

表没食子儿茶素没食子酸酯抗癌分子机制及其应用的研究进展

李晓阳¹, 吴志平², 王梦馨¹, 白雪燕², 黄丽青², 朱晓燕², 韩宝瑜^{1*}

1. 中国计量大学生命科学学院 浙江省生物计量及检验检疫技术重点实验室, 浙江 杭州 310018

2. 中国计量大学生命科学学院 药理学系, 浙江 杭州 310018

摘要: 表没食子儿茶素没食子酸酯 (epigallocatechin-3-gallate, EGCG) 作为绿茶的主要成分之一, 具有多种生物活性, 体内外实验广泛证实 EGCG 具有抗癌活性。EGCG 抗癌分子机制较复杂, 可通过多种途径抑制癌细胞生长或诱导癌细胞凋亡。从抗氧化、促氧化、阻滞肿瘤细胞周期、抑制肿瘤细胞血管生成、诱导癌细胞凋亡及调控 microRNA 等方面综述 EGCG 的抗癌分子机制, 对提高 EGCG 生物利用度的 3 种策略, 即纳米包装技术、协同联用和分子修饰进行概述, 并对今后 EGCG 的抗癌作用的研究进行展望。

关键词: 表没食子儿茶素没食子酸酯; 抗癌机制; 抗氧化; 促氧化; 纳米粒子; 分子修饰

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)13-3217-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.13.031

Research progress on molecular mechanism of epigallocatechin-3-gallate against cancer and its application

LI Xiao-yang¹, WU Zhi-ping², WANG Meng-xin¹, BAI Xue-yan², HUANG Li-qing², ZHU Xiao-yan², HAN Bao-yu¹

1. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Biometrology and Inspection & Quarantine, College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China

2. Department of Pharmacy, College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China

Abstract: Epigallocatechin-3-gallate (EGCG), as one of the main components of green tea, has a variety of biological activities. Both *in vitro* and *in vivo* experiments widely demonstrate that EGCG has anticancer activities. The molecular mechanism of EGCG against cancer was much complicated, and EGCG suppressed tumor cell proliferation and/or induced cell apoptosis through multi-pathways. This paper reviewed the anticancer molecular mechanism of EGCG, including EGCG anti-oxidation, prooxidation, retardant of tumor cell cycle, inhibition of tumor cell angiogenesis, inducement of cancer cell apoptosis, and regulation of microRNA, summarized the research progress of three strategies for improving bioavailability of EGCG: nano-packaging technology, synergistic application and molecular modification, and looked into research and development on anticancer activity of EGCG.

Key words: epigallocatechin-3-gallate; anticancer mechanism; anti-oxidation; prooxidation; nanoparticles; molecular modification

癌症迄今仍是医学界一个难以攻克的难题, 是人类健康的巨大威胁, 据世界卫生组织统计, 癌症发病率在逐年上升, 预计到 2025 年, 全世界每年会产生 2 000 万的新增癌症病例^[1]。因此, 寻找恶性肿瘤的有效防治方法刻不容缓, 然而目前的外科手术、化学药物及放射治疗等常规手段疗效有限, 有时还会导致严重的副作用和耐药性等问题^[2]。

天然抗癌产物因其副作用小、分布广的特点而

备受关注。诸多研究^[3-6]证实, 绿茶的多酚类物质具有预防和控制癌症的功效。儿茶素类是绿茶中主要的多酚类物质, 具有多种生物活性, 其中的表没食子儿茶素没食子酸酯 (epigallocatechin-3-gallate, EGCG) 约占绿茶儿茶素总量的 50%~80%, 并且生物活性最高^[7]。EGCG 属于黄烷醇类, 其分子结构中含有 3 个芳香环 (A、B、D), 3 者由 1 个吡喃环 (C) 连接在一起。EGCG 的这种结构使其具有强

收稿日期: 2018-12-03

基金项目: 浙江省公益基金项目 (2016C33081); 浙江省自然科学基金项目 (LY17C140002)

作者简介: 李晓阳 (1994—), 男, 硕士研究生, 研究方向为茶叶抗癌研究。Tel: 17698318218 E-mail: xiaoyangli6@163.com

*通信作者 韩宝瑜, 博士生导师, 主要研究茶叶和杭白菊保健功能。E-mail: han-insect@263.net

抗氧化性,这种抗氧化活性源自 B 和/或 D 环上羟基的氢原子或单电子转移^[8]。EGCG 是 1 个两性分子,具有既亲水又亲脂的特点^[9],此特点使其不仅可在体液环境中充分溶解并广泛分布,而且可使其穿过细胞膜与细胞内的靶点相结合。EGCG 这种特有的结构特点赋予了其抗癌特性,使其不仅可在癌变起始阶段发挥预防癌症的作用,而且在控制癌症的进展和转移过程中也具有重要意义,EGCG 可作用于多种癌症类型如肝癌^[10]、肺癌^[11]和前列腺癌^[12]等。

本文从抗氧化、促氧化、阻滞癌细胞周期、抑制肿瘤细胞血管形成、诱导癌细胞凋亡和调控 microRNA 等几方面综述了近年来国内外 EGCG 抗癌分子机制的研究现状。需着重强调的是本文归纳总结了影响 EGCG 抗氧化和促氧化作用转变的因素。笔者认为 EGCG 兼具抗氧化作用和促氧化作用,而在不同的生理环境下,这 2 种作用的着重性有所不同,从而可在不同的癌变阶段发挥不同的功能:在预防癌变发生的阶段,其增加机体内源性抗氧化能力进而清除活性氧起主导作用;而在控制癌症发展阶段则是促氧化杀伤癌细胞作用更为重要。另外,为解决 EGCG 生物利用度低的问题,本文概述了目前改善此问题的 3 种策略:纳米包装技术、EGCG 的协同联用和分子修饰技术。本文旨在对 EGCG 抗癌分子机制及其应用改善策略的研究进展进行综述和展望,以期为进一步探索 EGCG 抗癌机制及其应用,以及癌症治疗药物或辅助治疗药物开发利用的发展方向提供参考。

1 EGCG 的抗癌分子机制

1.1 调控氧化应激

自由基是人体内的一类非常活跃的基团,包括过氧化氢(H_2O_2)、超氧阴离子自由基和羟基自由基($\cdot OH$)等,若自由基的产生和清除失去平衡,活性氧(ROS)系列物将长期存在,进而引起细胞的氧化应激反应。ROS 影响机体内一些蛋白质和酶的活性并导致 DNA 发生氧化损伤,ROS 还可激活核转录因子- κB (NF- κB),NF- κB 调节癌症相关细胞因子和相关酶的表达,如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、环氧合酶(COX)和基质金属蛋白酶(MMPs)等,最终引发细胞癌变^[13]。

EGCG 是一种常用的抗氧化剂,可减轻 ROS 的氧化损伤,在防癌和控癌方面有着重要作用。目前有较多的研究发现 EGCG 存在促氧化作用^[14-16],

表明 EGCG 不仅具有较强的抗氧化作用,而且在某些情况下显示出促氧化的特性。

1.1.1 抗氧化 EGCG 的结构中含有多个邻位或间位酚羟基,这些羟基是其抗氧化和清除自由基的主要活性官能团^[17]。EGCG 减轻 ROS 胁迫的途径包括:(1)直接清除过多的 ROS^[18];(2)提高抗氧化物酶活性,使相关酶更高效地清除 ROS;(3)螯合金属离子;(4)调控细胞信号传导通路。抗氧化功能的基本机制是抑制氧化还原敏感性转录因子的表达,如 NF- κB 、核内激活蛋白 1(AP-1)等^[19]。高文波等^[20]发现 EGCG 通过抑制促氧化酶的活性和上调抗氧化酶[如谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)等]的活性达到抗氧化的目的。EGCG 能通过螯合 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 等金属离子形成非活性化合物,防止金属离子发生氧化作用,避免自由基的产生^[21]。EGCG 可激活大鼠体内的核转录因子 E2 相关因子 2(Nrf2)/Kelch 样 ECH 相关蛋白 1(Keap1)通路,进而消除氟化物引起的氧化性肺损伤^[22]。

1.1.2 促氧化 EGCG 作为一种抗氧化剂,其自身也可发生氧化。EGCG 自氧化机制是基于 EGCG 醌、EGCG 二聚醌等相关化合物的形成^[23]。EGCG 不稳定,B 环和 D 环都可以发生氧化,EGCG 在自氧化过程中的主要氧化位点是 B 环,EGCG 的自氧化进一步导致 ROS 的形成^[24]。有研究发现不论培养基中有无细胞,EGCG 都可自动氧化产生 H_2O_2 ,添加 SOD 和过氧化氢酶(CAT)可抑制 EGCG 的自氧化和二聚作用^[25]。

