

# 茶儿茶素抑制肿瘤血管生成的作用

张玉艳 沈生荣\*

(浙江大学茶叶科学研究所, 杭州 310029)

**摘要** 对近几年茶儿茶素抑制肿瘤血管生成的研究进展进行了综述。从抑制血管内皮细胞生长、抑制细胞黏附分子表达和抑制基底膜降解三个部分讨论了其抗肿瘤血管生成的机制, 并对儿茶素研究存在的问题和儿茶素开发前景进行了探讨。

**关键词** 儿茶素; 肿瘤; 血管生成

肿瘤是当今世界直接危及人类生命的一种最常见、最严重的疾病。1971年, Folkman<sup>[1]</sup>在大量临床实践和试验积累的基础上提出了肿瘤生长依赖于血管生成的假说。经过30多年的发展, 关于血管生成的大量基础研究成果不仅充分证实了Folkman的假说, 并且发现血管生成也是肿瘤转移所必需的。

血管生成是一个由多种细胞因子和多种细胞成分参与的、动态的、协调的复杂过程。涉及一系列形态学及生化学改变。形态学改变包括内皮细胞激活, 降解基底膜、内皮细胞的定向运动和增殖、新生微血管、内皮细胞新的基底膜合成、血管腔产生、芽式生长并形成血管襻等一系列步骤。其生化学改变涉及许多血管生成因子、细胞因子及相关抑制因子之间的调节失衡。肿瘤的生长与转移依赖血管生成, 建立丰富的血液循环, 以供应肿瘤组织异常旺盛的生化代谢以及瘤细胞的增殖与转移。因此通过抑制血管生成, 阻断肿瘤的生长和转移, 已成为一个崭新的、有希望的抗肿瘤靶点。

茶叶中的儿茶素(catechin)属于黄烷醇类化合物, 是茶叶中多酚类物质的主体成分。茶叶中的儿茶素是2-苯基苯并吡喃的衍生物, 其基本结构包括A、B和C三个基本环核, 根据儿茶素B环和C环连接基团的不同, 儿茶素又可分为4种主要类型: 表儿茶素(epicatechin, EC); 表没食子儿茶素(epigallocatechin, EGC); 表儿茶素没食子酸酯(epicatechin gallate, ECG); 表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)。茶儿茶素具有广谱的药理学作用, 在抗癌抗肿瘤、抗炎镇痛、抗氧化抗衰老、抗辐射、抑菌抗病毒、免疫调节、雌激素样作用和抗心脑血管疾病等方面都有疗效。

茶叶与肿瘤发生的流行病学研究已有大量正相关、负相关和无相关的文献报告。结果不尽相同, 存在区域差异, 可能与人们饮茶的生活习惯(如饮茶量、种类、饮茶方式、温度、还有吸烟和饮酒习惯等)有关。但越来越多的学者研究证实茶叶确能抑制肿瘤。Cao等<sup>[2]</sup>指出, 饮茶可以抑制血管生成, 作者发现绿茶及EGCG能明显抑制动物体内一些肿瘤生长, 如肺癌和食道癌等新生血管的生长, 这一证据表明饮茶有益于预防和治疗血管生成依赖性疾病, 并提出绿茶能够抑制肿瘤生长可能是通过抑制血管生长而介导的。从而解释了饮茶能够抑制不同类型肿瘤的生长原因。

## 1 茶儿茶素抑制肿瘤新生血管生成的作用机制

### 1.1 对血管内皮细胞生成的抑制作用

血管生成起始的中心环节是血管内皮细胞或基质干细胞的迁移、分裂、分化, 以及随后的管腔化。内皮细胞最直接与血液循环中的药物接触, 其增殖、迁移、管腔形成在血管生成过程中起关键作用。因此, 抗血管生成的较好靶点是内皮细胞, 通过抑制血管内皮细胞的增殖、迁移和管腔形成三个环节能有效地抑制血管生成。

Kondo<sup>[3]</sup>等研究发现, 4种儿茶素(EC、ECG、EGC和EGCG)在一定浓度范围内能抑制VEGF<sub>165</sub>诱导的人脐静脉内皮细胞(HUVEC)生长、迁移及小管形成, 在100 μmol/L时, EGCG和ECG对细胞生长的抑制率分别为55%和50%, EC和EGC抑制率

