

黑茶提取物的辐射防护作用及其机制研究

龙伟 牟感恩 张广慧 周则卫 孙元明

300192 天津, 中国医学科学院北京协和医学院放射医学研究所, 天津市放射医学与核医学重点实验室

通信作者: 孙元明, Email: sunyuanming@irm-cams.ac.cn

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2017.06.006

【摘要】 目的 研究黑茶提取物抗辐射作用及其作用机制。方法 采用 ^{137}Cs - γ 照射小鼠的 30 d 存活率实验, 受照小鼠肺组织、肝组织和血清的氧化损伤防护试验测定单纯照射组、黑茶提取物 (50、100、200 mg/kg) 各剂量给药组, 以及黑茶提取物 1、100 ng/mL 对 HEK-Blue™ hTLR5 细胞中 Toll 样受体 5 (TLR5 受体) 激活实验来探索黑茶提取物的辐射防护作用及其作用机制。结果 30 d 存活率实验结果显示, 小鼠受到射线 7.0 Gy 照射后, 黑茶提取物 (50、100、200 mg/kg) 给药组小鼠的平均生存时间从单纯照射组的 18.73 d 分别提高到 23.40、24.07、27.73 d, 特别是高剂量组作用明显, 差异有统计学意义 ($t=3.126, P<0.05$), 黑茶提取物高剂量给药组小鼠的存活率提高幅度达 53.4%。氧化损伤防护试验结果显示, 黑茶提取物能够提高小鼠血清和组织中超氧化物歧化酶 (SOD) ($t=2.993, P<0.05; t=4.049, P<0.01$)、过氧化氢酶 (CAT) ($t=4.883, P<0.01$) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) ($t=2.702, 2.959, 均 P<0.05$) 的活性并降低脂质过氧化物丙二醛 (MDA) 的含量。TLR5 受体激活实验结果发现, 黑茶主要成分之一的黑茶多糖在低剂量时, 与空白对照组相比, 能显著激活 TLR5 受体, 差异有统计学意义 ($t=9.222, P<0.05$)。结论 黑茶提取物具有非常显著的辐射防护作用, 其作用机制可能与黑茶多糖对 TLR5 受体的激活有关。

【关键词】 黑茶; 辐射防护; Toll 样受体 5

基金项目: 国家自然科学基金 (81673106); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目 (2017-I2M-1-102)

Anti-radiation effects of dark tea and its mechanism Long Wei, Mu Gan'en, Zhang Guanghui, Zhou Zewei, Sun Yuanming

Tianjin Key Laboratory of Radiation Medicine and Molecular Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China
Corresponding author: Sun Yuanming, Email: sunyuanming@irm-cams.ac.cn

【Abstract】 Objective To investigate the anti-radiation mechanism and its mechanism of dark tea extract. **Methods** The mechanism of radiation protection of dark tea extract groups (50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg) were investigated by 30 days survival rate experiment of ^{137}Cs γ -rays irradiated mice, protection of oxidative damage in liver, lung and serum, and TLR5 receptor activation test of HEK-Blue™ hTLR5 cell after deal with dark tea extract (1 ng/mL, 100 ng/mL). **Results** In 30 d survival rate test, average survival time of dark tea extract groups (50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg) increased from 18.73 d to 23.40 d, 24.07 d and 27.73 d compared with the irradiation-only group, especially in the high dose group ($t=3.126, P<0.05$). The survival rate of the high dose group was 53.4% lifted. The results of oxidative damage protection test showed that dark tea extract could increase the activity of superoxide dismutase ($t=2.993, P<0.05; t=4.049, P<0.01$), catalase ($t=4.883, P<0.01$) and glutathione peroxidase ($t=2.702, 2.959, both P<0.05$) in serum and tissues of mice, and reduce the content of lipid peroxides malondialdehyde (MDA). The dark tea extract polysaccharide could activate the TLR5 receptor when compared with the control group, the difference was sign that dark tea extract can effectively prolong the survival time of mice from 18.73 days to 27.7 days after irradiated with 7.0 Gy γ -rays, the survival rate of mice treated with dark tea significant ($t=9.222, P<0.05$).

