

表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)对 癌症细胞信号传导链的影响

蒋洁琳¹, 温旭烨¹, 胡雅琼¹, 罗理勇^{1,2,3}, 肖海军⁴, 曾亮^{1,2,3,*}

(1.西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2.重庆市农产品加工技术重点实验室, 重庆 400715;

3.西南大学茶叶研究所, 重庆 400715; 4.大益茶业集团勐海茶业有限责任公司技术中心实验室, 云南 西双版纳 666200)

摘要: 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)是茶叶提取活性物中的重要成分之一, 也是最具潜力的天然化学预防剂之一。EGCG 对多种癌细胞的多条信号通路都有影响, 其对癌细胞信号传导通路影响的结果是抑制癌细胞的增殖、加速癌细胞凋亡以及抑制癌细胞转移、侵袭等。当前研究得较多的是 MAPK、PI3K-Akt、NF- κ B 和 p53 信号通路。本文就近年来 EGCG 对不同癌症细胞信号传导链影响的研究进行综述。

关键词: EGCG; 信号传导; MAPK; PI3K-Akt

Effect of (–)-Epigallocatechin Gallate on Cancer Cell Signal Transduction Chain

JIANG Jie-lin¹, WEN Xu-ye¹, HU Ya-qiong¹, LUO Li-yong^{1,2,3}, XIAO Hai-jun⁴, ZENG Liang^{1,2,3,*}

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. Chongqing Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Chongqing 400715, China;

3. Tea Research Institute, Southwest University, Chongqing 400715, China; 4. Technology Center Laboratory of Menghai Tea Industry Limited Liability Company, TAETEA Group, Xishuangbanna 666200, China)

Abstract: EGCG is not only an important active component in tea extract, but also one of the most potential chemopreventive agents. EGCG has obvious impacts on a variety of signaling pathways in cancer cells, thus leading to the inhibition of cancer cell proliferation, accelerating apoptosis and suppressing cell migration and invasion. Current research is focused on MAPK, PI3K-Akt, NF- κ B and other signaling pathways. In this paper, the effect of EGCG on different signal transduction chains is summarized.

Key words: EGCG; signal transduction; MAPK; PI3K-Akt

中图分类号: R392.3; TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)09-0319-07

茶多酚是茶叶中重要的功能活性成分, 主要由表儿茶素(epicatechin, EC)、表没食子儿茶素(epigallocatechin, EGC)、表儿茶素没食子酸酯(epicatechin-3-gallate, ECG)、表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)组成。其中, EGCG 在各个领域是研究最为广泛的一种多酚类化合物。EGCG 已被证明具有抗病毒、抗肿瘤、抗菌、抗突变、护肝、防治艾滋病和免疫调节等多种功效^[1]。

EGCG 也是茶多酚抑制肿瘤的最重要成分之一, 许

多研究^[2-3]已经证实了 EGCG 在体内可广泛分布并作用于皮肤、食管、胃、肠、肝脏、胰腺、前列腺等多个组织及器官, 且没有毒副作用。因此, EGCG 作为一种安全有效的肿瘤抑制药物备受关注。目前许多癌症的治疗和预防研究中, 都将 EGCG 作为一种高效的天然化学预防剂。Siddiqui 等^[4]研究表明 EGCG 在体内外均具有凋亡各种癌细胞的潜力, 对细胞增殖和血管生成都有抑制作用。

信号传导是细胞外因子通过与受体(膜受体或核受体)

收稿日期: 2011-06-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(31100500); 重庆市科委自然科学基金计划项目(CSTC, 2009BB1132);

西南大学中央高校基本科研业务费专项基金项目(XDJK2009C045)

作者简介: 蒋洁琳(1989—), 女, 硕士研究生, 研究方向为茶资源开发利用。E-mail: 372389924@qq.com

* 通信作者: 曾亮(1980—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为茶及天然产物。E-mail: zengliangbaby@126.com

结合,引发细胞内一系列的生物化学反应直至细胞生理所需基因的转录表达开始的过程。信号传导的经典途径为细胞外因子、受体、连接蛋白、G蛋白、第二受体、胞内激酶及核受体。在肿瘤细胞中由于基因调控紊乱,导致细胞信号传导网络的异常,使细胞处于失控性生长状态^[5]。越来越多的证据表明,类黄酮物质可以在不同的信号传导通路(细胞周期蛋白依赖性激酶(CDKs)、对半胱氨酸蛋白酶(caspases)、Bcl-2家族成员、上皮生长因子受体(EGFR)、PI3K-AKT、MAPK和NF- κ B等实行调节作用,这可能是通过调节基因或者磷酸化蛋白质来影响细胞功能,有利于抑制癌症^[6]。研究还表明,EGCG与抑制癌细胞增殖之间存在剂效关系,高浓度和低浓度的EGCG对同一个信号物质产生的效应也不同^[6]。本文就近年来EGCG对不同癌细胞的信号传导通路链影响的研究进行综述。

1 EGCG对MAPK信号通路的影响

丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase pathway, MAPK)通路是细胞内重要的信号传导途径,在细胞的恶性转化和肿瘤的产生及发展中起重要作用。MAPK主要包括以下4类:细胞外信号调节激酶(ERK)、c-Jun氨基末端激酶(JNK)、p38激酶以及大丝裂原活化蛋白激酶(BMK1/ERK5)。其中ERK的激活与细胞增殖有关;JNK与细胞应激和细胞凋亡有关;p38与炎症反应有关;BMK1/ERK5可能与细胞增殖和细胞周期有关^[7]。