收稿日期: 2004-10-29 接受日期: 2004-12-24

\* 通讯作者。Tel: 0571-86971926, E-mail: shrshen@zju.edu.cn

为20%~25%；对细胞迁移的抑制效果比抑制细胞增生的效果明显，在100  $\mu\text{mol/L}$ 时，EGCG、ECG、EGC和EC抑制率分别为80%、70%、60%和50%；儿茶素能抑制内皮管腔的长度和宽度，在1.56~6.25  $\mu\text{mol/L}$ 低浓度时，4种儿茶素对其作用差异不很小，当EGCG和ECG浓度为25  $\mu\text{mol/L}$ 时抑制率为70%和50%，而EC和EGC在100  $\mu\text{mol/L}$ 时抑制率仅为40%。

总之，研究发现，在浓度为1.56~100  $\mu\text{mol/L}$ 时，4种儿茶素都能抑制血管生成，EGCG抑制血管生成最有效，ECG位居第二，这可能与分子结构中没食子酰基的存在与作用有关。

1.1.1 对血管内皮生长因子(VEGF)及其受体的抑制作用 VEGF又称血管通透性因子(vascular permeability factor, VPF)，是较强的血管通透性调节剂和特异的促内皮细胞分裂素。其特异地作用于血管内皮细胞，具有促进内皮细胞分裂、诱发新血管形成和增加血管通透性的功能<sup>[4]</sup>，它在肿瘤血管生成过程中起关键调节作用<sup>[5]</sup>。

众多的研究发现，儿茶素在体内能够抑制肿瘤血管的生长、分化和血管生成<sup>[5-9]</sup>。但只有EGCG抑制VEGF受体的分泌。在25  $\mu\text{mol/L}$ 时，其抑制率为40%，较维生素E更有效<sup>[3]</sup>。Cao等<sup>[2]</sup>用绿茶作为小鼠的唯一饮用水来源，观察饮茶对VEGF诱导的角膜新生血管形成的影响。血浆EGCG浓度约为0.1~0.3  $\mu\text{mol/L}$ ，此浓度与人喝2~3杯绿茶后血中EGCG浓度相当。研究表明，绿茶水能够明显抑制动物模型肺肿瘤的生长和发展。与饮白水的对照组比较，饮茶能显著阻止VEGF诱导的角膜新生血管形成。Neuhaus等<sup>[10]</sup>研究发现EGCG能剂量依赖的抑制VEGF诱导的HUAEC细胞DNA的合成，在浓度为50  $\mu\text{mol/L}$ 时，能彻底的抑制DNA的合成，对细胞的增殖也有抑制作用，但EC却无此作用。

VEGF的血管生成效应是通过两种内皮细胞(EC)特有的VEGF特异受体：fms样酪氨酸激酶(Flt-1，也称VEGFR-1)和胚肝激酶-1(KDR，也称VEGFR-2)介导的。目前，认为Flt-1主要介导细胞骨架重排引起细胞迁移，并引起单核细胞趋化，而KDR则主要介导EC的增殖、引起血管通透性升高，并有抗EC凋亡维持EC存活的作用<sup>[11]</sup>。KDR/Flk-1被认为是血管内皮的最重要的靶标<sup>[12]</sup>。对ECs上调的VEGF-Rs，抗KDR/Flk-1抗体能特异地与之结合并发挥抑制作用，而且比抗VEGF抗体更有优势。众多

研究证实，利用VEGF与其受体特异性结合的特点，将VEGF与茶儿茶素结合进行受体导向治疗，可望显著提高抑瘤疗效。

Kojima-Yuasa<sup>[13]</sup>等研究发现，绿茶提取物(GTC)在添加人表皮生长因子(hEGF)培养基中能显著的抑制细胞的增殖，在G<sub>1</sub>期细胞积累呈剂量依赖性，且能降低Flt-1和KDR/Flk-1的表达，GTC浓度在25  $\mu\text{g/ml}$ 时作用最显著。Neuhaus等<sup>[10]</sup>以HUAEC为研究对象，用EGCG预处理细胞，发现EGCG能剂量依赖性的抑制VEGF诱导的细胞外信号调节激酶-1和-2(ERK1/2)的磷酸化，从而抑制细胞的有丝分裂；而且还发现对VEGF诱导的早期生长反应因子-1(early growth response factor-1, Egr-1)mRNA的表达有抑制作用。50  $\mu\text{mol/L}$ 的EGCG几乎能彻底的抑制VEGF诱导的VEGFR-1和-2酪氨酸的磷酸化。而同样浓度的EC无此作用。

