

茶多酚抑制鼻咽癌及辐射防护作用的研究进展*

袁东杰¹ 魏媛媛¹ 徐志文¹

[关键词] 茶多酚;鼻咽肿瘤;抗肿瘤药;辐射防护

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2014.04.023

[中图分类号] R739.63 [文献标志码] A

Advances on the anti-tumor and anti-radiation effect of tea polyphenols in nasopharyngeal carcinoma

Summary NPC is a high incidence of malignant tumors of the head and neck, and is currently used mainly radiotherapy based, supplemented by a comprehensive treatment of chemotherapy, radiotherapy and chemotherapy, which have serious complications and serious impact on the treatment of patients and quality of life. Polyphenols are the main component of tea. Studies have shown that tea polyphenols have a significant anti-tumor effect of improving the effect of radiotherapy and chemotherapy, reducing radiation damage, reducing conventional chemotherapy drugs IC50 and reducing the complications of chemotherapy. Tea polyphenols in the treatment of nasopharyngeal carcinoma has also made great progress. It has a strong inhibition of nasopharyngeal carcinoma cells, and can greatly reduce the occurrence of xerostomia after radiotherapy, which is of important clinical research value.

Key words TP; nasopharyngeal neoplasms; antineoplastic agents; radiation protection

鼻咽癌是我国高发的头颈部恶性肿瘤之一,98%属于低分化鳞状细胞癌,目前鼻咽癌主要选择放疗、化疗、中医中药以及免疫治疗等辅助性综合治疗。鼻咽癌放疗后常出现放射性脑、脊髓损伤、放射性脑神经损伤、放射性唾液腺损伤以及放射性的后诱发癌等^[1-2]。并且常规抗癌化疗药物(如顺铂)在杀伤和抑制癌细胞的同时,对正常组织器官有损害和毒性作用,常见损伤包括骨髓抑制、肝脏毒性、甚至诱导第二恶性肿瘤的发生^[3]等。这就限制了化疗药物用量,阻碍药物发挥功效。

茶多酚是茶叶(特别是绿茶)主要成分,占茶叶干重的30%左右。茶多酚可通过多种途径对肿瘤发生发展产生影响,包括抗突变、抑制癌基因表达、诱导肿瘤细胞凋亡与分化、抑制肿瘤细胞生长、抑制肿瘤转移等,抗肿瘤研究前景十分广阔。茶多酚能够通过消除由辐射产生的活性氧簇,进而减少机体的DNA损伤,并通过清除自由基来调节基因表达及蛋白合成这两大途径来实现抗辐射,达到减轻辐射伤害的效果^[4-6]。研究证明茶多酚对人体不产生有害作用^[7]。针对茶多酚的上述药理学作用,很多学者把它用于鼻咽癌的治疗研究,并已取得很大的进展,现综述如下。

1 茶多酚在鼻咽癌治疗中的抗肿瘤机制

1.1 茶多酚抑制鼻咽癌细胞的增殖作用

国内一些研究报道,茶多酚对鼻咽癌细胞具有明显的抑制作用。采用MTT法检测茶多酚对NPC/HK1、CNE1、CNE2、HNE1、HNE2、SUNE1和Fadu7种人鼻咽癌细胞株的生长抑制作用,结果显示在体外抗癌细胞增殖试验中,茶多酚体外对7种人鼻咽癌细胞株均有不同程度的生长抑制作用^[8]。采用MTT法测定茶多酚对HNE-1及HNE-1(200)细胞株的增殖抑制作用,证明茶多酚对两组实验细胞均有抑制作用,且这种作用呈浓度依赖关系^[9]。国外对茶多酚最早的功能研究是其在诱导肿瘤细胞凋亡方面的作用,茶多酚可以诱导鼻咽癌细胞凋亡,不影响正常的细胞^[10]。表明体外实验时茶多酚对多种鼻咽癌细胞有显著抑制作用,对正常细胞没有影响。

