



论文

茶质滤嘴的祛烟瘾减害作用研究

颜景奇^{①②†}, 底晓静^{①④†}, 刘彩谊^③, 张惠敏^③, 黄秀琴^③, 张俊敬^{①②}, 赵燕^⑤,
张龙泽^①, 常彦忠^④, 梁永林^②, 陶然^{③*}, 赵保路^{①②*}

① 中国科学院生物物理研究所, 脑与认知科学国家重点实验室, 北京 100101;

② 中国科学院心理研究所, 中国科学院心理健康重点实验室, 北京 100101;

③ 北京军区总医院成瘾医学科, 北京 100700;

④ 河北师范大学分子神经研究所, 石家庄 050016;

⑤ 哈尔滨工业大学食品科学技术系, 威海 264209

† 同等贡献

* 联系人, E-mail: zhaobl@sun5.ibp.ac.cn; bjtaoran@126.com

收稿日期: 2009-12-29; 接受日期: 2010-03-04

国家自然科学基金(批准号: 30870587)和国家重点基础研究发展计划(批准号: 2006CB500700)资助项目

摘要 吸烟可以引起一系列严重疾病, 吸烟对健康的危害已成为人类面临的重大公共卫生问题. 尽管科学研究和医疗工作者实验了各种方法, 但是效果仍不理想, 控烟已成为一个世界性难题. 为了寻找破解这一难题的新对策, 研制了一种茶质滤嘴(国际发明专利号: PCT/CN2009/000763)可以对吸烟依赖有明显的祛致瘾作用, 并初步探明了其作用机理. 第一批临床实验发现, 吸烟志愿者使用茶质滤嘴 2 个月, 吸烟量减少 52% 左右, 其中 31% 减少到 0. 另一批临床实验发现, 吸烟志愿者使用茶质滤嘴 3 个月, 吸烟量在第 1, 2 和 3 个月分别减少约 48%, 83% 和 91%, 在最后一个 月每天吸烟量由原来平均每天 24.5 支减少到每天 3 支左右. 动物实验发现, 茶质滤嘴中的茶氨酸可以明显抑制尼古丁在小鼠中引起的条件性位置偏爱, 与尼古丁乙酰胆碱受体(nAChRs)抑制剂有类似的效果. 测定小鼠脑 nAChRs 发现, 茶氨酸处理动物可以抑制尼古丁引起的 3 种尼古丁乙酰胆碱受体亚基的表达上调, 而且多巴胺释放增加受到明显抑制. 茶质滤嘴还可以明显降低吸烟产生的有害物质, 降低吸烟引起动物的急性毒性和慢性致癌性. 本工作发现了抑制烟草和尼古丁成瘾的新物质——茶质滤嘴和茶氨酸, 提供了一种可以战胜吸烟危害的新策略. 该工作的实施和推广将可以保护当代和后代免受吸烟对健康、社会、环境和经济造成的破坏性影响, 对建设和谐的人类文明社会和国民经济的持续发展具有重要意义.

关键词烟草成瘾
祛除烟瘾
茶质滤嘴
茶氨酸
尼古丁成瘾
尼古丁乙酰胆碱受体
nAChRs
多巴胺
公共健康
自由基

流行病学调查表明, 吸烟不仅可以引起支气管和肺损伤, 而且可以导致人类最可怕疾病——癌症和死亡率最高的心血管疾病^[1~5]. 世界卫生组织调查

显示, 全世界有 12.5 亿吸烟者, 全球每年有 500 万人死于与烟草有关的疾病^[6], 超过很多疾病的集合, 使用烟草导致全球医疗费用每年损失高达 2000 亿美元,

英文版见: Yan J Q, Di X J, Liu C Y, et al. The cessation and detoxification effect of tea filters on cigarette addiction. *Sci China Life Sci*, 2010, 53: 375—384, doi: 10.1007/s11427-010-0097-1

吸烟对健康的危害已成为全人类面临的重大公共卫生问题^[7-14]。尽管科学研究和医疗工作者实验了各种方法,但是由于克服尼古丁成瘾十分困难,加之使用不方便和一些副作用,戒烟效果并不理想^[7-13],控烟仍然是一个世界性难题。因此,现在急需一种新的、没有副作用的、又方便吸烟者使用的控烟方法和技术。

茶叶在中国和全世界已有几千年栽种和饮用历史,喝茶有助于健康已被大众所接受。喝茶可以预防一系列疾病也被流行病学所证实,防癌抗癌^[15]、防辐射、降血脂^[16]和预防其他疾病^[17]。对茶的健康益处和烟草危害进行了研究,发现茶成分能够减少吸烟产生的有害物质及其对细胞的损伤^[18-23],从而研制了茶质滤嘴(国际发明专利号: PCT/CN2009/000763)。临床观察发现茶质滤嘴可以大大减少吸烟量及对吸烟依赖有明显的祛致瘾作用,而且没有毒副作用。机理研究表明,茶质滤嘴中的一种氨基酸茶氨酸通过尼古丁乙酰胆碱受体(nAChRs)通路在祛致瘾中发挥作用。

1 材料与方法

1.1 含茶质滤嘴的香烟的制作方法

“红河”香烟购自市场(中国云南红河烟草公司制造)(2.5 cm 普通滤嘴),直接作为实验的对照烟。复合滤嘴中一半为普通滤嘴(1.25 cm),一半为茶质滤嘴(1.25 cm),茶质部分紧挨香烟,普通滤嘴部分紧挨茶质滤嘴。复合滤嘴总长为 2.5 cm,含茶质滤嘴的香烟与对照烟从表面上看不出差别。用复合滤嘴取代“红河”香烟的普通滤嘴作为茶质滤嘴组临床实验使用香烟。茶滤嘴中茶氨酸的含量大约为茶滤嘴的 1%。

