

槟榔的细胞毒理研究进展^Δ

古桂花^{1,2*}, 胡虹¹, 曾薇¹, 袁劲松^{1#} (1. 北京大学深圳医院, 广东深圳 518036; 2. 汕头大学医学院, 广东汕头 515041)

中图分类号 R99 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)19-1814-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.19.31

摘要 目的: 为槟榔食用、药用安全剂量标准的建立提供参考。方法: 查阅近年来国内、外相关文献, 对槟榔所含化学成分对口腔细胞、生殖细胞、肝细胞、免疫细胞及其他组织细胞产生的毒性以及可能的致毒机制进行综述。结果: 咀嚼槟榔可导致口腔黏膜下纤维性变, 可诱发口腔角化细胞炎症; 槟榔碱对人和其他动物的生殖系统均有细胞毒性作用; 咀嚼槟榔可增加患肝硬化和肝癌的风险, 可降低机体免疫系统功能, 且与男性慢性肾脏疾病、代谢综合征、2型糖尿病、高脂血症、心血管疾病等有关。结论: 国内对槟榔的细胞毒性研究不够深入, 且发挥毒性的化学成分不够明确, 今后应加强槟榔化学成分对细胞毒性作用的研究。

关键词 槟榔; 细胞毒性; 机制

槟榔 (*Areca catechu*) 是棕榈科 (palmae) 植物槟榔 *Areca catechu* L. 的干燥成熟种子, 是中国四大南药之一。槟榔原产于马来西亚, 现在主要分布在中非和东南亚, 我国主产于海南省、台湾省和云南省河口县及西双版纳热带雨林间。槟榔是世界上第四位广泛使用的嗜好品, 其消费量仅次于烟草、酒精和咖啡因。作为一味传统的中药, 槟榔具有健胃消食、行气利水、杀虫泻下、利湿除疴的功效。

槟榔中主要含有多糖、油脂、多酚类及生物碱类化合物。

其中生物碱为主要药用及毒性成分, 含量约为 0.3%~0.7%, 包括槟榔碱 (arecoline)、槟榔次碱 (arecaidine)、去甲基槟榔次碱 (guvacine)、去甲基槟榔碱 (guvacoline) 等。嚼食槟榔能使人产生轻微的欣快感和兴奋性, 长期嚼食还有一定的成瘾性。近年来国内、外众多学者研究发现, 长期或大量嚼食槟榔会引起不同程度的系统性的毒性反应。本文就槟榔的细胞毒理研究作一综述。

1 口腔细胞毒性

- [D]. 南京: 南京中医药大学, 2007.
- [7] 邱红鑫, 黄庆德, 陈丹, 等. 生物色谱法在中药研究中的应用进展[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(1): 144.
- [8] 吴祥瑞, 洪敏, 华永庆, 等. 茵陈蒿汤与肝细胞结合成分保肝作用研究[J]. 中药药理与临床, 2007, 23(5): 11.
- [9] 丁金龙, 郭姣, 朴胜华. 血清药物化学及其在功能性食品研发中应用展望[J]. 现代食品科技, 2008, 2(6): 613.
- [10] 王喜军. 基于药物代谢组学的中药及方剂中组间协同增效作用[J]. 中国天然药物, 2009, 7(2): 90.
- [11] Wang X, Sun W, Sun H, *et al.* Analysis of the constituents in the rat plasma after oral administration of Yin Chen Hao Tang by UPLC/Q-TOF-MS/MS[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2008, 46(3): 477.
- [12] 王喜军. 茵陈蒿汤的生物药学研究[J]. 中西医结合肝病杂志, 1998, 8(增刊上): 10.
- [13] 王喜军, 刘莲, 孙晖, 等. 乙醇诱导大鼠肝损伤的代谢组学和茵陈蒿汤的干预研究[J]. 中国药理学通报, 2008, 24(4): 452.
- [14] 冯瑜娟, 邓翀, 孟宪丽, 等. 血清药物化学应用于中药复方配伍研究的思路探索[J]. 中药药理与临床, 2007, 23(5): 261.
- [15] 王喜军. 方剂配伍规律的研究现状和未来发展[J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2006, 8(4): 1.
- [16] 闵春艳, 李晓东, 樊宏伟, 等. 茵陈蒿汤合煎与分煎的成分比较研究[J]. 上海中医药杂志, 2004, 38(2): 53.
- [17] 闫广利, 王喜军, 吕海涛, 等. 茵陈蒿汤不同配伍情况下主要有效成分的溶出率研究[J]. 中医药信息, 2008, 25(3): 29.
- [18] 王喜军, 孙文军, 孙晖, 等. 茵陈蒿汤不同配伍变化对大鼠血中移行成分的影响[J]. 中国天然药物, 2008, 6(1): 43.
- [19] Lv H, Sun H, Sun W, *et al.* Pharmacokinetic studies of a Chinese triple herbal drug formula[J]. *Phytomedicine*, 2008, 15(11): 993.
- [20] 冯瑜娟, 邓翀, 孟宪丽, 等. 血清药物化学应用于中药复方配伍研究的思路探索[J]. 中药药理与临床, 2007, 23(5): 261.
- [21] 陈少东, 周海虹, 李雪梅, 等. 茵陈蒿汤抗游离脂肪酸对 HepG2 细胞脂毒性作用的效应中药研究[J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(9): 1381.
- [22] 徐维佳, 范应, 陈少东, 等. 均匀设计法筛选茵陈蒿汤抗脂肪肝脂质代谢异常的效应组分[J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(4): 274.
- [23] 肖春芬, 周莉, 姜兆文. 国内有关数种中药有效成分间相互作用的现状研究[J]. 中国药房, 2007, 18(15): 1180.
- [24] 张宁, 李铁男, 任燕冬, 等. 基于方/证/病本质联系的方剂药效物质基础及作用机理研究构想[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(5): 1284.