环氧合酶(COX)催化是前列腺素合成的限速步骤。在哺乳动物组织中至少有两个亚型:COX-1和COX-2,而COX-2亚型主要参与炎症反应^[8]。Park等^[9]用巨噬细胞系Raw264.7研究EGCG对前列腺素E₂(PGE₂)的生成和速率限制酶环氧合酶-2(COX-2)在合成PGE₂时表达的影响。结果表明,EGCG可以上调COX-2的表达并促使PGE₂的生成。MAPK信号通路在EGCG介导下表达COX-2。MEK抑制剂(MEK是MAPK信号传导通路中的环节)阻止EGCG诱导COX-2的表达,然而钒酸钠(蛋白质酪氨酸磷酸酶抑制剂)显著增强COX-2的表达和PGE₂的生成。该报道首次证明了EGCG介导COX-2的表达和PGE₂的生成与ERK和蛋白-酪氨酸磷酸酶信号通路有关。

EGCG作用于不同的癌细胞可以针对MAPK通路当中的多个靶点进行调节抑制。Zhao Yanbo等^[10]的研究证明了EGCG促进人上皮细胞中因血清缺乏引起的连接蛋白43(Cx43)间隙连接的下调,这是通过ERK和MAP激酶通路得以实现的。Koh等^[11]研究EGCG在口腔癌细胞中抑制HGF诱导的进程,结果表明EGCG能够显著抑制HGF诱导的Met磷酸化、细胞的生长入侵和MMP-2与MMP-9的表达。EGCG阻断HGF诱导的c-Met磷酸化即下游激酶AKT和ERK的磷酸化,EGCG抑制p-AKT和p-ERK

与增加p38、JNK、Caspase-3及聚ADP-核聚糖合酶有关。Wu Haitao等^[12]调查研究在人外周血嗜碱性白血病KU812细胞中EGCG对IL-13基因表达的影响。结果EGCG上调了IL-13基因的表达。EGCG处理细胞后,还观察到核移位、mRNA表达上调,DNA结合激活T细胞核因子(NFATc1)IL-13启动子的活性。这些都表明EGCG在KU812细胞中可以通过JNK依赖NFATc1途径诱导IL-13的表达。肽聚糖(PGN)诱导ERK1/2、p38和JNK的磷酸化被EGCG以剂量依赖的方式抑制。说明EGCG通过与癌细胞表面受体67kD层黏连蛋白受体结合抑制经PGN诱导的MAPK信号通路的活性^[13]。

人表皮角质层细胞(NHEK)暴露在紫外线下会释放H₂O₂并使MAPK信号通路的磷酸化。Katiyar等^[14]的研究证明EGCG能够抑制NHEK经紫外线辐射诱导后细胞内释放H₂O₂的产物和H₂O₂介导的ERK、JNK和p38 MAPK信号通路的磷酸化。这为EGCG可以用来治疗由紫外线引起一系列的皮肤疾病如皮肤癌等提供依据。

然而,EGCG对MAPK信号通路的作用仍然存在争议。如上述研究,EGCG对MAPK信号通路中的蛋白激酶起抑制作用。EGCG可以抑制细胞外信号调节激酶1和2(ERK1/2)的磷酸化,抑制p38 MAPK在人纤维肉瘤HT1080细胞中的活性^[15]。然而,EGCG也被发现在人肝癌HepG2-C8细胞中以剂量和时间依赖的方式激活3种MAPKs(ERK、JNK和P38)。低浓度的EGCG通过激活MAPK诱导介导蛋白激酶基因的表达,而高浓度的EGCG引起MAPK激活的结果是导致细胞凋亡^[16]。

2 EGCG对PI3K-AKT信号通路的影响

磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)家族作为生长因子受体活化后产生3'磷酸肌醇脂质。PI3K的脂质产物作为第二信使结合并激活多种细胞内靶蛋白,从而形成一个信号级联复合物。最终调节细胞的活动,如细胞增殖、分化、存活和迁移等^[17]。PI3K及其下游分子丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶Akt所组成的信号通路与癌症的相关性很大,因此备受关注。PI3K-Akt信号通路在被激活后,可以引起一系列反应,包括癌细胞的生长、增殖和转移等。许多肿瘤细胞的存活和生长对PI3K-Akt信号通路有依赖,然而阻断该信号通路后,具有高水平的Akt癌细胞生长就会受到抑制开始凋亡^[18]。

现国内已有许多研究证明EGCG能够通过PI3K-Akt信号通路对多种癌细胞进行抑制。陈晓燕等^[19]对表没食子儿茶素没食子酸酯EGCG通过PI3K-AKT通路对人胃癌BGC-823细胞周期调控的分子机制研究表明,EGCG能够抑制BGC-823细胞的生长。EGCG可以下调PI3K-AKT信号通路蛋白Akt的磷酸化表达以及抑制下游周期相关蛋白Cyclin D1的表达。该实验验证EGCG能够通过PI3K-

Akt 信号通路来诱导胃癌细胞的周期阻滞。王锋^[20]研究表明 p-Akt 蛋白的表达在 EGCG+A/R(缺氧/复氧)组较 A/R 组显著增加, 差异显著($P < 0.01$), 因而证明 EGCG 对心肌细胞缺氧/复氧损伤具有保护作用, 提出这种保护作用可能与 EGCG 激活细胞内 PI3K-AKT 信号转导通路有关。秦杰等^[21]将 EGCG 作用于人膀胱癌 T24 细胞, 发现 EGCG 能够激活 T24 细胞 Caspase-3 和 PARP, 使 phospho-Thr308-Akt 和 phospho-Ser473-Akt 的表达逐渐降低, 但 t-Akt 未改变, 表明 EGCG 诱导人膀胱癌 T24 细胞凋亡的作用可能和抑制 PI3K-Akt 信号通路的激活有关。另外, 赵琦等^[22]研究发现 EGCG 能明显抑制人肝癌细胞株 SMMC2721 的增殖能力, 肝癌细胞中 p-Akt(ser473)蛋白的表达随着 EGCG 浓度的增加明显降低, 说明 EGCG 可通过抑制 Akt 信号通路而诱导肝癌细胞凋亡。