1.2 人群实验

茶质滤嘴戒烟实验在北京军区总医院戒烟医学科完成(ClinicalTrials.govIdentifier: NCT00971529)。在第一批临床实验中,募集了 100 个健康的年龄在 18~30 岁之间的男性吸烟者,采用 Fagerstrom 尼古丁依赖检验量表 FTND 问卷的响应信息作为评定烟瘾标准^[11]进行筛选。其中 70 个志愿者被选用参与实验,采用双盲实验分为 2 组,吸对照烟组和吸带茶质滤嘴香烟组。在第二批临床实验中,募集了 70 个男性健康吸烟者,年龄在 30~65 岁之间,其中 59 个具有较长吸烟史和较强烈戒烟欲望的志愿者参与了实验,实

验持续 3 个月。实验前,进行 10 min 动员和讲解注意事项,实验开始后专门医务工作者进行跟踪观察、收集每个志愿者每天的吸烟数量、检测呼出的一氧化碳量、收集血样和尿样。如果这期间有使用尼古丁替代品的或者中间有间断的,就被排除在外。实验前和实验后进行常规体检。呼出的一氧化碳量采用一氧化碳检测仪检测(1209-1 CO, DWYER, 美国),尿样中的尼古丁代谢产物可替宁采用 HPLC 测定(HITACH, 日本)^[24]。

1.3 实验动物和处理方法

6~8 周雌性 C57BL/6J 小鼠购自中国医学科学院实验动物中心,饲养于无特定病原体级 SPF(specific pathogen free)环境中,自由取食。尼古丁、茶氨酸、咖啡因和尼古丁受体抑制剂: β -羟基刺桐定溴酸盐(dihydro- β -erythroidine hydrobromide, DH β E)溶于生理盐水,采用皮下注射方式给药;茶多酚溶于去离子水,采用灌胃方式给药。小鼠分为 7 组,每组 10 只。对照组:小鼠皮下注射生理盐水和灌胃去离子水;尼古丁组:皮下注射尼古丁($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{天}^{-1}$);尼古丁和茶多酚组:小鼠灌胃茶多酚($250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{天}^{-1}$)15 min 后皮下注射尼古丁($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{天}^{-1}$);尼古丁和咖啡因组:小鼠皮下注射咖啡因($2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{天}^{-1}$)15 min 后皮下注射尼古丁($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{天}^{-1}$);尼古丁和茶氨酸低剂量组:小鼠皮下注射茶氨酸($250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{天}^{-1}$)15 min 后皮下注射尼古丁($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{天}^{-1}$);尼古丁和茶氨酸高剂量组:小鼠皮下注射茶氨酸($500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{天}^{-1}$)15 min 后皮下注射尼古丁($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{天}^{-1}$);尼古丁和抑制剂组:小鼠皮下注射抑制剂($2.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{天}^{-1}$)15 min 后皮下注射尼古丁($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{天}^{-1}$)^[25]。动物给药 7 天。

1.4 条件性位置偏爱实验(conditioned place preference, CPP)

条件性位置偏爱实验是一种经常用于评定依赖性药物包括尼古丁奖赏效应的行为指标^[26-28]。小鼠位置偏爱仪购自中国医学科学院。装置呈长方形盒状,由 2 个可以上下自由滑动的门将盒分为 3 部分。实验动物放入装置后由计算机记录动物行为结果。实验流程分为前测组、训练组和测试组 3 部分。实验第 1 和第 2 天进行前测,依据结果分组,保证每组无明显偏爱。实验第 3~9 天进行训练,把装置两边的门

拉下,小鼠给药后放入伴药箱部分,给对照药后放入对照箱部分,30 min 后取出小鼠.每天 2 次,间隔 5 h.实验第 10 天进行测试,小鼠自由穿梭,计时 900 s,记录小鼠停留于每箱中的时间.在前测和测试时期动物均不给药.测试完后实验动物灌注处理或脱臼处死后,断头取脑并用于后续实验.

1.5 蛋白印迹检测

脑组织中加入蛋白裂解缓冲液(50 mmol/L Tris-Cl, 150 mmol/L NaCl, 0.02 mol/L Na₂S₂O₄, 100 μg/mL PMSF, 1 μg/mL Aprotinin, 1% Triton X-100)于 0℃ 冰浴匀浆 30 min 后,于 4℃ 12000×g 离心 25 min,收集上清,按照标准蛋白印迹方法进行实验.检测尼古丁乙酰胆碱受体亚基 nAChRα₄, nAChRβ₂ 和 nAChRα₇ 蛋白水平的表达变化.条带灰度值用 NIH Image 软件进行分析.

1.6 电化学-HPLC 方法检测多巴胺含量

实验小鼠给药 30 min 后脱臼处死,断头取脑并于冰上分离出两侧纹状体,称重后加入 1 mL 0.2 mol/L 高氯酸匀浆.匀浆液在 20000×g, 4℃ 条件下离心 15 min,取上清,使用 HPLC ESA-5600A 电化学检测系统(ESA, 美国)检测多巴胺含量.

1.7 实验动物抽烟实验

实验动物放置于有机玻璃箱(35.6 cm×35 cm×20 cm)中,装置上有 2 个面积为 1.5 cm² 的洞,一个位于箱体的顶部用于通风,另一个位于箱体底部用于连接抽烟装置进入吸烟烟气^[29].实验检测发现,氧气分压(pO₂),氮氧化物分压(pNO_x)和二氧化碳分压(pCO₂)的变化小于 5%,各组之间没有显著差异,pNO_x 从 0 增加到 60 ng/mL 这些变化对动物没有致命影响.因此,不同组别之间动物的死亡与 pO₂, pNO_x 和 pCO₂ 关系不大.

1.8 小鼠吸烟急性毒性实验

24 只小鼠(购自中国医学科学院实验动物中心)随机分为 3 组,每组 8 只.第 1 组用对照香烟烟气处理;第 2 组用茶质滤嘴香烟烟气处理;第 3 组不做任何处理.实验动物放置于上述装置中进行急性毒性烟实验.用汽泵把烟气送入箱中.连续把吸烟烟气送入装置中,记录到达致命点所用的抽烟时间和香烟的支数.死亡的小鼠做肺部组织病理切片检测.