Conclusion The data suggested that the radiation protection mechanism of dark tea extract may be related to the activation of TLR5 receptor by dark tea polysaccharide.

【Key words】 Dark tea; Radiation protection; Toll-like receptors 5

Fund programs: National Natural Science Foundation of China(81673106); CAMS Innovation Fund for Medical Science(2017-12M-1-102)

黑茶是中国特有的茶类,属于后发酵茶,主要分布在云南、湖南、湖北、四川和广西。黑茶经过较长时间的渥堆和后发酵过程,由于微生物的参与,形成了其特殊的药理作用^[1-2]。Xiao等^[3-4]研究发现,黑茶的有效成分主要有黑茶多糖、茶多酚、茶褐素和咖啡碱等。黑茶多糖是一类分子质量较大的复杂多糖,其化学本质是一类与蛋白质结合在一起的酸性多糖或酸性糖蛋白^[5]。黑茶中的水溶性糖和游离蛋白质含量普遍高于其他茶类,这是因为黑茶在后发酵过程中溶解性较差的大分子多糖和蛋白质分子分解成较小的可溶性游离多糖、寡糖、蛋白质或肽链等^[6]。我们的前期研究发现,黑茶提取物有较好的辐射防护作用^[7],由于黑茶成分复杂,其辐射防护作用的机制尚不清楚。本研究通过对小鼠30 d存活率和氧化损伤防护实验,观察黑茶提取物的辐射防护作用,并通过黑茶主要成分——黑茶多糖测试其对Toll样受体5(Toll-like receptors 5, TLR5)的激活作用,研究黑茶发挥辐射防护作用的分子机制。

1 材料与方法

1.1 试剂

黑茶提取物和黑茶多糖(由本实验室提取), HEK-Blue™ Detection 培养基(美国 InvivoGen), HEK-Blue™ hTLR5 细胞、鞭毛蛋白(美国, Sigma, P21931204), RPMI 1640 培养液(美国, Hclone 公司, sh3080901B), 胎牛血清(美国, Gibco, 1662775), 胰蛋白酶(中国, Solarbio, T1320), 总超氧化物歧化酶(total superoxide dismutase, T-SOD)试剂盒、丙二醛(methylene dioxyamphetamine, MDA)测定试剂盒、过氧化氢酶(catalase, CAT)测定试剂盒和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)测定试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供。

1.2 实验动物

CD-1(institute of cancer research, ICR)雄性小鼠(SPF级)由北京维通利华实验动物技术有限公司提

供,合格证号[SCXK(京)2012-0001],体重18~20 g。每笼5只饲养于中国医学科学院放射医学研究所动物实验中心 SPF 级动物房(饲养设施合格证号:SVXK 津 2009-0002)。

1.3 主要仪器

¹³⁷Cs 辐射源(型号 USD, Autocell40)购自加拿大原子能有限公司;流式细胞仪(型号 accuri c6)由美国 BD 公司生产;酶标仪(synergy HT)由美国 Thermo 公司生产。

1.4 小鼠 30 d 存活率实验

1.4.1 实验动物分组及给药方式

将75只ICR小鼠按随机数字表法分为5组,即空白对照组、单纯照射组和黑茶提取物照射给药高、中、低(200、100、50 mg/kg)剂量组,每组15只。单纯照射组和黑茶提取物照射给药高、中、低组均接受¹³⁷Cs-γ射线一次性全身照射,照射剂量为7.0 Gy,剂量率为0.99 Gy/min。黑茶提取物照射给药高、中、低组于照射前14 d开始每天灌胃给药(规定剂量),照射后继续给药7 d,单纯照射组同时给予蒸馏水。

1.4.2 观察指标

照射后观察每组小鼠30 d存活率、保护指数、平均生存天数:

