

茶功能性成分对肺癌作用机制的研究进展

王 蔚, 郭雅玲*

福建农林大学园艺学院, 福建 福州 350002

摘 要: 肺癌的发病率在全世界所有癌症中已占据首位, 随着其发病率与死亡率的逐年增高, 预防与控制肺癌成为世界普遍关注的问题。茶是一种保健饮品, 味甘、苦, 微寒, 无毒, 大量实验研究表明, 茶叶中富含的多种功能性成分可用于预防、直接干预或辅助治疗肺癌等恶性肿瘤, 可作为天然抗癌药物。茶中的茶多酚、咖啡碱、茶色素、茶氨酸、茶多糖等均可有效地抑制肿瘤细胞的分裂增殖、诱导肿瘤细胞凋亡、调控肿瘤发生相关的基因和蛋白表达。对 1970 年以来, 茶中含有的一些主要的功能性成分预防和治疗肺癌的研究进展进行综述, 以期阐明茶干预抵抗肺癌的作用机制、更安全有效地利用茶及茶功能性成分抵抗肺癌、培育特定成分量高的茶树新品种、开发新型茶产品提供参考。

关键词: 茶多酚; 咖啡碱; 茶色素; 茶氨酸; 茶多糖; 肺癌

中图分类号: R282.71

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2017)17-3654-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.17.032

Research progress in mechanisms of functional components in tea on lung cancer

WANG Wei, GUO Ya-ling

College of Horticulture Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China

Abstract: Lung cancer has the highest incidence among all of the world's cancer diseases. Since the incidence and mortality of lung cancer have been increasing year after year, how to prevent and control it arouses general concern in the world. Tea is a healthy drink and has sweet-bitter flavor. It is also slightly cold and non-toxic. Many experimental studies show that a variety of functional components included in tea can be used for preventing, directly intervening and assistantly treating lung cancer or other malignant tumors, so they will be a potential candidate for natural antitumor drugs. For example, tea polyphenols, caffeine, tea pigment, theanine and tea polysaccharide can well inhibit the proliferation of tumor cells, induce apoptosis of tumor cells as well as regulate the expression of related gene and protein. The paper reviews some major researches of prevention and treatment on lung cancer by functional components of tea since 1970, in order to provide reference of systematically cognizing tea's mechanism on opposing lung cancer, using tea and functional components to resist lung cancer in a safe and effective way, cultivating new varieties of tea armed with high level of specific components and developing new tea products.

Key words: tea polyphenols; caffeine; tea pigment; theanine; tea polysaccharide; lung cancer

肺癌发生于支气管黏膜上皮, 据相关统计, 其发病率在全世界所有癌症中已占据首位, 死亡率亦逐年上升, 严重威胁着人类的生命健康^[1-2]。根据卫生部全国肿瘤防治办公室提供的资料显示, 目前我国肺癌发病率每年增长 26.9%, 若没有采取有效措施预防控制, 预计到 2025 年, 我国肺癌患者将达到 100 万, 成为世界第一肺癌大国^[3]。因为肺癌没有明显的发病症状, 许多患者又缺少按期的体检, 所

以大部分人都是在肺癌晚期才被确诊, 从而导致肺癌转移, 使患者错过临床上手术治疗的最佳时间^[4]。肺癌的预防与控制已成为全世界普遍关注的问题, 研究肺癌的流行病学特征, 找到安全高效的诊断、预防、缓解和抑制肺癌的手段, 成为重要的研究方向^[5]。

茶作为世界三大无酒精饮料之一, 其药用价值自神农时代已被世人所知。茶中经分离鉴定的已知化合物已有 700 多种, 主要生物活性成分有茶多酚、

收稿日期: 2017-03-18

基金项目: 福建农林大学 2016 年度科技创新专项基金项目 (CXZX2016102); 福建省人力资源和社会保障厅项目 ([2012] 398 号)

作者简介: 王 蔚 (1995—), 女, 河南兰考人, 高级评茶员, 在读硕士, 研究方向为茶叶加工与综合利用。

Tel: 15705905606 E-mail: 1040491839@qq.com

*通信作者 郭雅玲 (1958—), 女, 福建龙海人, 福建农林大学研究所副所长, 教授, 研究方向为茶叶加工与综合利用。

Tel: 13015749848 E-mail: yaling7819@126.com

咖啡碱、氨基酸、茶色素及芳香物质等。

大量细胞和动物实验研究发现,茶叶及其提取物(尤其是茶多酚)能够有效地降低肿瘤的发生率、抑制肿瘤细胞的增殖、诱导肿瘤细胞的凋亡^[6-8]。实体肿瘤是血管新生依赖性疾病,肿瘤的生长、侵袭和转移均依赖于血管生成^[9-10],抑制肿瘤血管生成是抑制肿瘤生长的良好途径。研究显示,多种茶活性成分具有抑制肿瘤血管生成的作用^[11-13]。许小琴等^[7]探讨饮茶与肺癌发病风险的关系,发现饮茶对不同组织学类型的肺癌均有预防作用,并可降低非吸烟者肺癌发病率,且与饮茶年数呈正相关。目前茶干预治疗肺癌等癌症的功效已被逐渐认可,但茶及茶功能性成分对肺癌作用机制的研究仍匮乏,且多集中于某单一成分对肺癌细胞的影响,缺少功能性成分的相互作用研究。本文对1970年以来茶中含有一些主要的功能性成分预防和治疗肺癌的研究进展进行综述,以期阐明茶干预抵抗肺癌的作用机制、更安全有效地利用茶及茶功能性成分抵抗肺癌、培育特定成分量高的茶树新品种、开发新型茶产品提供参考。