(收稿日期: 2012-05-24 修回日期: 2012-07-05)

Δ 基金项目: 深圳市科技局计划项目资助 (No. 201002059)

* 硕士研究生. 研究方向: 中药药理. E-mail: fair.gu@gmail.com

通信作者: 主任中药师, 硕士研究生导师. 研究方向: 天然产物与活性. 电话: 0755-83923333-8203. E-mail: yjs888@163.com

口腔癌在全世界是居第六位的恶性肿瘤,咀嚼槟榔会引起口腔癌,这是一个众所周知的严重问题,然而其致癌机制并没有达成统一的定论。在东南亚国家、印度以及中国台湾地区,咀嚼槟榔是导致口咽部鳞状细胞癌的一个重要因素。哺乳动物体内参与二相乙酰化反应的代谢酶 *N*-乙酰基转移酶 (*N*-Acetyltransferase, NAT) 有 2 种亚型,其中 NAT-2 具有基因多态性,研究发现慢乙酰化代谢者 NAT-2 的突变等位点 T341C 和 C481T 与咀嚼槟榔引起的口咽部鳞状细胞癌的发生有关^[1]。咀嚼槟榔可以激活核转录因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B, 一种广泛存在于体内多种细胞的核转录因子,在调节机体的免疫和炎症反应及凋亡调控等方面发挥重要作用)。口腔黏膜下纤维性变 (oral submucous fibrosis, OSF) 患者成纤维细胞、内皮细胞和炎症细胞 NF- κ B 的表达显著高于正常人群,而正常的颊黏膜成纤维细胞基本上不表达 NF- κ B。经过加工处理后的食用槟榔有微量的黄樟素存在,黄樟素可以通过细胞外信号调节激酶和环氧化酶 (COX)-2 信号转导通路介导的途径促进人类颊黏膜成纤维细胞 NF- κ B 的表达。因此,咀嚼槟榔能通过 NF- κ B 的表达和伴随的相关组织的炎症反应而诱发 OSF^[2]。

槟榔所含化学成分还可以通过刺激人牙龈角质细胞和人口腔表皮样癌细胞 (KB) 而产生类前列腺素、白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子 α , 从而诱发角化细胞炎症。但是,诱发类前列腺素和白细胞介素 6 产生的确切机制尚不明确。Chang MC 等^[3]用槟榔提取物和槟榔碱处理牙龈角质细胞和 KB 细胞,发现免疫反应发生 30 min 后, *c-fos* 基因的表达达到最大增量。*c-fos* 原癌基因在角化细胞的增殖、分化、炎症介质释放以及细胞凋亡过程中都起着关键作用,但若表达失常则有可能成为细胞癌变的诱因。DNA 损伤剂和细胞生长抑制剂都可以诱导 *c-fos* 基因的表达。而槟榔提取物的化学成分可通过 *c-fos* 蛋白信号转导的途径导致角化细胞炎症,影响细胞存活率并使细胞分裂周期紊乱。由此说明,槟榔的某些化学成分具有 DNA 损伤性。Li X 等^[4]将用槟榔碱预处理的口腔角化细胞和成纤维细胞共同培养,同没有经过预处理的共同培养组比较,发现预处理组会产生更多的可溶性胶原蛋白。胶原蛋白在口腔黏膜下层组织的沉积是 OSF 的重要组织病理学变化^[5]。而 OSF 是细胞外基质合成与降解过程中内环境稳态失调的结果,因此 OSF 可以看作一种胶原代谢紊乱疾病,槟榔碱能够以剂量依赖性的方式影响细胞的生长和胶原蛋白的合成^[6]。这些结果不仅证实槟榔碱会在口腔角化细胞和成纤维细胞的相互作用下促使口腔成纤维细胞的胶原蛋白分泌增加,更加证明槟榔碱就是诱发 OSF 的因素之一。