30 d 存活率=(每组小鼠30 d 存活数/每组小鼠总数)×100%。

保护指数=[(axb+30xc)/n]/[(a'xb'+30xc')/n']
式中, a、a'分别为给药组与空白对照组死亡小鼠平均存活天数; b、b'分别为给药组与空白对照组小鼠的死亡只数; c、c'分别为给药组与空白对照组小鼠的30 d 存活只数; n、n'分别为给药组与空白对照组小鼠总只数。

1.5 氧化损伤防护实验

1.5.1 实验动物分组及给药方式

将18只ICR小鼠按体重随机分成3组,即空白对照组、单纯照射组和黑茶水提取物照射给药组,每组6只。黑茶提取物照射给药组于照射前14 d

开始灌胃, 给予规定剂量(200 mg/kg)的黑茶提取物, 同时空白对照组和单纯照射组灌胃给予0.01 mL/g 体积的蒸馏水, $^{137}\text{Cs}\gamma$ 射线 6.0 Gy, 剂量率为 0.99 Gy/min 一次性全身照射后继续给药和蒸馏水, 7 d 后取材。

1.5.2 组织匀浆的制备

照射后第 7 天, 将小鼠摘眼球取血(尽可能多取), 然后颈椎脱臼处死, 解剖取肝组织和肺组织, 放入预冷的生理盐水中清洗干净残留的血液, 用滤纸拭干水, 取肝组织和肺组织约 0.2 g(尽可能取相同位置, 减少误差), 放入 10 mL 离心管中, 按重量(g): 体积(mL) = 1: 9 的比例加入生理盐水, 在冰水浴低温条件下进行机械匀浆, 以离心半径 = 9 cm, 2 500 r/min 离心 10 min, 取上清液即 10% 的组织匀浆, 分装成 4 份, -20°C 冰箱保存备用。

1.5.3 检测指标

根据 T-SOD 试剂盒、MDA 试剂盒、CAT 试剂盒和 GSH-Px 试剂盒说明书中的方法, 测定小鼠肝组织和肺组织中 SOD、CAT、GSH-Px 的活性和 MDA 的含量。

1.6 TLR5 激活实验

1.6.1 HEK-Blue™ hTLR5 细胞培养

实验前采用 0.25% 的胰酶消化, 利用 HEK-Blue™ Detectuin 培养液将处于对数生长期的 HEK-Blue™ hTLR5 细胞和 HEK-Blue™ Null1 细胞(阴性对照细胞)分别制备成单细胞悬液, 8×10^3 个细胞/孔接种于 96 孔板中, 每孔培养液为 200 μL , 置于 37°C 、5% CO_2 饱和湿度培养箱培养 1 h 后, 分别用阳性对照鞭毛蛋白(25 ng/mL)、1 ng/mL 和 100 ng/mL 黑茶多糖作用于 HEK-Blue™ hTLR5 细胞和 HEK-Blue™ Null1 细胞, 于培养箱中继续培养 24 h 后测定吸光度。

1.6.2 观察指标

细胞转录因子 κB (nuclear factor- κB , NF- κB)途径被激活时, 胎盘碱性磷酸酶释放入含有磷酸酶显色底物的 HEK-Blue™ Detection 培养液中, 培养液的颜色从粉红色变为蓝/紫色, 培养 24 h 后采用紫外分光光度法定量分析每孔培养液的吸光度(620~655 nm)。

1.7 统计学处理

采用 Graphpad 5 软件计算作图并绘制生存率曲线, 实验数据以平均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 应用 SPSS19.0 统计软件进行组内方差分析和组间 t 检

验, 使用 Student-Newman-Keuls 进行多组间显著性差异分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠 30 d 存活率实验结果

由图 1 和表 1 可知, 与单纯照射组相比较, 黑茶水提物能显著提高辐射损伤小鼠的 30 d 存活率, 高剂量给药组提高幅度达 53.4%, 保护指数为 1.32, 明显延长辐射损伤小鼠的平均生存时间, 差异有统计学意义 ($t=3.126$, $P < 0.05$), 低剂量给药组和中剂量给药组也可在不同程度上提高辐射损伤小鼠的存活率, 分别提高 26.7% 和 33.4%, 结果提示黑茶水提物对辐射损伤小鼠有较好的整体性保护作用。

