

# EGCG对人胃癌细胞株MKN 45中Bcl-2家族相关基因表达的影响

童锦禄, 冉志华, 陈翔, 萧树东

童锦禄, 冉志华, 陈翔, 萧树东, 上海交通大学医学院附属仁济医院、上海市消化疾病研究所 上海市 200001  
童锦禄, 上海交通大学医学院(原上海第二医科大学)硕士, 现攻读博士学位, 主要从事消化道肿瘤的基础研究。  
上海市重点学科建设资助项目, No. Y0205  
通讯作者: 冉志华, 200001, 上海市, 上海交通大学医学院附属仁济医院、上海市消化疾病研究所. z-ran@online.sh.cn  
电话: 021-63287817 传真: 021-63266027  
收稿日期: 2006-08-23 接受日期: 2006-09-21

## Expression of the Bcl-2 family is influenced by Epigallocatechin-3-gallate in human gastric cancer cell MKN 45

Jin-Lu Tong, Zhi-Hua Ran, Xiang Chen, Shu-Dong Xiao

Jin-Lu Tong, Zhi-Hua Ran, Xiang Chen, Shu-Dong Xiao, Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University; Shanghai Institute of Digestive Diseases, Shanghai 200001, China  
Supported by Shanghai Leading Academic Discipline Project, No. Y0205  
Correspondence to: Zhi-Hua RAN, Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai Institute of Digestive Diseases, Shanghai 200001, China. z-ran@online.sh.cn  
Received: 2006-08-23 Accepted: 2006-09-21

## Abstract

**AIM:** To investigate the changes of the Bcl-2 family in human gastric cancer cell line MKN 45 after epigallocatechin-3-gallate (EGCG) treatment.

**METHODS:** The mRNA expression of apoptosis-related genes Bcl-xl, Bcl-2, Bax, Bid and Bad were examined by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). Western blot analysis was performed to detect the changes of the corresponding protein expression, and then the ratio of Bcl-2 to Bax (Bcl-2/Bax) was calculated.

**RESULTS:** The mRNA and protein expression levels of pro-apoptotic members, such as Bax, Bid and Bad, were increased gradually as the

treating time extended (Bax protein:  $0.6292 \pm 0.08$ ,  $0.6454 \pm 0.04$ ,  $0.8069 \pm 0.09$ ,  $0.8992 \pm 0.07$ ,  $P < 0.05$ ; Bid protein:  $1.1214 \pm 0.08$ ,  $1.3697 \pm 0.07$ ,  $1.610 \pm 0.09$ ,  $2.0623 \pm 0.12$ ,  $P < 0.05$ ; Bad protein:  $0.4327 \pm 0.02$ ,  $0.7531 \pm 0.01$ ,  $1.2827 \pm 0.02$ ,  $1.6388 \pm 0.09$ ,  $P < 0.05$ ; for 0, 12, 24, and 36 h, respectively). However, the mRNA and protein expression levels of anti-apoptotic members, such as Bcl-xl and Bcl-2, were decreased as the time prolonged (Bcl-xl protein:  $0.6444 \pm 0.01$ ,  $0.6060 \pm 0.02$ ,  $0.5647 \pm 0.04$ ,  $0.5487 \pm 0.11$ ,  $P < 0.05$ ; Bcl-2 protein:  $0.8112 \pm 0.04$ ,  $0.6716 \pm 0.08$ ,  $0.4664 \pm 0.03$ ,  $0.3146 \pm 0.01$ ,  $P < 0.05$ ). Meanwhile, the ratio of Bcl-2/Bax was decreased as well ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** EGCG induces apoptosis of gastric cancer cells through influencing the mRNA and protein expression of the Bcl-2 family, especially the ratio of Bcl-2/Bax.