EGCG 促氧化能够产生 ROS,造成细胞氧化逆境,对于损伤及杀死癌细胞具有重要作用。EGCG 产生的 ROS 中至少包括 H_2O_2 和超氧阴离子自由基 2 种自由基^[26]。EGCG 产生 ROS 的方式:通过邻苯三酚部分产生 H_2O_2 ;激活芬顿(Fenton)反应^[27];对 Ca^{2+} /钙调素依赖性蛋白激酶(CaM kinase)的作用^[28]。EGCG 的促氧化作用所产生的高浓度的 ROS 可以诱导肿瘤细胞凋亡,并有助于减小肿瘤大小,其促氧化作用所产生的低浓度 ROS 通过诱导内源性抗氧化系统来保护机体免受致癌侵袭^[29]。ROS 作为上游分子可触发信号通路,如 ROS/腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)信号的调控是 EGCG 抗肿瘤的机制之一^[30]。N-乙酰半胱氨酸(NAC)具有清除自由基的活性,据报道其能保护 H_2O_2 诱导的细胞毒性,但不能保护 EGCG 诱导的细胞死亡^[27]。因此,EGCG

诱导的肿瘤细胞毒性还包括诱导线粒体损伤的肿瘤特异性机制。

1.1.3 抗氧化和促氧化 EGCG 具有抗氧化作用和促氧化作用,这 2 种作用的性质截然相反,EGCG 实际发挥何种作用取决于细胞类型、浓度和所处环境的 pH 值^[31]。

众多研究表明细胞类型影响 EGCG 作用的发挥,通常 EGCG 在正常细胞组织中发挥抗氧化作用,而在肿瘤细胞中表现出促氧化特性,即 EGCG 对不同细胞存在差异性作用,如 EGCG 在正常细胞中具有抗氧化作用,但在口腔癌细胞中诱导氧化应激^[15];EGCG 减轻了化疗对正常细胞的毒性,但却导致了对癌细胞的毒性^[14];EGCG 在正常结肠上皮细胞 NCM460 中发挥抗氧化作用,而在结肠癌细胞中表现出促氧化特性^[32]。而 EGCG 这种差异性的具体机制仍有待进一步研究。研究发现,与正常细胞相比,癌细胞中的 ROS 水平升高^[33]。然而,高水平的 ROS 也会对癌细胞造成损伤,因此,它们可能依赖于一个强大的内源性抗氧化系统,该系统能够减轻氧化应激,从而促进癌细胞增殖^[34]。因此,EGCG 对肿瘤细胞的促氧化特性对于癌症的治疗有着重要意义。

EGCG 在低浓度时主要发挥抗氧化作用,高浓度时主要发挥促氧化作用。EGCG 对不同细胞存在差异性作用,低浓度的 EGCG 可发挥抗氧化作用从而抑制氧化应激,使正常组织细胞免受致癌损伤^[16]。研究表明大鼠摄入 0.1% EGCG 可以降低氧化应激,在 0.2%或 0.5% EGCG 则无此作用,表明 EGCG 的有效浓度是其促氧化或抗氧化的决定因素之一^[35]。多项研究表明,高浓度的 EGCG 可发挥促氧化作用诱导 ROS 水平升高,最终致使肿瘤细胞凋亡^[36-38]。另有研究发现^[39],EGCG 较温和的生物浓度为 1~10 $\mu\text{mol/L}$,此浓度范围的 EGCG 可产生低水平的 ROS,进而刺激多种信号转导途径,触发正常细胞的保护机制。此外,EGCG 所处环境的 pH 值也是影响其作用发挥的一个因素,如 EGCG 在 pH 7 时发挥抗氧化作用,而在酸性条件下表现出促氧化作用^[40]。

EGCG 兼具抗氧化和促氧化作用,其可在不同的癌变阶段发挥不同的功能,如增加机体内源性抗氧化能力在预防癌症阶段更为重要,而在清除体内转化细胞和限制肿瘤生长方面则是促氧化杀伤细胞作用更为重要。

1.2 阻滞肿瘤细胞周期

细胞周期是连续分裂的细胞从上一次有丝分裂结束到下一次有丝分裂完成所经历的整个过程,包含 DNA 合成前期 (first gap, G_1 期)、DNA 合成期 (synthesis, S 期)、DNA 合成后期 (second gap, G_2 期)和细胞分裂期 (mitosis, M 期)。与正常细胞一样,肿瘤细胞具有一定的细胞周期,而肿瘤细胞的周期调控机制发生紊乱,引起细胞无限增殖。因此诱导肿瘤细胞周期阻滞有望成为肿瘤防治的有效途径。

在正常的细胞生理进程中,细胞周期的调控涉及到周期蛋白 (Cyclin) 和周期蛋白依赖性激酶 (CDKs) 结合形成的复合物 Cyclin D/CDK4、6 和 Cyclin E/CDK2,它们联合驱动细胞周期。同时,Cyclin D 依赖性 CDK 将视网膜母细胞瘤蛋白 (retinoblastoma protein, Rb) 磷酸化,打破其与转录因子 E2F 的结合,则 E2F 可诱导表达调控细胞周期的相关基因^[41]。一般情况下,肿瘤细胞中的 Cyclin 和 CDKs 都会过度表达^[42]。Kruppel 样因子 4 (KLF4) 是哺乳动物 KLF 家族成员之一,是一种 DNA 结合转录因子,可调节多种细胞过程,包括增殖、分化、凋亡和运动等^[43]。研究发现 KLF4 可通过下调 Cyclin D1 以及上调 p21 的表达而显示出治疗癌症的功能^[44]。在多种癌组织中发现 KLF4 的抑癌作用,如胃癌^[45]、前列腺癌^[46]、肺癌^[47]和膀胱癌^[48]等。在 KLF4 抑癌作用的研究中,目前仅在胃癌细胞中发现 EGCG 可通过介导调控 KLF4 的表达而发挥抑癌作用,将 EGCG 处理胃癌细胞系 NCI-N87,发现 EGCG 可剂量依赖性地上调 KLF4 的表达,从而增加 p21 并减少 CDK4 和 Cyclin D1 的表达,使癌细胞阻滞于 G_0/G_1 期^[45]。此外,张春霞等^[49]研究发现,EGCG 可将 HT29 细胞阻滞于 S 期,阻碍其向 G_2 期转化,从而发挥抗结肠癌细胞的作用。张勇等^[50]研究发现,EGCG 可通过影响相关炎症信号分子的表达,如上调 TNF- α 蛋白、下调血红素氧合酶 (HO-1) 蛋白和白细胞介素-10 (IL-10) 水平,从而将细胞阻滞于 G_2/M 期,最终导致肝癌细胞凋亡。因此,在癌细胞周期的 4 个阶段,EGCG 均可发挥阻滞效应,以 G_0/G_1 期的阻滞作用最为明显。

1.3 抑制肿瘤血管生成

肿瘤难以治疗的原因之一是肿瘤转移,转移是恶性肿瘤的基本特征。血管生成是一个从已有血管中形成新血管网络的过程,其为癌细胞提供养分、氧气以及处理代谢废物,对肿瘤的发生、侵袭和转移产生重

要作用^[51]。研究表明^[52-53]，良性肿瘤血管生成疏少且缓慢；而恶性肿瘤血管生成密集且迅速。因此，抑制肿瘤血管生成是治疗肿瘤的重要策略之一。

在血管生成过程中，血管内皮细胞生长因子（VEGF）发挥着关键作用，VEGF 促进血管内皮细胞进行有丝分裂，对于刺激血管的形成具有较强的作用^[54]。因此 VEGF 有望成为治疗癌症的靶点，EGCG 对 VEGF 显示出显著作用：抑制 VEGF 的形成，包括抑制细胞外信号调节激酶-1（ERK-1）和 ERK-2 的激活及抑制转录活化因子（Stat 3）等；抑制 VEGF 与其受体结合；抑制 VEGF 的受体磷酸化。ERK-1/2 具有抑制细胞凋亡，促进细胞生长的功能，ERK-1/2 的激活这一过程可通过信号传导引起 VEGF mRNA 的过度表达，而 ERK-1 和 ERK-2 受体酶的激活需要二价金属离子。EGCG 可螯合二价金属阳离子阻滞 ERK-1 和 ERK-2 的激活，进而抑制 VEGF 的表达，最终抑制血管的生成^[55]。EGCG 可明显抑制转录活化因子（Stat 3）的活性，使 VEGF 的 mRNA 和蛋白表达受到影响，并且呈现出剂量依赖性关系^[56]。此外，VEGF 的信号传导过程可形成多元复合物，引起蛋白激酶 B（PKB，又称 Akt）通路的激活，进而诱导细胞因子 IL-8 表达，促进血管内皮细胞的增殖。若 PKB 通路失活，则会严重抑制其磷酸化，进而抑制 VEGF mRNA 的转录^[57]。Rodriguez 等^[58]研究发现，EGCG 能抑制 VEGF 与其受体结合，影响多元复合物的形成，实现对 PKB 通路的抑制，并且会下调 IL-8 基因的表达，综合作用抑制血管生成进而控制肿瘤的转移。

研究表明，表皮生长因子受体（EGFR）是 VEGF 的上游调节器，表皮生长因子（EGF）激活 EGFR 信号通路后，下游因子磷酸化，导致核转录因子激活蛋白-1（AP-1）过表达，进而结合 VEGF 并使其被激活^[59]。因此，EGCG 靶向 EGFR 信号通路对于抑制血管生成、预防和治疗癌症具有重要意义。研究显示 EGCG 可通过调节 Wnt/Hh 信号通路下调 CyclinD1、c-myc、EGFR 的表达，抑制肝癌的发生^[60]。上述研究表明，EGCG 可能会通过下调 EGFR 的表达而发挥抑制 VEGF 的作用，最终抑制癌组织的血管生成。