1.2 茶多酚在基因层面诱导鼻咽癌细胞凋亡

研究发现^[11]使用茶多酚处理人鼻咽癌细胞株CNE2细胞,用琼脂糖凝胶电泳方法测定茶多酚对细胞DNA的断裂作用,结果显示茶多酚在0.125、0.25、0.5 g/ml浓度下作用癌细胞24 h,可引起人鼻咽癌细胞CNE2的DNA在电泳图上有不同程度的断裂,而且DNA的断裂程度随茶多酚浓度的增大而增加。在0.25 g/ml浓度下,茶多酚作用的CNE2细胞分别温育培养6、12、24和48 h,从6 h起可见有DNA断裂,随着茶多酚作用时间的延长,DNA断裂程度亦随之增加。

*基金项目:广西卫生厅重点课题基金资助项目(No:桂卫重200634)

¹广西医科大学第一附属医院耳鼻咽喉-头颈外科(南宁,530021)

通信作者:徐志文,E-mail:xuzhiwen3@163.com

研究证明^[12]使用茶多酚处理 CNE1-LMP1 细胞后,通过采用免疫印迹和活性分析发现,茶多酚能迅速诱导 caspase-3 活化,提示茶多酚对 caspase-3 的调节快速而有效。caspase-3 的活化在细胞凋亡过程中具有重要的生物学意义,活化的 caspase-3 能特异性地切割 DNA,使参与 DNA 损伤修复过程的聚 ADP 核糖聚合酶以及 DNA 依赖的蛋白激酶等失活,促使染色质凝聚和核酸激活,导致细胞凋亡,证明茶多酚能够诱导 caspase-3 活化,从而促进鼻咽癌细胞凋亡^[13]。同时采用报告基因分析显示:cyclin D1 基因启动子转录活性显著下调,而 cyclin D 则是调节 G1/S 行进的重要正性调节蛋白。以前的研究发现 cyclin D1 的基因扩增及表达水平的增加与癌变有关,提示茶多酚通过 cyclin D1 表达下调来介导抑制鼻咽癌细胞增殖,提出由于 cyclin D1 在鼻咽癌细胞中过表达,茶多酚在鼻咽癌的防治中可能具有针对性的作用^[14]。可以看出茶多酚可通过影响鼻咽癌细胞基因表达来抑制鼻咽癌细胞的增殖。茶多酚还可以通过上调低表达的 Bax 和下调高表达的 Bcl-2,影响 Bax/Bcl-2 的比率,进而诱导鼻咽癌细胞凋亡,从而抑制鼻咽癌的发生发展^[15]。

1.3 茶多酚通过影响鼻咽癌细胞内蛋白合成抑制鼻咽癌细胞

茶多酚能够通过调控基因表达,增加或减少合成某些蛋白来抑制鼻咽癌。①茶多酚通过激活 caspase 指导合成半胱氨酸天门冬氨酸特异性蛋白酶,来促进鼻咽癌细胞凋亡。②茶多酚通过 Bax/Bcl-2 基因表达,调节 Bax/Bcl-2 蛋白比例来促进鼻咽癌细胞凋亡。③茶多酚也可以调节 cyclin D1 基因表达活性,减少周期依赖性蛋白激酶及其活性配体细胞周期调节蛋白,导致细胞分裂周期 G1 阻滞,从而抑制鼻咽癌细胞增殖。④茶多酚能够抑制鼻咽癌细胞中 NF- κ B 的活性,而 NF- κ B 的持续活化可以促进肿瘤细胞增殖、抑制肿瘤细胞凋亡、提高肿瘤细胞的转移能力。研究表明,鼻咽癌细胞中 NF- κ B 呈过度表达状态,活化的 NF- κ B 可以诱导肿瘤坏死因子 1 的表达而抑制鼻咽癌细胞的凋亡,参与鼻咽癌的发生发展过程^[16]。由此可见,茶多酚可以通过抑制鼻咽癌细胞中 NF- κ B 的活性表达诱导其凋亡,达到抑制鼻咽癌的作用。⑤茶多酚通过抑制核转录因子 NF- κ B 与 NOS 启动因子的结合,降低诱导型一氧化氮合酶的合成^[17]。而诱导型一氧化氮合酶诱导生成的 NO,在鼻咽癌的发生、发展、浸润和转移过程中起着非常重要的作用,NOS 在正常黏膜中未见表达,而在鼻咽癌细胞中呈高表达,表明 NOS 可能与鼻咽癌的发生有关。由此证明茶多酚通过抑制诱导型一氧化氮合酶合成,减少 NO 合成,来抑制鼻咽癌发生发展。