**Key Words:** Epigallocatechin-3-gallate; Apoptosis; Gastric cancer; Bcl-2 family

Tong JL, Ran ZH, Chen X, Xiao SD. Expression of the Bcl-2 family is influenced by Epigallocatechin-3-gallate in human gastric cancer cell MKN 45. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(30):2913-2917

## 摘要

**目的:** 探讨EGCG干预人胃癌细胞株MKN45后Bcl-2家族相关基因表达的变化情况。

**方法:** 运用半定量RT-PCR法和蛋白免疫印迹法分别检测EGCG干预人胃癌细胞株MKN 45后不同时间点上(0, 12, 24, 36 h)抗凋亡相关基因Bcl-xl和Bcl-2及促凋亡相关基因Bax、Bid和Bad的mRNA和蛋白表达水平, 并比较不同时间点的Bcl-2与Bax的比值。

**结果:** 促凋亡相关基因Bax、Bid和Bad的mRNA与蛋白表达水平随着EGCG作用于人胃癌细胞株MKN45的时间延长(0, 12, 24, 36 h)逐渐升高(Bax蛋白:  $0.6292 \pm 0.08$ ,  $0.6454 \pm 0.04$ ,  $0.8069 \pm 0.09$ ,  $0.8992 \pm 0.07$ ,

## ■背景资料

表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)是从茶叶中分离得到的儿茶素类单体, 是茶多酚生物活性的主要成份, 具有抑制肿瘤生长, 诱导癌细胞凋亡等作用。EGCG的临床前实验及其有效释放剂型的研究将为EGCG进入临床应用做好铺垫, 分子作用机制的研究有利于筛选作用的靶点。

## ■同行评价

本文分析了EGCG对胃癌细胞株MKN 45的Bcl-2家族相关基因表达的影响,发现EGCG可影响Bcl-2家族不同成员的mRNA与蛋白表达水平,尤其是Bcl-2/Bax比值。课题有一定的创新性,方法比较实用,结果也较可信。建议今后以real-time RT-PCR检测Bcl-2/Bax转录水平,更具说服力。

$P<0.05$ ; Bid蛋白:  $1.1214\pm 0.08$ ,  $1.3697\pm 0.07$ ,  $1.610\pm 0.09$ ,  $2.0623\pm 0.12$ ,  $P<0.05$ ; Bad蛋白:  $0.4327\pm 0.02$ ,  $0.7531\pm 0.01$ ,  $1.2827\pm 0.02$ ,  $1.6388\pm 0.09$ ,  $P<0.05$ ), 而抗凋亡相关基因Bcl-x1及Bcl-2的mRNA和蛋白表达水平却逐渐降低(Bcl-x1蛋白:  $0.6444\pm 0.01$ ,  $0.6060\pm 0.02$ ,  $0.5647\pm 0.04$ ,  $0.5487\pm 0.11$ ,  $P<0.05$ ; Bcl-2蛋白:  $0.8112\pm 0.04$ ,  $0.6716\pm 0.08$ ,  $0.4664\pm 0.03$ ,  $0.3146\pm 0.01$ ,  $P<0.05$ )。Bcl-2/Bax比值也随着EGCG作用时间的延长逐渐变小( $P<0.05$ )。

**结论:** EGCG可改变Bcl-2家族不同成员的mRNA与蛋白表达水平,尤其是Bcl-2/Bax比值,这可能与EGCG来调控胃癌细胞凋亡有关。

**关键词:** 表没食子儿茶素没食子酸酯; 细胞凋亡; 胃癌; Bcl-2

董锦禄, 冯志华, 陈翔, 萧树东. EGCG对人胃癌细胞株MKN 45中Bcl-2家族相关基因表达的影响. 世界华人消化杂志 2006;14(30):2913-2917