OSF 的发病机制还有可能与槟榔碱诱导的 α v β 6 整合蛋白上调有关,整合素 α v β 6 是由 α 、 β 亚单位以非共价键结合组成的跨膜异二聚体,只表达于恶性上皮性肿瘤组织,而健康组织及良性肿瘤组织无表达,它可促进组织纤维化和癌细胞侵袭转移。80% 以上的 OSF 相关口腔癌患者被检测出有中高度的 α v β 6 上调现象,研究发现槟榔碱可以上调 α v β 6 的表达,并促进角质化细胞的迁移、引发肿瘤入侵,这很有可能是槟榔嗜好群体 DNA 恶变的原因之一^[7]。为了探索槟榔碱对口腔成纤维细胞基因转录的总体影响,Chiang SL 等^[8]使用高密度微阵列分析进行全基因组扫描,采用实时荧光定量逆转录-PCR 技术对正常人牙龈成纤维细胞进行研究。结果,由于槟榔碱的影响,人牙龈成纤维细胞-1 中有 32 种显著的差异表达基因,其中 DNA

诱导损伤转录基因 (DDIT4) 明显上调,它被报道是诱发 p53 突变、导致 DNA 损伤的主要转录目标物,一旦表达便会引起细胞凋亡。由此可见,咀嚼槟榔引起的口腔细胞毒性是各种因素的综合作用结果。

2 生殖细胞毒性

近年来,槟榔对生殖系统的毒性也备受广大学者关注。槟榔碱在小鼠妊娠期胚胎围床期就有胚胎毒作用,其使早期孕鼠植入胚胎的数量减少,并抑制胚泡滋养层细胞的生长^[9]。为了进一步探索槟榔的生殖毒性机制,Wu PF 等^[10]用 100 mg/(kg·d) 的槟榔水提物喂养雄性小鼠,发现槟榔水提物会导致 30%~57% 的小鼠附睾精子数目减少,27%~61% 的小鼠精子活力下降,并伴随精子形态的畸变。实验过程中还检测了小鼠体内唾液酸和丙二醛的水平。唾液酸与维持附睾精子的成熟与精子膜结构的稳定性密切相关,其数量下降了 2%~46%,其数量的减少不仅使精子数量和活力降低,更使得精子执行顶体反应和受精的能力减弱^[11]。丙二醛是脂质过氧化反应的终产物,其数量升高了 16%~188%。精子膜上饱和脂肪酸的脂质过氧化反应是活性氧诱导细胞损伤的一个重要效应,反应水平的增加会导致精子数量和活力的降低^[12]。这些结果均表明槟榔化学成分对雄性小鼠会产生精子损伤,而且还会在睾丸、附睾中产生过量的活性氧,进一步诱导发生氧化应激反应。

Chang BE 等^[13]为探索槟榔碱对斑马鱼胚胎生长发育的影响,将转基因斑马鱼的胚胎置于不同浓度的槟榔碱中孵育,用逆转录-PCR 技术和整体原位杂交技术检测基因的表达情况。实验发现,随着槟榔碱浓度的增加,斑马鱼胚胎的成活率明显下降,并伴随着生长发育迟缓和心率减慢的现象。实验过程中若加入谷胱甘肽或者其前体 *N*-乙酰-L-半胱氨酸,则能改善这种影响。其作用机制可能是槟榔碱通过耗竭细胞内源性巯基化合物如谷胱甘肽或者其前体而产生细胞毒性,从而影响胚胎发育。斑马鱼基因与人类基因的相似度达到 87%,这意味着在其身上做药物实验所得到的结果在多数情况下也适用于人体,而且由于其胚胎透明,极易观察到药物对体内器官的影响。由此可见,斑马鱼胚胎实验结果对人类有非常大的借鉴意义。