1.4 诱导癌细胞凋亡

细胞凋亡被认为是一种正常的生物学现象，凋亡是维持机体正常生理平衡的重要过程，在特定内源、外源信号的诱导下被激活，是一种由细胞内凋

亡系统精细调控而发生的程序性死亡，能够有效清除不必要或受损的细胞，在机体的发育过程中扮演着重要角色。引起恶性肿瘤的原因之一是肿瘤细胞丧失自发凋亡能力，所以最有效的抗癌途径之一可能是诱导肿瘤细胞的凋亡，目前大多数化疗药物都是通过诱导细胞凋亡达到清除肿瘤细胞的作用。EGCG 的抗肿瘤作用与其诱导细胞凋亡有关，其诱导肿瘤细胞凋亡的具体途径与细胞类型、状态、信号途径中效应器活性及功能等有关。

1.4.1 线粒体途径 线粒体途径在细胞凋亡中发挥着非同寻常的作用，众所周知线粒体是真核细胞的能量代谢中心，也是 ROS 的主要代谢部位^[61]，因此若线粒体受损，最直接的结果是细胞正常功能的丧失。过多的 ROS 会改变线粒体的通透性，导致具有水溶性的细胞色素 C（CYC）释放到细胞质，同时线粒体正常的跨膜电位（ $\Delta\psi_m$ ）也将受到破坏，最终活化 caspase 级联造成细胞凋亡^[62]。Li 等^[63]研究发现，体外用 EGCG 处理肝癌 SMMC 7721 细胞后，CYC 从线粒体被释放到细胞质， $\Delta\psi_m$ 衰减，Bcl-2 家族蛋白发生改变，caspase-3 和 caspase-9 蛋白活化，最终诱导 SMMC-7721 细胞凋亡。EGCG 在癌细胞中存在促氧化性，EGCG 可通过促进 ROS 的生成，引起氧化应激导致线粒体释放 CYC，并激活 caspase-3，最终诱导子宫内膜癌细胞凋亡^[64]。

1.4.2 Bcl-2 途径 Bcl-2 是一种常见的凋亡抑制基因（凋亡抑制基因家族有 Bcl-2、c-myc 等，促进细胞凋亡的基因有 Fas、Bax、Bak、p53 等），在生长旺盛的细胞及多数肿瘤细胞中均有表达或异常表达，其过度表达可使正常的细胞凋亡受到抑制从而延长细胞寿命^[65]，使本应死亡的细胞继续生存，最终导致细胞过度增殖而引发癌变。细胞内 Bcl-2 和 Bax 的表达比率决定细胞是否存活，两者比率升高，细胞不易发生凋亡，若比率降低则引起细胞凋亡。在 EGCG 对宫颈癌 HeLa 细胞凋亡的研究中发现，EGCG 可以通过调节 Bcl-2 家族蛋白的表达激活 caspase 的活性，使 Bax 蛋白表达量升高，并下调 Bcl-2 蛋白的表达，使得 Bcl-2/Bax 值减小，并呈剂量依赖性，提高 caspase-3 的表达水平，最终诱导细胞凋亡^[66]。

1.4.3 溶酶体途径 溶酶体具有大量的酸性水解酶，可将大分子和非功能细胞器分解成小颗粒，并将其作为新材料加以利用。正常情况下，溶酶体蛋白酶保存于溶酶体中。然而，溶酶体膜损伤会导致

溶酶体膜浸透性 (LMP) 增强, 导致酸性物质和蛋白酶释放, 过度的溶酶体膜损伤可导致细胞死亡。LMP 介导的细胞死亡是依赖于组织蛋白酶而不是 caspase^[67]。EGCG 可通过组织蛋白酶-D 胞质转位 (cathepsin-D cytosolic translocation) 和胞质酸化 (cytosolic acidulation) 等方式触发 LMP, 然后将溶酶体蛋白酶释放到胞质中, 诱导人宫颈癌 HeLa 细胞死亡^[68]。ROS 是 LMP 的主要诱导因子, EGCG 的促氧化特性导致细胞内 ROS 形成, 进而触发 LMP 和胞质酸化, 最终促进细胞凋亡^[68]。

1.4.4 其他 EGCG 也可通过一些细胞信号传导通路发挥其诱导癌细胞凋亡的作用。①p53 信号通路: 在正常的细胞周期中, p53 蛋白通过阻止细胞从 G₁ 期进入 S 期而使得受损的 DNA 或染色体得以修复; 而当 DNA 或染色体的损伤过于严重时, p53 可触发凋亡机制清除受损细胞, 最终发挥调节作用。EGCG 通过诱导 p53 的活性并调节 p53 下游靶点如 Bax 蛋白等, 诱导 p53 介导的细胞死亡, 大多数研究都将此归因于 p53 的丝氨酸残基的磷酸化^[18]。②死亡受体途径: 死亡受体是一组细胞表面标记, 属于肿瘤坏死因子受体超家族 (TNFR), 其与相应的配体结合后, 可将凋亡信号向细胞内部传递, 导致活化的 caspase 蛋白酶酶解相应底物, 最终引起细胞凋亡, Fas 是肿瘤坏死因子受体 (TNFR) 中的一员, Fas-Fas 配体系统是细胞凋亡过程中的主要途径之一^[69]。研究表明 EGCG 通过死亡受体通路和线粒体通路, 上调 Fas 和 Bax 表达, 下调 Bcl-2 表达, 激活 caspase-8、9, 诱导淋巴瘤细胞凋亡^[70]。此外, EGCG 还可以调节丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 通路^[71]、磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (PI3K) /Akt 通路^[72]、核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) /抗氧化反应元件 (ARE) 信号通路^[73]、Wnt 通路^[74]和 Notch 通路^[75]等其他信号传导通路, 通过影响基因表达或蛋白质磷酸化等影响细胞功能, 最终诱导肿瘤细胞凋亡。

1.5 调节 microRNA 的表达水平

MicroRNA 是一类长度为 22~23 个核苷酸组成的内源性非编码单链 RNA 分子, 可通过与靶基因 3'非编码区的不完全互补配对, 从而调控基因的表达, 导致 mRNA 降解或蛋白质翻译受到抑制。目前, 已知有超过 2 000 种 microRNA 控制着约 1/3 的人类基因^[76]。MicroRNA 在生物体内保守, 参与多种病理、生理过程, 研究发现其与肿瘤的发生发展密切相关^[77]。在人类的许多癌症类型中发现, 一

些抑癌或致癌的相关基因发生失调, microRNA 可以靶向作用于这些基因^[78]。众多 microRNA 可对一些癌变进程产生影响, 如细胞增殖和分化、细胞凋亡和转移、细胞耐药性的产生等, 因此, microRNA 成为肿瘤治疗的重要靶标, 药物调控 microRNA 已成为癌症研究的一个新兴热门领域。MicroRNA 可发挥抑癌或致癌活性, 即 microRNA 可分为抑癌性 microRNA 和致癌性 microRNA。

EGCG 可调节多种 microRNA 从而发挥其抗癌活性。目前的多数研究是利用 EGCG 上调抑癌性 microRNA 的表达。研究发现在非小细胞肺癌 A549/CDDP 细胞中, 抑癌性 miR-485 的表达显著降低, 而过表达的 miR-485 可降低 A549/CDDP 干细胞特性, EGCG 可上调 miR-485 的表达, 从而抑制 A549/CDDP 干细胞特性^[79]。胰岛素样生长因子-2 结合蛋白 (IGF2BPs) 是一种致癌的 RNA 结合蛋白, 研究发现 IGF2BPs 在肝癌细胞中过表达, 最近证实 IGF2BPs 是抑癌性 miR-1275 的直接靶点。EGCG 处理肝癌细胞可显著上调 miR-1275 表达, 从而抑制 IGF2BPs mRNA 表达^[80]。EGCG 通过上调抑癌性 miR-1 的表达抑制骨肉瘤细胞的生长, 还可通过上调抑癌性 miR-126 的表达诱导骨肉瘤细胞凋亡^[81-82]。EGCG 处理前列腺癌细胞后, 致癌性 miR-21 和 AR (雄激素受体) 信号被抑制, 而抑癌性 miR-330 表达被上调, 最终抑制前列腺肿瘤生长^[83]。EGCG 还可下调致癌性 microRNA 的表达从而发挥抗癌作用, 如 EGCG 可下调肝癌 HepG2 细胞中的致癌性 microRNA (miR-30、miR-453) 等^[84]。EGCG 还可下调非小细胞肺癌 A549 细胞中的致癌性 miR-98-5p, 引起顺铂对这些肿瘤细胞的敏感性, 起到辅助增敏作用^[85]。EGCG 和维甲酸联合作用于人神经母细胞瘤细胞, 可下调一些致癌性 microRNA (miR-92、miR-93、miR-106b) 的表达^[86]。