1 茶多酚

茶多酚是茶叶中最重要的化学成分,也是其特征性成分,占茶鲜叶干物质质量的18%~36%^[14],亦称茶鞣质。已有多项研究表明茶多酚具有抗氧化、清除自由基、抑制亚硝基形成、调控致癌过程中的关键酶和相关基因的表达、阻碍癌细胞间信息传递、抑制肿瘤细胞增殖、杀伤肿瘤细胞、诱导肿瘤细胞凋亡、抑制端粒酶活性、增加抗癌药物敏感性、阻碍肿瘤新生血管生成等一系列功效^[15-18]。

1971年,Folkman等^[19]首先提出恶性肿瘤生长和转移依赖于肿瘤新生血管的观点,因此抑制肿瘤血管生成就抑制了肿瘤的“生命线”,由此开创了肿瘤血管形成和血管靶向治疗的研究。有研究表明,茶多酚是一种特异性肿瘤新生血管抑制剂,对正常脏器组织微血管无明显影响^[20]。

表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)是茶多酚中主要的抗癌成分。1984年,奥田拓男等^[21]研究发现EGCG对苯并芘、Trp-P-1、Glu-P-1及Imidazoquino line 4种常见致癌物的诱变性有不同程度的抑制作用。据此日本香烟公司将茶鞣质添加到香烟滤嘴器中,效果良好。且实验证明并不是因为茶鞣质的杀菌作用使变异原无法令细菌突变,而是因为茶鞣质对变异原的致变性有强抑制能力。此

外,茶叶中的酯型儿茶素对直接变异原 Trp-P-2 (NHOH)表现了更好的抑制效果。2009年,萧赟等^[22]发现EGCG能够增加肺癌A549/DDP细胞对顺铂的敏感性,从而诱导细胞凋亡。其机制可能与降低GST- π 、Survivin蛋白表达有关。

2001年,Okabe等^[23]使用人类肿瘤cDNA表达阵列探究EGCG对人肺癌PC-9细胞株中588个基因表达的影响,发现经EGCG处理的细胞有12个基因表达下调、4个基因表达上调。通过比较EGCG单独处理的细胞与EGCG联合软脂脂肪酸共同处理的细胞,发现EGCG可以诱导NIK、DAPK1、rhoB、SKY表达下调;诱导视黄酸受体 $\alpha 1$ 表达上调。EGCG通过抑制NIK/IKK信号通路来抑制核转录因子- κ B (NF- κ B)的活性,从而下调NIK基因表达。而下调NIK基因表达是防治肺癌的有效措施。

2003年,陈清勇等^[24]用茶多酚处理高转移性人肺癌PG细胞株,结果显示茶多酚质量浓度在25~200 μ g/mL对PG细胞均有杀伤活性,且呈剂量依赖性关系。经茶多酚处理后,PG细胞周期被阻滞于G₀/G₁期,影响其DNA合成,从而抑制细胞增殖。茶多酚使细胞内Ga²⁺浓度、间隙连接蛋白43(Cx43)表达水平上调,细胞间隙连接通讯(CJIC)功能提高,表明茶多酚可通过调节CJIC功能及相关基因表达来实现抗肿瘤效应。此外,茶多酚可明显抑制PG细胞的侵袭和运动能力、PG细胞表面黏附分子CD44、CD54的表达及PG细胞与内皮细胞之间的黏附性,且呈剂量依赖关系。说明茶多酚的抗黏附作用可能与其抗肿瘤转移活性有关^[25]。

2003年,刘淑红等^[26]以接种Lewis肺癌的C57BL/6J小鼠为模型,灌服不同剂量的茶多酚。结果显示茶多酚使荷瘤小鼠的胸腺指数和脾脏指数下降,进而导致小鼠免疫力下降。茶多酚可通过增强体内抗氧化酶的活性、抑制脂质过氧化反应而产生抗癌作用,使小鼠尤其是荷瘤小鼠体内血清超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性增强,荷瘤小鼠的丙二醛(MDA)量增加,GSH-Px/MDA值明显升高。该结果表明茶多酚主要是通过抗氧化作用而不是免疫调节来抑制肿瘤生长。

2006年,安舟等^[27]研究发现25~200 μ g/mL的茶多酚对PG细胞增殖有抑制作用,且呈剂量依赖性。茶多酚促使PG细胞被阻滞于G₀/G₁期,从而抑制其增殖。与对照组比较,随着茶多酚浓度的增高,实验组细胞表面CD151表达水平下调,细胞

黏附因子 CD82 表达水平上调。说明茶多酚可通过减少肿瘤细胞中 CD151 的表达而保证其下游 RAS 基因的正常表达,诱导肿瘤细胞凋亡。2006 年,杜春华等^[28]以 50~300 mg/L 质量浓度的茶多酚体外培养人肺腺癌 SPC-A1 细胞,发现茶多酚可抑制肺癌细胞增殖,且呈时间依赖性。茶多酚质量浓度为 50~150 mg/L 时,抑制作用与浓度呈正相关;茶多酚质量浓度大于 150 mg/L 时,抑制作用与浓度呈负相关。同时茶多酚可使肺癌细胞阻滞于 G₁ 期,质量浓度为 150 mg/L 时 24 h 阻滞作用最强。2011 年,杜亚明等^[29]研究发现茶多酚可抑制肺癌细胞 H460 的增殖活性,且呈时间依赖性。当茶多酚质量浓度在 50~150 μg/mL 时,抑制作用与浓度呈正相关;当质量浓度大于 150 μg/mL 时,抑制作用与浓度呈负相关。此外茶多酚可阻滞细胞周期于 G₁ 期并诱导癌细胞凋亡,其机制一方面可能是通过 p53 依赖或非依赖途径诱发细胞凋亡;另一方面可能是通过抑制周期依赖激酶 CDK2 和 CDK4 的活性,使细胞周期阻滞于 G₁ 期。该结果与杜春华等^[28]实验结果相同。2005 年,谢珏等^[30]发现在茶多酚作用下,肺癌 A549 细胞周期被阻滞于 G₀/G₁ 期、Ca²⁺ 浓度增加、钙依赖脂结合蛋白 Annexin V 和蛋白酪氨酸磷酸酶基因 (PTEN) 蛋白表达上调、细胞周期调控蛋白 D1 表达水平下调。2010 年,杨美兰等^[31]将肺鳞癌 PC10 细胞接种于小鼠体内,皮下注射各组药物。结果表明,茶多酚可上调 Caspase-3 表达,并下调 PCNA 和 Bcl-2 表达,促进 PC10 细胞凋亡。2007 年,黄河宁等^[32]用茶多酚与氧化锆 (AR) 配制茶多酚锆,分别用茶多酚与茶多酚锆体外培养肺癌 SGC7901 细胞,当质量浓度大于 75 μg/mL 时,两者抑制 SGC7901 细胞增殖的能力逐渐增强,茶多酚锆对 SGC7901 细胞增殖的抑制率大于茶多酚。