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2913.asp>

## 0 引言

饮食中的多酚成分能抑制癌细胞的生长, 而又不影响正常细胞的功能, 因此越来越受到研究者的关注, 以期寻求新的安全的癌症预防和治疗方案<sup>[1]</sup>。全世界茶饮用量仅次于水, 茶叶根据制作工序和发酵时间可以分为红茶、绿茶和乌龙茶。绿茶中的茶多酚主要包括表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin-3 gallate, EGCG)、表没食子儿茶素(epigallocatechin, EGC)、表儿茶素没食子酸酯(epicatechin gallate, ECG)及表儿茶素(epicatechin, EC), 其中EGCG的含量最为丰富, 而且活性也最强。EGCG不仅具有化学预防和抗炎作用, 还能抑制许多不同器官肿瘤细胞的生长和诱导其凋亡, 譬如胃、食管、肺和前列腺等。虽然EGCG诱导凋亡的分子机制尚不太明了, 但目前研究表明主要同其抗氧化作用, 调节致癌物的代谢和抑制细胞增殖等有关。Bcl-2家族蛋白如Bcl-2, Bax和Bcl-x1等定位于线粒体膜上, 实验证实Bcl-2家族蛋白可以影响PT通道开放、Cyto-c及AIF的释放, 改变线粒体外膜的通透性。我们前期的实验表明, EGCG可以通过线粒体途径激活Caspase-3, 从而诱导人胃癌细胞株MKN45的凋亡<sup>[2]</sup>。因此我们推测EGCG诱导人胃癌细胞株的凋亡涉及Bcl-2家族相关基因的蛋白表达改变, 并通过影响线粒体途径上一系列事件, 进而诱导凋亡。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** EGCG单体购自中国农科院茶叶研究所, 纯度为99%, 溶解于RPMI-1640中, 即配即用; RPMI-1640为美国Gibco公司产品; 小鼠抗人Bcl-2 mAb(sc-7382)、兔抗人Bcl-x1 mAb(sc-7195)、小鼠抗人Bad mAb(sc-8044)、兔抗人Bax多克隆抗体(sc-526)和兔抗人Bid多克隆抗体(sc-11423)等一抗购自Santa Cruz公司, 二抗驴抗兔IgG-HRP(sc-2317)及驴抗小鼠IgG-HRP(sc-2318)也均购自Santa Cruz公司。

**1.2 方法** 人胃癌细胞株MKN 45为本所细胞室保存; 细胞培养基为RPMI-1640, 内含100 mL/L灭活胎牛血清和100 kU/L青霉素及100 mg/L链霉素的完全培养液。细胞置于含50 mL/L CO<sub>2</sub>的CO<sub>2</sub>孵箱中, 在37℃、95%湿度条件下培养。取对数生长期的MKN 45细胞, 以 $1\times 10^8$ - $2\times 10^8$ /L的浓度接种于25 cm<sup>2</sup>培养瓶中, 24 h后加入新鲜配置的EGCG, 终浓度为80 μmol/L。分别于干预后12, 24和36 h收集细胞。

**1.2.1 总RNA抽提及逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)** 总RNA抽提按TRIzol试剂(Invitrogen公司)说明书建议的步骤操作, 在约含 $5\times 10^6$ 个细胞的25 cm<sup>2</sup>培养瓶中加入TRIzol试剂1 mL, 吸管吹打2 min, 裂解细胞。将细胞裂解液移入1.5 mL Eppendoff管中, 室温静置2-3 min; 4℃ 12 000 g离心15 min; 取最上层无色水相层(RNA相)移入另一Eppendoff管中, 加入0.5 mL异丙醇, 轻轻摇匀, 室温静置10 min; 去上清液, 空气干燥30 min, 重新溶于50 μL DEPC水中, 经紫外分光光度法测定RNA纯度和浓度后, 置于-70℃保存。

**引物设计和合成:** 根据GenBank中的基因序列, 采用Primer Premier 5.0引物设计软件设计各凋亡相关基因的PCR扩增引物(表1), 由上海生工生物工程技术有限公司合成。RT-PCR: 按两步法分别进行RT-PCR。先将mRNA逆转录为cDNA, 再以cDNA为模板进行PCR扩增, RT-PCR结果重复3次。PCR反应条件: β-actin: 94℃变性5 min; 94℃ 30 s, 60℃ 1 min, 72℃ 1 min, 循环30次; 72℃延伸10 min。Bax: 94℃变性5 min; 94℃ 30 s, 62℃ 1 min, 72℃ 1 min, 循环35次; 72℃延伸10 min。Bid: 94℃变性5 min; 94℃ 30 s, 56.3℃ 1 min, 72℃ 1 min, 循环30次; 72℃延伸10 min。Bcl-2: 94℃变性5 min; 94℃ 30 s, 58.8℃ 1 min, 72℃ 1 min, 循环33次; 72℃延伸10 min。Bcl-x1: 94℃变性5 min; 94℃ 30 s, 56℃ 1 min, 72℃ 1 min, 循环32次; 72℃延伸10 min。Bad: 94℃变

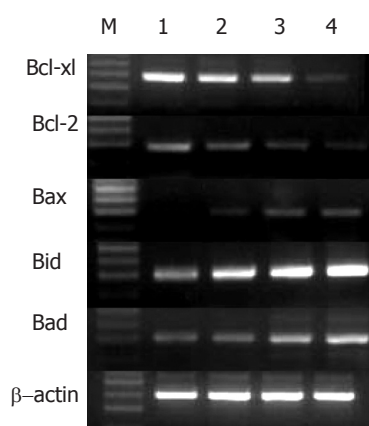


图 1 EGCG干预后Bcl-2家族相关基因mRNA改变情况. 1: 为对照未处理组; 2: 为处理后12 h; 3: 为处理后24 h; 4: 为处理后36 h.