2 改善 EGCG 生物利用度的策略

EGCG 在癌症的预防及治疗方面均具有巨大的潜力, 但其生物利用度低、生理环境下易分解、体内吸收缓慢的特点限制了其在临床中的作用。EGCG 的口服生物利用度受多因素影响, 如 pH、生物代谢转化、金属离子、温度和氧浓度等^[84]。因此, 急需采取措施来提高 EGCG 的口服生物利用度、稳定性和治疗效果。目前采取的策略主要包括: (1) 设计和开发有效的递送系统, 如纳米颗粒, 此方法有助于提高 EGCG 的生物有效性及利用度; (2) EGCG

与其他药物和治疗方法的联合使用,相比于单独使用药物,这种联合作用产生更有效的治疗效果;(3)结构修饰,合成更多基于 EGCG 的类似物或前体药物,以找到更有效、稳定、特异的活性分子。

2.1 纳米粒子

近些年来,纳米材料技术的发展为充分利用发挥 EGCG 的抗癌活性提供了新的研究方向。经纳米封装后,纳米级 EGCG 微粒较普通 EGCG 具有更大的优势,其不仅可改善其脂溶性、稳定性及抗氧化性等,还具备靶向性输送、缓释药物、延长半衰期及降低毒副作用等优点。目前研究开发出的纳米级 EGCG 主要有以金属为载体的纳米粒、以聚合物为载体的纳米粒、以脂质体为载体的纳米粒和其他载体的纳米粒。

2.1.1 金属纳米粒子 纳米金粒子是研究最多的金属纳米粒子,具有体积小,能穿透组织并聚集在肿瘤部位及具有光学性质,可用于光热抗癌治疗等诸多特点^[87]。纳米金粒子与 EGCG 结合治疗癌症效果

明显。此外,EGCG-纳米银粒子^[88]和 EGCG-纳米镉粒子^[89]也得到了开发。

2.1.2 聚合物纳米粒子 聚合物纳米粒是由高聚物组成的实体结构,特别适合于水溶性差的药物。聚合物 EGCG 纳米粒应用研究也较多。聚合物纳米粒可通过淋巴细胞释放治疗药物以此免受肝代谢,还可在肠道高 pH 值和酶的环境中保护药物使其产生稳定药效,还具有高渗透性的特点。常见的封装材料有壳聚糖、聚乳酸(PLA)、聚乙二醇、聚乳酸羟基乙酸共聚物(PLGA)和明胶等。

2.1.3 脂质体纳米粒子 脂质体是磷脂双分子层分散在水中自然形成的多层囊泡,这种结构特性使得亲脂性和亲水性药物得以包封。脂质体具有生物可降解性、低毒性、靶向性和缓释性的特点。研究显示 EGCG 脂质体的抗癌效果明显好于 EGCG。

2.1.4 其他纳米粒子 目前一些其他类型的材料也用于 EGCG 纳米颗粒的设计,如碳水化合物和蛋白等。

不同类型的纳米级 EGCG 的抗癌活性见表 1。

表 1 不同类型的纳米级 EGCG 的抗癌活性

Table 1 Anticancer activity of different types of nanoscale EGCG

纳米粒子类型	纳米粒子构成	细胞或研究模型	研究结果
金属纳米粒子	EGCG 和金	黑色素瘤小鼠模型 ^[87] ; 前列腺癌小鼠模型 ^[90]	4.91 倍的剂量优势; 实现对癌细胞的靶向作用
	EGCG 和钕	肝癌 HCC 细胞 ^[91]	稳定性好, 对癌细胞和正常细胞具有较高的选择性
聚合物纳米粒子	EGCG 和壳聚糖	小鼠肠道细胞 ^[92]	提高肠道的吸收性
	EGCG、聚乳酸羟基乙酸共聚物和聚乙二醇	肺癌 A549 细胞 ^[93]	4.91 倍的剂量优势
	EGCG、紫杉醇、聚乳酸羟基乙酸共聚物和酪蛋白	SD 大鼠 ^[94]	实现 EGCG 和紫杉醇的顺序释放
	EGCG 和聚乙二醇	前列腺癌 PC3 细胞 ^[95]	10 倍的剂量优势
脂质体纳米粒子	EGCG 和明胶	乳腺癌 MBA-MD-231 细胞 ^[96]	较游离 EGCG 显示出缓释特性
	EGCG、胆固醇和磷脂酰胆碱	乳腺癌 MCF-7 细胞 ^[97]	增加了稳定性和缓释性
	EGCG、非离子型表面活性剂和胆固醇	人肠道 Caco-2 细胞 ^[98]	改善口服吸收效果, 提升肠道通透性
	EGCG 和紫杉醇	乳腺癌 MBA-MD-231 细胞 ^[99]	增强了 2 种药物的协同作用
其他纳米粒子	质粒 DNA、接支聚乙烯亚胺和透明质酸-EGCG	CD44 过表达细胞 ^[100]	靶向作用、稳定性好
	EGCG、抗坏血酸和 β -乳球蛋白	皮肤癌 A-375 细胞 ^[101]	显著提高药物的抗癌效果
	EGCG 和双氢氧化物	前列腺癌 PC3 细胞 ^[102]	5 倍的剂量优势和缓释特性

2.2 与其他物质联合作用

目前最重要的癌症治疗方法是化疗,但是某些化疗药物的副作用极大降低了人们的生活质量。因此,急需开发低副作用的化疗药物,而另一种有效的方法是寻找具有协同作用的药物以减少化疗药物

的副作用。EGCG 具有安全性高、易获取、多靶点和多通路的优点,这种特性使其成为辅助治疗癌症的较佳选择。EGCG 与其他抗癌药物或癌症治疗方法联合使用,可产生协同增效、减少毒副作用和降低耐药性等效果(表 2)。

表 2 EGCG 与其他药物或治疗方法的联合作用

Table 2 Combination of EGCG with other drugs or therapeutic method

联合药物或治疗方法	作用细胞类型或模型	作用机制	联合效应
芳香维甲酸类药物 Am80	肺癌 PC-9 细胞 ^[103]	下调组蛋白脱乙酰酶的水平	协同增效
阿霉素	骨肉瘤细胞 ^[104]	减少长链非编码 RNA	协同增效
紫杉醇	人前列腺癌 PC-3ML 细胞 ^[105]	促进凋亡基因的表达	协同增效
无创低强度脉冲电场 (PEF)	人胰腺癌 PANC-1 细胞 ^[106]	严重干扰线粒体功能	协同增效
放射治疗	食管癌 TE-1 细胞 ^[107]	促进凋亡基因的表达	协同增效
顺铂	雄性 C57/BL6 小鼠 ^[108]	调控死亡受体 Fas 及凋亡蛋白的表达	减轻毒性
喃氟啉	人类肠道上皮细胞 ^[109]	恢复 α 防御素的表达水平而导致免疫保护	减轻毒性
阿霉素	人心脏细胞 ^[110]	抑制氧化应激和凋亡信号并活化促生存通路	减轻毒性
三苯氧胺	乳腺癌 MCF-7 细胞 ^[111]	抑制乳腺癌耐药蛋白 (BCRP) 活性	降低耐药性
奥沙利铂	人卵巢癌 A2780 细胞 ^[112]	促进凋亡基因的表达	降低耐药性
砷	牛主动脉内皮细胞 BAEC ^[113]	细胞核碎片化及凋亡蛋白增加	细胞毒性
舒尼替尼	大鼠 ^[114]	中性和酸性条件下, 二者混合会形成沉淀	降低药效

EGCG 可作为一种辅助剂与多种抗癌药物或治疗手段产生协同增效的作用, 如芳香维甲酸类药物 Am80、阿霉素、紫杉醇、多西他赛、无创低强度脉冲电场 (PEF) 和放疗等。化疗常引起胃肠毒性、肾毒性、心脏毒性和肺纤维化等不良反应, EGCG 联合化疗可减轻抗癌药物的副作用, 如顺铂、喃氟啉和阿霉素等。耐药性是癌症治疗的典型的障碍, EGCG 在药物联合使用中的另一重要作用是降低癌细胞对药物的耐药性, 如三苯氧胺和奥沙利铂等。然而, EGCG 与抗癌药物结合使用还可能产生降低抗癌疗效的作用 (表 2), 表明在这些药物治疗期间应禁用绿茶产品。

EGCG 在改善患者临床症状和化疗后生活质量方面发挥了不容忽视的作用。EGCG 与其他物质或治疗手段的协同作用也是通过干扰肿瘤细胞的生长、诱导细胞凋亡和作用于信号途径等重要机制实现的, 而不同作用方式的协同作用为癌症的治疗提供了新的思路和理论基础。

2.3 结构修饰

EGCG 分子结构中含有多个活性酚羟基, 这些酚羟基在中性或碱性介质中易发生去质子化反应而迅速分解^[115], 这使得其存在脂溶性差、生物利用度低、生理环境下易分解、体内吸收缓慢等缺点, 从而严重降低了其生物活性及利用率, 这都严重限制了 EGCG 的应用和开发。随着研究的不断深入, 研究者发现经过一定的结构修饰所获得的 EGCG 衍生物具有更好的稳定性, 生物利用度也显著改善, 新基团的引入赋