许多与血管关系密切的肿瘤(如卵巢癌、肾癌、黑色素瘤、胶质瘤等)可以自分泌VEGF并直接作用于血管内皮细胞上的VEGF受体，最终导致肿瘤血管生长。许多实验证明，荷瘤宿主体内，VEGF的水平较正常显著升高，肿瘤组织中VEGF mRNA的表达与肿瘤血管密度呈正比。因此许多学者拟以VEGF为靶点，通过抑制VEGF而抑制肿瘤的血管生成，从而达到抗肿瘤生长的目的，并已在动物实验中得到了证实。EGCG通过抑制VEGF因子分泌或下调其受体的表达，可以有效地抑制肿瘤内皮细胞生长和血管生成，从而阻止肿瘤的生成和转移。

1.1.2 对碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)及其受体的抑制作用 bFGF是成纤维生长因子家族中的一员，其功能主要是刺激内皮细胞的增生和迁移、促进小管腔的形成和使内皮细胞向细胞间质侵入，以及刺激内皮细胞胶原酶和纤维蛋白酶，能降低基底膜<sup>[4]</sup>。bFGF和VEGF在诱导内皮细胞血管生成上有协同效应，bFGF的血管生成作用是通过与VEGF基因的启动子sp-1区(C-foc)结合并使之激活，导致VEGF的表达，达到其血管生成的目的<sup>[15]</sup>，与肿瘤的血管生成密切相关<sup>[16]</sup>，提示bFGF介导了脑部肿瘤的血管生成，并可作为判断肿瘤预后的一个指标。

Cao等<sup>[2]</sup>研究发现，EGCG对成纤维细胞生长因子(FGF-2)诱导的牛毛细管内皮细胞生长有抑制作用，且呈剂量依赖性。这种抑制作用是对内皮细胞特异的。作者还观察了EGCG对鸡尿囊绒膜血管

发生的影响。当 EGCG 浓度为 1~100  $\mu\text{g}$  时, 抑制新生血管生长亦有剂量 - 反应关系。

Sartippour 等<sup>[17]</sup>以 HUVEC 和 MDA-MB231 为研究对象, 结果发现 40  $\mu\text{mol/L}$  EGCG 在细胞水平上能降低 bFGF 的表达, 并呈剂量依赖性, 在转录水平上能降低 bFGF 和 aFGF 的表达。

**1.1.3 对白细胞介素 8 (IL-8) 的抑制作用** IL-8 属于 CXC 趋化因子超家族, 大量的实验证明 IL-8 直接或间接的诱导内皮细胞血管生成<sup>[18]</sup>。IL-8 可能是一种内皮细胞的生存因子, 在内皮细胞的增生及与细胞外基质的分离过程中起一定作用, 还发现 IL-8 像 VEGF 一样可显著刺激 HDMEC 增生, 说明 IL-8 在肿瘤细胞和内皮细胞的生长过程中起重要作用。

Handa 等<sup>[19]</sup>研究发现, 4 种儿茶素(EC、EGC、ECG、EGCG)在浓度为 0.2~2.0  $\mu\text{mol/L}$  时, 可抑制 IL-1 $\beta$  所诱导的胃癌细胞株(MKN45)和人脐静脉内皮细胞株(HUVEC) IL-8 的表达。在 MKN45 细胞体系内, 其抑制率为 75%~90%, 但是儿茶素之间没有差异性。在 HUVEC 细胞体系内, EGCG 和 EGC 浓度为 2.0  $\mu\text{mol/L}$  时, 其对 IL-8 分泌分别能降低 85.6% 和 91.9%, 而 EC 和 ECG 则没有显著的影响。