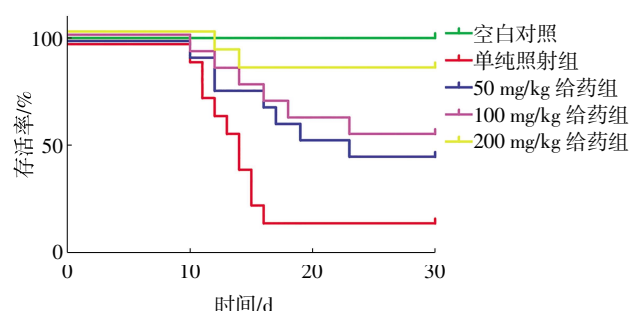


图 1 黑茶提取物对辐射损伤小鼠 30 d 存活率的影响

Fig.1 Effects of dark tea extract on the 30 d survival rates of irradiated mice

表 1 辐射损伤小鼠 30 d 存活率实验结果 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Results statistics of 30 days survival rate in irradiated mice

组别	小鼠总数/只	存活率/%	平均生存时间/d	保护指数
空白对照组	15	100	30	-
单纯照射组	15	33.3	18.73 \pm 8.40	-
黑茶提取物照射给药组				
50 mg/kg 给药组	15	60.0	23.40 \pm 7.84	1.20
100 mg/kg 给药组	15	66.7	24.07 \pm 8.06	1.23
200 mg/kg 给药组	15	86.7	27.73 \pm 5.99 ^a	1.32

注: 表中, “-”表示无此项数据。a: 与单纯照射组比较, 差异有统计学意义 ($t=3.126$, $P < 0.05$)。

2.2 抗氧化损伤防护实验结果

2.2.1 小鼠血清及组织中 SOD 的活性

由表 2 可见, 受照小鼠血清、肝组织和肺组织中 SOD 活性较空白对照组都有显著降低; 与单纯照射组相比, 黑茶提取物(200 mg/kg)给药组小鼠血清、肝组织和肺组织中的 SOD 活性均提高, 特别是肝组织和肺组织的 SOD 活性显著提高, 差异有统计学意义 ($t=2.993$, $P < 0.05$; $t=4.049$, $P < 0.01$)。

结果提示黑茶水提物对血清、肝组织和肺组织中的SOD活性均有一定的保护作用。

表2 黑茶提取物对辐射损伤小鼠血清和组织中SOD活性的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Effects of dark tea extract on superoxide dismutase activity in serum and tissue of radiation injured mice

组别	血清SOD活性/ (U/mL)	肝组织SOD活 性/(U/mgprot)	肺组织SOD活 性/(U/mgprot)
空白对照组	72.12±4.78	28.46±3.59	267.28±19.64
单纯照射组	59.00±8.35	15.73±3.50	207.11±21.00
黑茶提取物照射给 药组(200 mg/kg)	62.09±3.41	22.12± 2.55 ^a	322.58±47.34 ^b

注:表中,SOD:超氧化物歧化酶。a:与单纯照射组比较,差异有统计学意义($t=2.993, P<0.05$); b:与单纯照射组比较,差异有统计学意义($t=4.049, P<0.01$)。

2.2.2 小鼠组织中MDA含量测定结果

黑茶提取物对辐射损伤小鼠肝组织和肺组织MDA含量的影响见表3。由表3可见,与空白对照组相比,单纯照射组小鼠肺组织和肝组织中的MDA含量有明显升高,差异有统计学意义($t=3.873, 2.989$,均 $P<0.05$)。黑茶提取物(200 mg/kg)照射给药组辐射损伤小鼠肺组织的MDA含量较单纯照射组有所降低,且降低幅度并不是十分明显;未发现对肝组织中MDA含量降低作用。研究结果提示,黑茶水提物对辐射损伤小鼠肺组织中MDA含量有一定的降低作用。