吡哆美辛可作用于血管内皮细胞,抑制血管内皮生长因子 (VEGF) 表达,从而阻断肿瘤血管生成^[33];而茶多酚能抑制某些肿瘤细胞 VEGF 表达,抑制其与受体结合,从而遏制肿瘤新生血管的形成^[34]。在此基础上,2012 年,张利娟等^[35]研究发现吡哆美辛和茶多酚可明显抑制小鼠 Lewis 肺癌肿瘤生长,且联合用药疗效好于单药治疗。基质金属蛋白酶 (MMPs) 是一类在肿瘤血管生成过程中,参与细胞间和基底膜结缔组织更新和重组的含锌蛋白水解酶。2012 年,王婧等^[36]研究发现茶多酚明显抑制肿瘤生长,茶多酚与沙利度胺联合使用效果更

突出,而调节 MMPs/TIMPs 平衡是茶多酚抗肺癌效应机制之一。

2013 年,侯丽等^[37]发现茶多酚胶囊联合化疗组治疗晚期非小细胞肺癌 (NSCLC) 的临床疗效优于参一胶囊联合化疗组,优于单纯化疗组。2014 年,汤军华^[38]研究发现茶多酚片联合化疗组近期疗效、生存率和治疗后生活质量优于单纯化疗组,而复发率低于单纯化疗组。证明茶多酚片辅助化疗是一种安全有效的治疗 NSCLC 的方案。2014 年,曲洪澜^[4]研究发现茶多酚和莱菔硫烷联合用药使蛋白激酶 A 锚定蛋白 95、细胞周期 E2 蛋白表达下调,可以有效抑制肿瘤的生长。

目前,关于茶多酚抗癌的作用机制研究已渐渐的从阻滞细胞周期、抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡延伸至抑制肿瘤新生血管生成、调控相关基因、mRNA、酶和信号转导通路,研究范围更加细致和深入。综上所述,茶多酚预防、直接干预、间接辅助治疗肿瘤细胞的机制如下:EGCG 可增强临床治疗肺癌药物的疗效及肿瘤细胞对药物的敏感性,且减少相关药物的毒副作用^[35,37-38];用茶多酚与某些治疗肺癌的药物联合用药,效果更明显^[32];茶多酚可影响肿瘤细胞 DNA 的合成,阻滞细胞周期于 G₀/G₁ 期,抑制肿瘤细胞增殖^[24,30];可通过调节细胞间隙链接通讯功能及相关基因如 Cx43,而实现抗癌效应^[24];可抑制肿瘤细胞黏附分子 (如 CD44、CD54) 的表达,减弱肿瘤细胞与内皮细胞之间的黏附性,通过抗黏附作用而抑制肿瘤细胞的侵袭和转移^[25,27];可抑制促血管生成因子 VEGF 表达,抑制其与受体结合,而抑制肿瘤血管生成^[33];可增加抗氧化酶活性,抑制脂质过氧化,通过增强机体抗氧化作用而抑制肿瘤生成^[26];茶多酚对肺腺癌 SPC-A1 细胞、大细胞肺癌 H460 细胞等肿瘤细胞的作用有一定的剂量范围,一般为 50~150 mg/L,在此范围内,抑制肿瘤细胞增殖,且呈剂量依赖效应,超过 150 mg/L,对于肿瘤细胞的抑制作用下降^[28-29]。此外,茶多酚还可调控相关基因的表达,如上调 p53、Caspase-3、Bax、PTEN、Annexin V 的表达,下调 Bcl-2、GST-π、Survivin、PCNA、VEGF、MMPs、NF-κB 等基因以及蛋白激酶 A 锚定蛋白 95、E2 蛋白、D1 蛋白的表达。

2 咖啡碱

茶叶生物碱中量最高的是咖啡碱,占茶鲜叶干物质质量的 2%~4%。

2001 年,王艳萍等^[39]以人肺腺癌 SPC-A-1 细胞为研究对象,采用 MTT 法研究咖啡因及其与苯巴比妥联合应用对顺铂体外细胞毒作用的影响。结果表明咖啡因可明显增强顺铂对 SPC-A-1 细胞的体外抗癌敏感性,而苯巴比妥对咖啡因的体外抗癌增效作用无拮抗作用。提示苯巴比妥可作为降低咖啡因神经兴奋、心律失常等毒副作用的成分,与咖啡因联合使用作为化疗高效低毒的增效剂用于肺癌治疗。

目前有关咖啡因治疗肺癌的临床应用报道不多,这主要是由于不能在体内获得既抗癌增效,又不产生强烈毒副作用的有效血药浓度。咖啡因可刺激大脑皮层,是精神兴奋类药,而苯巴比妥抑制大脑皮层,是精神兴奋抑制类药,二者在体内具有拮抗作用^[39]。