进一步研究发现, 0.2~2  $\mu\text{mol/L}$  儿茶素也能抑制 IL-1 $\beta$  或 IL-8 诱导的 HUVEC 和多形核白细胞(PMN)黏附分子在细胞表面的表达, 主要是抑制 PMNs 黏附分子 CD11b 和 CD18 受体的表达, 对 CD11b 的抑制率为 13.8%~35.5%, 对 CD18 的抑制率为 39%~79%, 不同的儿茶素在黏附分子表达的抑制水平上没有显著的差异。说明儿茶素能阻断 IL-8 诱导的白细胞和血管内皮细胞的黏附反应, 进而抑制白细胞的跨膜移行和局部浸润, 减轻炎症反应<sup>[19]</sup>。

低水平稳定的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 能诱导人微血管内皮细胞产生 IL-8, 在凝胶培养基中形成管腔, 从而导致血管生成。Tang 等<sup>[20]</sup>用此模型, 发现绿茶儿茶素 0.5~1  $\mu\text{mol/L}$  EGC 能降低 IL-8 的分泌, 抑制血管生成最明显。也有研究发现 0.5~1  $\mu\text{mol/L}$  EGCG 降低 IL-8 的作用, 在 0.1~0.3  $\mu\text{mol/L}$  的低浓度下即可抑制血管形成<sup>[9]</sup>。

可见茶儿茶素是一种抗 IL-8 因子, 可能通过阻断 IL-8 相关的上游或下游信号通路, 显著抑制肿瘤的产生、血管形成和转移。

## 1.2 抑制细胞黏附分子(CAM)的表达

**1.2.1 选择素 E 和血管细胞间黏附分子-1** 选择素 E (E-selectin)和血管细胞间黏附分子-1 (vascular

cell adhesion molecule-1, VCAM-1)是黏附分子选择素家族、免疫球蛋白超家族的成员, 表达于细胞表面的黏附分子脱落后进入血液成为可溶性黏附分子, 在肿瘤侵袭和转移中发挥着重要的作用, 肿瘤细胞与血管内皮细胞间的相互黏附作用被认为是肿瘤血行转移的关键步骤, 抑制它们之间的相互作用对探讨肿瘤的转移机制及建立药物的调控作用具有重要的意义。

Ludwig 等<sup>[21]</sup>研究发现, 未被炎症细胞因子诱导的 HUVEC 细胞内, VCAM-1、ICAM-1 和选择素-E 的表达量很低, 加入不同的儿茶素对它们的表达影响不大, 但用 TNF- $\alpha$  诱导细胞能显著的上调 VCAM-1、ICAM-1 和选择素-E 的表达; 用台盼蓝染色法测定, 发现小于 100  $\mu\text{mol/L}$  的儿茶素对正常 HUVEC 细胞没有毒性。EC、EGC 在 0~100  $\mu\text{mol/L}$  不能显著的调节 TNF- $\alpha$  诱导的上述 3 种黏附分子的表达, 而 EGCG 和 ECG 在浓度为 60~100  $\mu\text{mol/L}$  范围内能显著的抑制 VCAM-1 蛋白的表达且有剂量依赖性, 100  $\mu\text{mol/L}$  的 EGCG 对 TNF- $\alpha$  诱导的 VCAM-1 抑制率为 80%, ECG 抑制率为 40%, 但两者对 TNF- $\alpha$  诱导的 ICAM-1 和选择素-E 的表达没有影响。

对 EGCG 能否抑制另一种炎症细胞因子 IL-1 $\beta$  诱导 VCAM-1 黏附分子的上调的研究发现, EGCG 在 80-100  $\mu\text{mol/L}$  范围内, 能显著的抑制 VCAM-1 黏附分子的上调, 但对 ICAM-1 和选择素-E 的上调没有显著的改变<sup>[21]</sup>。Handa 等<sup>[19]</sup>用 ELISA 方法研究儿茶素对 IL-1 $\beta$  诱导的 HUVEC 产生的 ICAM-1 的影响时发现, 儿茶素在浓度为 0.2~2  $\mu\text{mol/L}$  时, 其对 ICAM-1 抑制率为 75%~90%, 但对选择素 E 没有抑制作用。