1.4 茶多酚对人鼻咽癌细胞裸鼠移植瘤的作用

研究报道^[8]取对数生长期的人鼻咽癌 CNE2 细胞用胰蛋白酶消化后配制成 1×10^7 个/ml 单细胞悬液,在无菌条件下于裸鼠背侧靠腋窝皮下接种 0.2 ml/只,接种后 5~6 d 可见肿瘤生长,然后用 10 mg/(kg·d)和 20 mg/(kg·d)茶多酚作用 3 周对 CNE2 裸鼠移植瘤的平均抑瘤率分别为 31.04%和 38.5%。结果表明不同浓度茶多酚对人鼻咽癌裸鼠移植瘤有不同程度的抑制作用,抑制作用与剂量相关。

1.5 茶多酚对鼻咽癌化疗的增敏作用

化疗是鼻咽癌治疗的重要手段,而常规化疗药物(如顺铂等)对细胞的抑制作用没有选择性,在抑制鼻咽癌肿瘤细胞的同时,也损伤了正常的人体细胞。而茶多酚不仅可以选择性杀伤鼻咽癌细胞,对正常细胞没有损伤,而且和其他化疗药物连用可以增强对鼻咽癌细胞的杀伤作用。研究表明^[18]茶多酚分别与顺铂、5-氟尿嘧啶、长春新碱、阿霉素联合作用于鼻咽癌细胞后,药物对鼻咽癌细胞的抑制率增加约 200%,联合用药后,上述 4 种化疗药物对鼻咽癌细胞的 IC₅₀ 下降至单独用药的 1/2 左右,由此大大降低了这些化疗药物对正常细胞的损伤。我国还有很多天然食物提取物也具有抗癌功效,茶多酚与这些天然提取物联合使用,对鼻咽癌细胞抑制作用更明显^[19]。

2 茶多酚的放疗保护机制

茶多酚不仅具有具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤、抗高血脂、防治动脉粥样硬化和抗病毒等药理学活性,而且具有显著抗辐射功能^[20-22]。而放射性损伤是鼻咽癌治疗过程中的主要并发症,其中放射性唾液腺损伤是最常见的并发症,发生率几乎 100%,严重影响了患者的身体健康和^[23]。虽然放疗技术和放疗方式不断更新完善,放射性口干燥症仍然是鼻咽癌放疗后的最常见并发症。采用 ⁶⁰Co γ 射线照射小鼠可以造成亚急性损伤,出现脾脏指数显著降低以及外周血白细胞、红细胞和血小板的减少,同时降低过氧化物歧化酶并升高脂质过氧化物水平,引起细胞代谢障碍,对机体组织造成损伤^[24]。采用茶多酚干预后,能明显改善小鼠的外周血象,增加脾脏系数,同时茶多酚还可以提高辐射损伤小鼠血清中的抗氧化酶活性,降低辐射损伤小鼠血浆脂质过氧化物的含量,具有增强造血功能和消除自由基抗氧化双重作用,可通过提高被辐射动物体内的抗氧化酶活性、降低脂质过氧化反应,而减轻辐射所致的过氧化损伤及辐射诱发的染色体和造血系统的损伤。在放疗前 14 d 至标本提取当天给予大鼠 0.2 g/kg 茶多酚灌胃,在给药第 15 天予以大鼠头颈部一次性 15 Gy 照射,将颌下腺取材行透射电镜观察,结果大鼠颌下腺细胞中线