3 茶色素

茶叶中的色素包括天然色素和制茶转换色素。一般研究抗癌所用的茶色素主要是制茶转换色素,即茶黄素类、茶红素类、茶褐素类。

为了保证放射治疗杀伤肿瘤细胞的效果,同时减少免疫功能损伤,刘新发等^[40]对 20 例乳腺癌患者和 10 例肺癌患者进行研究,在放射治疗的同时,每日患者服用 750 mg 茶色素。采用自身对照法,分别在用药前后测量各项免疫功能指标。结果发现服用茶色素后,T 淋巴细胞亚群、红细胞免疫受体上升;茶色素抑制了血栓形成、提高放疗疗效、保护机体免疫功能。

2007 年,江和源等^[41]研究发现茶黄素双没食子酸酯(TFDG)可很好地抑制人肺癌 H1299 细胞的增殖;阻滞人结肠癌 HCT-116 细胞周期于 G₁ 期,促进其凋亡、下调细胞中 Bcl-xL 的表达量,并上调 Bax 的表达量。

2015 年,何靓等^[42]研究了 2006~2009 年 4 个年份武夷水仙的主要生化成分,包括游离氨基酸、可溶性蛋白、咖啡碱、茶多酚、茶黄素、茶红素、茶褐素以及茶色素总量,并通过 MTT 法测定比较了不同年份武夷水仙茶汤提取液的抗人肺癌 SPC-A1 细胞的能力。结果表明武夷水仙对 SPC-A1 细胞增殖有抑制作用,但其抗癌能力不随存放时间增加而持续增强。随着存放时间增加,氨基酸、可溶性蛋白量无显著差异,咖啡碱、茶多酚及其儿茶素的量递减;茶黄素复合物(TFs)量先增加后减少;茶红素(TR)量增加;茶褐素(TB)和茶色素总量都先增加后减少。结果显示在茶褐素和茶色

素总量最高年份的武夷水仙抑癌效果最明显,表明二者的量与武夷水仙抑癌效果相关。

4 茶氨酸

茶氨酸是茶叶中一种比较特殊的氨基酸,在一般植物中罕见,约占茶鲜叶氨基酸总量的 70%。茶氨酸是谷氨酸盐的衍生物,通过干扰谷氨酸盐的代谢来抑制癌细胞的生长^[43]。茶氨酸有预防及抑制肿瘤生长的作用^[44-46]。

2009 年,雷明盛等^[47]研究发现茶氨酸显著抑制 A549 细胞生长,具有时间依赖性和浓度依赖性。已知跨膜糖蛋白 CD34、VEGF 和血管内皮细胞分裂增殖有关,VEGF 还能促进微静脉和小静脉的通透性增加。茶氨酸使肿瘤组织的 CD34 和 VEGF 表达下调,表明茶氨酸具有抑制肿瘤血管生成和肺癌细胞生长、转移的作用。该研究还发现茶氨酸可能通过树突状细胞(DC)介导 VEGF 蛋白表达的下调抑制肿瘤血管形成,茶氨酸也可能通过刺激 DC 调节 T 淋巴细胞来实现抗肿瘤和免疫保护的作用^[48]。2012 年,莫贵艳等^[49]将茶氨酸作用于血管内皮细胞,观察茶氨酸对内皮细胞增殖、凋亡、小管形成的影响,其后进行体内实验,验证茶氨酸对肺癌血管生成的影响。发现质量浓度在 25~400 mmol/L 时茶氨酸能够抑制内皮细胞增殖,且呈浓度依赖性。2013 年,陈林林等^[13]研究发现茶氨酸溴香酰胺(TBrC)和茶氨酸可明显下调 NF- κ B、血管内皮生长因子受体(VEGFR)和其下游靶点的表达;TBrC 和茶氨酸上调了 Caspase-3、p53 蛋白的表达,促进了肿瘤细胞凋亡。此外,TBrC 明显下调了 Bcl-2/Bax 的值。

茶氨酸不仅能直接抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡^[49],还能影响血管内皮生长因子等蛋白的作用,阻止肿瘤相关血管新生和阻断肿瘤细胞生长,最终抑制肿瘤生长和转移^[13]。

5 茶多糖

现有研究表明,茶多糖具有降血糖、调血脂、抗氧化以及免疫调节的功效^[50-52]。

2015 年,何念武等^[53]用不同质量浓度的茶多糖体外培养结肠癌 LoVo 细胞、A549 细胞、乳腺癌 MCF-7 细胞,伴随着茶多糖质量浓度的不断增加,3 种肿瘤细胞存活率明显下降,呈剂量依赖性。茶多糖可促使肿瘤细胞释放更多的乳酸脱氢酶(LDH),从而间接发挥细胞毒作用。

阿霉素是临床治疗肺癌常用的化疗药物,然而该药物毒性较大且具有多药耐药性。为了减少阿霉

素的毒副作用,2016 年,魏楠等^[54]将茶叶提取物茶多糖与阿霉素联用体外培养 A549 细胞,通过 MTT 法检测细胞存活率。结果表明阿霉素可诱导 A549 细胞凋亡,茶多糖与阿霉素联用可减少阿霉素的使用量,增强阿霉素对 A549 细胞的增殖抑制作用。

6 茶叶提取物

2006 年,李伟等^[55]研究茶叶提取物对体外培养的 A549 细胞增殖能力和细胞存活量的影响,结果表明茶叶提取物中的 EGCG、茶黄素-3、3'-双没食子酸酯(TFDG)、茶黄素(TF)、TFs 均有很强的促进 A549 凋亡的作用,并且 EGCG 的作用最强,而咖啡因、茶氨酸作用较小。