众多科研成果证明,槟榔以及槟榔碱不仅对动物的生殖系统产生毒性,而且对人体生殖系统也有毒性。高文平等^[14]采用计算机辅助的精子分析系统 (CASA) 观察不同浓度槟榔碱溶液对人精子活率、活力、速度等指标的影响,发现槟榔碱能降低正常男性体外精子运动能力,其毒性与浓度、作用时间成正比。取若干不咀嚼槟榔且不吸烟志愿者的正常精子体外培养,加入不同浓度的槟榔碱,观察槟榔碱对人体外精子活力的影响,发现精子的活力、平均路径速率、曲线速率、直线速率都有明显的降低。进一步研究发现,槟榔碱可诱导精细胞中 COX-2 的表达而导致炎症反应,从而间接造成精子活力的下降^[15]。调查表明,长期咀嚼槟榔和不咀嚼槟榔的孕妇产下的婴儿生理特征也存在显著性差异 ($P < 0.05$)。长期咀嚼槟榔的孕妇产下的婴儿平均体质量减轻 89.54 g,平均身高减少 0.43 cm,并且男婴出生率降低。如果咀嚼槟榔的同时还伴随有烟草和酒精的摄入,则这种差异更明显^[16]。咀嚼槟榔影响胎儿生长发育的机制很有可能归结于槟榔碱对中枢神经系统的直接兴奋作用。槟榔碱能透过血脑屏障,通过胆碱能神经,使母体心率加快、颈动脉血流量增加以及舒张压下降等,从而导致母体血

流量相对增加,婴儿供血相对不足而影响胎儿的出生体质量^[17]。

3 肝细胞毒性

咀嚼槟榔还有可能引起肝硬变和肝细胞癌的风险。Chou WW等^[18]将槟榔碱对正常小鼠肝Clone-9细胞的细胞毒性和基因毒性进行了研究分析。用单细胞凝胶电泳技术检测出槟榔碱会引起DNA损伤和G₀/G₁细胞周期阻滞,从而抑制正常肝细胞增殖。研究发现,槟榔碱剂量依赖性的增加了转化生长因子β的生物活性,而转化生长因子β是抑制肝细胞生长的因素之一。其诱导了p53基因磷酸化,抑癌基因p53磷酸化以后发生基因突变,可能变成肿瘤生成的帮凶,p53的活化进一步使p21WAF1蛋白的表达增加,而p21WAF1与周期依赖性细胞生长抑制相关。有基因毒性的致癌物若激活了肝细胞中的p53和下游区的p21WAF1,则很容易使DNA损伤和细胞凋亡^[19],这也说明槟榔碱极有可能是一种致癌物。槟榔碱可以通过破坏小鼠肝细胞的超微结构而导致肝毒性。具体表现:与正常肝细胞相比,给予槟榔碱的肝细胞受体细胞核体积减小、核膜凹陷、核周的异染色质富集,预示着细胞核组分有失活趋势,是肝细胞凋亡的前兆;粗面内质网上潴泡和脂肪滴过量,对蛋白质的合成造成了影响;线粒体嵴扩张,反映出细胞器氧化还原系统的紊乱。同时,血清中的肝毒性标志酶丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶和碱性磷酸酶含量随着槟榔碱剂量的增加明显上调。另外,肝脏中的谷胱甘肽巯基转移酶活性随着槟榔碱剂量的增加而增大,导致肝脏的解毒功能降低,使得肝脏更容易受到病毒的侵袭^[20]。

大量的统计数据表明,不管是咀嚼添加了菱叶的槟榔还是生槟榔都有可能引发肝细胞癌。而且乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)或者丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)携带者咀嚼槟榔比不携带此类病毒的正常人更容易患肝癌^[21]。因此,咀嚼槟榔既是引发肝癌的独立致病因素,又是HBV/HCV感染者患肝癌的协同致病因素。