粒体损伤程度减轻,原位末端标记法检测处理组细胞凋亡率下降,免疫组织化学检测颌下腺细胞中 Bcl-2/Bax 蛋白的表达在处理组与未处理组尚未见明显差别,从而表明茶多酚是通过干预线粒体信号转导途径来抑制凋亡,从而减轻放疗对颌下腺细胞的损伤,减轻放疗后口干干燥症的发生^[25]。另有活体实验证明^[26]茶多酚灌服能够减轻放射诱导的小鼠颌下腺细胞凋亡,减少活体受到的放射伤害,而且茶多酚对放射的小鼠保护效果与其浓度呈正相关,低、中、高剂量茶多酚处理后的小鼠存活率和存活天数得到显著提高。所以茶多酚可以通过多种机制减轻放疗过程中机体全身和局部的放疗损伤,大大减轻头颈部放疗对唾液腺的损伤,减轻口干干燥症发生发展,为鼻咽癌治疗过程中放射性头颈部及唾液腺损伤的防治提供了新的研究方向,具有重要的研究意义。

3 展望

综合上述文献可以看出,茶多酚在鼻咽癌治疗上具有明显的抗肿瘤功能,并且能够显著减弱鼻咽癌常规治疗的放、化疗并发症,具有重要的开发研究价值。茶多酚具有众多的生物活性,尤其在抗肿瘤方面效果显著,除了上述的抗肿瘤功能以外,国内外研究证明茶多酚还具有抑制肿瘤转移、抗血管生成、抑制肿瘤细胞端粒酶活性以及选择性阻断信号传导通路等功能,但这些功能在鼻咽癌的防治上仍未得到证明。目前茶多酚在鼻咽癌防治方面的研究主要以体外实验为主,体内试验涉及较少,并且主要是茶多酚抗鼻咽癌方面的研究,而茶多酚在鼻咽癌治疗过程中的保护机制研究较少。由于技术及某些其他影响因素,茶多酚至今未被独立开发成为抗肿瘤的天然药物或保健品,仅用于实验研究。因此只有充分研究其抗肿瘤、抗辐射机制,完善其药理功效的理论依据,攻克相关技术难题,才能更好地物尽其用,充分发挥茶多酚的医药价值,以丰富鼻咽癌治疗手段,提高鼻咽癌的治疗效果。