国外也有许多关于 EGCG 与 PI3K-Akt 信号通路的相关研究。EGCG 被发现可以抑制 PI3K/Akt 的活化, 反过来可以调节 Bcl-2 家族蛋白, 其最终结果可以加速膀胱癌细胞的凋亡^[23]。EGCG 还能在体外通过阻止 Akt 分子的血管内皮钙黏附蛋白(vasoendothelial-cadherin, VE-cadherin)磷酸化和失活来抑制血管内皮生长因子(VEGF)诱导血管生成^[24]。这表明 EGCG 具有抑制 Akt 信号通路的作用。研究进一步表明 EGCG 抑制头颈部鳞状癌细胞 YCU-H891 和 MDA-MB-231 乳腺癌细胞的 Akt、EGFR 和 Stat3 的组成性激活。Larsen 等^[25]在比较 EGCG 和 Met 抑制剂 SU11274(这两者都作为 HCT116 人结肠癌细胞 Met 信号的抑制剂)时, 发现 EGCG 和 SU11274 抑制 Met 磷酸化水平的 IC_{50} 值分别是 $3.0 \mu\text{mol/L}$ 和 $0.05 \mu\text{mol/L}$, 同时下游 Erk 和 Akt 信号通路也被抑制。两种化合物同时处于 $5 \mu\text{mol/L}$ 的低浓度时, EGCG 比 SU11274 更能降低细胞活性和增殖。另外, Bartholome 等^[26]证明 EGCG 可以调节培养基中人皮肤纤维母细胞的 FoxO 转录因子。 $1 \mu\text{mol/L}$ 的 EGCG 刺激 FoxO 转录因子的核聚集与 DNA 的结合活性。这个效果在高浓度的 EGCG($100 \mu\text{mol/L}$)条件下被隐藏, 高浓度 EGCG 使得细胞培养液中生成过氧化氢, 刺激 PI3K/Akt 信号并且衰减 FoxO 的活性, 包括 FoxO 磷酸化、核排斥以及衰减 DNA 的结合能力。

此外, Aller 等^[27]研究证明 EGCG 影响 PI3K-Akt 信号传导通路来抗癌的另外一个重要分子机制: EGCG 是一个 PI3K 和 mTOR 的 ATP 竞争抑制剂。Aller 等^[27]分析 PI3K 信号通路在大量人类癌症细胞中处于激活状态, 不是直接通过遗传突变或者间接通过受体酪氨酸激酶激活, 就是通过 PTEN 肿瘤抑制剂的失活。这一通路的关键节点已经成为治疗癌症的突破点。EGCG 抑制 PI3K 和 mTOR 的效力和它的生理浓度相关。此外, EGCG 还抑制 MDA-MB-231 和 A549 细胞的增殖以及 Akt 的磷酸化。

分子对接研究表明 EGCG 能与 PI3K 激酶主要活性部位结合良好, 这一发现与 EGCG 竞争 ATP 结合一致^[27]。

3 EGCG 对 NF- κ B 信号通路的影响

目前, 核因子 κ B(NF- κ B)信号通路被广泛认可, 它在控制细胞生长、凋亡、炎症、应激反应和其它生理过程中都起到非常重要的作用。信号通路 NF- κ B 中有几个重要的分子如 NF- κ B、I κ B、IKK。其中 NF- κ B 是这个通路中的关键蛋白, 它是癌症治疗的关键靶点^[28]。

Giakoustidis 等^[29]证明 EGCG 可以抑制 I/R(缺血/再灌注)诱导的细胞凋亡从而抑制 NF- κ B 和 c-Jun 信号传导通路。在人类上皮癌(A431)细胞内 EGCG 可以通过抑制 I κ B α 在细胞质中的降解从而抑制 NF- κ B 转移到细胞核的活性和易位, 呈显著的剂量和时间依赖性。在 A431 细胞中, EGCG 能降低细胞质和细胞核中 NF- κ B 的水平, 并且能以剂量依赖的方式抑制肿瘤坏死因子 TNF- α 和内毒素 LPS 介导 NF- κ B 的活化^[30]。EGCG 也可以抑制 ATP 诱导 NF- κ B 活化^[31]与白细胞介素 IL-1 β 诱导 NF- κ B 活化^[32]。Jeong 等^[33]发现在人类大肠癌细胞 HT-29 中, EGCG 能减少脂多糖诱导 I κ B α 的磷酸化。

4 EGCG 对 p53 信号通路的影响

Gupta 等^[34]已经证明在前列腺癌细胞 LNCaP 中, EGCG 可导致 p53 呈剂量依赖性增加。EGCG 能够影响 p53 基因的稳定性且上调它的转录活性, 从而激活它的下游目标如 p21WAF1 和 Bax 并且诱导癌细胞凋亡。在人类肝癌细胞中, EGCG 能够显著增加 p53 和 p21WAF1 蛋白的表达, 导致细胞周期阻滞^[35]。Roy 等^[36]的研究也表明 EGCG 能上调 p53 蛋白表达及其 15 位丝氨酸磷酸化水平, 使 Bax/Bcl-2 值增大, 促进细胞凋亡。另外, Yamauchi 等^[37]用肺癌细胞进行研究, 发现 EGCG 抑制细胞凋亡的能力与信号通路 p53 有关。