表3 黑茶提取物对辐射损伤小鼠肺组织和肝组织中MDA含量的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Effects of dark tea extract on methylene dioxyamphetamine level in lung and liver tissue of radiation injured mice

组别	肺组织MDA含量/ (nmol/mgprot)	肝组织MDA含量/ (nmol/mgprot)
空白对照组	2.45±2.02	8.82±1.57
单纯照射组	5.27±1.86	14.40±1.60
黑茶提取物照射给 药组(200 mg/kg)	3.08±1.09 ^a	15.35±2.74 ^b

注:表中,MDA:丙二醛。a、b:与空白对照组比较,差异有统计学意义($t=3.873, 2.989$,均 $P<0.05$)。

2.2.3 小鼠组织中CAT的活性

由表4可见,受照小鼠肝组织和肺组织中的CAT活性均低于空白对照组,黑茶提取物(200 mg/kg)给药组小鼠肝组织中CAT的活性较单纯照射组明显升高,差异有统计学意义($t=4.883, P<0.01$),肺组织中CAT活性则没有明显的差别。研究结果提示,黑茶提取物可提高辐射损伤小鼠肝组织和肺组

织的CAT活性,对辐射致氧化损伤有一定的保护作用。

表4 黑茶提取物对辐射损伤小鼠肝组织和肺组织CAT活性的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Effects of dark tea extract on catalase activity in liver and lung tissue of radiation injured mice

组别	肝组织CAT活性/ (U/mgprot)	肺组织CAT活性/ (U/mgprot)
空白对照组	13.61±3.78	5.23±1.97
单纯照射组	11.29±3.07	3.58±0.45
黑茶提取物照射给 药组(200 mg/kg)	18.13±2.28 ^a	3.84±0.27

注:表中,CAT:过氧化氢酶。a:与单纯照射组比较,差异有统计学意义($t=4.883, P<0.01$)。

3.2.4 小鼠组织中GSH-Px活性

由表5可见,所有受照组小鼠肝组织中GSH-Px活性显著低于空白对照组,差异有统计学意义($t=4.807, P<0.01$)。与单纯照射组相比,黑茶提取物照射给药组(200 mg/kg)小鼠肝组织和肺组织中GSH-Px活性有明显的提高作用,差异有统计学意义($t=2.702, t=2.959$,均 $P<0.05$)。结果提示黑茶提取物对辐射损伤导致的氧化损伤有一定的保护作用。

表5 黑茶提取物对辐射损伤小鼠肝组织和肺组织中GSH-Px活性的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 5 Effects of dark tea extract on glutathione peroxidase activity in liver and lung tissue of radiation injured mice

组别	肝组织GSH-Px 活性(U/mgprot)	肺组织GSH-Px 活性(U/mgprot)
空白对照组	324.23±91.64	159.67±28.34
单纯照射组	367.51±52.80 ^a	73.54±11.55
黑茶提取物照射给 药组(200 mg/kg)	454.92±33.70 ^b	124.88±16.68 ^c

注:表中,GSH-Px:谷胱甘肽过氧化物酶;a:与空白照射组比较,差异有统计学意义($t=4.807, P<0.01$); b、c:与单纯照射组比较,差异有统计学意义($t=2.702, 2.959$,均 $P<0.05$)。

2.3 TLR5受体激活实验结果

图2实验结果显示,空白对照组HEK-Blue™ hTLR5细胞中TLR5受体活性与HEK-Blue™ Null1细胞(阴性对照组细胞)相比没有提高;黑茶多糖低剂量(1 ng/mg)给药组HEK-Blue™ hTLR5细胞与HEK-Blue™ Null1细胞相比,黑茶多糖低剂量给药组和阳性对照组鞭毛蛋白可显著激活HEK-Blue™ hTLR5细胞表面的TLR5受体,差异有统计学意义($t=9.537, P<0.05$);黑茶多糖高剂量(10 ng/mg)对HEK-Blue™ hTLR5细胞中TLR5受体也具有

