

表没食子儿茶素没食子酸酯对心脑血管缺血再灌注损伤保护作用机制的研究进展

王苗苗, 韩 杰, 娄海燕*

山东大学医学院药理学研究所, 山东 济南 250012

摘 要: 表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin-3-gallate, EGCG)是绿茶的主要成分之一。研究表明, EGCG具有抗氧化、预防癌症、抗炎、抗菌等作用。近年来, 心脑血管疾病已成为当今世界影响人类健康最显著的疾病, 而目前仅有少数神经保护药物能够用于治疗缺血性中风。很多基础研究证实, EGCG对于心脑血管缺血再灌注损伤具有独特的疗效, 主要体现在调节氧化应激、抗细胞凋亡、抗炎、激活腺苷受体、降低血脑屏障的通透性及降低基质金属蛋白酶-9(MMP-9)表达等方面。针对EGCG对心脑血管缺血再灌注损伤保护作用机制进行综述, 以期能为有效治疗心脑血管缺血性疾病药物的开发提供参考。

关键词: 表没食子儿茶素没食子酸酯; 心脑血管; 缺血再灌注损伤; 抗氧化; 抗炎

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)18-2732-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.18.029

Research progress on neuroprotective mechanism of epigallocatechin-3-gallate against cardiovascular and cerebrovascular ischemia-reperfusion injury

WANG Miao-miao, HAN Jie, LOU Hai-yan

Department of Pharmacology, Medical College, Shandong University, Jinan 250012, China

Abstract: Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) is one of the major components in green tea. It has been studied that EGCG possesses anti-oxidative, anticancer, anti-inflammatory, and antibacterial effects. In recent years, cardiovascular and cerebrovascular diseases have been exerting the most significant impact on human health, however, only a few neuroprotective drugs can be used in the treatment of ischemic stroke. Many studies reveal that EGCG has unique therapeutic effect on cardiovascular and cerebrovascular ischemia-reperfusion injury. EGCG mainly exerts its protective effects by regulating oxidative stress, anti-apoptosis, anti-inflammation, activation of adenosine receptors, lowering blood-brain barrier permeability, and reducing matrix metalloproteinase-9 expression. This review focuses on the mechanism of action of EGCG in the treatment of cardiovascular and cerebrovascular ischemia-reperfusion injury, in order to provide rationale or the development of effective drugs for ischemic cardiovascular and cerebrovascular diseases.

Key words: epigallocatechin-3-gallate; cardiovascular and cerebrovascular; ischemic reperfusion injury; anti-oxidation; anti-inflammation

心脑血管疾病已成为当今世界影响人类健康最显著的疾病。据世界卫生组织估计, 到2020年, 心血管疾病将成为全球最主要的死亡原因, 占死亡总数的50%以上^[1]。其中, 缺血性心脏疾病是发病和死亡的首要原因。而许多基础研究表明, 再灌注开始时采用适当的心脏保护药物, 可显著减少梗死面积。缺血性脑病是第3大致死性疾病并且是老年性痴呆的主要发病原因之一。脑缺血时供应大脑的葡

萄糖和氧气减少导致生物功能障碍, 进而导致氧化应激、炎症、血脑屏障功能异常, 最终导致细胞死亡; 再灌注时氧化损伤更为严重^[2]。目前, 极少有有效的神经保护药物能够用于治疗缺血性中风, 特别是针对老年患者^[3]。

表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin-3-gallate, EGCG)是绿茶的主要成分之一。绿茶是世界上饮用最广泛的饮料, 对健康有很大益处。研

收稿日期: 2014-03-01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81274124)

作者简介: 王苗苗(1991—), 女, 山东滨州人, 本科。E-mail: wangmiaomiao714@163.com

*通信作者 娄海燕 Te: 15853169281 E-mail: louhaiyan@sdu.edu.cn

究表明, EGCG 有抗氧化、预防癌症、抗炎、抗菌等作用^[4]。已有研究证实 EGCG 能够保护心脏免受缺血损伤。然而, 在实际临床中, 急性心肌梗死和脑卒中病人在送往医院后已有缺血性损伤, 而在意外的急性心肌梗死发生之前用药几乎不可能, 所以用药一般在冠状动脉梗死后或者再灌注时。因此, 对于 EGCG 保护心脑血管再灌注损伤的机制研究至关重要^[5]。本文针对 EGCG 治疗心脑血管缺血再灌注的作用机制进行综述, 以期能为有效治疗心脑血管缺血性疾病的药物开发提供参考。