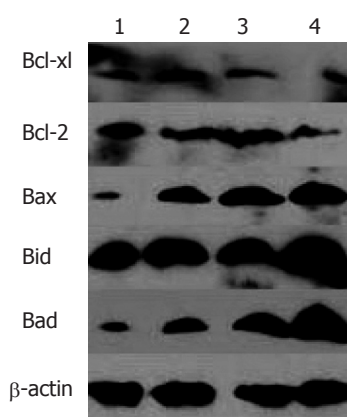


图 2 EGCG干预后Bcl-2家族相关蛋白改变情况. 1: 为对照未处理组; 2: 为处理后12 h; 3: 为处理后24 h; 4: 为处理后36 h.

表 1 Bcl-2家族相关基因的RT-PCR引物序列及相关信息

基因	引物序列	产物大小 (bp)	GenBank号
Bax	同义 5'- tct gac ggc aac ttc aac tg-3'	299	gi:34335114
	反义 5'- cac tgt gac ctg ctc cag aa-3'		
Bid	同义 5'- aca gca tgg acc gta gca tc-3'	302	gi:33150623
	反义 5'- gtc cat ccc att tct ggc ta-3'		
Bad	同义 5'- ccc aga gtt tga gcc gag tg-3'	314	gi:49456824
	反义 5'- gct gtg ctg ccc aga ggt t-3'		
Bcl-2	同义 5'- gga gga ttg tgg cct tct tt-3'	287	gi:179366
	反义 5'- tca ctt gtg gct cag ata ggc-3'		
Bcl-xl	同义 5'- gag gca ggc gac gag ttt-3'	491	gi:510900
	反义 5'- gac gga gga tgt ggt gga-3'		
β-actin	同义 5'- gga ctt cga gca aga gat gg-3'	404	gi:33878222
	反义 5'- aca tct gct gga agg tgg ac-3'		

性5 min; 94℃ 30 s, 57℃ 1 min, 72℃ 1 min, 循环32次; 72℃延伸10 min. 取PCR产物10 μL加6×上样缓冲液2 μL于含5 μL/dL goldview<sup>TM</sup>核酸染料(北京赛百盛基因技术有限公司)的20 g/L琼脂糖凝胶中电泳, 紫外线下生物电泳图像分析系统(FR-200型, 上海复日科技有限公司)观察结果并拍照.

**1.2.2 总蛋白抽提和Western印渍** 总蛋白抽提: 小心倾去培养液后, 用预冷的PBS清洗贴壁的细胞两次, 倾去PBS. 向培养瓶中加入1 mL预冷的含有抑制剂的蛋白抽提试剂(1 mL抽提试剂中加入5 μL蛋白酶抑制剂混合液、5 μL PMSF和5 μL磷酸酶混合液)(购自康成公司), 轻轻摇动5 min, 再用预冷的细胞刮刮下贴壁细胞, 转移细胞悬浮液到离心管中, 冰浴下摇动30 min进行裂解. 将裂解液置于预冷的离心机中18 800 g离

心15 min, 立刻转移上清液至新的离心管中, 并取一部分上清液进行BAC蛋白质定量. Western印渍: 蛋白质等量样品加入6×加样缓冲液, 煮沸变性5 min, 100 g/L SDS-PAGE 80 V电泳45 min及150 V电泳80 min, 然后100 V 1 h电转移至硝酸纤维素膜上. 丽春红S染色10 min以观察各电泳带蛋白量是否一致. 5%(50 g/L)脱脂牛奶TBST(Tween 20/TBS)缓冲液室温封闭2 h, 分别加入一抗β-actin(1:1000)、Bax (1:1000)、Bcl-2 (1:500)、Bad (1:1000)、Bcl-xl(1:5000)和Bid(1:1000), 4℃过夜. PBS洗涤20 min, 再用TBS洗涤20 min. 然后与结合有辣根过氧化物酶标记的二抗(1:3000)室温孵育1 h, TBS洗涤40 min, Supersignal West Femto Kit(PIERCE公司, 美国)法检测, 硝酸纤维素膜与检测液反应5 min, X胶片曝光1 min, 显影.