定的激活作用,差异有统计学意义($t=9.222$, $P<0.05$);但黑茶多糖低剂量给药组对 TLR5 受体的激活作用更加显著,甚至可以达到阳性对照鞭毛蛋白的激活效果,以上数据提示这种作用在黑茶多糖低浓度时更为显著。结果提示,黑茶的主要成分黑茶多糖可能是通过激活 TLR5 受体来发挥药效以起到辐射防护作用。

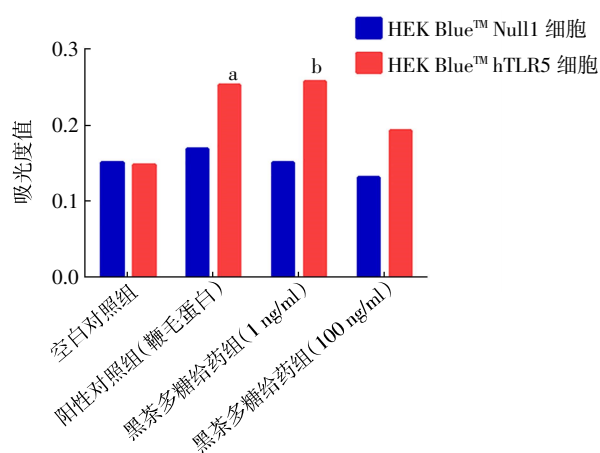


图2 黑茶多糖对 TLR5 受体的影响 图中, a,b: 与空白对照组比较, 差异有统计学意义($t=9.537$ 、 9.222 , 均 $P<0.05$)

Fig.2 Effect of dark tea extract polysaccharide on Toll-like receptors 5

3 讨论

3.1 受照小鼠整体性防护实验

小鼠受到致死剂量的辐射后,其机体在短时间内发生一系列的生物学反应,出现细胞、组织甚至器官损伤,引起机体生理病理的变化甚至死亡^[8]。评价辐射防护药物最简单最直接的方法是观察受到致死剂量照射的小鼠 30 d 存活率、平均生存时间及保护指数。本研究结果显示,与单纯照射组相比,200、100、50 mg/kg 3 个剂量黑茶提取物给药组小鼠的存活率均有不同程度的提高,平均生存时间也显著延长,尤其是高剂量 200 mg/kg 给药组;与单纯照射组比较,小鼠的存活率提高幅度达 53.4%,辐射损伤的保护效果最好。综合以上实验数据发现,黑茶提取物对受到致死剂量照射的小鼠有较好的整体保护作用。

3.2 抗氧化损伤

机体经射线照射后,首先直接作用于机体组织细胞中的水分子,使水分子电离产生大量活性氧类物质,其具有较强的氧化活性,打破了机体内的氧化还原平衡^[9]。氧化和抗氧化的平衡是决定细胞生

存的条件,及时清除体内过剩的自由基,才能维持自由基的动态平衡,也是机体的自我保护。过剩的活性氧类可攻击生物膜中的不饱和脂肪酸,诱导产生 MDA,其含量的多少可反应氧化损伤的程度。SOD、CAT 和 GSH-Px 均为抗氧化防御系统中用来防止活性氧类对机体的损伤的抗氧化酶,SOD 专门清除超氧阴离子自由基,其作用是将氧自由基歧化,发生 $2O_2^- + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$ 的反应。当 H_2O_2 在 SOD 活性部位生成时,对 SOD 产生一定的损伤, H_2O_2 若清除不及时会与 O_2^- 反应生成羟自由基,对机体产生更大的损伤。CAT 是一种末端氧化酶,主要催化 H_2O_2 生成水和氧,起抗氧化作用,它可防止 H_2O_2 水平过高对机体组织造成的损伤。GSH-Px 为水溶性四聚体蛋白,含有 4 个亚基,每个亚基含有一个硒原子。它不仅能清除 H_2O_2 ,还可以清除 MDA。因此,测定 SOD、CAT、GSH-PX 的活性和 MDA 的含量可反映机体氧化还原系统受损和修复状况。