予新的生理功能, 从而扩充了 EGCG 的适用范围。目前 EGCG 的分子结构修饰方法主要分为 2 类: 一是脂溶性衍生化修饰, 主要包括乙酰化和甲基化; 二是水溶性衍生化修饰, 主要有糖苷化。

EGCG 分子中富含亲水性的羟基, 因此表现较差的脂溶性, 使其较难渗透细胞膜的双脂层结构, 从而降低了 EGCG 的生理活性^[116]。脂溶性衍生化修饰主要是将亲脂性基团接至 EGCG, 改善其脂溶性。乙酰化是利用乙酰基进行 EGCG 的分子修饰, 从而改善 EGCG 的脂溶性、稳定性及生物利用度。全乙酰化表没食子儿茶素没食子酸酯 (AcEGCG), 在 HeLa 细胞中的测定发现 AcEGCG 的抗癌活性大于 EGCG, 并且 AcEGCG 与阿霉素联用可以明显提高阿霉素对癌细胞的抑制作用^[117]。甲基化修饰是将 EGCG 的酚羟基部分或全部转化成甲基醚而生成一系列衍生物。研究表明 EGCG 的羟基被更稳定的甲氧基取代后, 其稳定性及脂溶性得到提升, 进而提高衍生物的生物利用度并改善生物活性^[118]。

EGCG 分子中含有多个疏水性的苯环影响其水溶性, 目前通用的方法是采用糖苷化修饰将亲水性的单糖分子接至 EGCG 分子上, 以此提高 EGCG 的水溶性及其在人体内的代谢活性。EGCG 经糖苷化修饰后, 其水溶性提高了 50~100 倍, 葡萄糖苷元的甜味可减轻 EGCG 的涩味, 其抗氧化能力未受影响并提升了稳定性, 这为 EGCG 的口服利用研究提供了理论基础^[119]。此外, 前体药物 EGCG (peracetate-protected EGCG, pro-EGCG) 通过醋酸

乙酯基团对 EGCG 的活性羟基进行修饰,合成了过醋酸乙酯保护的 EGCG^[120]。模拟体液环境发现在 pH 值 8 左右的培养基 (RMPI) 中, pro-EGCG 的稳定性是 EGCG 的 6 倍^[120]。研究显示,在作用于乳腺癌 MDA-MB-231 细胞时, pro-EGCG 比 EGCG 具有更显著抑制作用^[121]。

3 展望

过多化学品的使用给人类健康生存带来的负面影响逐步扩大,造成当代社会癌症的发病率日

益上升,各类癌症已成为人类健康的头号杀手,传统治疗手段不仅价格昂贵而且造成不同程度的副作用,影响患者的生活质量^[122-123]。天然产物 EGCG 因其副作用小和抗癌活性良好而受到关注。随着研究的深入,EGCG 的抗癌活性逐渐被发现,如图 1 所示,其可从抗氧化、促氧化、阻滞肿瘤细胞周期、抑制肿瘤血管生成、诱导癌细胞凋亡及调控 microRNA 等方面多途径、多靶点地发挥防癌抑癌作用。

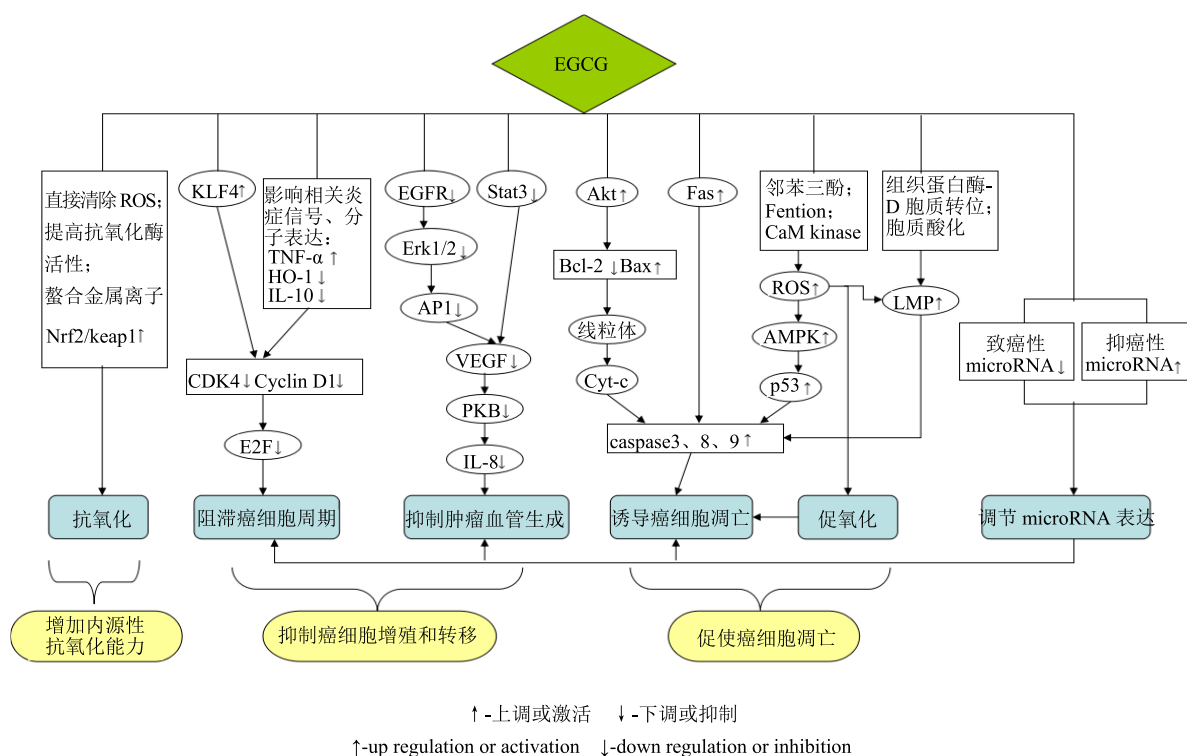


图 1 EGCG 抗癌作用的分子机制

Fig. 1 Molecular mechanism of anticancer effect of EGCG

目前利用氧化应激应对癌症的策略主要包括:在预防癌症发生的阶段增强内源性抗氧化能力,在癌症治疗的阶段提高 ROS 水平致使癌细胞死亡,具有抗氧化性及促氧化性的 EGCG 较好地适配了此策略。高浓度的 EGCG 治疗癌症是目前存在的一种趋势,然而由于细胞类型和细胞情况的不同,依赖 EGCG 浓度抗癌的数据很难进行分类,因此还需在代表不同癌变阶段的动物模型中进行细致的剂量反应及机制研究。此外,EGCG 从促生存到促凋亡的机制尚不清楚,有研究指出这可能与快速的细胞代谢和不受调控的信号通路有关,这些通路为 EGCG 诱导产生 ROS 提供了一个特殊的微环境^[31],而这种假设仍需进一步研究论证。EGCG 抗癌作用具有

多通路和多靶点的特性,在每个通路中都有 EGCG 可作用的靶点,而 EGCG 作用于某些通路的具体机制仍不清楚,未来需要构造更加完善的模拟环境来深入研究其在人体中的系统作用机制,还应探索发现可被 EGCG 调控的新通路,进而绘制更完善的 EGCG 介导的抗癌细胞信号通路图谱,为靶向治疗提供更多的可能性。此外,EGCG 具有细胞类型和环境特异性反应,因此,未来需要确定更多的对 EGCG 生理浓度有反应的分子靶点或生物标记物。

EGCG 分子机制的研究为其实际抗癌应用提供了理论基础,然而 EGCG 在应用中存在生物利用度低的问题,为解决此问题,相关研究已取得了一定进展,其中一部分归功于纳米粒载体系统的发展,

更重要的是以纳米粒为基础的靶向治疗是克服传统化疗药物特异性差的具有前景的治疗策略。通过在纳米粒上加入一种特定的配体来进行主动靶向治疗有望成为最有效的治疗方法。就生物学靶点而言,肿瘤相关抗原似乎是进行治疗干预的较佳靶点。这些生物偶联物的临床应用有望很快实现。尽管这些药物载体系统为靶向抗癌治疗提供了更多的选择,但理解这些载体的内在特征是一个亟需解决的问题,因此,研究人员在未来应投入更多的精力来开发新型的 EGCG 载体,以探究载体药物的药物动力学和治疗效果及其靶向性。此外,纳米技术支持的封装系统存在局部过量效应及相关的安全问题,因此,应深入探究确定纳米粒中 EGCG 的实际剂量与其实质的药理作用之间的关系。化疗和放疗治疗癌症具有时间依赖性及各种副作用,甚至导致患者终止治疗,克服这一缺陷的一个策略是开发更多的可与 EGCG 联合的新组合疗法,以减少常规抗癌药物或方法的副作用。此外,使用 EGCG 前药如 pro-EGCG 可有助于解决的生物利用度低问题,但还需要进一步的研究。分子修饰虽然能够获得既定的目标产物,但是空间结构的改变与功效的内在关系仍需进行深入研究。未来的研究不仅需要充分阐明 EGCG 的分子机制,还需要设计更多的策略来开发应用 EGCG,使其成为更好的癌症预防和治疗药物。