1 调节氧化应激

研究表明, 预处理和再灌注时加入 EGCG 能够减小离体大鼠心脏心肌梗死面积, 提高心脏功能, 与对照组相比, 再灌注后心动力学变量包括左心室发展压 (left ventricular developed pressure, LVDP)、心率收缩压乘积 (rate-pressure produce, RPP)、等容收缩期和等容舒张期左心室内压力上升的最大速率都显著性提高^[5]。作为一种抗氧化剂, EGCG 可通过清除再灌注时细胞内的氧自由基, 发挥心肌保护作用^[6-7]。EGCG 可以保护血管内皮细胞免受多氯联苯 (polychlorinated biphenyls, PCB) 导致的氧化应激, 上调 Nrf2 (NF-E2-related factor 2) 控制的抗氧化基因, 如谷胱甘肽 (GSH) 和 NAD(P)H, 且其作用有剂量依赖性^[8]。Piao 等^[9]研究发现, EGCG 能够明显提高 LVDP、等容收缩期和等容舒张期左心室内压力上升的最大速率, 降低左室舒张末压, 抑制脂质过氧化, 增加锰超氧化物歧化酶 (Mn-SOD) 和过氧化氢酶表达。在缺血前及再灌注时能够明显增加冠脉基线灌流量。此外, EGCG 能增加心肌细胞存活率, 提高超氧化物歧化酶 (SOD) 和 ATP 酶活性, 减少灌流时乳酸脱氢酶 (LDH) 的增加而显著减少梗死面积^[9]。分别联合给予蛋白激酶 C (PKC) 阻断剂或 Gi/o 蛋白拮抗剂后可对抗 EGCG 的作用, 提示 EGCG 通过清除自由基、抑制心肌细胞 PKC 和 Gi/o 蛋白保护心肌细胞^[10]。

短暂或者持续性脑血流量减少导致缺血性中风, 会造成不同脑区结构和功能的损伤, 细胞损伤发生在缺血和再灌注时^[11]。EGCG 能够显著改善缺血导致的记忆损伤。EGCG 长期治疗后, 大脑皮层和海马的 SOD 活性都有所提高, 并可降低脑梗死后海马的丙二醛 (MDA) 和 GSH 水平^[12]。付刚等^[13]发现, EGCG 可能通过减轻自由基损伤, 抑制谷氨酸的兴奋性中毒进而减轻脑缺血引起的大

鼠脑组织损伤和大鼠脑海马神经元氧糖剥夺模型引起的神经元损伤, 改善突触传递效率。Oliva 等^[14]发现, 血红素氧合酶 (heme Oxygenase-1, HO-1) 或者 Nrf2 未表达致 EGCG 神经保护作用大部分消失, 说明 EGCG 的部分保护作用是通过激活 Nrf2 和升高 HO-1 来实现的。

2 抗细胞凋亡

Townsend 等^[15]在新生 SD 大鼠的缺血再灌注模型中发现不论体外培养的细胞还是离体的心脏, 给予 EGCG 预处理后, EGCG 可以通过抑制细胞内信号传导及转录激活因子 (Signal transducers and activators of transcription, STAT) 的磷酸化以及调节泛素蛋白酶体系统、降低 STAT-1 促凋亡靶基因 Fas 受体的表达, 抑制再灌注时心肌细胞的凋亡, 同时缩小心肌梗死面积, 改善心室功能, 发挥心肌保护作用。Piao 等^[9]发现, EGCG 能够下调 Bax 和上调 Bcl-2 蛋白表达, 提高离体大鼠心脏 Bcl-2/Bax 值。抑制活化性半胱天冬酶-3 (cleaved caspase-3) 活化, 保护心肌细胞不受缺血再灌注诱发程序性死亡。Kim 等^[16]观察到 EGCG 能抑制过氧化氢诱导胰腺 β 细胞的氧化应激及细胞凋亡, EGCG 预处理, 则通过激活磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (Akt) 信号通路, Akt 转化为磷酸化 Akt (p-Akt), 使抗凋亡作用进一步增强而发挥缺血再灌注损伤保护作用。在压力负荷引起的心脏肥厚大鼠模型中^[17], EGCG 通过显著减少端粒结合蛋白 2 (telomere repeat-binding factor 2, TRF2) 的丧失和端粒的耗减而抑制心肌细胞的凋亡。

