

表没食子儿茶素没食子酸酯抗乳腺癌作用机制的研究进展

余岳^{1,2,3,4}, 葛洁^{1,2,3,4}, 曹旭晨^{1,2,3,4*}

1. 天津医科大学肿瘤医院 乳腺一科 国家肿瘤临床医学研究中心, 天津 300060

2. 天津市“肿瘤防治”重点实验室, 天津 300060

3. 天津市恶性肿瘤临床医学研究中心, 天津 300060

4. 乳腺癌防治教育部重点实验室, 天津 300060

摘要: 乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤, 其发病率呈逐年上升趋势。表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)是茶叶中的主要活性成分之一, 具有抗氧化、抗炎症、保护心血管、预防糖尿病及抗肿瘤等功效。近年来, 多项体内和体外研究表明 EGCG 通过抑制细胞增殖、血管生成、干性、侵袭转移及促进凋亡等方式抑制乳腺癌的发生发展。主要对 EGCG 抑制乳腺癌的分子机制进行综述, 为乳腺癌的防治提供新的线索。

关键词: 表没食子儿茶素没食子酸酯; 乳腺癌; 分子机制

中图分类号: R979.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2019)08-2567-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2019.08.067

Research progress on mechanism of epigallocatechin gallate in breast cancer

YU Yue^{1,2,3,4}, GE Jie^{1,2,3,4}, CAO Xu-chen^{1,2,3,4}

1. The First Department of Breast Cancer, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, National Clinical Research Center for Cancer, Tianjin 300060, China

2. Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin 300060, China

3. Tianjin's Clinical Research Center for Cancer, Tianjin 300060, China

4. Key Laboratory of Breast Cancer Prevention and Therapy, Tianjin Medical University, Ministry of Education, Tianjin 300060, China

Abstract: Breast cancer is the most common malignant tumor among women, which showed rising trend year by year. Epigallocatechin gallate (EGCG) is the most abundant and bioactive polyphenol in green tea. It has been demonstrated to have many biological functions, including anti-oxidant, anti-inflammatory, cardiovascular protection, diabetes prevention, and anti-cancer. Recently, EGCG has been identified to suppress breast cancer tumorigenesis and progression through inhibition of cell proliferation, angiogenesis, cancer stem cell and metastasis, and induction of cell apoptosis. The molecular mechanism of EGCG in breast cancer is summarized in this paper, which provides clues for the prevention and treatment of breast cancer.

Key words: epigallocatechin gallate; breast cancer; molecular mechanism

乳腺癌高居女性恶性肿瘤发病率首位, 其死亡率居恶性肿瘤的第2位^[1]。表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)是绿茶中含量较高, 且活性较强的儿茶素之一, 约占儿茶素总量的50%。EGCG能有效的清除体内自由基、防止紫外线损伤, 具有较强的抗氧化性, 且对心血管和肿瘤等多种疾病具有较

好的预防和治疗作用。多项体外、体内和临床研究表明 EGCG 通过抗氧化活性、抑制细胞增殖促进凋亡、调控干细胞特性、抗血管生成、抑制转移及 DNA 甲基化等多种方式发挥抗肿瘤的作用^[2]。本文主要对 EGCG 在抗乳腺癌中的作用及其分子机制进行综述。

收稿日期: 2019-07-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81372843)

作者简介: 余岳, 男, 助理研究员, 研究方向为乳腺肿瘤。E-mail: yuyue@tmu.edu.cn

*通信作者 曹旭晨, 男, 教授, 主任医师, 研究方向为乳腺肿瘤。E-mail: caoxuchen@tmu.edu.cn

1 抗氧化活性

活性氧(ROS)是由过氧化氢、超氧阴离子自由基、单线态氧和羟基自由基等构成的一组化学反应分子,参与调控肿瘤发生发展的各个阶段^[3]。研究表明 EGCG 含有活跃的羟基氢,可以提供活跃的氢清除各种 ROS,如羟基自由基、脂类自由基、超氧阴离子等反应生成稳定的自由基,防止 DNA 损伤,预防肿瘤的发生^[4]。Kaur 等^[5]通过构建转基因多发乳腺癌小鼠模型,给予小鼠服用 0.01% 儿茶素后,发现实验组小鼠自发成瘤的大小显著降低,并伴随细胞凋亡;Rathore 等^[6]构建致癌物质慢性诱导的乳腺细胞恶变模型,使其暴露于不同浓度的 EGCG 后发现 10 $\mu\text{mol/L}$ EGCG 可以减少癌变的乳腺细胞内 DNA 损伤和 ROS 的发生。他莫昔芬(TAM)广泛应用于激素受体阳性的乳腺癌患者,但 TAM 代谢过程中产生的氧自由基可导致氧化性肝损伤,体内研究表明长期服用 TAM 诱发大鼠肝癌的发生^[7]。EGCG 通过提高肝脏和肾脏中的谷胱甘肽 S 转移酶、还原酶和过氧化物酶等抗氧化酶的活性,减轻氧化应激反应,可消除 TAM 等抗癌药物导致的肝肾毒性^[8]。