参考文献

- [1] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, *et al.* Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5): E359-E386.
- [2] 伊娟娟, 王振宇, 曲航, 等. 植物多酚抗肿瘤活性及其机制研究进展 [J]. *食品工业科技*, 2016, 37(18): 391-395.
- [3] Niedzwiecki A, Roomi M W, Kalinovsky T, *et al.* Anticancer efficacy of polyphenols and their combinations [J]. *Nutrients*, 2016, 8(9): 552.
- [4] Fujiki H, Watanabe T, Sueoka E, *et al.* Cancer prevention with green tea and its principal constituent, EGCG: From early investigations to current focus on human cancer stem cells [J]. *Mol Cells*, 2018, 41(2): 73-82.
- [5] Cai Y, Zhang J, Chen N G, *et al.* Recent advances in anticancer activities and drug delivery systems of tannins [J]. *Med Res Rev*, 2017, 37(4): 665-701.
- [6] Bag A, Bag N. Tea polyphenols and prevention of epigenetic aberrations in cancer [J]. *J Nat Sci Biol Med*, 2018, 9(1): 2-5.
- [7] Lambert J D. Does tea prevent cancer? Evidence from laboratory and human intervention studies [J]. *Am J Clin Nutr*, 2013, 98(6): 1667S-1675S.
- [8] Lambert J D, Elias R J, Williamson G, *et al.* The antioxidant and pro-oxidant activities of green tea polyphenols: A role in cancer prevention [J]. *Archiv Biochem Biophys*, 2010, 501(1): 65-72.
- [9] Lee K J, Sang H L. Extraction behavior of caffeine and EGCG from green and black tea [J]. *Biotechnol Bioproc Eng*, 2008, 13(5): 646-649.
- [10] Ni C X, Gong H, Liu Y, *et al.* Green tea consumption and the risk of liver cancer: A meta-analysis [J]. *Nutr Cancer*, 2017, 69(2): 211-220.
- [11] Shi J, Liu F, Zhang W, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate inhibits nicotine-induced migration and invasion by the suppression of angiogenesis and epithelial-mesenchymal transition in non-small cell lung cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(6): 2972-2980.
- [12] Moses M A, Henry E C, Ricke W A, *et al.* The heat shock protein 90 inhibitor, epigallocatechin gallate, has anti-cancer activity in a novel human prostate cancer progression model [J]. *Cancer Prev Res*, 2015, 8(3): 249-257.
- [13] Hayakawa S, Saito K, Miyoshi N, *et al.* Anti-cancer effects of green tea by either anti- or pro-oxidative mechanisms [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2016, 17(4): 1649-1654.
- [14] Pistollato F, Calder N I R, Ruiz R, *et al.* The use of natural compounds for the targeting and chemoprevention of ovarian cancer [J]. *Cancer Lett*, 2017, 411(28): 191-200.
- [15] Ling T, Jong Y P, Lambert J D. Differential prooxidative effects of the green tea polyphenol, (-)-epigallocatechin-3-gallate, in normal and oral cancer cells are related to differences in sirtuin 3 signaling [J]. *Mol Nutr Food Resh*, 2015, 59(2): 203-211.
- [16] Lambert J D, Elias R J. The antioxidant and pro-oxidant activities of green tea polyphenols: A role in cancer prevention [J]. *Archiv Biochem Biophys*, 2010, 501(1): 65-72.
- [17] Kaneko Y K, Takii M, Kojima Y, *et al.* Structure-dependent inhibitory effects of green tea catechins on insulin secretion from pancreatic β -cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2015, 38(3): 476-481.
- [18] Min K, Kwon T K. Anticancer effects and molecular mechanisms of epigallocatechin-3-gallate [J]. *Integr Med Res*, 2014, 3(1): 16-24.
- [19] Song X, Du J, ZhaO W, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate (EGCG): Mechanisms and the combined applications [J]. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2017, 20(10): 872-885.
- [20] 高文波, 翁国斌. 绿茶多酚抗氧化作用及其机制研究进展 [J]. *国际药学研究杂志*, 2009, 36(5): 332-335.

- [21] Chan S, Kantham S, Rao V M, *et al.* Metal chelation, radical scavenging and inhibition of Abeta (4)(2) fibrillation by food constituents in relation to Alzheimer's disease [J]. *Food Chem*, 2016, 47(199): 185-194.
- [22] Shanmugam T, Selvaraj M, Poomalai S. Epigallocatechin gallate potentially abrogates fluoride induced lung oxidative stress, inflammation via Nrf2/Keap1 signaling pathway in rats: An *in vivo* and *in silico* study [J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 10(39): 128-139.
- [23] Sang S, Yang I, Buckley B, *et al.* Autooxidative quinone formation *in vitro* and metabolite formation *in vivo* from tea polyphenol (–)-epigallocatechin-3-gallate: studied by real-time mass spectrometry combined with tandem mass ion mapping [J]. *Free Rad Biol Med*, 2007, 43(3): 362-371.
- [24] Sang S, Lee M, Hou Z, *et al.* Stability of tea polyphenol (–)-epigallocatechin-3-gallate and formation of dimers and epimers under common experimental conditions [J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(24): 9478-9484.
- [25] Li G X, Chen Y K, Hou Z, *et al.* Pro-oxidative activities and dose-response relationship of (–)-epigallocatechin-3-gallate in the inhibition of lung cancer cell growth: A comparative study *in vivo* and *in vitro* [J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(5): 902-910.
- [26] 卫亚庆. 绿茶多酚 EGCG 自氧化对其抑癌和细胞毒效应的影响及机制研究 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2015.
- [27] Kim H S, Quon M J, Kim J. New insights into the mechanisms of polyphenols beyond antioxidant properties; lessons from the green tea polyphenol, epigallocatechin 3-gallate [J]. *Redox Biol*, 2014, 2: 187-195.
- [28] Qu F C, Liu H Y, Pi J, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate (EGCG), a green tea polyphenol, suppresses hepatic gluconeogenesis through 5'-AMP-activated protein kinase [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(41): 30143-30149.
- [29] Elias J D L, Ryan J. The antioxidant and pro-oxidant activities of green tea polyphenols: A role in cancer prevention [J]. *Archiv Biochem Biophys*, 2010, 501(1): 65-72.
- [30] Park I J, Lee Y K, Hwang J T, *et al.* Green tea catechin controls apoptosis in colon cancer cells by attenuation of H₂O₂-stimulated COX-2 expression via the AMPK signaling pathway at low-dose H₂O₂ [J]. *Annals New York Acad Sci*, 2009, 1171(1): 538-544.
- [31] Shi W, Li L, Ding Y, *et al.* The critical role of epigallocatechin gallate in regulating mitochondrial metabolism [J]. *Future Med Chem*, 2018, 10(7): 795-809.
- [32] Ni J, Guo X, Wang H, *et al.* Differences in the effects of EGCG on chromosomal stability and cell growth between normal and colon cancer cells [J]. *Molecules*, 2018, 23(4): 788.
- [33] Wang J, Yi I J. Cancer cell killing via ROS: To increase or decrease, that is the question [J]. *Cancer Biol Therapy*, 2008, 7(12): 1875-1884.
- [34] Mittler R. ROS are good [J]. *Trends Plant Sci*, 2017, 22(1): 11-19.
- [35] Yumiko U, Takuji S, Kazuki M, *et al.* Dietary Supplementation with (–)-epigallocatechin-3-gallate reduces inflammatory response in adipose tissue of non-obese type 2 diabetic goto-kakizaki (GK) rats [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(47): 11410-11417.
- [36] Zhang H, Cao D, Cui W, *et al.* Molecular bases of thioredoxin and thioredoxin reductase-mediated prooxidant actions of (–)-epigallocatechin-3-gallate [J]. *Free Rad Biol Med*, 2010, 49(12): 2010-2018.
- [37] Lambert J D, Elias R J. The antioxidant and pro-oxidant activities of green tea polyphenols: A role in cancer prevention [J]. *Archiv Biochem Biophys*, 2010, 501(1): 65-72.
- [38] Hou Z, Sang S, You H, *et al.* Mechanism of action of (–)-epigallocatechin-3-gallate: Auto-oxidation-dependent inactivation of epidermal growth factor receptor and direct effects on growth inhibition in human esophageal cancer KYSE 150 cells [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(17): 8049-8056.
- [39] Leonilla E, Irene H, Rosa-Maria W, *et al.* Hydrogen peroxide mediates EGCG-induced antioxidant protection in human keratinocytes [J]. *Free Rad Biol Med*, 2010, 49(9): 1444-1452.
- [40] Zhou L, Elias R J. Factors influencing the antioxidant and pro-oxidant activity of polyphenols in oil-in-water emulsions [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(11): 2906-2915.
- [41] Deves M, Bourrat F. Transcriptional mechanisms of developmental cell cycle arrest: Problems and models [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2012, 23(3): 290-297.
- [42] Caruso J A, Duong M T, Carey J P W, *et al.* Low-molecular-weight cyclin E in human cancer: Cellular consequences and opportunities for targeted therapies [J]. *Cancer Res*, 2018, 78(19): 5481-5491.
- [43] McConnell B B, Yang V W. Mammalian krüppel-like factors in health and diseases [J]. *Physiol Rev*, 2010, 90(4): 1337-1381.
- [44] Rowland B D, Peeper D S. KLF4, p21 and context-dependent opposing forces in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(1): 11-23.
- [45] Ma Y, Shi Y, Li W, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate regulates the expression of Kruppel-like factor 4 through myocyte enhancer factor 2A [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2013, 19(2): 217-226.
- [46] 魏莲子, 方煜翔, 高维强. 下调转录因子 KLF4 抑制前列腺癌细胞上皮-间质转化及细胞迁移和侵袭 [J]. 肿瘤, 2017, 37(5): 466-473.
- [47] 莫耘路. 肺癌中的 KLF4 基因通过下调 hTERT 表达及