上述研究表明, EGCG 只对 VCAM-1 的表达有抑制作用, 用 RT-PCR 测定 VCAM-1 mRNA 水平时发现, 提前 1 h 加入 100  $\mu\text{mol/L}$  EGCG 在转录水平上能抑制 TNF- $\alpha$  诱导的 VCAM-1 mRNA 的上调, 而 EC 和 EGC 对其没有影响。通过测定 NF- $\kappa$ B 家族的 5 种蛋白膜转录因子的核迁移, 在 HUVEC 细胞体系内发现, 加入 TNF- $\alpha$  能诱导 p65 和 p50 的核转移, 但不能使 p52、c-Rel 和 RelB 的核转移。单独的 EGCG 并不能影响 NF- $\kappa$ B 转录因子的迁移, 100  $\mu\text{mol/L}$  EGCG 对 TNF- $\alpha$  诱导的 p65 和 p50 的核转移无影响。说明 EGCG 不是通过改变 NF- $\kappa$ B 的活性而抑制 VCAM-1 的表达<sup>[21]</sup>。

Kawai 等<sup>[22]</sup>研究发现, 儿茶素尤以 EGCG 在 CD8+ T 细胞内能下调 CD11b 的表达, 降低 CD8+ T 细胞黏附 ICAM-1 的能力, 减少趋化分子的迁移, 从而抑制细胞渗透到有炎症的部位, 证明儿茶素通过黏合 CD11b 能削弱 CD8+ T 细胞的黏附和迁移。

总之, 茶儿茶素对正常细胞的黏附分子 (VCAM-1、ICAM-1 和选择素 -E) 的表达没有影响, 而对诱导因子引起的细胞黏附分子 VCAM-1 有显著的抑制作用, 且 EGCG 的抑制能力最强, 但这种抑制作用与 NF- $\kappa$ B 的活性无关。

**1.2.2 血管内皮钙黏着蛋白 (vascular endothelial-cadherin, VE-cad)** VE-cad 是内皮细胞特异性的黏附分子, 特异地表达于细胞与细胞发生相互黏连的区域, 与内皮细胞的迁移、生存、生长抑制和血管黏附相关, 影响内皮细胞组装成脉管结构, 在血管生成中起到关键性的作用。抗 VE-cad 单抗能够抑制内皮细胞黏附连接和毛细管状结构的形成, 阻断血管生成, 达到抑制肿瘤生长和转移的目的。

Tang 等<sup>[23]</sup>在 HMVEC 细胞体系内, 研究发现绿茶儿茶素是抗 VE-cad 抗体, 能够抑制内皮细胞黏附连接和毛细管状结构的形成, 阻断血管生成, 从而达到抑制肿瘤生长和转移的目的。在此过程中也证明 EGCG 能抑制 VE-cad 酪氨酸和蛋白激酶 B (Akt) 的活性。VE-cad 和 Akt 是 VEGFR-2 介导级联的下游蛋白, 是绿茶儿茶素抑制血管生成的新的靶标蛋白。因此, 阻断 VE-cad 介导的细胞黏附是儿茶素抑制肿瘤血管生成的较为独特的方式, VE-cad 有希望作为靶标将儿茶素筛选成特效的抑瘤药物。

### 1.3 抑制基底膜 (basement membrane, BM) 降解

**1.3.1 对基质金属蛋白酶系统的影响** 基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 是一类锌离子依赖性的能消化细胞外基质和基底膜的蛋白水解酶, 在肿瘤血管生成过程中, MMP 参与细胞间和基底膜结缔组织的更新和重组, 肿瘤的转移和浸润与 MMP 过度表达有关<sup>[24]</sup>, 其中, MMP-2 (明胶酶 A) 和 MMP-9 (明胶酶 B) 是分解基质中 IV 型、V 型胶原的最主要的 MMP, MMP-2 和 MMP-9 的主要作用即是降解 IV 型胶原。它的表达增加与多种恶性肿瘤的侵袭、转移有关<sup>[25]</sup>。

EGCG 等多酚化合物是 MMP-2 和 MMP-9 活化的直接抑制物<sup>[26]</sup>, Demeule 等<sup>[27]</sup>研究发现, EGCG 对 MMP-2 和 MMP-9 作用最明显, 其半数抑制浓度