1.9 大鼠吸烟慢性毒理实验

15 只体重为 200~250 g,雄性 SD 大鼠(购自中国医学科学院实验动物中心)随机分为 3 组,每组 5 只,放置于上述装置中,在 30 min 内连续把抽 7 支香烟的吸烟烟气送入装置中,每天 2 次,间隔 4 h,持续 75 天后进行微核检测.实验动物脱臼处死后取出股骨髓液,与等体积小牛血清混合均匀,离心再悬浮后,点在载玻片上,混匀后推片.晾干后进行姬姆萨染色.每只动物数出 1000 个细胞,以细胞中多色(PCE)和常色(NCE)红细胞的比值(微核率)作为致突变和致癌毒性指标.

取出动物的肺、心、肝、脾、肾和肾上腺,用 10% 甲醛固定包埋,做组织病理切片 HE 染色,光学显微镜检测损伤程度.

1.10 大鼠吸烟引起血液中一氧化碳血红蛋白(COHb)提高的检测

当吸入一氧化碳时,一氧化碳与血红蛋白在红细胞中形成稳定复合物 COHb,吸烟吸入一氧化碳时会增加血液中的 COHb 含量^[30,31].吸入一氧化碳血液中产生的 COHb 利用 ELISA 试剂盒测试(上海亚培科技有限公司).

1.11 统计分析

实验数据采用 ANOVA 进行多因素方差分析和 *t* 检验^[32].*P*<0.05 定义为有显著性差异.

2 结果

2.1 人群实验

茶质滤嘴戒烟实验在北京军区总医院成瘾医学科完成.第一批实验中,招募的健康男性志愿者中,吸烟者平均每天吸约 14 支香烟,随机分为 2 组进行双盲实验,茶质滤嘴组和普通滤嘴组.使用茶质滤嘴一个月后,志愿者平均每天吸烟量减少了约 43%,而使用普通滤嘴的对照组每天吸烟量则无明显变化(图 1(A)).同时,茶质滤嘴组中志愿者呼出的 CO 和尿中的可替宁的含量分别减少了约 52.6%和 26.3%(图 1(B)).随后对照组不再进行实验,茶质滤嘴组继续实验一个月,志愿者在使用茶质滤嘴 2 个月后,平均每天的吸烟量减少了约 56.5%(约 31.7%的吸烟者减

少到 0, 13.9%的吸烟者从原来每天吸 14 支降到每天吸 1~5 支; 8.9%和 31.7%的吸烟者每天吸烟量分别减少了约 60%和 30%, 13.9%的吸烟者的吸烟量没有明显变化)(图 2(A)). 第二批实验中, 检测了茶质滤嘴对有长期吸烟史并强烈希望戒烟的志愿者(平均每天吸约 24 支香烟)的戒烟效果. 参与实验的 59 位健康男性吸烟志愿者使用茶质滤嘴 3 个月, 结果表明志愿者在用茶质滤嘴 1, 2 和 3 个月每天吸烟量分别减少了约 48%, 83%和 91%, 在最后一个月的平均吸烟量减少到约 3 支(图 2(B))(志愿者呼出的 CO 和尿中可替宁的含量明显减少), 表明茶质滤嘴戒烟效果明显. 茶质滤嘴的戒烟效果与其他戒烟方法相比, 效果更好^[7~14]. 而且大多数志愿者描述用过茶质滤嘴后痰量

和吸烟引起的其他症状明显减少了. 体检表明, 志愿者使用茶质滤嘴后没有明显表现出副作用.

2.2 茶氨酸对尼古丁引起的奖赏效应的影响

采用小鼠条件性位置偏爱实验(CPP)评价尼古丁的奖赏效应. 为了阐明茶质滤嘴的戒烟机制, 检测了茶叶的几种成分对尼古丁引起的条件性位置偏爱的影响. 结果表明, 每天注射尼古丁($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{天}^{-1}$)连续 10 天可以引起小鼠尼古丁成瘾, 注射茶叶中的一种氨基酸茶氨酸能明显减少尼古丁引起小鼠的偏爱, 而且与 β -羟基刺桐定溴酸盐(尼古丁乙酰胆碱受体抑制剂)的作用类似, 而茶叶中的另外 2 种成分茶多酚和咖啡因未表现出此作用(图 3). 而且茶氨酸的

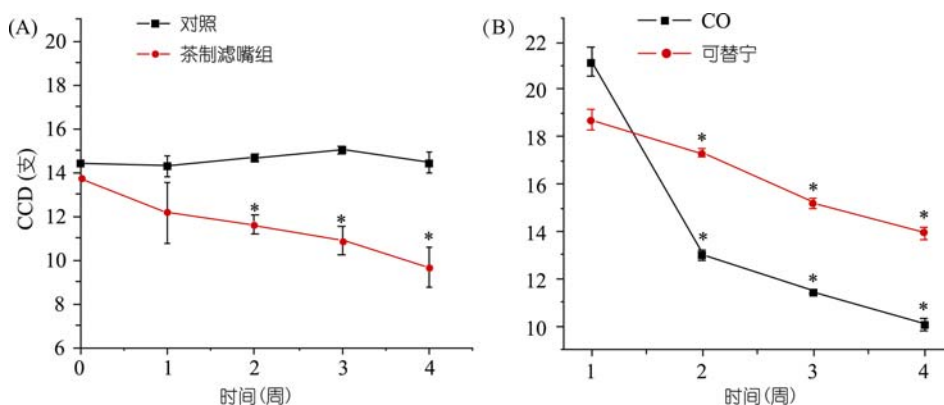


图 1 茶质滤嘴明显减少志愿者吸烟数量

(A) 每个志愿者在 0, 1~4 周每天平均吸烟量(CCD); (B) 使用茶滤嘴对志愿者呼出一氧化碳(ng/mL)和尿中可替宁(ng/mL)的影响. *: $P < 0.05$, 与 0 周相比