2008 年,陆网坤^[56]研究发现绿茶提取物可显著抑制 A549 细胞的体外增殖,并不表现为明显的细胞毒性作用;同时降低 A549 细胞的浸润、转移,并抑制 A549 细胞黏附到单层人脐静脉内皮 ECV304 细胞上。

7 作用机制探讨

肿瘤的发生、发展、浸润、转移是一个多因素操控的极其复杂的过程,由多种基因、蛋白和多条信号通路共同调控,是一种细胞增殖和死亡均发生异常的疾病。通常认为,在恶性肿瘤发生和发展过程中,细胞凋亡抑制比细胞过度增殖发挥更重要的作用^[57]。

凋亡是由基因决定的程序性细胞死亡,是由于外部因素激活了细胞表面分子,致使相关基因表达,最终导致细胞内形成凋亡小体^[58]。Bcl-2 家族含有 Bcl-2、Bcl-xL、Bcl-w 等抗凋亡蛋白和 Bax、Bad、Bak 等促凋亡蛋白。Bcl-2 是与凋亡关系密切的原癌基因之一,其本身无致癌作用,但过度表达会抑制细胞凋亡,利于癌变,主要通过延长细胞生存来抑制细胞凋亡^[59]。Bcl-2/Bax 组成一个平衡体系^[60],二者之间的相互作用决定了细胞死亡的阈值^[61]。Bax 表达水平的上调可拮抗 Bcl-2 的作用,从而起到促进肿瘤细胞凋亡的作用^[62]。多个实验结果表明,茶多酚^[30,31]可下调 Bcl-2 的表达、TFDG^[41]可下调 Bcl-xL 的表达,茶多酚、TFDG^[41]可上调 Bax 的表达,茶多酚、茶氨酸通过下调 Bcl-2/Bax,促进了肿瘤细胞凋亡^[13]。

生物学上将 p53 分为野生型和突变型 2 类。野生型 p53 是一种常规的抑癌基因,其编码的蛋白可对细胞周期进行调控,使得 DNA 受损的细胞难以由 G₁ 期进入 S 期或者由 G₂ 期进入 M 期,从而抑制

肿瘤细胞的增殖^[63]。此外,当细胞 DNA 损伤程度较轻时,p53 可明显提升其自我修复能力,当 DNA 损伤无法修复时将启动凋亡程序,促进受损的细胞快速死亡^[64-65]。茶多酚^[30]和茶氨酸^[13]均可使野生型 p53 表达水平上调,激活 p53 通路,通过之后的一系列生物学效应而决定细胞的命运,包括周期阻滞、凋亡、衰老、DNA 修复等^[64]。

Caspase 是一类与凋亡密切相关的蛋白水解酶家族,以无活性的 Caspase 前体酶原的形式存在于大多数动物细胞中。其中的 Caspase-3 是介导细胞凋亡的关键蛋白水解酶,是执行凋亡程序的重要效应分子,广泛表达于各种组织中,并存在于多条信号通路的终末^[66]。茶多酚^[31]、茶氨酸^[13]均可上调 Caspase-3 的表达水平,诱导肿瘤细胞执行凋亡程序。

Akt 是 PI3K/Akt 信号转导通路的核心,经多种途径促进肿瘤细胞存活^[67]。PTEN 是一种具有双重特异性磷酸酶活性的抑癌基因,通过去磷酸化作用而发挥抑癌功能。PTEN 基因编码的蛋白具有磷酸酯酶的特征和作用,可负向调节 PI3K/Akt 信号通路,对抗 PI3K 途径传导的生长和生存信号,阻滞细胞周期于 G₁ 期,抑制肿瘤的发生和发展,还能抑制细胞迁移及局部粘连的扩展和形成,诱导凋亡,实验表明 PTEN 过表达可抑制肺癌的侵袭性^[68-69]。Survivin 基因是一种抑凋亡蛋白因子,通常表达于人类胚胎发育组织和绝大多数肿瘤组织,但在分化的正常组织中不表达(睾丸、胸腺和胎盘除外)^[70]。p53、PTEN 等抑癌基因可使 Survivin 表达水平下调,而癌基因 Akt 和一些血管生长因子如 VEGF、bFGF 可使 Survivin 表达水平上调^[71]。在肺癌组织中 Survivin 过表达,而 PTEN 表达下调,两者表达强度之间呈显著负相关^[68]。研究发现,在茶多酚的作用下,Akt、VEGF 表达水平明显下调,PTEN 表达水平显著上调,进而减弱 Survivin 的表达,同时阻碍 PI3K/Akt 信号通路,阻滞细胞周期于 G₁ 期,抑制肺癌细胞的存活和侵袭性,起到抗癌效应。

增殖细胞核抗原(PCNA)是 DNA 复制时所必须的调节蛋白,是伴随细胞增殖而表达的一种核内蛋白,在细胞核内阳性表达的高低可直接反映细胞增殖活跃程度^[72]。茶多酚^[31]可使其表达水平下调。

VEGFR 调控管理血管形成前的肿瘤营养运输^[73]。VEGF 促进正常生理性血管生长,但在病理情况下会表达异常。在肿瘤组织中,肿瘤细胞、促进肿瘤侵袭的巨噬细胞和肥大细胞能分泌高水平的

VEGF, 通过其受体 VEGFR 介导的信号传导, 进一步以旁分泌或自分泌的形式刺激肿瘤血管内皮细胞, 促进其增殖和迁移, 诱导血管形成, 以利于肿瘤转移^[74]。研究发现, 茶多酚^[35]可下调 VEGF 的表达, 而 TBrC 和茶氨酸^[13]可通过下调 VEGFR 和其下游靶点的表达, 影响 VEGF 等蛋白的表达, 阻止肿瘤相关血管生成并阻断肿瘤细胞生长, 最终抑制肿瘤生长和转移^[3]。