IC<sub>50</sub> 分别为: 6  $\mu$ mol/L 和 0.8  $\mu$ mol/L; ECG 位居第二, IC<sub>50</sub> 分别为 95  $\mu$ mol/L 和 28  $\mu$ mol/L, 茶多酚 (GTP) IC<sub>50</sub> 分别为 10  $\mu$ mol/L 和 0.6  $\mu$ g/ml; 而 C、EC、EGC 对两者作用效果不显著。最近的研究发现, GTP 和 EGCG 对 MMP-12、MMP-9 比 MMP-2 作用更敏感, 1  $\mu$ mol/L 的 EGCG、ECG 对 MMP-12 的抑制率都超过 50%, 能抑制 MMP-12 弹性蛋白水解活性。EGCG 还可以通过刀豆蛋白 A (ConA) 抑制 MMP-2 的前体 (pro MMP-2) 的活性, 表明它可能干涉膜型 1-MMP (MT1-MMP) 或抑制与癌细胞的入侵和转移有关的 MMP 的分泌, 从而抑制肿瘤细胞的浸润。

Cheng 等<sup>[28]</sup>用老鼠颈动脉损伤模型研究了儿茶素对新生血管内膜的影响。用组织形态度量分析发现与对照相比, 儿茶素对损伤 14 天后颈动脉横切片新血管内膜增生有抑制作用, 动脉新血管内膜的面积减少 30%, 动脉血管内膜与中间面积的比率减少 36.2%, 但中间的面积没有差异性。进一步研究损伤组织的提取物, 发现两者 MMP-2 总量没有显著差异性, 但有活性的 MMP-2 与总 MMP-2 的比率减少 62%。在体内, 儿茶素能提高 TIMP-2 mRNA 的表达水平, 但 TIMP-1 mRNA 没有显著的变化。体外实验表明 EGCG、ECG (1  $\mu$ mol/L) 能刺激 TIMP-2 的产生, 且呈剂量依赖性, 但 TIMP-1 的生成却不受影响, EC 和 EGC 对 TIMP-2 和 TIMP-1 都没有显著的影响。

Yamakawa 等<sup>[29]</sup>研究发现, 高浓度的 EGCG ( $\geq 25$   $\mu$ mol/L) 能直接抑制 HUVEC 的生长和形态, 但低浓度的 EGCG (10  $\mu$ mol/L) 能显著的抑制 VEGF 诱导的 HUVEC 的入侵, 从而抑制肿瘤血管管腔的形成, 说明这种抑制并不是因为 EGCG 的毒性, 而是因为抑制了 MMP-2 的活性。用聚焦激光扫描显微镜术观察发现, 当 EGCG 浓度为 5~25  $\mu$ mol/L 时, HUVEC 大部分细胞都分散在基质上, 发现 F-肌动蛋白分散在血浆膜的底部, 当浓度为 50  $\mu$ mol/L 时, HUVEC 的形态发生改变, 细胞呈现为细长型。

上述研究表明, 茶儿茶素尤其是 EGCG 可以通过上调 TIMP-2 的表达而调整 MMP 的活性, 抑制 IV 型胶原基质金属蛋白酶 MMP-2 和 MMP-9 的表达的增加, 抑制新血管内膜的增生和多种恶性肿瘤的侵袭和转移, 从而发现预防成血管细胞再狭窄治疗的一种新策略。

**1.3.2 对尿激酶型纤溶酶原激活物 (uPA) 系统的影**

响 人类癌灶的增长扩大需要蛋白水解酶的存在, 而尿激酶就是其中的一个, u-PA 与肿瘤的侵袭转移过程有关<sup>[30]</sup>, 任何能抑制尿激酶的物理或化学因素, 都可以使肿瘤缩小, 甚至可使癌细胞完全消失<sup>[31]</sup>。多种肿瘤组织发生、发展过程都伴有 u-PA 的抑制因子 1 型(PAI-1)和 2 型(PAI-2)的表达异常<sup>[32]</sup>。肿瘤细胞和内皮细胞释放胶原酶及尿激酶降解基底膜, 使其伸出血管壁。血流中的纤维蛋白溶酶原释放到肿瘤基质中, 经激活后降解血管外基质。

研究发现<sup>[33,34]</sup>, EGCG 能抑制肿瘤细胞生长、癌症肺转移及抑制尿激酶活性。EGCG 与尿激酶结合, 干扰了尿激酶与底物结合, 从而抑制了酶的活性。体外实验研究发现, EGCG 能抑制 B16 黑色素瘤自发性转移。