参考文献

- [1] KUMAR A J, LEEDS N E, FULLER G N, et al. Malignant gliomas: MR imaging spectrum of radiation therapy and chemotherapy induced necrosis of the brain after treatment[J]. *Radiology*, 2000, 217: 377-384.
- [2] NEW P. Radiation injury to the nervous system[J]. *Curr Opin Neurol*, 2001, 14: 725-734.
- [3] 曾幼波, 陈琴. 肿瘤化疗药物的毒副作用及防治措施[J]. *海峡药学*, 2003, 15(4): 98-100.
- [4] MALHOMME DE LA ROCHE H, SEAGROVE S, MEHTA A, et al. Using natural dietary sources of antioxidants to protect against ultraviolet and visible radiation-induced DNA damage: an investigation of human green tea ingestion[J]. *J Photochem Photobiol B*, 2010, 101: 169-173.
- [5] SINHA D, ROY S, ROY M. Antioxidant potential of tea reduces arsenite induced oxidative stress in Swiss albino mice[J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48: 1032-1039.
- [6] KATIYAR S K, VAID M, VAN STEEG H, et al. Green tea polyphenols prevent UV-induced immunosuppression by rapid repair of DNA damage and enhancement of nucleotide excision repair genes[J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2010, 3: 179-189.
- [7] 王岳飞, 梁善珠, 张士康, 等. 茶多酚抗辐射制剂安全毒理学研究[J]. *茶叶科学*, 2011, 31(5): 405-410.
- [8] FENG G K, XIE B F, LIU Z C, et al. Tea polyphenol inhibit on growth of human nasopharyngeal carcinoma cell and xenograft in nude mice[J]. *Ai Zheng*, 2002, 21: 392-394.
- [9] 王驰, 陈鸿雁, 叶琳, 等. 茶多酚对鼻咽癌 HNE-1 及 HNE-1(200)细胞株增殖抑制作用研究[J]. *重庆医学*, 2008, 37(20): 2266-2267.
- [10] LEE M J, MALIAKAL P, CHEN L, et al. Pharmacokinetics of tea catechins after ingestion of green tea and(-)-epigallocatechin-3-gallate by humans: formation of different metabolites and individual variability[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2002, 11: 1025-1032.
- [11] 谢冰芬, 郝东磊, 刘宗潮, 等. 茶多酚对人鼻咽癌细胞株 CNE2 细胞 DNA 损伤和细胞周期影响[J]. *中国药理学通报*, 1999, 15(5): 424-427.
- [12] 罗非君, 胡智, 邓锡云, 等. 茶多酚诱导鼻咽癌 caspase-3 活化[J]. *癌症*, 2000, 19(12): 182-186.
- [13] ZOU H, HENZEL W J, LIU X, et al. Apaf-1, a human protein homologous to *C. elegans* GED-4, participates in cytochrome c-dependent activation of caspase-3[J]. *Cell*, 1997, 90: 405-413.
- [14] 罗非君, 胡智, 赵晓荣. 茶多酚诱导鼻咽癌细胞 cyclin D1 表达下调[J]. *中国癌症杂志*, 2001, 20(4): 358-362.
- [15] NIHAL M, AHMAD N, MUKHTAR H, et al. Anti-proliferative and proapoptotic effects of(-)-epigallocatechin-3-gallate on human melanoma: possible implications for the chemoprevention of melanoma[J]. *Int J Cancer*, 2005, 114: 513-521.
- [16] WANG C, AI M, REN W, et al. Epstein-Barr virus encoded latent membrane protein 1 induces TRAF1 expression to promote anti-apoptosis activity via NF-kappaB signaling pathway in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2003, 116: 1022-1028.
- [17] 刘阳云, 赵素萍, 刘庚勋. 诱导型一氧化氮合酶与血管内皮生长因子在鼻咽癌中的表达及意义[J]. *中国耳鼻喉颅底外科杂志*, 2008, 14(3): 181-184.
- [18] 王鸿鹏, 叶琳, 王驰, 等. 茶多酚和粉防己碱联合抗肿瘤药物对鼻咽癌耐药细胞株 HNE-1(200)增殖的抑制作用[J]. *中国中医急症*, 2010, 19(1): 102-103, 108.

- [19] SUN W, WEI Y, XU Z, et al. The effects of tea polyphenols and laminaria japonica polysaccharides on nasopharyngeal carcinoma cell HONE1 and CNE2 [J]. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*, 2013, 27: 425-428.
- [20] RELJA B, TÖTTEL E, BREIG L, et al. Effects of green tea catechins on the pro-inflammatory response after haemorrhage/resuscitation in rats [J]. *Br J Nutr*, 2011, 4: 1-7.
- [21] YUSUF N, IRBY C, KATIYAR S K, et al. Photoprotective effects of green tea polyphenols [J]. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 2007, 23: 48-56.
- [22] LEHNERT M, LIND H, ZHONG Z, et al. Polyphenols of *Camellia sinensis* decrease mortality, hepatic injury and generation of cytokines and reactive oxygen and nitrogen species after hemorrhage/resuscitation in rats [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2010, 10: 46-46.
- [23] DIRIX P, NUYTS S, VANDER POORTEN V, et al. The influence of xerostomia after radiotherapy on quality of life: results of a questionnaire in head and neck cancer [J]. *Support Care Cancer*, 2008, 16: 171-179.
- [24] HU Y, GUO D H, LIU P, et al. Bioactive components from the tea polyphenols influence on endogenous antioxidant defense system and modulate inflammatory cytokines after total-body irradiation in mice [J]. *Phytomedicine*, 2011, 18: 970-975.
- [25] PENG Z, XU Z W, WEN W S, et al. Tea polyphenols protect against irradiation-induced injury in submandibular glands' cells: a preliminary study [J]. *Arch Oral Biol*, 2011, 56: 738-743.
- [26] 郝述霞, 佟鹏, 王春燕. 5 种天然植物提取物清除自由基和茶多酚抗辐射作用研究 [J]. *中国职业医学*, 2011, 38(1): 30-32.