5 EGCG 对其他信号通路的影响

5.1 人胰岛素生长因子(IGF)信号通路

卢强^[38]研究表明用 EGCG 作用于人前列腺癌 PC3 细胞后, 发现 EGCG 对 PC3 细胞生长有明显的抑制作用, 显著诱导细胞凋亡, 这两种作用呈明显的剂量和时间效应关系。IGF-I 与 IGF-II 可以刺激 PC3 细胞增殖、抑制细胞凋亡, EGCG 可以阻断外源性 IGF-I、IGF-II 对 PC3 的作用并且减少 PC3 细胞在生长过程中分泌的 IGF-I 和 IGF-II。EGCG 还可以阻断由外源性 IGF-II 刺激 PC3 细胞 IGF-I mRNA 和 IGF-II mRNA 表达上调。另外, 外源性 IGF-I 和 IGF-II 可以促进 IGF 信号通路系统中关键因子 p-IGF-1 β R 蛋白及 p-Akt 蛋白的表达, EGCG 可以

抑制人前列腺癌 PC3 细胞的这种表达, 并且可以阻断外源 IGF-I 和 IGF-II 对这两种因子的上调刺激作用。

5.2 (pRb)-E2F/DP 通路

Ahmad 等^[39]研究 EGCG 对视网膜细胞瘤参与(pRb)-E2F/DP 通路抗增殖作用的影响。免疫印迹分析表明 EGCG 处理 A431 细胞导致总 pRb 以剂量和时间依赖下降, 超磷酸化形式的 pRb 相对有所增加。研究发现, EGCG 均以剂量和时间依赖性的方式下调 pRb 蛋白家族成员的表达, 即 p130 和 p107。这种反应伴随着转录因子 E2F 蛋白家族及其异二聚体搭档 DP1 和 DP2 表达下调。因此, 可以得出 EGCG 能下调磷酸化 pRb 蛋白, 同时超磷酸化的 pRb 相对有所增加, 这反过来顺应可利用的自由 E2F。这一系列的因子使细胞周期停留在 G₀/G₁ 期并导致细胞凋亡。这是第一个研究显示 pRb-E2F/DP 通路参与的 EGCG 抗增殖和细胞凋亡作用。

5.3 Nrf2-ARE 信号通路

越来越多的证据表明活性核转录因子 E2 相关因素 2 (Nrf2)介导抗氧化反应元件(AREs)激活许多细胞保护酶(包括谷胱甘肽 S- 转移酶(GST)、NAD(P)H 还原酶、血红素加氧酶(HO-1)、醛脱氢酶、醛-酮-还原酶、微粒环氧化物水解酶、G- 谷氨酸半胱氨酸连接酶和谷胱甘肽合成酶等), 它们可以清除由致癌物质形成的有害活性中间体并解除活性中间体产生的毒性。因此活化 Nrf-ARE 信号通路被认为是一种有效化学预防癌症的方法^[40]。EGCG 被证明能增加 Nrf2 的转录活性与 ARE 的结合能力^[41], 且能激活 B 淋巴母细胞、上皮和血管内皮细胞中 Nrf2 介导 HO-1 基因的表达^[41-43]。Sahin 等^[44]研究表明 Nrf2/HO 信号通路是 EGCG 阻止顺铂引起的肾毒的主要途径。Nair 等^[45]的研究结果也表明了 EGCG 能调节前列腺癌细胞中 Nrf2 介导的基因表达。

5.4 AR 和 ER 信号通路

前列腺癌的体内和体外研究证明了 EGCG 对 AR 信号的抑制作用。EGCG 抑制 LNCaP 细胞生长和 AR 在 mRNA 和蛋白水平的表达^[46]。此外, PSA 启动子和 PSA 表达诱发雄性激素, 而 EGCG 能显著抑制这个诱发的过程。不同的前列腺癌细胞 LNCaP 分线代表不同阶段的前列腺癌, EGCG 抑制细胞增殖、AR 转录和 PSA 在各个阶段的表达^[47]。另外, 小鼠实验证明, EGCG 在体内明显减少细胞增殖, 诱导癌细胞凋亡, 减少 AR、IGF-1、COX-2 和 iNOS 在体内的表达^[48], 证明 EGCG 在体内外对 AR 信号有抑制作用。

EGCG 还被证明可以绑定到 ER α 和 ER β 上, 并在体外引起 ER 介导基因表达。体内外实验研究表明来自绿茶多酚类儿茶素(EGCG 和 ECG)能绑定到 ER α 和 ER β 并抑制乳腺癌细胞增殖和肿瘤生长; 只有 EGCG 可以引起 ER 介导的基因表达^[49], 这表明多酚类儿茶素可以通过 ER 依赖或不依赖途径发挥它们的化学预防作用。

6 EGCG 对肠黏膜信号通路的影响

肠道上皮一直暴露于各种各样的营养物质和微生物群, 导致肠处于永久应力状态。肠道黏膜表面是病原微生物进入宿主的主要途径, 也是微生物引起疾病的重要位点。肠黏膜在食品过敏或致病性细菌入侵上皮后受损, 这可能会导致急性炎症^[50]。炎症性肠道疾病是肠道黏膜处于发炎状况^[51]。