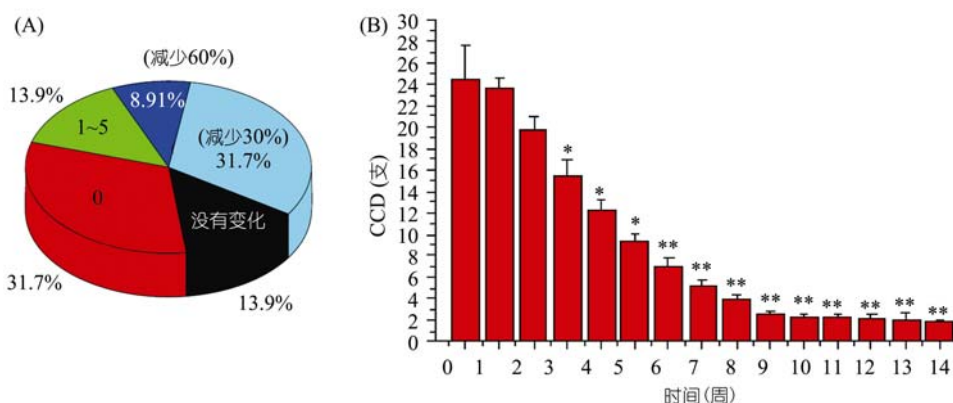


图 2 茶质滤嘴明显减少志愿者吸烟数量

(A) 使用茶质滤嘴 2 个月, 约 31.7%的吸烟者减少到 0 支, 13.9%的吸烟者从原来每天吸 14 支降到每天吸 1~5 支; 8.9%和 31.7%的吸烟者每天吸烟量分别减少约 60%和 30%, 13.9%的吸烟者的吸烟量没有明显变化; (B) 使用茶质滤嘴 3 个月, 每个志愿者在 0, 1~14 周每天平均吸烟量(CCD); *: $P < 0.05$, 与 0 周相比; **: $P < 0.01$, 与 0 周相比

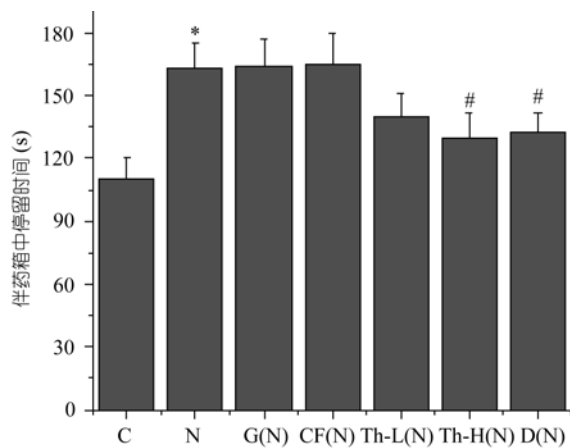


图3 茶叶中不同成分对尼古丁引起的条件性位置偏爱的影响

C: 对照组; N: 尼古丁组($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$); G(N): 茶多酚(250 mg/kg)预处理组; CF(N): 咖啡因(2 mg/kg)预处理组; Th-L(N): 茶氨酸低剂量(250 mg/kg)预处理组; Th-H(N): 茶氨酸高剂量(500 mg/kg)预处理组; D(N): 尼古丁乙酰胆碱受体抑制剂(2 mg/kg)预处理组。结果以伴药箱中平均停留时间表示, $n=10$ 。多因素方差分析, *: $P<0.05$, 与对照组相比; #: $P<0.05$, 与尼古丁组相比

作用表现出时间和剂量依赖效应, 茶氨酸 250 mg/kg 和 500 mg/kg 处理 1 周后对尼古丁引起的条件性位置偏爱的抑制效应分别约为 30% 和 45%, 2 周后的抑制效应则分别为 90% 和 95%。

2.3 茶氨酸对小鼠脑中尼古丁乙酰胆碱受体(nAChRs)表达的影响

研究表明, 尼古丁可以引起尼古丁乙酰胆碱受体 nAChRs 表达上调, 而抑制 nAChRs 和与其相关的途径可以祛除吸烟依赖^[33-36]。为了研究茶氨酸祛除尼古丁依赖的机理, 检测了茶氨酸对小鼠脑中 3 种 nAChRs 亚基表达的影响。结果表明, 尼古丁处理 2 周后, 小鼠脑中 nAChRs 亚基 $\alpha 4$, $\alpha 7$ 和 $\beta 2$ 表达明显增加, 而茶氨酸预处理后能明显抑制这 3 种 nAChRs 亚基的增加(图 4)。因此, 茶氨酸对尼古丁依赖的祛除作用可能是通过抑制尼古丁引起的脑中尼古丁受体 nAChRs 的增加实现的。