- 抑制端粒酶活性发挥抑癌作用 [D]. 杭州: 浙江大学, 2016.
- [48] 李晓光, 张 能, 罗 旭. KLF4在膀胱癌中的作用 [J]. 海南医学, 2018, 29(2): 236-238.
- [49] 张春霞, 王水明, 金黑鹰. 表没食子儿茶素没食子酸酯对结肠癌细胞株抑制作用的体外研究 [J]. 时珍国医国药, 2012, 23(4): 833-836.
- [50] 张 勇, 沈筱芸, 冯 雁, 等. EGCG 对人肝癌细胞的抑制作用及其可能的机制 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2014, 21(1): 38-43.
- [51] Tilkorn D J. Angiogenesis, cell differentiation and cell survival in tissue engineering and cancer research [J]. *Gms Interdiscip Plastic Reconstr Surgery Dgpr*, 2015, 8(4): 8.
- [52] Riechelmann R, Grothey A. Antiangiogenic therapy for refractory colorectal cancer: Current options and future strategies [J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2017, 9(2): 106-126.
- [53] Simone V, Brunetti O, Lupo L, *et al.* Targeting angiogenesis in biliary tract cancers: An open option [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(2): 418.
- [54] Liu S, Xin X, Hua T, *et al.* Efficacy of anti-VEGF/VEGFR agents on animal models of endometriosis: A systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2016, 11(11): e0166658.
- [55] 程春旭, 高颜茹. 抗肿瘤药物作用机制的研究进展 [J]. 吉林医学, 2009, 30(23): 3080-3083.
- [56] Zhu B H, Chen H Y, Zhan W H, *et al.* (-)-Epigallocatechin-3-gallate inhibits VEGF expression induced by IL-6 via Stat3 in gastric cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17(18): 2315-2325.
- [57] Larsen C A, Dashwood R H, Bisson W H. Tea catechins as inhibitors of receptor tyrosine kinases: Mechanistic insights and human relevance [J]. *Pharmacol Res*, 2010, 62(6): 457-464.
- [58] Rodriguez S K, Guo W, Liu L, *et al.* Green tea catechin, epigallocatechin-3-gallate, inhibits vascular endothelial growth factor angiogenic signaling by disrupting the formation of a receptor complex [J]. *Int J Cancer*, 2006, 118(7): 1635-1644.
- [59] Shimizu M, Shirakami Y, Sakai H, *et al.* (-)-Epigallocatechin gallate inhibits growth and activation of the VEGF/VEGFR axis in human colorectal cancer cells [J]. *Chem Biol Interact*, 2010, 185(3): 247-252.
- [60] Sur S, Pal D, Mandal S, *et al.* Tea polyphenols epigallocatechin gallate and theaflavin restrict mouse liver carcinogenesis through modulation of self-renewal Wnt and hedgehog pathways [J]. *J Nutrit Biochem*, 2016, 1(27): 32-42.
- [61] Zorov D B, Juhaszova M, Sollott S J. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release [J]. *Physiol Rev*, 2014, 94(3): 909-950.
- [62] Chong S, Low I, Pervaiz S. Mitochondrial ROS and involvement of Bcl-2 as a mitochondrial ROS regulator [J]. *Mitochondrion*, 2014, 11(19): 39-48.
- [63] Li W, Nie S, Yu Q, *et al.* (-)-Epigallocatechin-3-gallate induces apoptosis of human hepatoma cells by mitochondrial pathways related to reactive oxygen species [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(15): 6685-6691.
- [64] Manohar M, Fatima I, Saxena R, *et al.* (-)-Epigallocatechin-3-gallate induces apoptosis in human endometrial adenocarcinoma cells via ROS generation and p38 MAP kinase activation [J]. *J Nutr Biochem*, 2013, 24(6): 940-947.
- [65] Park J R, Hockenbery D M. BCL-2, a novel regulator of apoptosis [J]. *J Cell Biochem*, 2015, 60(1): 12-17.
- [66] 秦 婧, 洪 莉. 表没食子儿茶素没食子酸酯对人宫颈癌细胞系 HeLa 细胞凋亡及 bcl-2/bax 表达的影响 [J]. 中国医药导报, 2014, 11(24): 29-32.
- [67] Boya P, Kroemer G. Lysosomal membrane permeabilization in cell death [J]. *Oncogene*, 2008, 27(50): 6434-6451.
- [68] Zhang Y, Yang N D, Zhou F, *et al.* (-)-Epigallocatechin-3-gallate induces non-apoptotic cell death in human cancer cells via ROS-mediated lysosomal membrane permeabilization [J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e46749.
- [69] Adem J, Eray M, Eeva J, *et al.* RIP1 has a role in CD40-mediated apoptosis in human follicular lymphoma cells [J]. *Immunobiology*, 2017, 222(11): 998-1003.
- [70] Hsieh D S, Wang H, Tan S W, *et al.* The treatment of bladder cancer in a mouse model by epigallocatechin-3-gallate-gold nanoparticles [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(30): 7633-7640.
- [71] Cerezo-Guisado M I, Zur R, Lorenzo M J, *et al.* Implication of Akt, ERK1/2 and alternative p38MAPK signalling pathways in human colon cancer cell apoptosis induced by green tea EGCG [J]. *Food Chem Toxicol*, 2015, 10(84): 125-132.
- [72] Gu J J, Qiao K S, Sun P, *et al.* Study of EGCG induced apoptosis in lung cancer cells by inhibiting PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(14): 4557-4563.
- [73] Foygel K, Sekar T V, Paulmurugan R. Monitoring the antioxidant mediated chemosensitization and ARE-signaling in triple negative breast cancer therapy [J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0141913.
- [74] Chen Y, Wang X Q, Zhang Q, *et al.* (-)-Epigallocatechin-3-gallate inhibits colorectal cancer stem cells by suppressing Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Nutrients*, 2017, doi: 10.3390/nu9060572.
- [75] Lee S H, Nam H J, Kang H J, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate attenuates head and neck cancer stem cell traits through suppression of Notch