结肠癌极适用于膳食干预, 这是因为多酚在肠道的生物利用率较高, 如儿茶素能够在消化道达到一定的浓度, 超过了它在机体中其他器官的浓度^[52]。服用 EGCG 后, EGCG 保留在胃肠道中, 对炎症肠病和结肠癌有预防作用^[50]。同时, EGCG 与口腔消化道上皮有直接接触, 这使得其成为很好的癌症化学预防位点^[53]。在众多主要的信号通路当中, NF- κ B 和 MAPK 在肠道炎症反应发挥着至关重要的作用。许多体外实验表明, EGCG 能够干扰肠细胞的 NF- κ B 和 MAPK 信号通路^[50,54]。Porath 等^[50]证明了 EGCG 通过抑制趋化因子和 PEG2 的产物, 衰减结肠癌的细胞系 HT29 和 T84 结肠癌细胞的炎症反应。这些细胞系被用作肠道黏膜疾病的模型有着不同的起源和表型。虽然该研究在 EGCG 对体外胃肠炎症有作用, 因此, 有必要进行体内实验来证实 EGCG 预防和减轻胃肠紊乱。Romier 等^[54]也证明了 EGCG 可以调节肠 NF- κ B 活性通路, 抑制 I κ B- α 磷酸化。

在 Apc^{Min} 和 A33 ^{Δ N β -cat} 小鼠的正常肠道黏膜, EGCG 和白茶能够与舒林酸结合衰减 β -catenin 蛋白的表达。 β -catenin/Tcf 报道基因的表达被 EGCG 在转染细胞抑制, 同时, β -catenin/Tcf 靶基因细胞周期蛋白 D1 和 c-Jun 在体内被茶加舒林酸下调。证明 EGCG 直接或间接作用于 β -catenin/Tcf 信号通路, 高效抑制 Apc^{Min} 小鼠肠瘤^[55-56]。

Volate 等^[52]调查绿茶(green tea, GT)对 AOM/Apc^{Min/+} 小鼠大肠癌发生的可能抑制机理, 用 0.6% 的 GT 汤喂养小鼠 8 周, 结果发现, 经 GT 处理, 能显著降低新形成的肿瘤数量。GT 能降低 β -catenin 水平并下调目标细胞周期蛋白 D1。结果还证明低浓度的 GT 足以调节 RXR α 并抑制 AOM/Apc^{Min/+} 小鼠肠道致癌。在 Apc^{Min} 小鼠肠道癌模型中, 用 0.02%~0.32% EGCG 溶液作为小鼠的唯一饮食, 小鼠能够以剂量依赖的方式抑制自发形成的小肠肿瘤。这可能是通过衰减致癌过程达到了, 包括抑制异常的 β -catenin 信号和抑制 Akt 和 ERK 信号级联活化^[57]。另外, Abboud 等^[58]的研究也证明了 EGCG 可以通过抑制 NF- κ B 和 AP-1 的激活来降低 TNBS 诱导的结肠损伤。

7 结 语

食品提供给人类的不仅仅是生命必需的营养物质, 同样也可以提供促进健康和预防疾病的其他活性成分。水果、蔬菜、谷物和其他植物性食物的活性非营养植

物化学物质,在预防癌症与慢性疾病发挥着至关重要的作用。其中茶叶中的多酚类尤其是EGCG,在现在慢性疾病、癌症发病率高的时期备受关注。

EGCG可以通过调节细胞信号传导通路达到防癌抗癌的效果:诱导癌细胞凋亡、细胞周期阻滞、调控抗癌基因、抑癌基因表达等^[5],有望成为功能性食品和膳食补充剂中的重要成分。EGCG的抗癌作用在动物和细胞实验已经有了很好的效果,然而应用到临床实验中却存在一个很大的问题:生物利用率很低。有研究者^[59]让老鼠口服EGCG,在组织中检测到的量仅为摄入量的0.0003%~0.45%。而且游离EGCG的半衰期很短,在4h之内完全降解^[4]。大部分恶性肿瘤中存在的叶酸受体比正常细胞高出许多倍。叶酸介导的EGCG白蛋白纳米粒能明显提高EGCG对癌细胞的靶向效果,并提高了对癌细胞的致死作用^[60]。同时,Tachibana等^[61]发现,大部分癌细胞表面存在67kD层黏连蛋白受体,它的表达与肿瘤的侵袭和转移高度相关,而该蛋白受体能够与EGCG高亲和力结合。因此,在研究和开发含有EGCG的功能性食品和膳食补充剂时需要考虑到上述问题。

现在药物的纳米化技术正在不断发展,它有许多传统药物没有的优势。就生物利用率而言,有研究^[62]表明,纳米EGCG经口服后,体内的生物利用率较自由EGCG高两倍。纳米粒子介导的传递,可以将EGCG持续释放,使得EGCG在体内保持一个相对稳定的浓度,不至于过高而产生的感知毒性。另有研究表明,高浓度的EGCG和低浓度的EGCG对细胞信号通路产生的作用也是不一样的。50 $\mu\text{mol/L}$ 的EGCG作用6h增加了启动凋亡基因的mRNA如Bax和GADD45(细胞周期抑制剂)表达,同时减少抗凋亡Bcl-2和Bcl-xL mRNA表达。低浓度的EGCG(1 $\mu\text{mol/L}$)诱导Bax和Caspase-6基因表达的降低,唤起生存和保护机制^[63]。Siddiqui等^[64]研究表明,纳米化后的EGCG比游离EGCG有10倍的剂量优势。通过EGCG纳米化以期在原有对各种信号通路调节等作用的基础上达到更好的效果。

抗氧化剂和活性物质的研究促进了膳食补充剂和保健品行业的发展。膳食补充剂的消费也日益增长。然而,大多数的活性物如EGCG的研究都处于化学分析、体外实验和动物实验,人为干预研究少之又少。Shimizu等^[65]让用已经用息肉切除术去除大肠腺瘤的患者每天服用1.5g GT提取物补充剂12个月,与没有服用GT提取物的患者比较,这些患者生成异时大肠腺瘤的较少。该研究首次提出了用GT提取物作为补充剂来预防患者的大肠腺瘤,且结果是显著安全的。Liu Ruihai^[66]提出了将植物化学物质作为膳食补充剂或功能性食品时应该区分好医药剂量和生理剂量,其中生理剂量是为了提高和维持健康的剂量。在纳米EGCG用于膳食补充剂