食用槟榔的添加物荖藤中含有黄樟素,因而在咀嚼的过程中唾液中会产生高浓度的黄樟素,国际癌症研究署已把黄樟素归类为二级B类致癌物。长年咀嚼槟榔的HBsAg/HCV血清反应呈阴性的肝癌患者的肝脏活组织和外周血粒细胞中存在有黄樟素类DNA加合物,外源化合物黄樟素与DNA发生共价结合,形成的结合物一旦逃避自身的修复,就可能引起某些特异位点的基因突变^[22]。DNA加合物的形成被认为是致肿瘤过程的一个重要阶段,它也一直作为一类重要的生物标志物,应用于致癌物暴露监测和癌症风险评估中^[23]。因此,槟榔中黄樟素的致癌性与其形成的DNA加合物有关,而且很可能是导致肝癌的致病因素之一。Chung YT等^[24]用液相色谱/电喷雾离子阱质谱(LC/ESI-ITMSn)和液相色谱/四级杆-飞行时间串联质谱(LC/Q-TOF-MS)合成的黄樟素-磷酸脱氧鸟苷作为参照标准,用³²P后标法检测到HBsAg/HCV血清反应呈阴性的肝癌患者肝组织中存在黄樟素DNA加合物。进一步证明槟榔中所含有的黄樟素与肝癌的发病机制有关。

4 免疫细胞毒性

研究表明,槟榔碱不但能够致癌、促癌,而且还会对整个机体免疫系统功能下降产生影响,从而增加致癌概率。大量临床研究表明,免疫调节功能降低与因咀嚼槟榔引发的口腔疾病的病因学有关^[25]。咀嚼槟榔的正常人和口腔癌患者的淋巴细胞姐妹染色单体互换频率明显高于不咀嚼槟榔的正常人。且OSF病人的外周血单核细胞分泌的致炎细胞因子明显增多,包括白细胞介素1β、白细胞介素6、白细胞介素8和肿瘤坏死因子α等。另外,口腔癌患者淋巴细胞的增殖反应和细胞毒活性明显降低^[26]。

研究发现,脾脏单核细胞的数量随着槟榔碱浓度的增加而减少。若槟榔碱的剂量浓度增加,则不仅威胁脾脏单核细胞的生长,而且会诱导其DNA断裂,使细胞走向凋亡。使用流式细胞技术分析发现,低浓度的槟榔碱会阻滞小鼠脾淋巴细胞的分裂周期,细胞数量在分裂间期的S期和分裂期的G₂/M期明显减少,而G₁期的细胞数量明显增加,说明槟榔碱将该细胞周期阻滞在G₁期。高浓度的槟榔碱则使细胞分裂完全阻滞,并诱导脾淋巴细胞凋亡而导致免疫抑制反应^[20]。槟榔提取物可以抑制白细胞介素2和γ干扰素的生成,用槟榔提取物处理过的脾淋巴细胞活性氧簇水平会增加。而加入谷胱甘肽前体N-乙酰-L-半胱氨酸后,这种抑制作用减弱,活性氧水平也随着降低,于是推测槟榔提取物引起的T细胞抑制作用很有可能与诱导氧化应激有关^[27]。Wang CC等^[28]研究了槟榔水提物的体内免疫调节作用,用槟榔水提取物对卵清蛋白致敏的小鼠进行腹腔注射,发现卵清蛋白致敏小鼠产生了抗原特异性免疫反应,说明了槟榔水提取物会调节体内抗原特异性免疫反应并促进炎症反应发生。将小鼠以2 mg/kg的剂量给予槟榔碱4周,通过四项指标评测机体的免疫功能变化,发现脾质量指数、抗绵羊红细胞溶血素、白细胞介素2以及脾细胞增殖指数都呈下降趋势。脾是重要的免疫器官,其质量减少直接影响免疫功能的发挥;溶血素的减少直接导致体液免疫功能下降;刀豆球蛋白A(T-细胞激活剂)/脂多糖(B-细胞激活剂)诱导的脾细胞增殖减弱,就同时对体液免疫和细胞免疫产生了抑制作用;T细胞生长因子白细胞介素2的生成减少,直接抑制了T细胞的增殖。另外,加入M受体拮抗剂阿托品以后,由槟榔碱引起的四项参数值明显逆转,然而单独的阿托品给药不会明显影响小鼠机体的免疫应答,这说明槟榔碱引起的免疫抑制是由非神经元型胆碱能系统的M受体介导的^[29]。