- pathway [J]. *Eur J Cancer*, 2013, 49(15): 3210-3218.
- [76] Srivastava S K, Arora S, Averett C, *et al.* Modulation of MicroRNAs by phytochemicals in cancer: Underlying mechanisms and translational significance [J]. *Biomed Res Int*, 2015, doi: 10.1155/2015/848710.
- [77] Chan B, Manley J, Lee J, *et al.* The emerging roles of microRNAs in cancer metabolism [J]. *Cancer Letts*, 2015, 356(2): 301-308.
- [78] Wu S, Huang S, Ding J, *et al.* Multiple micro RNAs modulate p21Cip1/Waf1 expression by directly targeting its 3' untranslated region [J]. *Oncogene*, 2010, 29(15): 2302-2308.
- [79] Jiang P, Xu C, Chen L, *et al.* EGCG inhibits CSC-like properties through targeting miR-485/CD44 axis in A549-cisplatin resistant cells [J]. *Mol Carcinog*, 2018, 57(12): 1835-1844.
- [80] Shaalan Y, Handoussa H, Youness R, *et al.* Destabilizing the interplay between miR-1275 and IGF2BPs by *Tamarix articulata* and quercetin in hepatocellular carcinoma [J]. *Nat Prod Res*, 2018, 32(18): 2217-2220.
- [81] Zhu K, Wang W. Green tea polyphenol EGCG suppresses osteosarcoma cell growth through upregulating miR-1 [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(4): 4373-4382.
- [82] Jiang L, Tao C, He A, *et al.* Overexpression of miR-126 sensitizes osteosarcoma cells to apoptosis induced by epigallocatechin-3-gallate [J]. *World J Surg Oncol*, 2014, 12(1): 383.
- [83] Siddiqui I A, Asim M, Hafeez B B, *et al.* Green tea polyphenol EGCG blunts androgen receptor function in prostate cancer [J]. *FASEB J*, 2011, 25(4): 1198-1207.
- [84] Arolaarnal A, Blad C. Proanthocyanidins modulate microRNA expression in human HepG2 cells [J]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e25982.
- [85] Zhou D H, Wang X, Feng Q. EGCG enhances the efficacy of cisplatin by downregulating hsa-miR-98-5p in NSCLC A549 cells [J]. *Nutr Cancer*, 2014, 66(4): 636-644.
- [86] Chakrabarti M, Ai W, Banik N L, *et al.* Overexpression of miR-7-1 increases efficacy of green tea polyphenols for induction of apoptosis in human malignant neuroblastoma SH-SY5Y and SK-N-DZ Cells [J]. *Neurochem Res*, 2013, 38(2): 420-432.
- [87] Chen C C, Hsieh D S, Huang K J, *et al.* Improving anticancer efficacy of (-)-epigallocatechin-3-gallate gold nanoparticles in murine B16F10 melanoma cells [J]. *Drug Design Dev Ther*, 2014, 8: 459-474.
- [88] Zhou K. Epigallocatechin-3-gallate-capped Ag nanoparticles: Preparation and characterization [J]. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2014, 37(7): 1221-1231.
- [89] Nagabhushana H, Basavaraj R B, Prasad B D, *et al.* Facile EGCG assisted green synthesis of raspberry shaped CdO nanoparticles [J]. *J Alloys Comp*, 2016, 669: 232-239.
- [90] Shukla R, Chanda N, Zambre A, *et al.* Laminin receptor specific therapeutic gold nanoparticles (198AuNP-EGCG) show efficacy in treating prostate cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(31): 12426-12431.
- [91] Zhou Y, Yu Q, Qin X, *et al.* Improving the anticancer efficacy of laminin receptor-specific therapeutic ruthenium nanoparticles (RuBB-loaded EGCG-RuNPs) via ROS-dependent apoptosis in SMMC-7721 cells [J]. *ACS Appl Mater Interf*, 2015, 8(24): 15000-15012.
- [92] Dube A, Nicolazzo J A, Larson I. Chitosan nanoparticles enhance the intestinal absorption of the green tea catechins (+)-catechin and (-)-epigallocatechin gallate [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2010, 41(2): 219-225.
- [93] Singh M, Bhatnagar P, Mishra S, *et al.* PLGA-encapsulated tea polyphenols enhance the chemotherapeutic efficacy of cisplatin against human cancer cells and mice bearing Ehrlich ascites carcinoma [J]. *Int J Nanomed*, 2015, 10: 6789-6809.
- [94] Narayanan S, Pavithran M, Viswanath A, *et al.* Sequentially releasing dual-drug-loaded PLGA-casein core/shell nanomedicine: Design, synthesis, biocompatibility and pharmacokinetics [J]. *Acta Biomater*, 2014, 10(5): 2112-2124.
- [95] 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(5): 1712-1716.
- [96] Shutava T G, Balkundi S S, Vangala P, *et al.* Layer-by-layer-coated gelatin nanoparticles as a vehicle for delivery of natural polyphenols [J]. *ACS Nano*, 2009, 3(7): 1877-1885.
- [97] De Pace R C, Liu X, Sun M, *et al.* Anticancer activities of (-)-epigallocatechin-3-gallate encapsulated nanoliposomes in MCF7 breast cancer cells [J]. *J Liposome Res*, 2013, 23(3): 187-196.
- [98] Song Q, Li D, Zhou Y, *et al.* Enhanced uptake and transport of (+)-catechin and (-)-epigallocatechin gallate in niosomal formulation by human intestinal Caco-2 cells [J]. *Int J Nanomed*, 2014, 2014(1): 2157-2165.
- [99] Ramadass S K, Anantharaman N V, Subramanian S, *et al.* Paclitaxel/epigallocatechin gallate coloaded liposome: A synergistic delivery to control the invasiveness of MDA-MB-231 breast cancer cells [J]. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, 2015, 125: 65-72.
- [100] Liang K, Bae K H, Lee F, *et al.* Self-assembled ternary complexes stabilized with hyaluronic acid-green tea catechin conjugates for targeted gene delivery [J]. *J Controll Rel*, 2016, 226(5): 205-216.
- [101] 黄美蓉, 应浩, 江用文, 等. EGCG 纳米粒的制备及其抗肿瘤活性研究 [J]. *茶叶科学*, 2015, 35(6): 232-239.

- 605-612.
- [102] Shafiei S S, Solatishajin M, Samadikuchaksaraei A, *et al.* Epigallocatechin gallate/layered double hydroxide nanohybrids: Preparation, characterization, and *in vitro* anti-tumor study [J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0136530.
- [103] Oya Y, Mondal A, Rawangkan A, *et al.* Down-regulation of histone deacetylase 4, -5 and -6 as a mechanism of synergistic enhancement of apoptosis in human lung cancer cells treated with the combination of a synthetic retinoid, Am80 and green tea catechin [J]. *J Nutr Biochem*, 2017, 42: 7-16.
- [104] Wang W, Chen D, Zhu K. SOX2OT variant 7 contributes to the synergistic interaction between EGCG and Doxorubicin to kill osteosarcoma via autophagy and stemness inhibition [J]. *J Exper Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 37.
- [105] Stearns M E, Wang M. Synergistic effects of the green tea extract epigallocatechin-3-gallate and taxane in eradication of malignant human prostate tumors [J]. *Transl Oncol*, 2011, 4(3): 147-156.
- [106] Hsieh C H, Lu C H, Chen W T, *et al.* Application of non-invasive low strength pulsed electric field to EGCG treatment synergistically enhanced the inhibition effect on PANC-1 cells [J]. *PLoS One*, 2017, 12(11): e0188885.
- [107] 刘申吒, 韩国虎, 周月鹏, 等. EGCG 协同放射治疗诱导食管鳞癌 TE-1 细胞凋亡机制的研究 [J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2016, 36(4): 487-490.
- [108] Zou P, Song J, Jiang B, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate protects against cisplatin nephrotoxicity by inhibiting the apoptosis in mouse [J]. *Int J Clin Exper Pathol*, 2014, 7(8): 4607-4616.
- [109] Takahashi N, Kobayashi M, Ogura J, *et al.* Immunoprotective effect of epigallocatechin-3-gallate on oral anticancer drug-induced alpha-defensin reduction in Caco-2 cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2014, 37(3): 490-492.
- [110] Saeed N M, El-Naga R N, El-Bakly W M, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate pretreatment attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats: A mechanistic study [J]. *Biochem Pharmacol*, 2015, 95(3): 145-155.
- [111] Farabegoli F, Papi A, Bartolini G, *et al.* (-)-Epigallocatechin-3-gallate downregulates Pg-P and BCRP in a tamoxifen resistant MCF-7 cell line [J]. *Phytomed: Int J Phytother Phytopharmacol*, 2010, 17(5): 356-362.
- [112] Yunos N M, Beale P, Yu J Q, *et al.* Synergism from the combination of oxaliplatin with selected phytochemicals in human ovarian cancer cell lines [J]. *Anticancer Res*, 2011, 31(12): 4283-4289.
- [113] Kim J Y, Choi J Y, Lee H J, *et al.* The green tea component (-)-epigallocatechin-3-gallate sensitizes primary endothelial cells to arsenite-induced apoptosis by decreasing c-Jun N-terminal kinase-mediated catalase activity [J]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0138590.
- [114] Ge J, Tan B X, Chen Y, *et al.* Interaction of green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate with sunitinib: Potential risk of diminished sunitinib bioavailability [J]. *J Mol Med*, 2011, 89(6): 595-602.
- [115] Landis-Piwowar K, Bazzi S, Dou Q P. ChemInform abstract: Discovery of green tea polyphenol-based proteasome inhibitors—A successful collaboration with tak-hang (Bill) Chan [J]. *Cheminformation*, 2012, 90(1): 17-22.
- [116] 刘晓辉, 江和源, 张建勇, 等. 儿茶素酰基化修饰研究进展 [J]. 茶叶科学, 2009, 29(1): 1-8.
- [117] 叶敏. 酰化表没食子儿茶酚没食子酸酯抗癌和降糖活性研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2013.
- [118] Forester S C, Lambert J D. The catechol-O-methyltransferase inhibitor, tolcapone, increases the bioavailability of unmethylated (-)-epigallocatechin-3-gallate in mice [J]. *J Funct Foods*, 2015, 17: 183-188.
- [119] 陈义, 汪小钢, 宛晓春. 儿茶素分子修饰的研究现状及前景展望 [J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(8): 367-369.
- [120] Lam W H, Kazi A, Kuhn D J, *et al.* A potential prodrug for a green tea polyphenol proteasome inhibitor: Evaluation of the peracetate ester of (-)-epigallocatechin gallate [(-)-EGCG] [J]. *Bioorg Med Chem*, 2004, 12(21): 5587-5593.
- [121] Landispiwowar K R, Huo C, Chen D, *et al.* A novel prodrug of the green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate as a potential anticancer agent [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(9): 4303-4310.
- [122] Shanmugam M K, Kannaiyan R, Sethi G. Targeting cell signaling and apoptotic pathways by dietary agents: Role in the prevention and treatment of cancer [J]. *Nutr Cancer*, 2011, 63(2): 161-173.
- [123] Ahmad S S, Reinius M A, Hatcher H M, *et al.* Anticancer chemotherapy in teenagers and young adults: Managing long term side effects [J]. *BMJ Clin Res Ed*, 2016, doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.i4567>.