对信号通路进行调节之前,彻底、长期安全性研究调查是有必要的。

将纳米EGCG添加到功能性食品或膳食补充剂在未来的保健品行业中有很大的情景。可达到以下几点传统EGCG没有的优势:1)含有纳米EGCG的功能性食品比普通EGCG的功能性食品更容易被人体吸收,生物利用率大大提高;2)含纳米EGCG的功能性食品具有纳米粒子的缓释特性,避免高浓度的EGCG给人体带来的感知毒性;3)与其他多种植物非营养化合物联用(如VA、鱼油、姜黄素等),发挥出更大的功效;4)含纳米EGCG的功能性食品经粒子表明修饰,经食用后,可以提高对目的器官和组织细胞的靶向性。但是,在未来探索研究过程,含纳米EGCG的功能性食品的开发必定得经历充分完善的体内外实验以及安全性研究,才能够进入市场带给人们健康。

参考文献:

- [1] 解奕瑞,朱彪.表没食子儿茶素没食子酸酯对艾滋病防治作用的研究进展[J].国际流行病学传染病学杂志,2006,22(5):336-339.
- [2] 靳西凤,冉志华. EGCG和染料木黄酮在肿瘤细胞信号传导中的作用[J].世界华人消化杂志,2006,14(15):1507-1511.
- [3] ISBRUCKER R A, BAUSCH J, EDWARDS J A, et al. Safety studies on epigallocatechin gallate (EGCG) preparations. Part 1: genotoxicity [J]. Food and Chemical Toxicology, 2006, 44: 626-635.
- [4] SIDDIQUI I A, MUKHTAR H. Nanochemoprevention by bioactive food component: a perspective[J]. Pharm Res, 2010, 27: 1054-1060.
- [5] 陈志鸿,罗招阳.表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)抗肿瘤研究进展[J].中国肿瘤,2006,15(7):453-456.
- [6] SONIA R. Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention[J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2007, 18(7): 417-442.
- [7] 吴向华,路云飞. MAPK信号传导通路及乳腺癌关系的研究进展[J].广东医学,2010,31(4):526-528.
- [8] SMITH W L, DEWITT D L. Prostaglandin endoperoxide H synthases-1 and -2[J]. Adv Immunol, 1996, 62: 167-215.
- [9] PARK J W, CHOI Y J, SUH S I, et al. Involvement of ERK and protein tyrosine phosphatase signaling pathways in EGCG-induced cyclooxygenase-2 expression in Raw 264.7 cells[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2001, 286(4): 721-725.
- [10] ZHAO Yanbo, YU Lu, XU Shengjie, et al. Down-regulation of connexin43 gap junction by serum deprivation in human endothelial cells was improved by (-)-epigallocatechin gallate via ERK MAP kinase pathway[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2010, 404: 217-222.
- [11] KOH Y, CHOI E, KANG S, et al. Green tea (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits HGF-induced progression in oral cavity cancer through suppression of HGF/c-Met[J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2011, 22(11): 1074-1083.
- [12] WU Haitao, QI Hang, IWASAKI D, et al. JNK-dependent NFATc1 pathway positively regulates IL-13 gene expression induced by (-)-epigallocatechin-3-gallate in human basophilic KU812 cells[J]. Free Radical Biology & Medicine, 2009, 47: 1028-1038.
- [13] BYUN E H, OMURA T, YAMADA K, et al. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate inhibits TLR2 signaling induced by pepti-