表 2 EGCG干预后Bcl-2家族蛋白相对改变情况 (mean  $\pm$  SD)

蛋白	Bax/Actin	Bad/Actin	Bid/Actin	Bcl-2/Actin	Bcl-xl/Actin
0 h	0.6292 $\pm$ 0.08	0.4327 $\pm$ 0.02	1.1214 $\pm$ 0.08	0.8112 $\pm$ 0.04	0.6444 $\pm$ 0.01
12 h	0.6454 $\pm$ 0.04	0.7531 $\pm$ 0.01	1.3697 $\pm$ 0.07	0.6716 $\pm$ 0.08	0.6060 $\pm$ 0.02
24 h	0.8069 $\pm$ 0.09	1.2827 $\pm$ 0.02	1.610 $\pm$ 0.09	0.4664 $\pm$ 0.03	0.5647 $\pm$ 0.04
36 h	0.8992 $\pm$ 0.07	1.6388 $\pm$ 0.09	2.0623 $\pm$ 0.12	0.3146 $\pm$ 0.01	0.5487 $\pm$ 0.11

**统计学处理** 所有实验均重复3次, 结果以均值 $\pm$ 标准差表示. 各组间数据的差异应用SAS 6.12统计软件包,  $P < 0.05$ 时认为差异具有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 EGCG对Bcl-2家族相关基因mRNA表达的影响** EGCG处理人胃癌细胞株MKN 45细胞, 终浓度为80  $\mu\text{mol/L}$ , 运用半定量RT-PCR检测处理后12, 24和36 h Bcl-2家族相关基因mRNA表达情况. 随EGCG作用时间的延长, Bcl-xl和Bcl-2的mRNA表达逐渐减弱 ( $P < 0.05$ ), 而Bax, Bid和Bad的mRNA表达逐渐增强 ( $P < 0.05$ )(图1).

**2.2 EGCG对Bcl-2家族相关基因蛋白表达的影响** 以终浓度为80  $\mu\text{mol/L}$  EGCG干预人胃癌细胞株MKN 45细胞, 运用Western Blot法分别检测干预后12, 24和36 h等时间点的蛋白表达情况, Bcl-xl和Bcl-2的蛋白表达水平同样随EGCG作用时间延长逐渐减弱( $P < 0.05$ ), 而Bax, Bid和Bad的蛋白表达则逐渐增强 ( $P < 0.01$ )(表2, 图2).

**2.3 Bcl-2/Bax比值** 通过软件分析获得Bcl-2和Bax蛋白的光密度值, 并计算Bcl-2/Bax比值. 随EGCG作用时间的延长, Bcl-2/Bax比值逐渐降低 ( $P < 0.05$ ).

## 3 讨论

胃癌是我国常见的肿瘤之一, 为全部恶性肿瘤的第3位, 占消化道肿瘤的首位. 胃癌的死亡率相当高, 其年死亡率为25.21/10万, 是各种恶性肿瘤中的第1位. 虽然近些年来胃癌在我国发病率有降低趋势, 但作为重大疾病, 胃癌的防治在我国的形势依旧十分严峻, 亟待发掘新的有效的治疗策略. 绿茶是三大茶系之一, 绿茶多酚占绿茶干重的30%, 大多数是黄酮醇类儿茶素. 许多流行病学研究都表明饮用绿茶同众多部位发生肿瘤的危险度偏低相关, 尤其是胃、食管和肺等. 体内实验也显示, 服用茶提取物或茶多酚能抑制裸鼠的乳腺癌和前列腺癌的生长<sup>[3]</sup>. 饮茶

在亚洲较为盛行, 因此利用茶叶或茶叶成分预防和治疗肿瘤极具前景. EGCG是儿茶素中主要的成分, EGCG具有强的抗氧化作用, 能广泛地诱导肿瘤细胞凋亡. 许多研究表明, EGCG在体内和体外都均能抑制肿瘤的生长, 包括肺癌、胃癌、前列腺癌、皮肤癌、结肠癌、肝癌和乳腺癌等. 虽然EGCG的癌症预防作用机制尚未完全阐明, 但一般与诱导凋亡及抑制端粒酶活性相关. 我们先前的研究已表明EGCG可以通过线粒体途径激活Caspase-3, 从而诱导人胃癌细胞株的凋亡. 因此在本研究中我们进一步检测了针对于线粒体途径上其他相关作用蛋白, 如Bcl-2家族相关蛋白.

