1990, 3: 35.

2 Yang CS, Wang ZY. Tea and cancer. J. Natl Cancer Inst, 1993, 85: 1038.

3 Gow – chin Yen, Hui – yin chen, antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. J. Agric Food Chem, 1997 45 30 – 34.

4 谢笔钧,石煌,胡慰望. 绿茶、乌龙茶、红茶中主要组分和酚类化合物抑制脂肪氧合酶活性和抗油脂自动氧化特性的研究. 天然产物研究与开发,1994 6 (4) 20 ~ 23.

5 曹进. 茶色素抗菌抗病素作用的研究进展. 中草药,1998, 29 (9) 636 ~ 638.

6 项秀兰,李楠,张小安. 茶叶多元酚及其衍生物茶色素的研究进展. 食品科学,1997 18(1) 10 ~ 11.

7 徐叔云主编. 药理学实验方法学. 人民卫生出版社,1991 年,第二版.

8 王桂枝主编. 免疫学实验指导. 华中农业大学教务处印,1994.

9 陈丙莺,马建吟,黄钦田. 简易自然杀伤试验 – LDH 释放改良法. 上海免疫学杂志,1989 9 (4) 218 ~ 219.

10 廖惠珍,沉冠敏,朱萍萍. 六种常用野菜抗氧化活性探讨. 卫生研究,1999 15 (6) 207 ~ 208.

11 Zhang Youhui, Zhang Shuren, Chen Lieping. Immunodeficiency acquired during carcinogenesis: A mechanism facilitating cancer development. Chin Med J., 1987, 100(6): 465.

12 Kadish A S, Doyle A T, Steinhauer E H. Natural cytotoxicity and interferon production in human cancer: deficient, natural killer activity and normal interferon production in patients with advanced disease. J Immunol, 1981, 127: 1817.

13 Morse MA, Kresty LA, Steele VE, et al Effects of dietary consumption of theaflavins on Nitrosomethylbenzylamine – induced esophageal tumorigenesis. Nut Cancer, 1997, 29: 7.

14 韩弛,宫芸芸. 茶色素防癌作用的实验研究,卫生研究, 1999 28 (6) 243 ~ 248.

茶多酚对豆油及猪油的抗氧化作用

陈玉香 刘阳 吉林大学南岭校区食品工程系 长春 130025
周道玮 东北师范大学草地科学研究所 长春 130024

摘 要 茶多酚对豆油及猪油均具有很好的抗氧化作用。酒石酸、柠檬酸及维生素 E 对茶多酚的抗氧化具有增效作用。
关键词 茶多酚 抗氧化作用 增效
Abstract Tea polyphenols showed distinct antioxidative activity in lard emulsion system and bean oil emulsion system. Tartaric acid, citric acid and vitamin E promote the antioxidative activity of the tea polyphenols.
Key words Tea polyphenols Antioxidative activity Promote

抗氧化剂对于含油脂食品的风味及营养保持具有重要作用。目前合成抗氧化剂被广泛用于食品添加剂,但这些抗氧化剂具有一定的毒性,或者在降解过程中形成致癌物质。基于此,人们努力寻找天然抗氧化剂,茶多酚作为一种天然抗氧化剂,不仅来源充足,且抗氧化效果良好。茶多酚是一种高效的复合抗氧化剂,其各组分之间存在着协同作用,茶多酚与其它抗氧