- doglycan through the polyphenol sensing molecule 67-kDa laminin receptor[J]. FEBS Letters, 2011, 585: 814-820.
- [14] KATIYAR S K, AFAQ F, AZIZUDDIN K, et al. Inhibition of UVB-induced oxidative stress-mediated phosphorylation of mitogen-activated protein kinase signaling pathways in cultured human epidermal keratinocytes by green tea polyphenol (–)-epigallocatechin-3-gallate[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2001, 176(2): 110-117.
- [15] MAEDA Y M, SUZUKI N, SAWAI Y, et al. Association of suppression of extracellular signal-regulated kinase phosphorylation by epigallocatechin gallate with the reduction of matrix metalloproteinase activities in human fibrosarcoma HT1080 cells[J]. J Agric Food Chem, 2003, 51(7): 1858-1863.
- [16] CHEN Chi, YU Rong, OWUOR E D, et al. Activation of antioxidant-response element (ARE), mitogen-activated protein kinases (MAPKs) and caspases by major green tea polyphenol components during cell survival and death[J]. Archives of Pharmacol Research, 2000, 23(6): 605-612.
- [17] VARA J, CASADO E, CASTRO J, et al. PI3K/Akt signaling pathway and cancer[J]. Cancer Treatment Reviews, 2004, 30(2): 193-204.
- [18] 席广民, 牛瑞芳. PI3K-Akt 信号通路阻断在乳腺癌治疗中的作用[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2007, 14(3): 230-233.
- [19] 陈晓燕, 王强, 文小玲, 等. EGCG 经 PI3K-AKT 信号通路诱导人胃癌 BGC-823 细胞 G1 期阻滞[J]. 南华大学学报: 医学版, 2008, 36(3): 310-313.
- [20] 王锋. EGCG 预处理在心肌细胞缺氧/复氧损伤中的保护作用及其细胞内 PI3K-AKT 信号通路的研究[D]. 南昌: 南昌大学医学院, 2009.
- [21] 秦杰, 郑祥毅, 王云彬, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯对人膀胱癌 T24 细胞凋亡的影响[J]. 杭州师范学院学报: 医学版, 2008, 28(1): 5-8.
- [22] 赵琦, 赵振华. 探讨 EGCG 对人肝癌细胞体外增殖和凋亡的影响及机制[J]. 中国医疗前沿, 2011, 6(4): 17-18.
- [23] SHAO Z M, SHEN Z Z, LIU C H, et al. Curcumin exerts multiple suppressive effects on human breast carcinoma cells[J]. Int J Cancer, 2009, 8: 234-240.
- [24] KATIYAR S K, AFAQ F, PEREZ A, et al. Green tea polyphenol (–)-epigallocatechin-3-gallate treatment of human skin inhibits ultraviolet radiation-induced oxidative stress[J]. Carcinogenesis, 2001, 22: 287-294.
- [25] LARSEN C A, DASHWOOD R H. (–)-Epigallocatechin-3-gallate inhibits Met signaling, proliferation, and invasiveness in human colon cancer cells[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2010, 501: 52-57.
- [26] BARTHOLOME A, KAMPKOTTER A, TANNER S, et al. Epigallocatechin gallate-induced modulation of FoxO signaling in mammalian cells and *C. elegans*: FoxO stimulation is masked via PI3K/Akt activation by hydrogen peroxide formed in cell culture[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2010, 501: 58-64.
- [27] ALLER G, CARSON J, TANG Wei, et al. Epigallocatechin gallate (EGCG), a major component of green tea, is a dual phosphoinositide-3-kinase/mTOR inhibitor[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2011, 406: 194-199.
- [28] SARKAR F H, LI Yiwei. Cell signaling pathways altered by natural chemopreventive agents[J]. Mutation Research, 2004, 555: 53-64.
- [29] GIAKIOUSTIDIS D, GIAKIOUSTIDIS A, ILIADIS S, et al. Attenuation of liver ischemia/reperfusion induced apoptosis by epigallocatechin-3-gallate via down-regulation of NF- κ B and c-Jun expression[J]. Journal of Surgical Research, 2010, 159: 720-728.
- [30] AHMAD N, GUPTA S, MUKHTAR H, et al. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate differentially modulates nuclear factor κ B in cancer cells versus normal cells[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2000, 376(2): 338-346.
- [31] GUO Shangqin, LU Jun, SUBRAMANIAN A, et al. Microarray-assisted pathway analysis identifies mitogen-activated protein kinase signaling as a mediator of resistance to the green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate in her-2/nue-overexpressing breast cancer cells [J]. Cancer Research, 2006, 66(10): 5322-5329.
- [32] KIM S J, JEONG H J, LEE K M, et al. Epigallocatechin-3-gallate suppresses NF-kappaB activation and phosphorylation of p38 MAPK and JNK in human astrocytoma U373MG cells[J]. Journal of Nutr Biochem, 2007, 18(9): 587-596.
- [33] JEONG W S, KIM I W, HU R, et al. Modulatory properties of various natural chemopreventive agents on the activation of NF- κ B signaling pathway[J]. Pharm Res, 2004, 21: 661-670.
- [34] GUPTA S, AHMAD N, NIEMINEN A L, et al. Growth inhibition, cell-cycle dysregulation, and induction of apoptosis by green tea constituent (–)-epigallocatechin in androgen-sensitive human prostate carcinoma cells[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2000, 164(1): 82-90.
- [35] KUO P L, LIN C C. Green tea constituent (–)-Epigallocatechin-3-gallate inhibits Hep G2 cell proliferation and induces apoptosis through p53-dependent and fas-mediated pathways[J]. Journal of Biomedical Science, 2003, 10(2): 219-227.
- [36] ROY A M, BALIGE M S, KATIYAR S K. Epigallocatechin-3-gallate induces apoptosis in estrogen receptor-negative human breast carcinoma cells via modulation in protein expression of p53 and Bax and caspase-3 activation[J]. Mol Cancer Ther, 2005, 4(1): 81-90.
- [37] YAMAUCHI R, SASAKI K, YOSHIDA K. Identification of epigallocatechin-3-gallate in green tea polyphenols as a potent inducer of p53-dependent apoptosis in the human lung cancer cell line A549[J]. Toxicology in Vitro, 2009, 23: 834-839.
- [38] 卢强. EGCG 抗前列腺癌作用与 IGF 信号通路系统的关系及其机制研究[D]. 长沙: 中南大学, 2010.
- [39] AHMAD N, ADHAMI V, GUPTA S, et al. Role of the retinoblastoma (pRb)-E2F/DP pathway in cancer chemopreventive effects of green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2002, 398(1): 125-131.
- [40] ZHAO Cuirong, GAO Zuhua, QU Xianjun. Nrf2-ARE signaling pathway and natural products for cancer chemoprevention[J]. Cancer Epidemiology, 2010, 34(5): 523-533.
- [41] NA H K, KIM E H, JUNG J H, et al. (–)-Epigallocatechin gallate induces Nrf2-mediated antioxidant enzyme expression via activation of PI3K and ERK in human mammary epithelial cells[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2008, 476(2): 171-177.
- [42] WU C C, HSU M C, HSIEH C W, et al. Upregulation of heme oxygenase-1 by epigallocatechin-3-gallate via the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and ERK pathways[J]. Life Sci, 2006, 78(25): 889-897.
- [43] ANDREADI C K, HOWELLS L M, ATHERFOLD P A, et al. Involvement of Nrf2, p38, B-Raf, and nuclear factor-kappaB, but not phosphatidylinositol 3-kinase, in induction of hemeoxygenase-1 by dietary polyphenols[J]. Mol Pharmacol, 2006, 69(3): 1033-1040.
- [44] SAHIN K, TUZCU M, GENCOGLU H, et al. Epigallocatechin-3-gallate activates Nrf2/HO-1 signaling pathway in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats[J]. Life Science, 2010, 87: 7-8.
- [45] NAIR S, BARVE A, KHOR T O, et al. Regulation of Nrf2-and AP-1-mediated gene expression by epigallocatechin-3-gallate and sulforaphane in prostate of Nrf2-knockout or C57BL/6J mice and PC-3 AP-1 human prostate cancer cells[J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2010, 31: 1223-1240.
- [46] REN Fengge, ZHANG Shaobo, MITCHELL S H, et al. Tea polyphenol