Bcl-2家族蛋白包括抗凋亡因子(Bcl-2、Bcl-xl和Mcl-1等)、促凋亡因子(Bax和Bak等)及只含BH3结构域蛋白(Bim和Bid等). 该家族为细胞凋亡的线粒体通路中最重要的调控因子, 决定细胞色素C从线粒体释放至胞质. Bcl-x通过剪切可形成Bcl-xl和Bcl-xs两个产物, Bcl-xl与Bcl-2同源, 两者通过抑制细胞色素C从线粒体的释放和阻止Bak与Bax蛋白的移位来发挥他们的抗凋亡作用. Bcl-xl同时抑制由凋亡刺激或氧化磷酸化抑制剂导致的线粒体肿胀, 并与Bax形成异二聚体<sup>[4]</sup>. Caspase 8分解Bid成截短的Bid移位到线粒体, 使Bak和Bax寡聚体化形成孔隙, 以利于细胞色素C从线粒体的释放, 并放大Caspase激活后的下游信号. 促凋亡家族的Bax正常是以非活性状态存在于胞质中, 但一旦受到凋亡刺激, 就会被激活并插入到线粒体外膜和内质网中. 在线粒体中, Bax形成释放细胞色素C和其他促凋亡因子的孔隙; 相比之下, 在内质网Bax诱导钙离子释放, 从而促进线粒体上释放细胞色素C的孔隙的打开<sup>[5]</sup>. 另外一个促凋亡家族的Bak以非活性状态存在于线粒体中, 一旦激活, 就发生寡聚体化, 促进线粒体外膜通透性增高和细胞色素C的释放. Bcl-2家族中大多数都可以形成同源或异源二聚体, Bax在体内除了结合Bcl-2形成异二聚体, 同样还可以形成同二聚体. 过度表达的

Bax可以抵消Bcl-2的抗凋亡活性<sup>[6-7]</sup>。因此Oltvai *et al*<sup>[8]</sup>提出Bcl-2与Bax的比例决定凋亡刺激后是否生存或凋亡的模型。1995年Yang *et al*<sup>[9]</sup>通过酵母双杂交实验筛选到新的Bcl-2相互作用蛋白Bad, 它具有Bcl-2蛋白的BH1和BH2同源结构域。Bad选择性与Bcl-2和Bcl-x1形成二聚体, 但不与Bax, Bcl-xs, Mcl-1和A1结合, 也不会形成同二聚体。

生理性细胞死亡过程-凋亡机器的损害是肿瘤发生及促进肿瘤对细胞化疗药物的反弹的关键因素。当前治疗肿瘤的主要策略之一是激活细胞内凋亡程序, 离子辐射和化疗药物就是通过诱导凋亡杀死一些肿瘤细胞。一旦细胞受到凋亡刺激, 线粒体内就会发生一系列事件, 包括释放细胞色素C。抗凋亡Bcl-2家族蛋白(如Bcl-2和Bcl-x1)的表达可以抑制细胞色素C的释放, 而促凋亡的Bcl-2家族蛋白(如Bax和Bid)的表达则可以诱导细胞色素C的释放<sup>[10]</sup>。肿瘤细胞常伴有Bcl-2及相关生存蛋白的过度表达, 这也正是其对化疗药物耐药原因之一<sup>[11]</sup>。目前抗凋亡蛋白Bcl-2已成为成熟的抗肿瘤靶点, Oltersdorf *et al*<sup>[12]</sup>通过基于核磁共振技术的筛选方法找出了抗凋亡因子Bcl-2, Bcl-x1和Bcl-w的小分子抑制剂ABT-737, 应用于动物实验, 并得到了初步肯定作用。