2.4 茶氨酸对小鼠脑中多巴胺含量的影响

尼古丁引起的多巴胺释放的增加是其奖赏途径中的重要因素^[37]。检测了茶氨酸和尼古丁对小鼠脑中多巴胺含量的影响。结果表明, 尼古丁处理后, 小

鼠脑中多巴胺含量明显增加, 而茶氨酸预处理能明显抑制尼古丁引起的多巴胺含量的增加(图 5)。

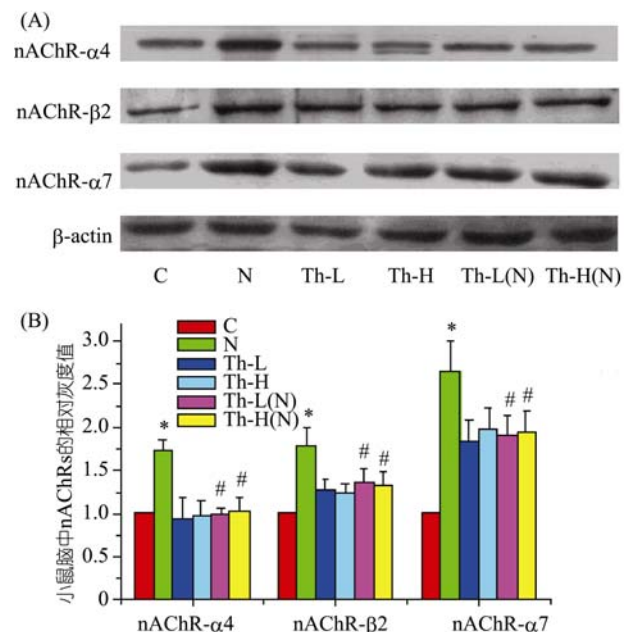


图4 茶氨酸和尼古丁对小鼠脑中腹侧被盖区中尼古丁乙酰胆碱受体 3 种亚基(nAChRs)表达的影响

(A) 蛋白印迹分析; (B) 统计结果。C: 对照组; N: 尼古丁组($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$); Th-L: 茶氨酸低剂量(250 mg/kg)处理组; Th-H: 茶氨酸高剂量(500 mg/kg)处理组; Th-L(N): 茶氨酸低剂量(250 mg/kg)预处理组; Th-H(N): 茶氨酸高剂量(500 mg/kg)预处理组; $n=4$ 。多因素方差分析, *: $P<0.05$, 与对照组相比; #: $P<0.05$, 与尼古丁组相比

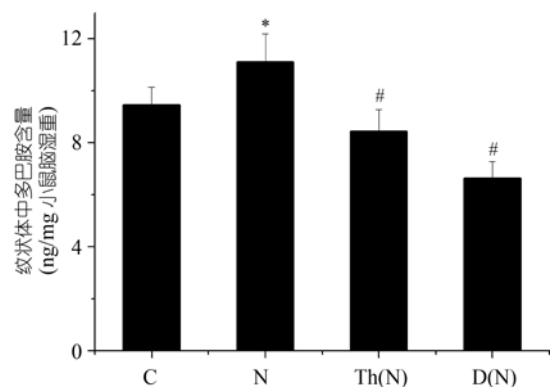


图5 茶氨酸对尼古丁引起小鼠脑多巴胺含量的影响

结果以每毫克小鼠脑湿重中多巴胺量表示。C: 对照组; N: 尼古丁组($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$); Th(N): 茶氨酸(250 mg/kg)预处理组; D(N): 尼古丁乙酰胆碱受体抑制剂(2 mg/kg)预处理组; $n=3$ 。数据进行多因素方差分析, *: $P<0.05$, 与对照组相比; #: $P<0.05$, 与尼古丁组相比

2.5 茶质滤嘴对吸烟急性毒性的减毒害作用

先前研究表明, 茶叶中的成分, 如茶多酚等可以清除吸烟产生的焦油, 自由基、亚硝胺、蒽醌和多环芳烃(PAHs)等有害物质^[18~23]. 进一步研究了茶质滤嘴对吸烟引起的动物急性毒性的影响, 结果表明复合茶质滤嘴组和全茶质滤嘴组的实验动物的存活时间与对照烟组相比分别延长了 32.2%和 60%(表 1). 肺组织病理切片分析表明, 80%吸对照烟组小鼠肺组织出现出血, 吸茶质滤嘴组只有 40%小鼠肺组织有出血现象.

2.6 茶质滤嘴对吸烟慢性毒性的减毒害作用

以嗜多染红细胞(polychromatophilic erythroblasts, PCE)中的细胞微核率作为吸烟慢性毒性致突变的指标, 接着检测了茶质滤嘴对吸烟处理 75 天大鼠 PCE 中的细胞微核率的影响. 结果显示, 吸对照烟组大鼠骨髓红细胞中微核率明显升高, 吸茶质滤嘴组大鼠骨髓红细胞中微核率与吸对照烟相比减少了 46%(表 2), 表明茶质滤嘴可以明显减少吸烟的致突变性.

2.7 茶质滤嘴对大鼠吸烟引起血液中 COHb 增高的抑制作用

吸烟引起心脏病的一个重要原因是吸烟过程产生的一氧化碳, 因此每种香烟必须标出产生一氧化碳的量. 长期反复吸入一定量的一氧化碳可引起神经和心血管系统损害, 常见的有神经衰弱综合征, 以及心肌损害和动脉粥样硬化. 吸烟时吸入的一氧化碳与血红蛋白在红细胞中形成稳定复合物 COHb 的

浓度增加^[30,31]. 为了确定茶质滤嘴对大鼠吸烟引起血液中 COHb 增高的抑制作用, 检测了吸烟引起的大鼠血液中 COHb 的变化情况. 结果发现, 与不吸烟的对照相比, 吸普通过滤嘴对照香烟大鼠血液中 COHb 增加了约 561%, 与吸普通过滤嘴对照香烟大鼠相比, 吸茶质滤嘴香烟大鼠血液中 COHb 减少了大约 53%(表 2). 表明茶质滤嘴可以减少吸烟产生 CO 的毒性.

2.8 茶质滤嘴对吸烟引起动物肺损伤的抑制作用

所有实验动物都进行了肺组织病理切片和光学显微镜检查, 结果显示, 对照烟组大鼠肺组织出现多种病理变化, 肺泡破裂和支气管壁加厚明显, 伴有中性粒细胞淋巴细胞浸润(图 6(B)与(C)), 4 只对照烟组大鼠肺组织出现脓肿和低度纤维化增生. 而茶质滤嘴组只有 1 只表现出这些病理变化, 1 只表现较小的病理变化(中度中性粒细胞淋巴细胞浸润)(图 6(D)), 另外 3 只的肺组织几乎与正常的没有区别.