本研究的数据结果显示,200 mg/kg 黑茶提取物可显著提高肝组织和肺组织中 SOD、CAT 和 GSH-PX 活性,降低 MDA 含量,提示黑茶提取物对辐射致氧化损伤有一定的保护作用。

3.3 TLR5 受体激活实验

Toll 样受体在人类固有免疫和获得性免疫应答中发挥重要作用^[10-11],TLR 家族通过细胞外区感应组织中的危险信号,经相应接头蛋白进行信号传导,激活相关的核内基因,从而诱导感染性炎症和非感染性炎症。其中 TLR5 受体是广泛存在于树突细胞、巨噬细胞以及肠黏膜固有层内皮细胞的表面,能够被细菌鞭毛蛋白及其衍生物识别,并激活 NF- κ B 信号通路,从而抑制细胞凋亡、抵抗机体氧化损伤。文献报道,TLR5 受体的激动剂能发挥辐射防护作用^[12-13]。TLR5 激活时,利用髓样分化因子 88(MyD88)和接头蛋白(TRIF)作为接合子,诱导 NF- κ B 的活化,从而激活天然固有免疫反应,介导急性炎症反应,直接杀伤入侵病原微生物。NF- κ B 激活后,一方面参与细胞增殖和分化,抑制细胞的凋亡,从而增强细胞及组织的辐射适应性^[14];另一方面启动下游多种靶基因转录表达,合成多种具有抗辐射作用的蛋白,如 TNF- α 、巨噬细胞集落刺激因子等。TLR5 识别配体后激活 NF- κ B,在辐射之前 NF- κ B 被活化,可以先上调促炎症因

子,活化抗氧化保护基因的表达,如 γ -谷氨酰半胱氨酸合酶(γ -GCS)基因(参与谷胱甘肽合成)、锰超氧化物歧化酶基因、血小板膜糖蛋白基因和金属硫蛋白基因的表达均上调,这是细胞自我保护的重要途径之一,从而拮抗辐射产生的氧化自由基所引起的损伤,减轻氧化应激导致的损伤,在适应性防御过程中起重要作用。本研究结果发现黑茶提取物能显著延长辐射损伤小鼠的平均生存时间,提高生存率,同时黑茶多糖在低浓度时对TLR5受体有一定的激活作用,这可能是黑茶发挥辐射防护作用的机制之一,其具体的作用机制有待进一步深入研究。