NF- κ B 参与多种凋亡相关基因的转录调控^[75], 并通过调节许多与黏附、侵袭转移相关因子的转录而参与肿瘤的侵袭和转移^[76]。Zerbini 等^[77]研究证实 NF- κ B 在肿瘤的生长、逃逸细胞凋亡等方面发挥关键作用。TBrC 和茶氨酸可明显下调 NF- κ B 的表达, 从而抑制肿瘤细胞生长, 促进肿瘤细胞凋亡^[13]。

8 结语与展望

随着生活水平的提高, 人们日益重视生命健康, 茶不再单单是日常生活中的食品、饮品, 其保健和药用价值逐渐凸显出来, 并被广泛应用。关于茶各项功能成分保健作用的研究日益增多, 茶提取物作为抗癌增效剂、强化剂、稳定剂和改良剂前景远大, 意义深远。尤其是茶多酚在临床治疗上表现出良好的预防、直接干预、辅助治疗癌症的效果。但目前除了茶多酚预防治疗肺癌的研究报道较多, 咖啡因、茶色素、茶氨酸等其他功能性成分对肺癌的作用机制研究尚少, 且茶功能性成分作用于肺癌的具体分子机制、相关酶及信号通路等的研究匮乏, 各种基因相互间的调控和影响研究也较少。比较分析不同茶类在不同浓度梯度下对体外培养的肺癌细胞的影响, 可为喜好不同茶类、有不同饮茶习惯的人群提供个性的预防治疗肺癌的解决方案。进一步分析茶作用于肺癌细胞的分子机制, 研究相关关键酶和信号通路, 探究各种基因之间的互作效应, 通过定点精确调控肺癌相关基因、酶和信号通路, 直接作用于这些新的治疗靶点, 来抑制肿瘤细胞增殖、血管发生及转移, 诱导细胞凋亡, 同时减少副作用。联合应用茶各功能性成分, 观察其作用效果与单独使用某一种功能性成分的异同, 可更安全有效地利用茶及茶提取物, 帮助找到直接干预或辅助治疗肺癌药物的最适比例和配方, 并为培育特定功能成分量高的茶树新品种及提纯制备相关产品提供参考。

参考文献

[1] 钱桂生, 余时沧. 肺癌流行病学最新资料与启示 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2012, 35(2): 86-89.

[2] 王治国. 肺癌流行病学调查进展 [J]. 医药, 2016(1): 173.

[3] 景瑞军, 李勇强. Caspase-3、ADAM10 在肺癌中表达与生物学意义 [J]. 成都医学院学报, 2012, 7(2): 212-213.

[4] 曲洪澜. 莱菔硫烷联合茶多酚对蛋白激酶 A 锚定蛋白 95、细胞周期蛋白 E2 在肺癌组织中表达的影响研究 [J]. 现代药物与临床, 2014, 29(10): 1092-1095.

[5] 姚晓军, 刘伦旭. 肺癌的流行病学及治疗现状 [J]. 现代肿瘤医学, 2014, 22(8): 1982-1985.

[6] Lu G, Liao J, Yang G Y, et al. Inhibition of adenoma progression to adenocarcinoma in a 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced lung tumorigenesis model in A/J mice by tea polyphenols and caffeine [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(23): 11494-11501.

[7] 许小琴, 蔡琳. 饮茶与肺癌发病风险的病例-对照研究 [J]. 卫生研究, 2013, 42(2): 211-216.

[8] 陈敏星, 郭雅玲. 基于茶叶 EGCG 的抗癌机制研究进展 [J]. 热带作物学报, 2013, 34(4): 789-793.

[9] Cook K M, Figg W D. Angiogenesis inhibitions: Current strategies and future prospects [J]. *CA Cancer J Clin*, 2010, 60(4): 222-243.

[10] Fukumura D, Jain R K. Tumor microvasculature and microenvironment: Targets for anti-angiogenesis and normalization [J]. *Microvasc Res*, 2007, 74(2/3): 72-84.

[11] Sagara Y, Miyata Y, Nomata K, et al. Green tea polyphenol suppresses tumor invasion and angiogenesis in N-butyl-(4-hydroxybutyl) nitrosamine-induced bladder cancer [J]. *Cancer Epidemiol*, 2010, 34(3): 350-354.

[12] Mohan N, Karmakar S, Banik N L, et al. SU5416 and EGCG work synergistically and inhibit angiogenic and survival factors and induce cell cycle arrest to promote apoptosis in human malignant neuroblastoma SH-SY5Y and SK-N-BE2 cells [J]. *Neurochem Res*, 2011, 36(8): 1383-1396.

[13] 陈林林, 季德鑫, 刘欣, 等. 茶氨酸溴香酰胺对肺癌细胞生长的影响与其作用分子机制的研究 [J]. 安徽农业大学学报, 2013, 40(2): 242-249.

[14] 宛晓春. 茶叶生物化学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.

[15] 徐力, 侯丽, 刘杰, 等. 茶多酚对移植性 S180 小鼠肿瘤模型抑瘤率的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2005, 20(12): 718-720.

[16] 武红莉, 陈信义, 韩冷, 等. 茶多酚对人脐静脉内皮细胞增殖和凋亡的实验研究 [J]. 北京中医药, 2008, 27(4): 294-295.

[17] 戴红, 马成杰, 刘朝阳, 等. 茶多酚联合吉非替尼抗肺腺癌血管生成的初步研究 [J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(5): 801-806.

[18] 陈信义, 张燕明. 茶多酚影响乳腺癌组织 C-Jun 蛋白表达研究 [J]. 现代生物医学进展, 2007, 7(8): 1121-1123.