2 抑制肿瘤细胞增殖和诱导肿瘤细胞凋亡

恶性肿瘤的基本生物学特征是肿瘤细胞的增殖失去控制,EGCG 可通过多种途径抑制乳腺癌细胞增殖,并诱导细胞凋亡^[9-12]。进一步研究发现 EGCG 可使丝裂原活化蛋白激酶 8(MAPK8)和 MAPK14 磷酸化,磷酸化的 MAPK8/14 抑制细胞周期蛋白依赖激酶 1(CDK1)的磷酸化,进一步调控 cyclin A 和 cyclin B 的表达,导致细胞周期阻滞于 G₂/M 期^[13]。同时,EGCG 通过上调抑癌因子 p21 的表达,抑制 cyclin D-CDK4/6 复合物活性,使乳腺癌细胞停滞于 G₀/G₁ 期^[14]。另外,EGCG 可上调肿瘤抑癌蛋白 TP53 和半胱天冬酶 3/8/9(caspase 3/8/9)的表达,诱导乳腺癌的细胞凋亡^[15]。不同浓度 EGCG 作用乳腺癌细胞系 MCF-7 细胞 48 h 后发现 EGCG 可有效抑制乳腺癌细胞 MCF-7 的增殖,并诱导其凋亡,其作用机制可能与 EGCG 影响 Notch1-Hes1 信号通路有关^[16]。EGCG 还通过下调抗凋亡蛋白 BCL-2、BCL-XL 和 survivin 的表达,抑制 NF κ B、JAK/STAT 和 PI3K 信号通路,促进乳腺癌细胞凋亡^[17]。脂肪酸合成酶(FAS)是一种与人类表皮生长因子受体(HER)相互作用的乳腺癌相关酶,EGCG 通过下调 FAS 抑制 HER2/3 和 PI3K 信号通路的活化,诱导乳

腺癌细胞凋亡^[18]。EGCG 还可通过升高内质网 Ca²⁺ 浓度,降低细胞溶质 Ca²⁺ 浓度抑制乳腺癌细胞增殖,并促进细胞凋亡^[19]。端粒酶的异常活化与细胞生长、恶性转变和永生性密切相关,研究表明端粒酶在 90% 左右的乳腺癌组织中呈高表达,而 EGCG 可显著降低端粒酶的活性和表达水平,促进乳腺癌细胞凋亡^[20-21]。

3 调控干细胞特性

乳腺癌的复发和转移是其治疗失败的主要原因,肿瘤干细胞(CSC)在其中发挥着重要作用。研究表明 20 $\mu\text{mol/L}$ EGCG 作用乳腺癌细胞系 7 d 后,CD44^{high}/CD24^{low} 的 CSC 比例显著降低^[22]。叉头框蛋白 O3(FOXO3)作为一个发挥抑癌作用的转录因子,可通过调控 CSC,抑制多种肿瘤的恶性表型^[23]。EGCG 可通过激活 FOXO3 转录,上调雌激素受体 α (ER α)表达,逆转乳腺癌细胞 CSC 表型^[24]。另外,10 $\mu\text{mol/L}$ EGCG 和姜黄素联合作用乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 48 h 后,CSC 比例显著降低,进一步研究发现联合用药可通过抑制 STAT3 磷酸化,阻止 STAT3 入核,导致 CSC 标志物 CD44 表达下调^[25]。