Jankun 等<sup>[35]</sup>以 3-D 分子结构为模型, 研究发现 EGCG 与 uPA 结合, 是通过阻断 His57 和 Ser195 具有催化活性的部分, 并伸向 uPA 分子 Arg35 的带正电的环状部位, 通过这种结合态封闭了酶的活性中心, 可干扰 uPA 识别底物的能力, 进而抑制尿激酶的活性, EGCG 对 uPA 的  $LC_{50}$  为 4 mmol/L。从而证明茶多酚对尿激酶的抑制作用可能也是茶抗癌作用的重要机制。将儿茶素中的 EGCG 与已知的尿激酶抑制剂氯氨嘧啶进行比较研究发现, 在抑制尿激酶的活力方面, EGCG 比氯氨嘧啶弱些。但在毒性方面 EGCG 表现出强劲的优势。它具有很高的耐受量而却无毒性反应。氯氨嘧啶最大的用药量是一天 20 mg, 否则毒副作用大。而对 EGCG 来说, 一天的量可达到 1500 mg [而一杯 200 ml 绿茶(中国杭州)约含 142 mg EGCG, EGCG 在饮茶后 5 h 内血液中浓度即可降至 15% 左右], 无任何毒副作用。

众多的研究证实, 绿茶中的有效成分茶儿茶素可以抑制癌细胞生长所必需的尿激酶, 从而抑制肿瘤新生血管的生长, 抑制肿瘤的侵袭转移。

## 2 小结和展望

近 10 多年来, 人类一直在茶儿茶素抗肿瘤机制领域不停地探索, 在动物实验和不同组织器官实验等众多报告中都证实茶有抑制肿瘤的功效。尽管有如此多的报告支持茶具有抗肿瘤的作用, 然而儿茶素是否能在抑制人肿瘤方面显示出同样的效果, 很多学者持怀疑态度, 他们认为, 在体内, 茶儿茶素的生物药效率和生物转化是限制其抗肿瘤的主

要限制因素<sup>[36]</sup>, 而且肿瘤发生机制的差异性、复杂性, 在不同的细胞类型中表现出不同的效应, 相同效应产生的分子机制也不尽相同; 在人体和动物模型中, 实验结果存在很大的差异性, 动物实验比人体内茶的实际吸收浓度高的多; 人和动物的癌症的病因因素有差异; 混杂因素限制了流行病学研究的能力。而迄今为止, 对于饮茶能抑制人体肿瘤的形成还缺乏系统性, 所存在的诸多问题致使茶有效成分茶儿茶素目前还未能作为肿瘤的治疗用药。

儿茶素抗血管生成的有效浓度较低, 和日常饮茶者血管中存在的浓度相当, 饮茶后 3~5 h 血样中 EGCG 浓度可达到峰值, 最高浓度为 2  $\mu\text{mol/L}$ , ECG 和 EGC 达到峰值的时间更短一些, 从而引起国内外学者广泛关注, 已成为儿茶素抗肿瘤机制中最有说服力的解释。但目前抑制肿瘤新生血管治疗肿瘤还是较新的治疗方法, 很多机制还不清楚, 儿茶素抗血管生成尚处于研究的初始阶段, 还需要深入探索。