(收稿日期: 2013-05-07)

(上接第 270 页)

蜗切片理想的固定取材法, 在此基础上根据不同的实验目的选用不同的后续制片方法, 才能符合实际需求。

参考文献

- [1] 丁大连, 李明, 姜泗长, 等. 内耳形态学 [M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 2001: 21-23.
- [2] 姜泗长. 耳解剖学与颞骨组织病理学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 1999: 35-37.
- [3] 熊绪鑫. 内耳标本改进制作法 [J]. *湖北医学院学报*, 1983, 4(3): 92-93.
- [4] 钟睿翀, 林卡莉, 吕军华, 等. 内耳切片标本制作 [J]. *解剖学杂志*, 2007, 30(3): 335-335.
- [5] 徐秀芳, 高德臣, 戚晓莉. 用石蜡切片法制作内耳切片 [J]. *动物学杂志*, 1995, 30(4): 39-40.
- [6] 章克萍. 内耳石蜡切片 HE 整块染色的改良制作 [J]. *江西医学院学报*, 2002, 42(2): 11-11.
- [7] 申姜颖, 宫敏, 赵斋川, 等. 内耳组织石蜡制片技术的改进与应用 [J]. *诊断病理学杂志*, 2004, 11(5): 72-100.
- [8] 郭青平, 晏长荣, 陈家强. 内耳石蜡切片制作的改进 [J]. *解剖学研究*, 2009, 31(5): 389-390.
- [9] 关超, 柳斌. 内耳冷冰冻切片方法的研究 [J]. *临床耳鼻咽喉科杂志*, 2006, 20(10): 467-467.
- [10] 刘惠玲, 胡金玮, 王百忍, 等. OCT 浸润提高豚鼠内耳恒冷箱的切片质量 [J]. *第四军医大学学报*, 2002, 23(9): 840-840.
- [11] 乔月华. 非脱钙耳蜗冰冻切片技术 [J]. *徐州医学院学报*, 1996, 16(4): 392-393.
- [12] YANG F S, HAN J S. Gentamicin-induced alterations of succinic dehydrogenase activity in the organ of Corti as revealed by non-decalcified frozen sections of the guinea pig's cochlea [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 1991, 248: 195-201.
- [13] 李颖, 范尔钟. 双重包埋法在内耳切片中的应用 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2011, 27(12): 1372-1373.
- [14] 徐金操, 刘会占, 刘思然, 等. 耳蜗火棉胶包埋冰冻切片技术的应用 [J]. *中华耳科学杂志*, 2012, 10(1): 105-107.
- [15] 冯化杰, 孙凤侠, 张翠香. 豚鼠内耳在不同固定液中 HE 染色效果的比较 [J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 1999, 20(4): 395-395.
- [16] 胡吟燕, 孙建和, 汪学勇, 等. 耳蜗组织低温包埋切片技术 [J]. *听力学及言语疾病杂志*, 2005, 13(5): 378-379.
- [17] WHITLON D S, SZAKALY R, GREINER M A. Cryoembedding and sectioning of cochleas for immunocytochemistry and in situ hybridization [J]. *Brain Res Brain Res Protoc*, 2001, 6: 159-166.
- [18] SHIM K. Vibratome sectioning for enhanced preservation of the cytoarchitecture of the mammalian organ of Corti [J]. *J Vis Exp*, 2011, 52: 2793-2793.

(收稿日期: 2013-07-25)