4 抗血管生成

肿瘤血管生成是肿瘤发生、生长、浸润和转移的重要条件之一。血管内皮生长因子(VEGF)作为最重要的血管生成因子,通过刺激肿瘤血管中的内皮细胞增殖,诱导肿瘤血管生成,且 VEGF 在包裹乳腺癌在内的多种恶性肿瘤中呈高表达^[26]。研究表明 40 mg/L EGCG 作用乳腺癌细胞后,c-fos、c-jun 和 PKC 等蛋白的表达水平显著下调,且 VEGF 启动子活性和 VEGF 的表达水平显著降低,同时抑制内皮细胞形成及血管生成^[27]。同时,EGCG 还通过抑制 VEGF-2、 β -catenin、VE-cadherin 和 PI3K 形成复合物,干扰 VEGF 信号通路,最终抑制内皮细胞形成^[28]。刘春玲等^[29]构建乳腺癌裸鼠移植瘤模型后给予不同剂量的 EGCG 一段时间后通过免疫组化以及 Western blotting 检测 VEGF-C 的表达水平,发现随着 EGCG 剂量的增加,VEGF-C 的表达水平明显下降。另外,EGCG 通过抑制缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α),降低 VEGF 的表达,抑制血管生成^[30]。以上研究表明 EGCG 具有较强的抗血管生成作用,可显著降低乳腺癌复发和转移风险。

5 抑制乳腺癌转移

远处转移是肿瘤细胞发展的最终形式,也是患

者死亡的主要原因,包括黏附、运动和侵袭等多个过程。上皮间质转化(EMT)发生于肿瘤侵袭转移的起始阶段,其是具有极性的上皮细胞转化成具有活动能力、能够在细胞基质间自由移动的间质细胞的过程,期间细胞运动和侵袭能力增强^[31]。不同浓度 EGCG 作用乳腺癌细胞系 MCF-7 细胞后,通过划痕和 Transwell 实验发现细胞的运动和侵袭能力显著降低,且呈浓度相关性^[32]。同时,EGCG 作用于乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 后,MDA-MB-231 细胞的迁移能力也显著降低^[33]。小鼠荷瘤实验也显示儿茶素能显著降低荷瘤小鼠肝、肺等脏器转移的发生率^[34]。进一步研究发现 EGCG 能显著降低与 EMT 和转移相关的基因 RAC1 和 VASP 的表达水平^[32]。同时,EGCG 通过调控 FAK/ERK 信号通路,抑制基质金属蛋白酶 2(MMP2)和 MMP9 等 EMT 相关标志物的活性和表达水平,抑制乳腺癌的转移^[35-36]。以上结果提示 EGCG 可通过抑制乳腺癌细胞 EMT 表型,降低乳腺癌细胞的运动和侵袭能力,从而抑制乳腺癌转移。

6 抑制 DNA 甲基化

DNA 甲基化是许多肿瘤抑癌因子或 DNA 修复酶失活的重要表观遗传学机制。DNA 甲基化是许多肿瘤抑癌因子或 DNA 修复酶失活的重要表观遗传学机制。DNA 甲基化需要 DNA 甲基转移酶(DNMT)的催化,DNMT 的抑制因子可通过使抑癌基因去甲基化恢复其活性达到抑制肿瘤的目的。有研究通过 EGCG 作用于乳腺癌细胞系后测定 DNA 甲基化酶的活性发现 EGCG 可直接或间接降低 DNA 甲基转移酶(DNMT)活性,抑制 DNMT 介导的 DNA 甲基化,发挥其抗乳腺癌作用^[37-38]。进一步研究表明 EGCG 通过抑制 DNMT 活性,增强肿瘤抑癌基因 p27 和 PTEN 启动子活性,抑制三阴性乳腺癌恶性表型^[39]。EGCG 还通过去甲基化作用逆转 ER-的乳腺癌细胞系 MDA-MB-435S 的 ER 表达^[40]。因此,EGCG 可通过抑制乳腺癌细胞 DNA 甲基化发挥抗乳腺癌作用。

7 结语

EGCG 通过抑制细胞生长、血管生成、干性和转移等多种方式抑制乳腺癌发生发展。同时,其还可以通过降低传统抗癌药物的不良反应来增强乳腺癌治疗的疗效,但其作用远远不止于此。因此对 EGCG 抗乳腺癌的分子机制需要更深入的研究,确定 EGCG 作用的特异性靶蛋白,筛选能够预测