一直以来,槟榔碱都被认为是槟榔致癌、发挥毒性的罪魁祸首,然而有些学者证实了槟榔中的其他化学成分同样具有一定的机体组织损伤效应。Wang CC等^[30]研究槟榔多酚提取物以及从其中进一步分离的低聚体原花青素对脾淋巴细胞的促凋亡作用发现,多酚提取物可诱导淋巴细胞凋亡,作用程度与提取物的浓度和反应时间呈正相关。分离出的儿茶素单倍体和原花青素二倍体到四倍体的活性较差,不能引起脾淋巴细胞凋亡。而多聚体原花青素五倍体到十倍体的活性较强,有显著的促凋亡作用。所以,至少需要五聚合度的原花青素才有促淋巴细胞凋亡作用,并且聚合度越大,作用越强。另

外,用五倍体到十倍体原花青素处理的淋巴细胞胞内的巯基化合物明显减少,低于五倍体的原花青素则没有明显作用,但若用N-乙酰-L-半胱氨酸预处理后,其通过清除体内活性氧簇和增加胞内谷胱甘肽水平的方式使得细胞凋亡和巯基化合物减少的效应明显减轻。可推测多聚体原花青素导致的胞内巯基化合物减少是引起淋巴细胞凋亡的生化机制,而淋巴细胞的凋亡则是槟榔中化学成分发挥免疫调节作用的潜在机制。

5 其他

现有数据表明,口腔的pH值有助于槟榔生物碱的亚硝基化,并产生一系列相关的亚硝基衍生物,3种主要的槟榔碱衍生物分别是N-亚硝基去甲槟榔碱、3-(甲基亚硝胺基)丙腈和3-(甲基亚硝胺基)丙醛,这些衍生物在体内可以干扰DNA的复制和蛋白质的合成^[31]。

Kumpawat K等^[32]研究了槟榔水提物对小鼠骨髓细胞以及人体外周血淋巴细胞中内源性谷胱甘肽水平的影响。经观察,槟榔的水提液具有遗传毒性,其使细胞分裂中期异常、染色体畸变增加、内源性谷胱甘肽的耗竭加剧,而加入超氧化物歧化酶之后,槟榔碱产生的这种毒性可明显减轻。体外试验通过检测细胞产生的8-羟基脱氧鸟苷(8-OH-dG)证明了活性氧簇的发生,后者可以部分诱导染色体畸变。Chatterjee A等^[33]通过比较口服给药和腹腔注射给药两种不同途径,检测槟榔碱对小鼠骨髓细胞产生的遗传毒性的差别。结果表明,两种途径给药都会导致染色体畸变、细胞周期延缓和姐妹染色单体互换频率增加,而且口服给药引起的毒性更加显著,而加入N-乙酰半胱氨酸以后又可以大大减轻两种途径引起的上述毒性。研究表明,槟榔碱导致的遗传毒性可以通过添加外源性谷胱甘肽和半胱氨酸得到缓解,但是像过氧化氢酶或超氧化物歧化酶之类的氧自由基清除剂则对缓解毒性没有效果。因为槟榔碱发挥遗传毒性的主要机制是通过耗竭巯基而不是攻击氧自由基。另外加入硫氨酸亚砷胺(buthionine sulfoximine, BSO)后也增加了槟榔碱对小鼠骨髓细胞产生的染色体畸变和姐妹染色单体互换的频率,因为BSO会诱导内源性谷胱甘肽的耗竭^[34]。

嚼食槟榔能使人产生轻微的兴奋感,且药用剂量的槟榔碱也被认为有提高阿尔茨海默病人的认知能力的作用。但是,50~200 μmol/L的槟榔碱可以通过抑制人体的抗氧化系统和增加氧化压力来诱导神经细胞凋亡,产生神经细胞毒性^[35]。近年来大量的流行病学调查研究发现,咀嚼槟榔还与男性慢性肾脏疾病、代谢综合征、2型糖尿病、高脂血症、心血管疾病等一系列疾病有关^[36-38]。

6 结语

近年来,随着槟榔咀嚼人群的扩增,国内、外众多学者意识到,槟榔对人体的毒性不仅仅局限于口腔癌,对其他器官组织的毒性也是不容忽视的。要想深入了解槟榔的致毒机制,研究细胞毒理无疑是一条科学的途径。然而,目前国内对槟榔的细胞毒理研究还不够多,而且槟榔发挥毒性的具体化学成分还不够明确,因此加强槟榔化学成分对细胞毒性的研究