## 参考文献 (References)

- [1] Folkman J. *N Engl J Med*, 1971, **285**: 1182
- [2] Cao Y et al. *Nature*, 1999, **398**: 381
- [3] Kondo T et al. *Cancer Lett*, 2002, **180**: 139
- [4] Leung DW et al. *Science*, 1989, **246**: 1306
- [5] Ferrara N et al. *Endocr Rev*, 1997, **18**: 4
- [6] Jung YD et al. *Int J Exp Pathol*, 2001, **82**: 309
- [7] Lamy S et al. *Cancer Res*, 2002, **62**: 381
- [8] Swiercz R et al. *Oncol Rep*, 1999, **6**: 523
- [9] Cao Y et al. *J Nutr Biochem*, 2002, **13**: 380
- [10] Neuhaus T et al. *Eur J Pharmacol*, 2004, **483**: 223
- [11] Gille H et al. *J Biol Chem*, 2001, **276**: 3222
- [12] Melnyk O et al. *J Urol*, 1999, **161**: 960
- [13] Kojima-Yuasa A et al. *Life Sci*, 2003, **73**: 1299
- [14] Miyake H, et al. *Cancer Res*, 1996, **56**: 2440
- [15] Ryuto M et al. *J Biol Chem*, 1996, **271**: 28220
- [16] Li VW et al. *Lancet*, 1994, **344**: 82
- [17] Sartippour MR et al. *Int J Oncol*, 2002, **21**: 487
- [18] Keane MP et al. *J Immunol*, 1997, **159**: 1437
- [19] Handa O et al. *Redox Rep*, 2002, **7**: 324
- [20] Tang FY et al. *Nutr Cancer*, 2001, **41**: 119
- [21] Ludwig A et al. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **316**: 659
- [22] Kawai K et al. *J Allergy Clin Immunol*, 2004, **113**: 1211
- [23] Tang FY et al. *Int J Cance*, 2003, **10**: 871
- [24] Stearns M. *Oncol Res*, 1996, **8**: 69
- [25] Parsons SL et al. *Br J Surg*, 1997, **84**: 160
- [26] Sartippour MR et al. *Int J Oncol*, 2002, **21**: 487
- [27] Demeule M et al. *Biochim Biophys Acta*, 2000, **1478**: 51
- [28] Cheng XW et al. *Cardiovasc Res*, 2004, **62**: 594
- [29] Yamakawa S et al. *Cancer Lett*, 2004, **21**: 47
- [30] Choong PF et al. *Int J Cancer*, 1996, **69**: 268

- [31] Jankun J *et al.* *Nature*, 1997, **387**: 561  
 [32] Bouchet C *et al.* *Br J Cancer*, 1994, **69**: 398  
 [33] Taniguchi S *et al.* *Cancer Lett*, 1992, **65**: 51  
 [34] Kennedy DO *et al.* *Chem Biol Interact*, 1998, **110**: 159  
 [35] Jankun J *et al.* *Cancer Res*, 1997, **57**: 559  
 [36] Yang CS *et al.* *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2002, **42**: 25

## Inhibitory Effects of Tea Catechins on Tumor Angiogenesis

Yu-Yan Zhang, Rong-Sheng Shen\*

(Institute of Tea Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

**Abstract** The progress showed in the recent investigation of antiangiogenic mechanisms of catechins was reviewed in this paper. The mechanisms of angiogenic activity were discussed from the following three aspects: inhibition of the vascular endothelial cell proliferation, inhibition of cell adhesion molecule expression and suppression of basement membrane degradation, in the meantime, the investigational problems in existence and the development of catechins in the future were tentatively discussed as well.

**Key words** catechins; tumor; angiogenesis

Received: October 29, 2004 Accepted: December 24, 2004

\*Corresponding author. Tel: 86-571-86971926, E-mail: shrshen@zju.edu.cn

### 《细胞生物学杂志》编辑委员会

### The Editorial Board of Chinese Journal of Cell Biology

#### 主 编 Editor-in-Chief

郭礼和 Li-He Guo

#### 副主编 Associate Editors-in-Chief

白永延 Yong-Yan Bai 施渭康 Wei-Kang Shi 张积仁 Ji-Ren Zhang 朱学良 Xue-Liang Zhu

#### 编 委 Members of the Editorial Board

白永延 Yong-Yan Bai	陈瑞阳 Rui-Yang Chen	陈受宜 Shou-Yi Chen
陈尊器 Zun-Qi Chen	丁明孝 Ming-Xiao Ding	丁小燕 Xiao-Yan Ding
费 俭 Jian Fei	郭礼和 Li-He Guo	黄百渠 Bai-Qu Huang
李逸平 Yi-Ping Li	陆长德 Chang-De Lu	马奎蒙 Kui-Meng Ma
施渭康 Wei-Kang Shi	孙 兵 Bing Sun	许政瞻 Zheng-Kai Xu
杨弘远 Hong-Yuan Yang	严缘昌 Yuan-Chang Yuan	张积仁 Ji-Ren Zhang
章静波 Jing-Bo Zhang	赵寿元 Shou-Yuan Zhao	郑仲承 Zhong-Cheng Zheng
周光炎 Guang-Yan Zhou	朱德煦 De-Xu Zhu	朱学良 Xue-Liang Zhu

#### 编辑部 Editorial Office

侯向宇 Xiang-Yu Hou 卢建平 Jian-Ping Lu

(姓名先后按汉语拼音字母为序, alphabetically)