EGCG 疗效的潜在分子标志物。另外,未来研究应注重大样本随机双盲临床研究,进一步验证 EGCG 治疗乳腺癌的疗效,为未来新一代抗癌药物的研发打下基础。

参考文献

- [1] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2019 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2019, 69(suppl 12): 7-34.
- [2] Gan R Y, Li H B, Sui Z Q, et al. Absorption, metabolism, anti-cancer effect and molecular targets of epigallocatechin gallate (EGCG): An updated review [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2018, 58(6): 924-941.
- [3] Tang J Y, Ou-Yang F, Hou M F, et al. Oxidative stress-modulating drugs have preferential anticancer effects-involving the regulation of apoptosis, DNA damage, endoplasmic reticulum stress, autophagy, metabolism, and migration [J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, doi: 10.1016/j.semcancer.2018.08.010.
- [4] 温旭辉, 李记英, 蒋洁琳, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯的抗癌机制的研究进展 [J]. *食品工业科技*, 2013, 34(5): 347-352.
- [5] Kaur S, Greaves P, Cooke D N, et al. Breast cancer prevention by green tea catechins and black tea theaflavins in the C3(1) SV40 T,t antigen transgenic mouse model is accompanied by increased apoptosis and a decrease in oxidative DNA adducts [J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(9): 3378-3385.
- [6] Rathore K, Choudhary S, Odoi A, et al. Green tea catechin intervention of reactive oxygen species-mediated ERK pathway activation and chronically induced breast cell carcinogenesis [J]. *Carcinogenesis*, 2012, 33(1): 174-183.
- [7] K äki A, M äntyl ä E, Hirsim äki Y, et al. Comparison of the effects of tamoxifen and toremifene on rat hepatocarcinogenesis [J]. *Arch Toxicol*, 2000, 74(4/5): 249-256.
- [8] Parvez S, Tabassum H, Rehman H, et al. Catechin prevents tamoxifen-induced oxidative stress and biochemical perturbations in mice [J]. *Toxicology*, 2006, 225(2/3): 109-118.
- [9] Braicu C, Gherman C D, Irimie A, et al. Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) inhibits cell proliferation and migratory behaviour of triple negative breast cancer cells [J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2013, 13(1): 632-637.
- [10] De Amicis F, Russo A, Avena P, et al. In vitro mechanism for downregulation of ER- α expression by epigallocatechin gallate in ER⁺/PR⁺ human breast cancer cells [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2013, 57(5): 840-853.
- [11] Pianetti S, Guo S, Kavanagh K T, et al. Green tea