具有重要的理论和现实意义,同时也可开发槟榔的食用、药用安全剂量标准提供新的线索和平台。

参考文献

- [1] Hou YY, Ou HL, Chu ST, *et al.* NAT2 slow acetylation haplotypes are associated with the increased risk of betel quid-related oral and pharyngeal squamous cell carcinoma [J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2011, 112(4):484.
- [2] Ni WF, Tsai CH, Yang SF, *et al.* Elevated expression of NF-kappaB in oral submucous fibrosis--evidence for NF-kappaB inducti by saffrole in human buccal mucosal fibroblasts [J]. *Oral Oncol*, 2007, 43(6):557.
- [3] Chang MC, Wu HL, Lee JJ, *et al.* The induction of prostaglandin E2 production, interleukin-6 production, cell cycle arrest, and cytotoxicity in primary oral keratinocytes and KB cancer cells by areca nut ingredients is differentially regulated by MEK/ERK activation [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(49):50 676.
- [4] Li X, Ling T, Gao YJ, *et al.* Arecoline and oral keratinocytes may affect the collagen metabolism of fibroblasts [J]. *J Oral Pathol Med*, 2009, 38(5):422.
- [5] Utsunomiya H, Tilakaratne WM, Oshiro K, *et al.* Extracellular matrix remodeling in oral submucous fibrosis: its stage-specific modes revealed by immunohistochemistry and in situ hybridization [J]. *J Oral Pathol Med*, 2005, 34(8):498.
- [6] Chang YC, Yang SF, Tai KW, *et al.* Increased tissue inhibitor of metalloproteinase-1 expression and inhibition of gelatinase A activity in buccal mucosal fibroblasts by arecoline as possible mechanisms for oral submucous fibrosis [J]. *Oral Oncol*, 2002, 38(2):195.
- [7] Moutasim KA, Jenei V, Sapienza K, *et al.* Betel-derived alkaloid up-regulates keratinocyte alphavbeta6 integrin expression and promotes oral submucous fibrosis[J]. *J Pathol*, 2011, 223(3),366.
- [8] Chiang SL, Jiang SS, Wang YJ, *et al.* Characterization of arecoline-induced effects on cytotoxicity in normal human gingival fibroblasts by global gene expression profiling [J]. *Toxicol Sci*, 2007, 100(1):66.
- [9] Liu ST, Young GC, Lee YC, *et al.* A preliminary report on the toxicity of arecoline on early pregnancy in mice [J]. *Food Chem Toxicol*, 2011, 49(1):144.
- [10] Wu PF, Chiang TA, Chen MT, *et al.* A characterization of the antioxidant enzyme activity and reproductive toxicity in male rats following sub-chronic exposure to areca nut extracts [J]. *J Hazard Mater*, 2010, 178(1/3):541.
- [11] Saradha B, Mathur PP. Induction of oxidative stress by