3 抗炎

EGCG 可以缓解缺血再灌注引起的炎症反应, 减少促炎细胞因子的产生^[18]。EGCG 可以保护血管内皮细胞免受 PCB 导致的炎症, 降低 PCB 接触后核因子 κ B (NF- κ B) 与 DNA 的结合及下游炎症标志物如单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1) 和血管细胞黏附分子 1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 的表达, 并且降低内皮细胞内源性细胞色素 P4501A1 (Cyp1A1)、MCP-1 和 VCAM-1 的表达^[8]。EGCG 通过 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38MAPK) 使 Nrf-2 的表达上升以促进 HO-1 表达, 提高了 HO-1 活性。HO-1 表达增加是 EGCG 在血管内皮细胞抗炎作用的基础, 介导了其心血管保护作用^[19]。

体外实验证实, EGCG 对于小鼠小胶质瘤细胞

(BV-2)有抗炎作用。EGCG抑制脂多糖诱导的NO产物、环氧合酶-2和诱导型一氧化氮合酶(iNOS)在BV-2细胞上的表达,进而提高脑缺血动物模型的学习和记忆功能^[8]。NO是缺血缺氧导致神经损伤的重要因子,研究已证实大量iNOS生成对机体有害^[20]。大量NO生成时,可严重影响呼吸链电子传递功能,使线粒体功能受损,导致机体的整体能量代谢产生障碍,细胞肿胀和坏死凋亡。EGCG可减少iNOS生成,增加内皮型一氧化氮合酶(eNOS)及神经型一氧化氮合酶(nNOS)蛋白表达,减少兴奋性神经毒性作用、清除活性氧(ROS)、减轻线粒体能量代谢障碍、增加脑血流量等,起到神经保护作用。此外,研究证实EGCG可以降低大鼠局灶性缺血再灌注后的炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 α (IL-1 α)水平,起到脑保护作用^[21]。

4 激活腺苷受体

Lee等^[22]在离体大鼠心脏实验中发现,EGCG能减轻心脏缺血再灌注损伤部分可能是通过激活腺苷受体(腺苷受体家族由A1、A2a、A2b和A3组成)来实现的。其减轻心肌梗死作用与其激活腺苷受体,特别是A1和A2B有关,但是与阿片受体(opioid receptor, OPR)无关。

5 降低血脑屏障的通透性

血脑屏障结构破坏和功能的变化是脑缺血早期的重要病理过程之一,并且是脑缺血早期死亡的主要危险因素之一^[23-24]。绿茶多酚(含EGCG)通过调节紧密连接(tight junction, TJ)和PKC α 信号通路在局灶性脑损伤的初期能够降低血脑屏障的通透性^[24]。研究证实,EGCG显著降低了脑缺血时增加的脑微血管内皮细胞微囊蛋白1(caveolin-1)mRNA和蛋白表达,可能是其对缺血时血脑屏障通透性起到保护作用的机制之一^[25]。

6 降低基质金属蛋白酶-9(MMP-9)表达

研究还发现EGCG可以通过降低MMP9的表达,减轻脑缺血再灌注损伤^[26-27]。作为一种锌依赖性蛋白酶,MMP可降解多种细胞外基质成分,进而影响细胞的功能。MMP表达或激活异常可引起很多神经系统疾病,包括脑卒中、阿尔茨海默病、帕金森症等。在脑缺血再灌注损伤病理过程中,MMP表达增多,尤其是MMP-2和MMP-9^[28]。在脑缺血再灌注时,二者可以降解血管基膜基质组分,破坏血管壁完整性,导致炎症细胞侵入、炎症因子释放、

脑水肿等,基因或药理性抑制MMP-9的表达可起到脑保护作用。EGCG可以降低脑缺血引起的MMP-9的表达,减轻神经细胞损伤,起到保护脑缺血再灌注损伤的作用。

7 其他

Devika等^[29]发现,EGCG可以介导NO引起血管舒张,保护心脏缺血再灌注损伤。之后研究发现,EGCG能够结合到心肌肌钙蛋白C(cTnC)的C末端,抑制Ca²⁺与cTnC结合,来对抗心脏收缩反应时其他质子对Ca²⁺敏感性的抑制作用^[30]。

EGCG可以阻止缺血再灌注模型大鼠心肌细胞核转录因子- κ B(NF- κ B)和蛋白激酶B抑制剂-2(API)的DNA结合,降低髓过氧化物酶、肌酸磷酸激酶(CPK)和IL-6水平,对再灌注引起的心肌损伤具有保护作用^[31]。