- polyphenol epigallocatechin-3 gallate inhibits Her-2/neu signaling, proliferation, and transformed phenotype of breast cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(3): 652-655.
- [12] 魏芳, 刘浩, 张配, 等. EGCG 对三阴乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的增殖抑制作用及机制 [J]. 中国药理学通报, 2013, 29(5): 680-684.
- [13] Deguchi H, Fujii T, Nakagawa S, *et al.* Analysis of cell growth inhibitory effects of catechin through MAPK in human breast cancer cell line T47D [J]. *Int J Oncol*, 2002, 21(6): 1301-1305.
- [14] 李鹤成, 陆劲松, 候意枫, 等. EGCG 对人乳腺癌 MDA-MB-435 细胞株细胞增殖的抑制及机制 [J]. 中国癌症杂志, 2004, 14(1): 9-11.
- [15] Alshatwi A A. Catechin hydrate suppresses MCF-7 proliferation through TP53/Caspase-mediated apoptosis [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2010, 29: 167.
- [16] 张旭, 沈家杰, 赵云春, 等. 基于 Notch1-Hes1 信号通路的表没食子儿茶素没食子酸酯对人乳腺癌细胞株 MCF-7 的作用研究 [J]. 临床合理用药杂志, 2017, 10(3): 104-107.
- [17] Afsar T, Trembley J H, Salomon C E, *et al.* Growth inhibition and apoptosis in cancer cells induced by polyphenolic compounds of *Acacia hydaspica*: involvement of multiple signal transduction pathways [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 23077.
- [18] Pan M H, Lin C C, Lin J K, *et al.* Tea polyphenol (-)-epigallocatechin 3-gallate suppresses heregulin-beta1-induced fatty acid synthase expression in human breast cancer cells by inhibiting phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and mitogen-activated protein kinase cascade signaling [J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(13): 5030-5037.
- [19] Palmer A E, Jin C, Reed J C, *et al.* Bcl-2-mediated alterations in endoplasmic reticulum Ca^{2+} analyzed with an improved genetically encoded fluorescent sensor [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(50): 17404-17409.
- [20] Mittal A, Pate M S, Wylie R C, *et al.* EGCG down-regulates telomerase in human breast carcinoma MCF-7 cells, leading to suppression of cell viability and induction of apoptosis [J]. *Int J Oncol*, 2004, 24(3): 703-710.
- [21] Smith L L, Collier H A, Roberts J M. Telomerase modulates expression of growth-controlling genes and enhances cell proliferation [J]. *Nat Cell Biol*, 2003, 5(5): 474-479.
- [22] Pan X, Zhao B, Song Z, *et al.* Estrogen receptor- α 36 is involved in epigallocatechin-3-gallate induced growth inhibition of ER-negative breast cancer stem/progenitor cells [J]. *J Pharmacol Sci*, 2016, 130(2): 85-93.
- [23] Liu Y, Ao X, Ding W, *et al.* Critical role of FOXO3a in carcinogenesis [J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 104.
- [24] Belguise K, Guo S, Sonenshein G E. Activation of FOXO3a by the green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate induces estrogen receptor alpha expression reversing invasive phenotype of breast cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(12): 5763-5770.
- [25] Chung S S, Vadgama J V. Curcumin and epigallocatechin gallate inhibit the cancer stem cell phenotype via down-regulation of STAT3-NFkappaB signaling [J]. *Anticancer Res*, 2015, 35(1): 39-46.
- [26] Apte R S, Chen D S, Ferrara N. VEGF in signaling and disease: beyond discovery and development [J]. *Cell*, 2019, 176(6): 1248-1264.
- [27] Sartippour M R, Shao Z M, Heber D, *et al.* Green tea inhibits vascular endothelial growth factor (VEGF) induction in human breast cancer cells [J]. *J Nutr*, 2002, 132(8): 2307-2311.
- [28] Xu H, Becker C M, Lui W T, *et al.* Green tea epigallocatechin-3-gallate inhibits angiogenesis and suppresses vascular endothelial growth factor C/vascular endothelial growth factor receptor 2 expression and signaling in experimental endometriosis *in vivo* [J]. *Fertil Steril*, 2011, 96(4): 1021-1028.
- [29] 刘春玲, 邓思浩, 张雅芳. 表没食子儿茶素-3-没食子酸酯抑制乳腺癌裸鼠移植瘤淋巴管生成 [J]. 解剖学报, 2011, 42(4): 494-497.
- [30] Luo H Q, Xu M, Zhong W T, *et al.* EGCG decreases the expression of HIF-1 α and VEGF and cell growth in MCF-7 breast cancer cells [J]. *J BUON*, 2014, 19(2): 435-439.
- [31] Dongre A, Weinberg R A. New insights into the mechanisms of epithelial-mesenchymal transition and implications for cancer [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(2): 69-84.
- [32] Luo K W, Ko C H, Yue G G, *et al.* Green tea (*Camellia sinensis*) extract inhibits both the metastasis and osteolytic components of mammary cancer 4T1 lesions in mice [J]. *J Nutr Biochem*, 2014, 25(4): 395-403.
- [33] 尚泽森, 黄杨佩韦, 马丽清. 表没食子儿茶素没食子酸酯抑制乳腺癌细胞增殖和迁移 [J]. 中国生物化学与分子生物学学报, 2015, 31(2): 207-212.
- [34] Zhang Y, Han G, Fan B, *et al.* Green tea (-)-epigallocatechin-3-gallate down-regulates VASP expression and inhibits breast cancer cell migration and invasion by attenuating Rac1 activity [J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 606(1/3): 172-179.
- [35] Sen T, Moulik S, Dutta A, *et al.* Multifunctional effect of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) in downregulation of gelatinase-A (MMP-2) in human breast cancer cell line

- MCF-7 [J]. *Life Sci*, 2009, 84(7/8): 194-204.
- [36] Sen T, Dutta A, Chatterjee A. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) downregulates gelatinase-B (MMP-9) by involvement of FAK/ERK/NFkappaB and AP-1 in the human breast cancer cell line MDA-MB-231 [J]. *Anticancer Drugs*, 2010, 21(6): 632-644.
- [37] Lee W J, Shim J Y, Zhu B T. Mechanisms for the inhibition of DNA methyltransferases by tea catechins and bioflavonoids [J]. *Mol Pharmacol*, 2005, 68(4): 1018-1030.
- [38] Landis-Piwowar K, Chen D, Chan T H, *et al.* Inhibition of catechol-O-methyltransferase activity in human breast cancer cells enhances the biological effect of the green tea polyphenol (-)-EGCG [J]. *Oncol Rep*, 2010, 24(2): 563-569.
- [39] Lewis K A, Jordan H R, Tollefsbol T O. Effects of SAHA and EGCG on growth potentiation of triple-negative breast cancer cells [J]. *Cancers (Basel)*, 2018, 11(1): E23.
- [40] 吴海波, 李向柯, 张伟杰, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯对乳腺癌 MDA-MB-435s 雌激素受体低表达的去甲基化作用 [J]. *西安交通大学学报: 医学版*, 2013, 34(1): 129-130.