- lindane in epididymis of adult male rats [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2006, 22(1):90.
- [12] Chitra KC, Latchoumycandane C, Mathur PP. Induction of oxidative stress by bisphenol A in the epididymal sperm of rats[J]. *Toxicology*, 2003, 185(1/2): 119.
- [13] Chang BE, Liao MH, Kuo MY, *et al.* Developmental toxicity of arecoline, the major alkaloid in betel nuts, in zebrafish embryos[J]. *Birth Defects Res (Part A)*, 2004, 70(1):28.
- [14] 高文平, 杨大坚, 胡四琴, 等. 槟榔碱对人体外精子运动能力的影响[J]. *中国药房*, 2010, 21(11):967.
- [15] Er TK, Tsai EM, Tsai LY, *et al.* In vitro effects of arecoline on sperm motility and cyclooxygenase-2 expression [J]. *J Toxicol Sci*, 2006, 31(1):75.
- [16] Yang MS, Lee CH, Chang SJ, *et al.* The effect of maternal betel quid exposure during pregnancy on adverse birth outcomes among aborigines in Taiwan [J]. *Drug Alcohol Depend*, 2008, 95(1/2):134.
- [17] Lin SK, Chang YJ, Ryu SJ, *et al.* Cerebral hemodynamic responses to betel chewing: a doppler study [J]. *Clin Neuropharmacol*, 2002, 25(5):244.
- [18] Chou WW, Guh JY, Tsai JF, *et al.* Arecoline-induced growth arrest and p21WAF1 expression are dependent on p53 in rat hepatocytes[J]. *Toxicology*, 2008, 243(1/2):1.
- [19] Ellinger-Ziegelbauer H, Stuart B, Wahle B, *et al.* Characteristic expression profiles induced by genotoxic carcinogens in rat liver [J]. *Toxicol Sci*, 2004, 77(1):19.
- [20] Dasgupta R, Saha I, Pal S, *et al.* Immunosuppression, hepatotoxicity and depression of antioxidant status by arecoline in albino mice [J]. *Toxicology*, 2006, 227(1/2):94.
- [21] Tsai JF, Jeng JE, Chuang LY, *et al.* Habitual betel quid chewing and risk for hepatocellular carcinoma complicating cirrhosis[J]. *Medicine*, 2004, 83(3):176.
- [22] Liu CJ, Chen CL, Chang KW, *et al.* Safrole in betel quid may be a risk factor for hepatocellular carcinoma: case report [J]. *CMAJ*, 2000, 162(3):359.
- [23] Wijnhoven SW, van Steeg H. Transgenic and knockout mice for DNA repair functions in carcinogenesis and mutagenesis [J]. *Toxicology*, 2003, 193(1/2):171.
- [24] Chung YT, Chen CL, Wu CC, *et al.* Safrole-DNA adduct in hepatocellular carcinoma associated with betel quid chewing[J]. *Toxicol Lett*, 2008, 183(1/3):21.
- [25] Chang MC, Chiang CP, Lin CL, *et al.* Cell-mediated immunity and head and neck cancer: with special emphasis on betel quid chewing habit [J]. *Oral Oncol*, 2005, 41(8):757.
- [26] Adhvaryu SG, Dave BJ, Trivedi AH. Cytogenetic surveillance of tobacco-areca nut (mava) chewers with oral cancers and premalignant conditions[J]. *Mutat Res*, 1991, 261(1):41.
- [27] Wang CC, Liu TY, Wey SP, *et al.* Areca nut extract suppresses T-cell activation and interferon-gamma production via the induction of oxidative stress [J]. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45(8):1410.
- [28] Wang CC, Lin HL, Wey SP, *et al.* Areca-nut extract modulates antigen-specific immunity and augments inflammation in ovalbumin-sensitized mice[J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2011, 33(2):315.
- [29] Wen XM, Zhang YL, Liu XM, *et al.* Immune responses in mice to arecoline mediated by lymphocyte muscarinic acetylcholine receptor[J]. *Cell Biol Int*, 2006, 30(12):1048.
- [30] Wang CC, Huang PL, Liu TY, *et al.* Highly oligomeric procyanidins from areca nut induce lymphocyte apoptosis via the depletion of intracellular thiols[J]. *Toxicol in Vitro*, 2009, 23(7):1234.
- [31] Sharan RN. Association of betel, nut with carcinogenesis [J]. *Cancer J*, 1996(9):13.
- [32] Kumpawat K, Deb S, Ray S, *et al.* Genotoxic effect of raw betel-nut extract in relation to endogenous glutathione levels and its mechanism of action in mammalian cells [J]. *Mutat Res*, 2003, 538(1/2):1.
- [33] Chatterjee A, Deb S. Genotoxic effect of arecoline given either by the peritoneal or oral route in murine bone marrow cells and the influence of N-acetylcysteine[J]. *Cancer Lett*, 1999, 139(1):23.
- [34] Deb S, Chatterjee A. Influence of buthionine sulfoximine and reduced glutathione on arecoline induced chromosomal damage and sister chromatid exchange in mouse bone marrow cells in vivo[J]. *Mutagenesis*, 1998, 13(3):243.
- [35] Shih YT, Chen PS, Wu CH, *et al.* Arecoline, a major alkaloid of the areca nut, causes neurotoxicity through enhancement of oxidative stress and suppression of the antioxidant protective system[J]. *Free Radic Biol Med*, 2010, 49(10):1471.
- [36] Chou CY, Cheng SY, Liu JH, *et al.* Association between betel-nut chewing and chronic kidney disease in men[J]. *Public Health Nutr*, 2009, 12(5):723.
- [37] Lin WY, Chiu TY, Lee LT, *et al.* Betel nut chewing is associated with increased risk of cardiovascular disease and all-cause mortality in Taiwanese men [J]. *Am J Clin Nutr*, 2008, 87(5):1204.
- [38] Yen AM, Chiu YH, Chen LS, *et al.* A population-based study of the association between betel-quid chewing and the metabolic syndrome in men[J]. *Am J Clin Nutr*, 2006, 83(6):1153.

(收稿日期:2012-05-25 修回日期:2012-07-16)