- nols down-regulate the expression of the androgen receptor in LNCaP prostate cancer cells[J]. *Oncogene*, 2000, 19: 1924-1932.
- [47] CHUU C P, CHEN Rouyu, KOKONTIS J M, et al. Suppression of androgen receptor signaling and prostate specific antigen expression by (–)-epigallocatechin-3-gallate in different progression stages of LNCaP prostate cancer cell[J]. *Cancer Letters*, 2009, 275(1): 86-92.
- [48] HARPER C E, PATE B B, WANG J, et al. Epigallocatechin-3-gallate suppresses early stage, but not late stage prostate cancer in TRAMP mice: mechanisms of action[J]. *The Prostate*, 2007, 67(14): 1576-1589.
- [49] GOODIN M G, FERTUCK K C, ZACHAREWSKI T R, et al. Estrogen receptor-mediated action of polyphenolic catechins *in vivo* and *in vitro*[J]. *Toxicological Sciences*, 2002, 69: 354-361.
- [50] PORATH D, RIEGGER C, DREWE J, et al. Epigallocatechin-3-gallate impairs chemokine production in human colon epithelial cell lines[J]. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2005, 315(3): 1172-1180.
- [51] BANDYOPADHYAY S K, MOTTE C A, KESSLER S P, et al. Hyaluronan-mediated leukocyte adhesion and dextran sulfate sodium-induced colitis are attenuated in the absence of signal transducer and activator of transcription 1[J]. *American Journal of Pathology*, 2008, 173(5): 1361-1368.
- [52] VOLATE S R, MUGA S J, ISSA A Y, et al. Epigenetic modulation of the retinoid X receptor α by green tea in the azoxymethane-*Apc*^{Min/+} mouse model of intestinal cancer[J]. *Molecular Carcinogenesis*, 2009, 48: 920-933.
- [53] YNAG C S, WANG Hong, LI Guangxun, et al. Cancer prevention by tea: evidence from laboratory studies[J]. *Pharmacological Research*, 2011, 64: 113-122.
- [54] ROMIER B, WALLE J V D, DURING A, et al. Modulation of signaling nuclear factor- κ B activation pathway by polyphenols in human intestinal Caco-2 cells[J]. *British Journal of Nutrition*, 2008, 100: 542-551.
- [55] ORNER G A, DASHWOOD W M, BLUM C A, et al. Response of *Apc*^{Min} and *A33* ^{Δ N β -cat} mutant mice to treatment with tea, sulindac, and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP)[J]. *Mutation Research*, 2002, 506-507: 121-127.
- [56] ORNER G A, DASHWOOD W M, BLUM C A, et al. Suppression of tumorigenesis in the *Apc*^{Min} mouse: downregulation of β -catenin signaling by a combination of tea plus sulindac[J]. *Carcinogenesis*, 2003, 24(2): 263-267.
- [57] JU Jihyeung, HONG Jungil, ZHOU Jiannian, et al. Inhibition of intestinal tumorigenesis in *Apc*^{Min/+} mice by (–)-epigallocatechin-3-gallate, the major catechin in green tea[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(22): 10623-10631.
- [58] ABBOUD P A, HAKE P W, BURROUGHS T J, et al. Therapeutic effect of epigallocatechin-3-gallate in a mouse model of colitis[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2008, 579: 411-417.
- [59] NAKAGAWA K, MIYAZAWA T. Absorption and distribution of tea catechin, (–)-epigallocatechin-3-gallate, in the rat[J]. *J Nutr Sci Vitaminol*, 1997, 43(6): 679-684.
- [60] 祖元刚, 袁帅, 赵修华, 等. 叶酸介导表没食子儿茶素没食子酸白蛋白纳米粒的制备及其体外靶向性与活性评价[J]. *药学报*, 2009, 44(5): 525-531.
- [61] TACHIBANA H, KOGA K, FUJIMURA Y, et al. A receptor for green tea polyphenol EGCG[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2004, 11(4): 380-381.
- [62] SMITH A, GIUNTA B, BICKFORD P C, et al. Nanolipidic particles improve the bioavailability and α -secretase inducing ability of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) for the treatment of Alzheimer's disease[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2010, 389: 207-212.
- [63] WERINREB O, MANDEL S, YAUDIM M B H. cDNA gene expression profile homology of antioxidants and their antiapoptotic and proapoptotic activities in human neuroblastoma cells[J]. *The FASEB Journal*, 2003, 17: 935-937.
- [64] SIDDIQUI I A, ADHAMI V M, BHARALI D J, et al. Introducing nanochemoprevention as a novel approach for cancer control: proof of principle with green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate[J]. *Cancer Res*, 2009, 69: 1712-1716.
- [65] SHIMIZU M, FUKUTOMI Y, NINOMIYA M, et al. Green tea extracts for the prevention of metachronous colorectal adenomas: a pilot study[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2008, 17(11): 3020-3025.
- [66] LIU Ruihai. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals[J]. *Am J Clin Nutr*, 2003, 78(Suppl 1): 517-520.