- [19] Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease [J]. *Nat Med*, 1995, 1(1): 27-31.
- [20] 张燕明, 陈信义, 徐力. 茶多酚干预乳腺癌组织及重要器官血管生成相关因子表达研究 [J]. 现代生物医学进展, 2007, 7(10): 1441-1444.
- [21] 奥田拓男, 骆少君. 单宁及其有关多酚类对变异原及癌细胞的抑制效果 [J]. 福建茶叶, 1984, 14(3): 20-29.
- [22] 萧赧, 罗招阳, 赵慧, 等. EGCG 对肺癌 A549/DDP 细胞药物敏感性的影响及机制 [J]. 南华大学学报: 医学版, 2009, 37(3): 288-291.
- [23] Okabe S, Fujimoto N, Sueoka N, *et al.* Modulation of gene expression by (-)-epigallocatechin gallate in PC-9 cells using a cDNA expression array [J]. *Biol Pharm Bull*, 2001, 24(8): 883-886.
- [24] 陈清勇, 钱利生, 王彦刈, 等. 茶多酚对高转移性人肺癌细胞间隙连接通讯功能的上调研究 [J]. 解放军医学杂志, 2003, 28(4): 337-339.
- [25] 陈清勇, 王彦刈, 周建英, 等. 茶多酚对高转移性肺癌细胞与内皮细胞粘附及粘附分子表达的影响 [J]. 中国微循环, 2003, 7(1): 17-19.
- [26] 刘淑红, 李堃, 王美, 等. 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 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2003, 10(3): 206-209.
- [27] 安舟, 周建英. 茶多酚抑制人高转移肺癌细胞增殖的机制研究 [J]. 浙江医学, 2006, 28(7): 523-525.
- [28] 杜春华, 成炜, 胡晓玲, 等. 茶多酚对肺癌 SPC-A1 细胞增殖的影响 [J]. 山东医药, 2007, 47(31): 1-3.
- [29] 杜亚明, 王天一, 郑伟, 等. 茶多酚诱导人肺癌细胞 H460 凋亡及对细胞周期的影响 [J]. 广东医学, 2011, 32(14): 1803-1805.
- [30] 谢珏, 陈清勇, 周建英, 等. 茶多酚体外诱导人肺癌细胞凋亡的机理研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2005, 25(3): 244-247.
- [31] 杨美兰, 吴胜其, 邓亚平, 等. 茶多酚抑制肺鳞癌细胞裸鼠移植瘤的实验研究 [J]. 现代生物医学进展, 2010, 10(12): 2220-2224.
- [32] 黄河宁, 陈东仕, 胡晓慧, 等. 茶多酚及茶多酚酯的组成、结构和抑制肺癌细胞生长速率的研究 [J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2007, 46(2): 258-261.
- [33] Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications [J]. *N Engl J Med*, 1971, 285(21): 1182-1186.
- [34] Benelli R, Morini M, Carrozzino F, *et al.* Neutrophils as a key cellular target for angiostatin: Implications for regulation of angiogenesis and inflammation [J]. *Faseb J*, 2002, 16(2): 267-269.
- [35] 张利娟, 龚泉, 李雪芹, 等. 吡啶美辛联合茶多酚对荷 Lewis 肺癌小鼠抗肿瘤作用的初步研究 [J]. 昆明医学院学报, 2012, 33(2): 23-26.
- [36] 王婧, 陈信义, 侯丽, 等. 茶多酚对 Lewis 肺癌小鼠移植瘤 MMP-2、TIMP-2 表达的影响 [J]. 现代生物医学进展, 2012, 12(10): 1837-1841.
- [37] 侯丽, 张雅月, 刘伟, 等. 茶多酚胶囊联合化疗治疗晚期非小细胞肺癌的临床研究 [J]. 北京中医药, 2013, 32(9): 666-669.
- [38] 汤军华. 茶多酚片辅助化疗治疗晚期非小细胞肺癌的疗效观察 [J]. 中国药房, 2014, 25(39): 3711-3713.
- [39] 王艳萍, 袁淑兰, 陈晓禾, 等. 咖啡因与苯巴比妥联合对顺铂的体外抗癌增效作用 [J]. 中国肺癌杂志, 2001, 4(3): 181-183.
- [40] 刘新发, 宋明发. 茶色素对乳腺癌肺癌放疗患者免疫功能的研究 [J]. 中国冶金工业医学杂志, 1998, 15(4): 230-231.
- [41] 江和源, Hang X, 袁新跃, 等. 茶黄素双没食子酸酯的抗癌活性及其作用机理研究 [J]. 茶叶科学, 2007, 27(1): 33-38.
- [42] 何靓, 杨江帆, 屠幼英. 不同年份武夷水仙对肺癌细胞的影响 [J]. 茶叶, 2015, 41(4): 192-195.
- [43] 杨建华. 茶氨酸抗肿瘤作用及其机制研究进展 [J]. 国外医学: 肿瘤学分册, 2004, 31(9): 686-687.
- [44] Friedman M, Mackey B E, Kim H J, *et al.* Structure-activity relationships of tea compounds against human cancer cells [J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(2): 243-253.
- [45] Liu Q, Duan H, Luan J, *et al.* Effects of theanine on growth of human lung cancer and leukemia cells as well as migration and invasion of human lung cancer cells [J]. *Cytotechnology*, 2009, 59(3): 211-217.
- [46] Fujii S, Inai K. Tumorigenicity study of L-theanine administered orally to mice [J]. *Food Chem*, 2008, 110(3): 643-646.
- [47] 雷明盛, 胡成平, 顾其华. 茶氨酸对人肺癌 A549 细胞株作用机制的研究 [J]. 中国医师杂志, 2009, 11(5): 615-618.
- [48] 雷明盛, 李敏, 顾其华, 等. 茶氨酸刺激树突状细胞调节 T 淋巴细胞抑制抗肺癌 A549 细胞移植瘤实验研究 [J]. 中国医师杂志, 2011, 13(7): 887-891.
- [49] 莫贵艳, 李敏, 胡成平, 等. 茶氨酸对内皮细胞生长及肺癌血管生成的影响 [J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(20): 2043-2046.
- [50] 高英霞. 茶多糖的提取及其药理作用研究概况 [J]. 山东工业技术, 2013, 33(11): 152-153.
- [51] 倪德江, 陈玉琼, 谢笔钧, 等. 绿茶、乌龙茶、红茶的茶多糖组成、抗氧化及降血糖作用研究 [J]. 营养学报, 2004, 26(1): 57-60.
- [52] 丁仁凤, 何普明, 揭国良. 茶多糖和茶多酚的降血糖作用研究 [J]. 茶叶科学, 2005, 25(3): 219-224.
- [53] 何念武, 高一明. 商南泉茗茶多糖的体外抗肿瘤活性 [J]. 商洛学院学报, 2015, 29(4): 51-55.