离体大鼠心脏缺血再灌注模型中,EGCG显著缩小缺血心脏面积,这一作用可以被线粒体ATP敏感性钾通道(mitochondrial K_{ATP}, mK_{ATP})非选择性阻滞剂5-羟基癸酸甘油酯所对抗,提示EGCG通过K_{ATP}通道尤其是mK_{ATP}通道发挥心脏保护作用^[32]。

8 结语

大量研究证实EGCG对于心脑血管缺血再灌注损伤具有保护作用,并且对于其机制的研究也取得了较大进展,但是各种机制之间的关系尚未阐明,有些机制研究尚处于初始阶段。EGCG抗氧化效果明显,但是否激活Nrf2-ARE及其他通路,抗氧化与抗炎作用是否存在联系等尚处于研究之中,并且大部分研究处于动物实验阶段,临床研究甚少。此外,EGCG具有抗癌等其他作用,其作用机制之间的关系值得继续探索。

参考文献

- [1] Ostadal B. The past, the present and the future of experimental research on myocardial ischemia and protection [J]. *Pharm Rep*, 2009, 61(1): 3-12.
- [2] Chrissobolis S, Faraci F M. The role of oxidative stress and NADPH oxidase in cerebrovascular disease [J]. *Trends Mole Med*, 2008, 14(11): 495-502.
- [3] Ghosh A, Sarkar S, Mandal A K, et al. Neuroprotective role of nanoencapsulated quercetin in combating ischemia-reperfusion induced neuronal damage in young and aged rats [J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e57735.
- [4] Peairs A, Dai R, Gan L, et al. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) attenuates inflammation in MRL/lpr mouse mesangial cells [J]. *Cell Mole Immunol*, 2010, 7(2):