3 讨论

尼古丁与脑中 nAChRs 相互作用引起吸烟成瘾等效应^[33~36]. 动物实验表明, 茶氨酸可以和 nAChRs 的抑制剂同样表现出抑制尼古丁引起的奖赏效应. 为进一步发现茶氨酸影响尼古丁依赖的机制, 研究了茶氨酸对 nAChRs 3 种亚基的表达的影响, 结果表明茶氨酸可以明显抑制尼古丁引起的 nAChRs 的表达上调(图 4). 中脑边缘奖赏系统多巴胺释放增加是

表 1 茶质滤嘴对香烟烟气引起小鼠存活时间的影响

组别	数量(只)	体重(g)	存活时间(min)	影响(%)
对照烟	8	28.5±1.9	11.5±1.8	
复合茶质滤嘴烟	8	27.6±1.5	14.9±2.2	32.2%
全茶质滤嘴烟组	8	29.5±1.5	18.0±1.9	60.0%

表 2 茶质滤嘴对香烟烟气引起大鼠骨髓中幼红细胞微核率和 COHb 变化的影响

组别	数量(只)	微核率	影响(%)	COHb(mg/mL)	影响(%)
对照组	5	1.85±1.42		1.27±0.66	
对照烟组	5	14.55±7.06 [#]	+687	8.40±0.42 [#]	+561
茶质滤嘴烟组	5	5.68±2.10 [*]	-60	3.98±0.99 [*]	-53

: P<0.05, 与不吸烟对照相比; *: P<0.05, 与吸对照烟相比

尼古丁引起奖赏效应的重要原因^[37]. 结果表明, 预处理茶氨酸后明显减少尼古丁引起的脑内多巴胺水平的增加.

为了检验茶氨酸是否可以经茶质滤嘴吸入肺, 利用一个特殊装置收集和检测了一支含茶质滤嘴的香烟的烟气, 经 HPLC 检测, 一支含茶质滤嘴的香烟可释放出约 65 μg 的茶氨酸. 暴露于 7 支茶质滤嘴香烟烟气中的大鼠的血浆中检测到约 10 $\mu\text{g/mL}$ 的茶氨酸. 表明在吸烟过程中, 香烟燃烧产生的热气流通过茶质滤嘴时, 可能以蒸馏的方式把茶氨酸从茶质滤嘴带出, 可以进入呼吸道, 志愿者可以通过使用茶质滤嘴吸入茶氨酸, 茶氨酸进入血液循环后很容易通过血脑屏障到达中枢神经系统的靶点^[38], 发挥影响尼古丁依赖的作用. 茶叶中所含成分超过 450 多种, 在茶质滤嘴中可能除茶氨酸外还有其他成分影响尼古丁依赖的作用或和茶氨酸协同作用, 促进戒烟过程. 茶叶中其他有戒烟作用的成分有待进一步研究.

动物实验表明, 茶质滤嘴可以明显减少抽烟引起的急性和慢性毒性分别高达 60% 和 46% (表 1 和 2, 图 6). 特别是茶质滤嘴可以明显减少抽烟引起的突变对防止吸烟引起的肺癌可能具有重要意义. 本实验室先前研究表明, 茶叶中的成分, 如茶多酚等可以

清除烟气中的焦油、自由基、亚硝胺、蒽醌和 PAHs (多环芳烃) 等有害物质^[18-23], 因此茶质滤嘴的减毒作用很可能是茶多酚等天然抗氧化剂.

人体吸入一氧化碳可引起急性中毒和慢性损害. 轻度中毒表现为头痛、头晕、耳鸣、眼花、颞部压迫和搏动感, 并可有恶心、呕吐、心悸和四肢无力等症状. 长期反复吸入一定量的一氧化碳可引起神经和心血管系统损害, 常见的有神经衰弱综合征, 以及心肌损害和动脉粥样硬化. 吸烟会不断吸入的一氧化碳与血红蛋白在红细胞中形成稳定复合物一氧化碳血红蛋白 (COHb), 提高血液中的 COHb 含量^[30,31], 这是吸烟引起心脑血管病的重要因素. 实验结果表明, 大鼠在 0.5 h 吸 7 支烟就可以使血液中的 COHb 含量提高大约 561%, 与吸普通过滤嘴对照香烟大鼠相比, 吸带茶质滤嘴香烟大鼠血液中 COHb 减少了大约 53% (表 2). 这表明茶质滤嘴可以明显减少抽烟引起的吸入一氧化碳产生的 COHb, 茶质滤嘴可能在防止吸烟引起心脑血管病方面有重要意义. 以上结果表明, 茶质滤嘴不仅对吸烟具有祛致瘾作用, 而且具有减害作用.

吸烟不仅可以引起支气管和肺损伤, 还可以导致人类其他疾病, 如癌症、心血管疾病和肺损伤^[1-5],

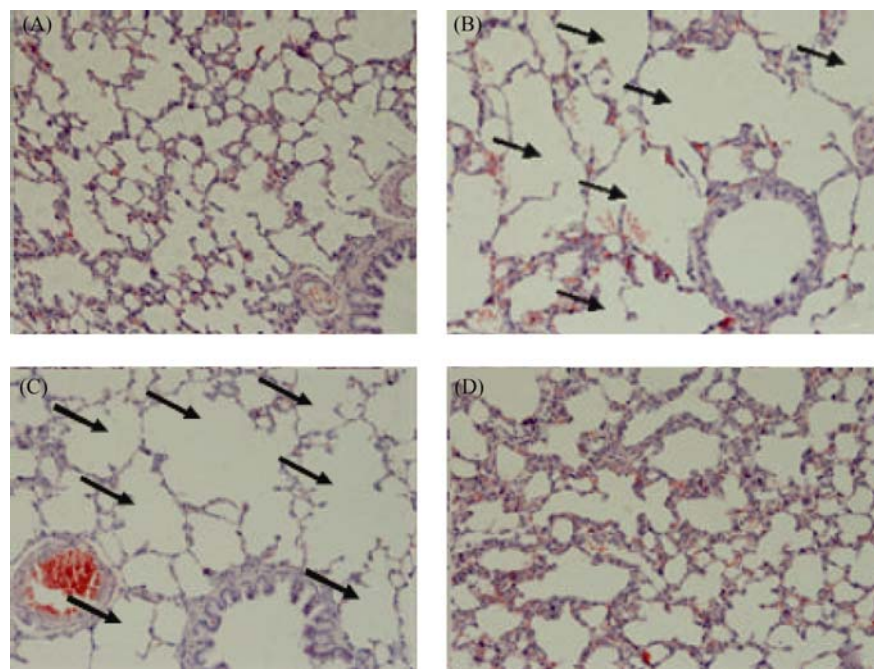


图 6 茶质滤嘴对吸烟引起大鼠肺组织病理变化的影响

(A) 没有经过烟气处理对照组; (B) 和 (C) 对照烟处理 75 天组; (D) 茶质滤嘴烟处理 75 天组. 在对照烟处理组可以看到肺泡破裂 (箭头所示) 等损伤变化, 在茶质滤嘴烟处理组这些损伤明显减少