虽然在一些体外研究(如前列腺癌细胞等)中EGCG诱导的凋亡不改变细胞中Bcl-2, Bcl-x1和Bad的表达, 即与Bcl-2家族部分成员无关<sup>[13]</sup>, 但在本实验中, EGCG处理人胃癌细胞株MKN 45后, Bcl-2表达下调, 而Bax的表达则上调, 从而提示Bcl-2和Bax是EGCG诱导人胃癌细胞株MKN 45凋亡的关键因素。通过影响Bcl-2家族蛋白的表达, 调节细胞色素C的释放, 进而调控Caspase 3的激活, 因此更进一步说明了EGCG是通过线粒体途径诱导人胃癌细胞株MKN 45的凋亡。

#### 4 参考文献

- 1 Ahmad N, Feyes DK, Nieminen AL, Agarwal R, Mukhtar H. Green tea constituent epigallocatechin-

3-gallate and induction of apoptosis and cell cycle arrest in human carcinoma cells. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 1881-1886

- 2 许琦, 冉志华, 萧树东. 表没食子儿茶素没食子酸酯对人胃癌细胞株MKN 45诱导凋亡作用的研究. *中华消化杂志* 2005; 25: 594-597

- 3 Baliga MS, Meleth S, Katiyar SK. Growth inhibitory and antimetastatic effect of green tea polyphenols on metastasis-specific mouse mammary carcinoma 4T1 cells *in vitro* and *in vivo* systems. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 1918-1927

- 4 Sedlak TW, Oltvai ZN, Yang E, Wang K, Boise LH, Thompson CB, Korsmeyer SJ. Multiple Bcl-2 family members demonstrate selective dimerizations with Bax. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 7834-7838

- 5 Rosse T, Olivier R, Monney L, Rager M, Conus S, Fellay I, Jansen B, Borner C. Bcl-2 prolongs cell survival after Bax-induced release of cytochrome c. *Nature* 1998; 391: 496-499

- 6 汤睿, 朱正纲. 凋亡途径与肿瘤治疗. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2469-2472

- 7 Liu HF, Liu WW, Fang DC, Men RP. Expression of bcl-2 protein in gastric carcinoma and its significance. *World J Gastroenterol* 1998; 4: 228-230

- 8 Oltvai ZN, Millman CL, Korsmeyer SJ. Bcl-2 heterodimerizes *in vivo* with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* 1993; 74: 609-619

- 9 Yang E, Zha J, Jockel J, Boise LH, Thompson CB, Korsmeyer SJ. Bad, a heterodimeric partner for Bcl-XL and Bcl-2, displaces Bax and promotes cell death. *Cell* 1995; 80: 285-291

- 10 Gross A, Yin XM, Wang K, Wei MC, Jockel J, Millman C, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Korsmeyer SJ. Caspase cleaved BID targets mitochondria and is required for cytochrome c release, while BCL-XL prevents this release but not tumor necrosis factor-R1/Fas death. *J Biol Chem* 1999; 274: 1156-1163

- 11 Wang SS, Zhang T, Wang XL, Hong L, Qi QH. Effect of arsenic trioxide on rat hepatocellular carcinoma and its renal cytotoxicity. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 930-935

- 12 Oltersdorf T, Elmore SW, Shoemaker AR, Armstrong RC, Augeri DJ, Belli BA, Bruncko M, Deckwerth TL, Dinges J, Hajduk PJ, Joseph MK, Kitada S, Korsmeyer SJ, Kunzer AR, Letai A, Li C, Mitten MJ, Nettekheim DG, Ng S, Nimmer PM, O'Connor JM, Oleksijew A, Petros AM, Reed JC, Shen W, Tahir SK, Thompson CB, Tomaselli KJ, Wang B, Wendt MD, Zhang H, Fesik SW, Rosenberg SH. An inhibitor of Bcl-2 family proteins induces regression of solid tumours. *Nature* 2005; 435: 677-681

- 13 Chung LY, Cheung TC, Kong SK, Fung KP, Choy YM, Chan ZY, Kwok TT. Induction of apoptosis by green tea catechins in human prostate cancer DU145 cells. *Life Sci* 2001; 68: 1207-1214

电编 李琪 编辑 张焕兰