- 123-132.
- [5] Kim C J, Kim J M, Lee S R, *et al.* Polyphenol (-)-epigallocatechingallate targeting myocardial reperfusion limits infarct size and improves cardiac function [J]. *Korean J Anesthesiol*, 2010, 58(2): 169-175.
- [6] Higdon J V, Frei B. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2003, 43(1): 89-143.
- [7] Elbling L, Weiss R M, Teufelhofer O, *et al.* Green tea extract and (-)-epigallocatechin-3-gallate, the major tea catechin, exert oxidant but lack antioxidant activities [J]. *FASEB J*, 2005, 19(7): 807-809.
- [8] Han S G, Han S S, Toborek M, *et al.* EGCG protects endothelial cells against PCB 126-induced inflammation through inhibition of AhR and induction of Nrf2-regulated genes [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 261(2): 181-188.
- [9] Piao C S, Kim D S, Ha K C, *et al.* The protective effect of epigallocatechin-3 gallate on ischemia/reperfusion injury in isolated rat hearts: an *ex vivo* approach [J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2011, 15(5): 259-266.
- [10] 叶锦霞, 王 岚, 梁日欣, 等. 儿茶素单体对心肌细胞缺氧再给氧损伤的保护作用及机制研究 [J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(7): 801-805.
- [11] Xiang J, Tang Y P, Wu P, *et al.* Chinese medicine Nao-Shuan-Tong attenuates cerebral ischemic injury by inhibiting apoptosis in a rat model of stroke [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 131(1): 174-181.
- [12] Wu K J, Hsieh M T, Wu C R, *et al.* Green tea extract ameliorates learning and memory deficits in ischemic rats via its active component polyphenol epigallocatechin-3-gallate by modulation of oxidative stress and neuroinflammation [J]. *Evid Based Comp Alternat Med*, 2012, doi: 10.1155/2012/163106.
- [13] 付 刚. 表没食子儿茶素没食子酸酯对大鼠正常及缺血再灌注损伤后海马突触传递功能的影响 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2009.
- [14] Oliva J, Bardag-Gorce F, Tillman B, *et al.* Protective effect of quercetin, EGCG, catechin and betaine against oxidative stress induced by ethanol in vitro [J]. *Exp Mole Pathol*, 2011, 90(3): 295-299.
- [15] Townsend P A, Scarabelli T M, Pasini E, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate inhibits STAT-1 activation and protects cardiac myocytes from ischemia/reperfusion-induced apoptosis [J]. *FASEB J*, 2004, 18(13): 1621-1623.
- [16] Kim M K, Jung H S, Yoon C S, *et al.* EGCG and quercetin protected INS-1 cells in oxidative stress via different mechanisms [J]. *Frontiers Biosci: Elite Edition*, 2009, 2: 810-817.
- [17] Sheng R, Gu Z L, Xie M L. Epigallocatechingallate, the major component of polyphenols in green tea, inhibits telomere attrition mediated cardiomyocyte apoptosis in cardiac hypertrophy [J]. *Int J Cardiol*, 2013, 162(3): 199-209.
- [18] Al-Maghrebi M, Renno W M, Al-Ajmi N. Epigallocatechin-3-gallate inhibits apoptosis and protects testicular seminiferous tubules from ischemia/reperfusion-induced inflammation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 420(2): 434-439.
- [19] Pullikotil P, Chen H, Muniyappa R, *et al.* Epigallocatechingallate induces expression of heme oxygenase-1 in endothelial cells via p38 MAPK and Nrf-2 that suppresses proinflammatory actions of TNF- α [J]. *J Nutr Biochem*, 2012, 23(9): 1134-1145.
- [20] Escott K J, Beech J S, Haga K K, *et al.* Cerebroprotective effect of the nitric oxide synthase inhibitors, 1-(2-trifluoromethylphenyl) imidazole and 7-nitro indazole, after transient focal cerebral ischemia in the rat [J]. *J Cerebral Blood Flow Metabolism*, 1998, 18(3): 281-287.
- [21] 高素敏. 表没食子儿茶素没食子酸酯减轻大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的机制 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2011.
- [22] Lee S K, Kim J H, Kim J S, *et al.* Polyphenol (-)-epigallocatechingallate-induced cardioprotection may attenuate ischemia-reperfusion injury through adenosine receptor activation: a preliminary study [J]. *Korean J Anesthesiol*, 2012, 63(4): 340-345.
- [23] Durukan A, Tatlisumak T. Acute ischemic stroke: overview of major experimental rodent models, pathophysiology, and therapy of focal cerebral ischemia [J]. *Pharmacol Biochem Behavior*, 2007, 87(1): 179-197.
- [24] Pardridge W M. Blood-brain barrier drug targeting: the future of brain drug development [J]. *Mole Interventions*, 2003, 3(2): 90.
- [25] 张 赛. 绿茶多酚对大鼠脑缺血组织微血管段 caveolin-1 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2010.
- [26] Park J W, Jang Y H, Kim J M, *et al.* Green tea polyphenol (-)-epigallocatechingallate reduces neuronal cell damage and up-regulation of MMP-9 activity in hippocampal CA1 and CA2 areas following transient global cerebral ischemia [J]. *J Neurosci Res*, 2009, 87(2): 567-575.
- [27] Park J W, Hong J S, Lee K S, *et al.* Green tea polyphenol (-)-epigallocatechingallate reduces matrix metalloproteinase-9 activity following transient focal cerebral ischemia [J]. *J Nutr Biochem*, 2010, 21(11): 1038-1044.

- [28] Asahi M, Asahi K, Jung J C, *et al.* Role for matrix metalloproteinase 9 after focal cerebral ischemia & colon; effects of gene knockout and enzyme inhibition with BB-94 [J]. *J Cerebral Blood Flow Metab*, 2000, 20(12): 1681-1689.
- [29] Devika P T, Prince P. Preventive effect of (–)-epigallocatechin-gallate (EGCG) on lysosomal enzymes in heart and subcellular fractions in isoproterenol-induced myocardial infarcted Wistar rats [J]. *Chemico-biol Interact*, 2008, 172(3): 245-252.
- [30] Liou Y M, Kuo S C, Hsieh S R. Differential effects of a green tea-derived polyphenol (–)-epigallocatechin-3-gallate on the acidosis-induced decrease in the Ca^{2+} sensitivity of cardiac and skeletal muscle [J]. *Pflügers Archiv-Eur J Physiol*, 2008, 456(5): 787-800.
- [31] Aneja R, Hake P W, Burroughs T J, *et al.* Epigallocatechin, a green tea polyphenol, attenuates myocardial ischemia reperfusion injury in rats [J]. *Mole Med*, 2004, 10(1/6): 55-62.
- [32] Song D K, Jang Y, Kim J H, *et al.* Polyphenol (–)-epigallocatechingallate during ischemia limits infarct size via mitochondrial KATP channel activation in isolated rat hearts [J]. *J Korean Med Sci*, 2010, 25(3): 380-386.