全球每年有几百万人死于与烟草有关的疾病。为了减少烟草的毒害, 人们研制了各种过滤嘴, 但是这些滤嘴在减少卷烟焦油量的同时, 也使尼古丁含量下降, 无法达到吸烟者的生理要求, 使吸烟者加大吸烟量或者加深了吸烟程度, 增加了吸烟危害性^[39], 治标不治本。因此这些滤嘴很难起到降低吸烟引起相关疾病危险因素的作用。

只有不吸烟或少吸烟才是避免和减少吸烟危害的根本, 这是控烟的基本原则和意义。目前市场上的戒烟产品有两种, 一是尼古丁替代品(NRT), 二是 nAChRs 的抑制剂或者激动剂。这些产品虽然可以帮助一部分吸烟者控烟或戒烟, 但是多数都有不同程度的副作用或使用不便, 如鼻喷剂和口香糖需要反复使用, nAChR 的抑制剂或者激动剂需要看医生, 开处方或通过吃药和打针方式实行, 吸烟者在心理上难以接受^[7~14], 因此影响了戒烟效果。

使用茶质滤嘴克服了以上这些控烟方法的弊端。吸烟者可以和正常吸烟一样在吸烟过程中戒烟, 没有任何心理障碍和生理副作用, 而且比不使用茶质滤嘴的香烟还柔和, 使用也很方便, 在不知不觉中茶氨酸把尼古丁刺激增加的 nAChRs 不断修正恢复到正常水平, 吸烟欲望越来越小, 最后把烟戒断, 不会引起戒烟综合征和应激反应。茶质滤嘴祛除吸烟成瘾在吸烟过程中实现, 是一个循环过程, 每吸一口烟就有茶氨酸由滤嘴中抽出, 经呼吸道吸收进入血液循环到脑的尼古丁受体靶位置, 进行一次抑制过程, 这样不断循环, 直到把烟瘾完全祛除(图 7)。

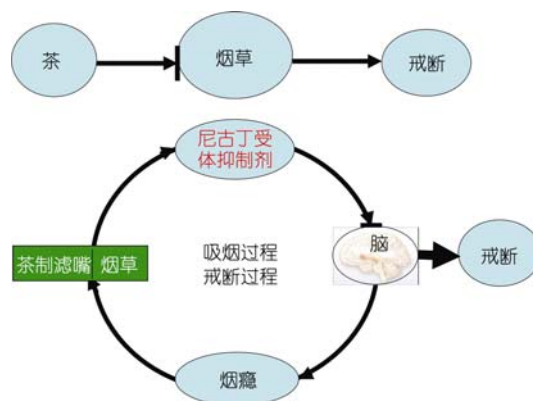


图 7 茶质滤嘴在吸烟过程中戒烟烟瘾的循环过程

吸烟对健康的危害目前仍然是人类面临的重大公共卫生问题, 如中国就有 3.5 亿吸烟者, 而且人数还在不断增加, 并有年轻化的趋势, 印度等发展中国家也是类似情况^[3,40]。稍加改进, 茶质滤嘴就可以很方便地替代原来的香烟滤嘴, 茶质滤嘴也可以直接使用, 而且价格便宜, 很适合在发展中国家使用和普及。茶可能成为大自然赐予人类战胜吸烟危害的最好天然材料。

综上所述, 本工作发现的茶质滤嘴和茶氨酸新材料可以通过抑制 nAChRs 从而抑制吸烟成瘾, 提供了一种新的战胜吸烟危害的有效方法。茶质滤嘴的推广和使用将可以保护当代和后代免受吸烟对健康、社会、环境和经济造成的破坏性影响, 对建设和谐的人类文明社会和国民经济的持续发展具有重要意义。

参考文献

- 1 Chung Y F, Khoo M L, Heng M K, et al. Epidemiology of Warthin's tumor of the parotid gland in an Asian population. *Br J Surg*, 1999, 86: 661—664
- 2 Zhao B. Cigarette, free radicals and cancer. *Nature J*, 1989, 12: 453—460
- 3 Gu D F, Kelly T N, Wu X, et al. Mortality attributable to smoking in China. *N Engl J Med*, 2009, 360: 150—159
- 4 Goddard E. Smoking and drinking among adults 2006. General Household Survey 2006. Newport: Office for National Statistics, 2008
- 5 Mizoue T, Tokui N, Nishisaka K, et al. Prospective study on the relation of cigarette smoking with cancer of the liver and stomach in an endemic region. *Intern J Epidemiol*, 2000, 29: 232—237
- 6 World Health Organization. Updated status of the WHO Framework Convention on Tobacco Control[OL].[2007-1—11].<http://www.who.int/tobacco/framework/>
- 7 Balbani A P S, Montovani J C. Methods for smoking cessation and treatment of nicotine dependence. *Rev Bras Otorrinolaringol*, 2005, 71: 820—826
- 8 Ray R, Schnoll R A, Lerman C. Nicotine dependence: biology, behavior, and treatment. *Annu Rev Med*, 2009, 60: 247—260
- 9 Rigotti A N. Treatment on tobacco use and dependence. *N Engl J Med*, 2002, 346: 506—512