综上所述,黑茶提取物具有非常显著的辐射防护作用,有望开发成为辐射损伤防护药物。

利益冲突 本研究由署名作者按以下贡献声明独立开展,不涉及任何利益冲突。

作者贡献声明 龙伟负责论文命题的提出、方法的设计与实施、论文的起草和最终的修订;牟感恩、张广慧、周则卫负责实验的实施与数据的提供;孙元明负责论文的审阅。

参 考 文 献

- [1] 袁华芳.黑茶化学成分及其抗氧化性的研究[D].大连:辽宁师范大学,2008.
Yuan HF. Research of dark green tea's chemical composition and anticccoxidation[D]. Dalian: Liaoning Normal University, 2008.
- [2] 杨抚林,邓放明,赵玲艳,等.黑茶微生物学研究进展[J].微生物学杂志,2006,26(1):81-84.
Yang FL, Deng FM, Zhao LY, et al. Development of black tea Microbiology[J]. J Microbiol, 2006, 26(1): 81-84.
- [3] Xiao J, Ni X, Kai G, et al. A review on structure-arelationship of dietary polyphenols inhibiting α -amylase[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2013, 53(5): 497-506. DOI: 10.1080/10408398.2010.548108.
- [4] Xiao J, Kai G, Yamamoto K, et al. Advance in dietary polyphenols as α -glucosidases inhibitors: a review on structure-activity relationship aspect[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2013, 53(8): 818-836. DOI: 10.1080/10408398.2011.561379.
- [5] 黄建安,刘仲华,施兆鹏.茯砖茶制造中主要酶类的变化[J].茶叶科学,1991,11(增刊):63-68.
Huang JA, Liu ZH, Shi ZP. Changes of main enzymes in fuzhuan tea[J]. J Tea Sci, 1991, 11(Supple): 63-68.
- [6] 陈文峰,屠幼英,吴媛媛,等.黑茶紧压茶浸提物对胰蛋白酶活性的影响[J].中国茶叶,2002,24(3):16-17.
Chen WF, Tu YY, Wu YY, et al. Effect of pressed dark tea extracts on trypsin activity[J]. China Tea, 2002, 24(3): 16-17.
- [7] 张广慧,吴红英,周则卫,等.湖南黑茶对小鼠辐射损伤的保护作用[J].天然产物研究与开发,2016,28(5):775-780. DOI: 10.16333/j.1001-6880.2016.5.025.
Zhang GH, Wu HY, Zhou ZW, et al. Protective effects of hunan dark tea against radiation injuries in mice[J]. Nat Prod Res Dev, 2016, 28(5): 775-780.
- [8] Cook T, Wang Z, Alber S, et al. Nitric oxide and ionizing radiation synergistically promote apoptosis and growth inhibition of cancer by activating p53[J]. Cancer Res, 2004, 64(21): 8015-8021. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-2212.
- [9] Milligan JR, Aguilera JA, Paglinawan RA, et al. DNA strand break yields after post-high LET irradiation incubation with endonuclease-III and evidence for hydroxyl radical clustering[J]. Int J Radiat Biol, 2001, 77(2): 155-164.
- [10] 张斌,张军帅,刘培勋.辐射防护剂研究现状及其进展[J].核化学与放射化学,2012,34(1):8-13.
Zhang B, Zhang JS, Liu PX. Present status and progress in research on radioprotective agents[J]. J Nucl Radiochem, 2012, 34(1): 8-13.
- [11] 路璐,李德冠,张俊伶,等.6Gy ^{137}Cs γ 射线照射对小鼠造血功能损伤的动态观察研究[J].国际放射医学核医学杂志,2015,39(6):393-396. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2015.05.009.
Lu L, Li DG, Zhang JL, et al. Effects of 6 Gy ^{137}Cs γ -irradiation on the hematopoietic system of mice[J]. Int J Radiat Med Nucl Med, 2015, 39(6): 393-396.
- [12] Van Landeghem L, Blue RE, Dehmer JJ, et al. Localized intestinal radiation and liquid diet enhance survival and permit evaluation of long-term intestinal responses to high dose radiation in mice[J/OL]. PLoS One, 2012, 7(12): e51310[2017-07-06]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0051310>. DOI: 10.1371/journal.pone.0051310.
- [13] 李悦妍,关玉庆,苗伟,等.阿托伐他汀对动脉粥样硬化模型兔Toll样受体4及其下游信号表达的影响[J].山东大学学报(医学版),2014,52(6):1-6. DOI: 10.6040/j.issn.1671-7554.0.2013.748.
Li YY, Guan YQ, Miao W, et al. Effect of atorvastatin on TLR4 expression and downstream signaling in atherosclerotic rabbits[J]. J Shandong Univ(Health Sci), 2014, 52(6): 1-6.
- [14] 刘一凡,王正冠,唐红卫,等.乌司他丁对黑火药烟雾所致吸入性肺损伤大鼠的保护作用以及对IL-1 β 、TNF- α 基因表达的抑制作用[J].解放军医学杂志,2014,39(3):235-239. DOI:10.11855/j.issn.9577-7402.2014.03.14.
Liu YF, Wang ZG, Tang HW, et al. Protective effect of ulinastatin on inhalation lung injury caused by black gunpowder smoke in rats and its inhibitory effect on the mRNA expression of IL-1 β and TNF- α [J]. Med J Chin PLA, 2014, 39(3): 235-239.

(收稿日期:2017-07-07)