- [54] 魏楠, 朱强强, 陈际名, 等. 茶多糖对阿霉素抑制肺癌 A549 细胞增殖作用的影响 [J]. 茶叶科学, 2016, 36(5): 477-483.
- [55] 李伟, 屠幼英. 茶叶提取物对抗肺癌细胞 (A549) 体外试验研究 [J]. 茶叶, 2006, 32(1): 28-30.
- [56] 陆网坤. 绿茶提取物对人肺癌细胞影响的初步探讨 [J]. 中国现代药物应用, 2008, 2(3): 38-39.
- [57] Nicholson D W, Thornberry N A. Apoptosis: Life and death decisions [J]. *Science*, 2003, 299(6504): 214-215.
- [58] Weigand K, Brost S, Steinebrunner N, et al. Ischemia/reperfusion injury in liver surgery and transplantation: Pathophysiology [J]. *HPB Surgery*, 2012(1): 1-8.
- [59] 杜兰宁, 王丽娜, 李淑萍. p53 和 Bcl-2 在食管鳞癌组织中的表达及与放化疗疗效的关系 [J]. 兰州大学学报: 医学版, 2016, 42(4): 43-46.
- [60] 徐玉彬, 毛旭南, 胥广才, 等. 凋亡蛋白 Bcl-2、Bax 在肝脏缺血再灌注损伤模型中的作用 [J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2016, 10(13): 1968-1971.
- [61] De Giorgi F, Lartigue L, Bauer M K, et al. The permeability transition pore signals apoptosis by directing bax translocation and multi-merization [J]. *FASEB J*, 2002, 16(6): 607-609.
- [62] Brooks C, Dong Z. Regulation of mitochondrial morphological dynamics during apoptosis by Bcl-2 family proteins: A key in Bak [J]. *Cell Cycle*, 2007, 6(24): 3043-3047.
- [63] 陆思千, 贾舒婷, 罗瑛. 突变 p53 功能研究新进展与个性化的肿瘤治疗新策略 [J]. 遗传, 2011, 33(6): 539-548.
- [64] 王娅杰, 孙华, 刘耕陶, 等. p53 在 DNA 损伤反应中的研究进展 [J]. 药学学报, 2011, 46(12): 1413-1419.
- [65] 贺亚敏, 高丽丽, 李惠, 等. 结肠癌组织中 Bmi-1 和 p53 的表达及意义 [J]. 现代肿瘤医学, 2017, 25(2): 269-272.
- [66] 李静岩. Caspase-3 与肿瘤关系的研究 [J]. 医学综述, 2005, 11(5): 430-431.
- [67] 牛国梁, 张树友. PI3K/Akt 信号传导通路与肿瘤 [J]. 现代生物医学进展, 2010, 10(20): 3994-3995.
- [68] 李艳, 王新允, 郑海燕, 等. Survivin 和 Pten 在肺癌中的表达及意义 [J]. 中国肿瘤临床与康复, 2011, 12(2): 120-123.
- [69] Hang T M, Yang P C, Peck K, et al. Profiling the downstream genes of tumor suppressor PTEN in lung cancer calls by complementary DNA microarray [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2000, 23(3): 355-363.
- [70] Yoshihik H, Toshihiko T, Akiko M, et al. An HLA-A24-restricted cytotoxic T lymphocyte epitope of a tumor-associated protein, survivin [J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(6): 1731-1739.
- [71] Emmanouil C, Stefanie D. Regulation of endothelial cell survival and apoptosis during angiogenesis [J]. *Arterioscl Throm Vas*, 2002, 22(6): 887-893.
- [72] 刘厚君, 林能兴, 吴艳, 等. 细胞周期相关蛋白和增殖细胞核抗原蛋白在 Bowen 病皮损中的表达 [J]. 中国皮肤性病杂志, 2007, 21(6): 327-329.
- [73] 李荣, 宋政军, 王粉荣. 人胃癌组织中 TGF β -1 的表达与胃癌血管形成的研究 [J]. 现代肿瘤医学, 2003, 11(4): 255-257.
- [74] Kawamura H, Li X, Harper S J, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-A165b is a weak *in vitro* agonist for VEGF receptor-2 due to lack of coreceptor binding and deficient regulation of kinase activity [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(12): 4683-4692.
- [75] 王绩英, 赵雪强, 王昌明, 等. 三氧化二砷通过抑制 NF- κ B 增强 TRAIL 诱导 A549 细胞凋亡的作用研究 [J]. 四川大学学报: 医学版, 2012, 43(6): 834-838.
- [76] Nagai S, Washiyama K, Kwrimoto M. et al. Aberrant nuclear factor-kappaB activity and its participation in the growth of human malignant astrocytoma [J]. *Neurosurg*, 2002, 96(5): 909-917.
- [77] Zerbini L F, Wang Y, Czibere A. NF-kappa B-mediated repression of growth arrest and DNA-damage-inducible proteins 45 alpha and gamma is essential for cancer cell survival [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(37): 13618-136123.