- 10 Peng R L, Wang S L. Nicotine sublingual tablet for smoking cessation in 115 cases: a double-blind randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Rehabil Tissue Engin Res*, 2007, 11: 10443—10446
- 11 Wagena E J, Knipschild P G, Huibers M J H, et al. Efficacy of bupropion and nortriptyline for smoking cessation among people at risk for or with chronic obstructive pulmonary disease. *Arch Intern Me*, 2005, d16: 2286—2292
- 12 Oncken C, Gonzales D, Nides M, et al. Efficacy and safety of the novel selective nicotinic acetylcholine receptor partial agonist, varenicline, for smoking cessation. *Arch Intern Med*, 2006, 166: 1571—1577
- 13 Hays J T, Ebbert J O. Varenicline for tobacco dependence. *N Engl J Med*, 2008, 359: 2018—2024
- 14 Franklin T R, Harper D, Kampman K, et al. The GABA B agonist baclofen reduces cigarette consumption in a preliminary double-blind placebo-controlled smoking reduction study. *Drug Alcohol Depend*, 2009, 103: 30—36
- 15 Jankan J, Selman S H, Swiecz R. Why drinking green tea could prevent cancer. *Nature*, 1997, 387: 661—662
- 16 Mackenzie T, Leary L, Brooks W B. The effect of an extract of green and black tea on glucose control in adults with type 2 diabetes mellitus: double-blind randomized study. *Metabolism*, 2007, 56: 1340—1344
- 17 Guo S H, Yan J, Bezard E, et al. Protective effects of green tea polyphenols in the 6-OHDA rat model of Parkinson's disease through inhibition of ROS-NO pathway. *Biol Psychia*, 2007, 62: 1353—1362
- 18 Yang F, Zhao B, Xin W. Studies on toxicological mechanisms of gas phase of cigarette smoke and protective effects of GTP. *Environm Chem*, 1992, 11: 39—50
- 19 Yang F, Zhao B, Xin W. An ESR study on lipid peroxidation of rat liver microsome induced by gas-phase cigarette smoke. *Environ Chem*, 1993, 12: 116—120
- 20 Gao J, Tang H, Zhao B. The toxicological damagement of gas phase cigarette smoke on cells and protective effect of green tea polyphenols. *Res Chem Intermed*, 2001, 29: 269—279
- 21 Zhao B, Li X, He R, et al. Scavenging effect of extracts of green tea and natural antioxidants on active oxygen radicals. *Cell Biophys*, 1989, 14: 175—184
- 22 Yao E, Zhang J, Tai J, et al. Reducing tobacco-specific nitrosamine in cigarette main stream smoke by using tea filter. *Chinese Agricul Sci Bull*, 2007, 23: 125—128
- 23 Yao E, Zhang J, Mao Z, et al. Application of cellulose containing tea powder acetate dual filter in cigarette. *Tobac Sci Technol*, 2007, 49: 49—50
- 24 Henningfield J E, Stapleton J M, Benowitz N L, et al. Higher levels of nicotine in arterial than in venous blood after cigarette smoking. *Drug Alcohol Depend*, 1993, 33: 23—29
- 25 Nguyen H N, Rasmussen B A, Perry D C. Subtypeselective up-regulation by chronic nicotine of high-affinity nicotinic receptors in rat brain demonstrated by receptor autoradiography. *J Pharmacol Experim Therap*, 2003, 307: 1090—1095
- 26 Laviolette S R, Nader K, van der Kooy D. Motivational state determines the functional role of the mesolimbic dopamine system in the mediation of opiate reward processes. *Behav Brain Res*, 2002, 129: 17—29
- 27 Laviolette S R, van der Kooy D. Blockade of mesolimbic dopamine transmission dramatically increases sensitivity to the rewarding effects of nicotine in the ventral tegmental area. *Molec Psychia*, 2003, 8: 50—55
- 28 Huang E Y, Liu T C, Tao P L. Co-administration of dextromethorphan with morphine attenuates morphine rewarding effect and related dopamine releases at the nucleus accumbens. *Naunyn-Schmiedeberg's Arc Pharmacol*, 2003, 368: 386—389
- 29 Zhang D L, Tao Y, Duan S J, et al. Pycnogenol in cigarette filters scavenges free radicals and reduces mutagenicity and toxicity of tobacco smoke *in vivo*. *Toxicol Indus Health*, 2002, 18: 215—224
- 30 Cardoso W V, Saldiva P H N, Criado P M P, et al. A comparison between the isovolume and the end-inflation occlusion methods for measurement of lung mechanics in rats. *J Applied Toxicol*, 1991, 11: 79—84
- 31 Cendon S P, Battlehner C, Lorenzi-Filho G, et al. Pulmonary emphysema induced by passive smoking: an experimental study in rats. *Braz J Med Biol Res*, 1997, 30: 1241—1247
- 32 Miller R G. Simultaneous statistical inference. New York: Springer, 1981. 230
- 33 Xiu X, Puskar N L, Shanata J A P, et al. Nicotine binding to brain receptors requires a strongcation-p interaction. *Nature*, 2009, 458: 534—538
- 34 Lape R, Colquhoun D, Sivilotti L G. On the nature of partial agonism in the nicotinic receptor superfamily. *Nature*, 2008, 454: 722—728
- 35 Tapper A R, McKinney S L, Nashmi R, et al. Nicotine activation of $\alpha 4$ receptors: sufficient for reward, tolerance, and sensitization. *Science*,

- 2004, 306: 1029—1032
- 36 Picciotto M R, Zoli M, Rimondini R, et al. Acetylcholine receptors containing the 2 subunit are involved in the reinforcing properties of nicotine. *Nature*, 1998, 391: 173—177
- 37 Benwell M E M, Balfour D J K. The effects of acute and repeated nicotine treatment on nucleus accumbens dopamine and locomotor activity. *Br J Pharmacol*, 1992, 105: 849—856
- 38 Bryan J. Psychological effects of dietary components of tea: caffeine and L-theanine. *Nutrition Rev*, 2007, 66: 82—90
- 39 Rigotti N A, Tindle H A. The fallacy of 'light' cigarettes. *BMJ*, 2004, 328: E278—279
- 40 Thankappan K R, Mini G K. Case-control study of smoking and death in India. *N Engl J Med*, 2008, 358: 2842