

EGCG 对人结肠癌 HT-29 细胞凋亡的影响以及对 MMP-2、RECK 的调节作用 *

蒋莎莉^{1,2} 罗招阳² 曹慧秋¹ 胡玉林¹ 吴海燕¹

(1 湖南省郴州市第一人民医院 湖南 郴州 423000 ; 2 南华大学肿瘤研究所 湖南 衡阳 421001)

摘要 目的: 观察表没食子儿茶素没食子酸酯(Epigallaocatechin-3-gallate, EGCG)对人结肠癌 HT-29 细胞增殖和凋亡的影响,并探讨其对 MMP-2、RECK 的调节作用。方法: 体外培养人结肠癌 HT-29 细胞,MTT 比色法检测 EGCG 对 HT-29 细胞的生长抑制作用;Histone/DNA ELISA 检测细胞凋亡;FITC 标记 Annexin-V/PI 双染流式细胞术分析凋亡细胞百分率;Western Blot 和 RT-PCR 方法检测 EGCG 对 MMP-2、RECK 蛋白和 mRNA 表达的影响。结果: EGCG 呈浓度和时间依赖性抑制 HT-29 细胞的增殖,并且增加 HT-29 细胞 Histone/DNA 碎片的渗漏,EGCG 诱导 HT-29 细胞凋亡百分率增高,EGCG 抑制 MMP-2 蛋白和 mRNA 的表达,促进 RECK 蛋白和 mRNA 的表达。结论: EGCG 抑制人结肠癌 HT-29 细胞的增殖,促进其凋亡,并且呈浓度和时间依赖性,其作用机制可能与其下调 MMP-2 蛋白和 mRNA 的表达、上调 RECK 蛋白和 mRNA 的表达有关。

关键词 结肠癌;表没食子儿茶素没食子酸酯;凋亡

中图分类号: R735.35 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2011)12-2258-05

Effects of Epigallaocatechin-3-gallate on Apoptosis of Human Colon Cancer HT-29 Cell and MMP-2,RECK*

JIANG Sha-li^{1,2}, LUO Zhao-yang², CAO Hui-qiu¹, HU Yu-lin¹, WU Hai-yan¹

(1 First People's Hospital of Chenzhou City in Hunan Province, 423000, Chenzhou, China; 2 Cancer Research Institute, University of South China, 421001, Hengyang, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of green tea extract epigallocatechin-3-gallate (EGCG) on proliferation and apoptosis of human colon cancer cell line HT-29, explore its regulation of MMP-2, RECK. **Methods:** HT-29 cells were cultured in vitro. MTT assay was used to test the inhibitory effects of EGCG on proliferation in HT-29 cells. Histone/DNA fragments in medium were determined using ELISA assay. Flow cytometry with FITC labeled annexin V staining was used to determine the percentage of apoptotic cells. Western Blotting was used to analyze the expression of MMP-2 and RECK. And the mRNA expression was detected by RT-PCR. **Results:** MTT assay has shown that EGCG inhibited HT-29 cells and exhibited a dose-time-dependent modal, and increased leakage of the histone/DNA fragments in HT-29 cells. EGCG significantly induced increase of the percentage of apoptotic cells, down-regulated the expression of MMP-2 protein and mRNA levels, and up-regulated the expression of RECK protein and mRNA levels. **Conclusion:** EGCG inhibits proliferation and promotes apoptosis of HT-29 cells in a concentration dependent manner, and the mechanism is associated with downregulation of MMP-2 and upregulation of RECK in protein and mRNA levels.

Key words: Colon cancer; EGCG; Apoptosis

Chinese Library Classification(CLC): R735.35 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)12-2258-05

前言

结肠癌是常见的恶性肿瘤之一,其发病率居恶性肿瘤的第 5 位。近来其发病率有上升的趋势。虽然在对结肠癌的研究已取得很大进展,但始终不能改变其发病率高、病死率高的现状。目前,饮食中的化学防癌物成为人们的研究热点,因为有些植物的化学成分能阻止人体内致癌物的形成,比如绿茶中的表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin-3-gallate, EGCG)是茶多酚中含量最高、活性最强的单体^[1],具有抑制肿瘤细胞生长,诱导肿瘤细胞凋亡的活性^[2]。

RECK 基因在多种正常人体组织中均表达,是新发现的一种基质金属蛋白酶(matrix metallo proteinases, MMPs)抑制剂,是由 Takahashi^[3]等在转染 v-Ki-ras 的细胞株 NIH-3T3 中分离出来的一种转录抑制基因。而基质金属蛋白酶-2(MMP-2)是引起细胞外基质(ECM)降解的最重要的酶类之一,参与炎症、组织纤维化、新血管形成和肿瘤的侵袭转移等过程^[4-7]。

最新研究表明,EGCG 能显著抑制结肠癌细胞转移和侵袭^[8],MMP-2 表达降低也能减弱 LOVO 结肠癌细胞的侵袭活性^[9]。为了进一步证实其中的联系,本研究拟采用不同剂量的 EGCG 处理人结肠癌 HT-29 细胞不同时间,观察其增殖和凋亡

* 基金项目:湖南省郴州市第一人民医院科研资助项目(2010-048)

作者简介:蒋莎莉(1978-),女,主治医师,硕士,研究方向:肿瘤病理学。

Tel:18975510779, E-mail:lzrjsl@163.com

(收稿日期:2011-02-07 接受日期:2011-02-28)

的变化,同时检测 RECK 和 MMP-2mRNA 和蛋白表达水平的改变,来进一步探讨其机制。

1 材料和方法

1.1 材料

人结肠腺癌细胞株 HT-29 购于武汉大学中国典型培养物保藏中心,EGCG 美国 Sigma 公司,RPMI-1640 培养基,美国 GIBCO 公司,小牛血清,杭州四季青生物工程公司,MTT 美国 Sigma 公司,胰蛋白酶 美国 Amresco 公司,DMSO 美国 Sigma 公司,BCA 蛋白定量试剂盒 美国 Pierce 公司,总 RNA 提取试剂盒(TRzol 法)(Catalog Number:RP2401),北京百泰克生物技术有限公司,RT 试剂盒(Catalog Number:K1621),美国 MBI 公司,PCR 试剂盒(Catalog Number:KT201),天根生化科技有限公司,FITC 标记 Annexin V/PI 试剂盒,江苏碧云天生物公司; β -actin 单克隆抗体,RECK 和 MMP-2 单克隆抗体,辣根过氧化物酶标记的兔抗鼠 IgG,Santa Cruze 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 HT-29 细胞用含体积分数为 10%小牛血清的 RPMI-1640 培养液培养于 37℃,含体积分数为 5%CO₂,恒湿培养箱中培养。细胞呈单层生长,铺满培养瓶后传代。

1.2.2 MTT 法检测细胞的增殖 取对数生长期细胞,常规胰酶消化制成单细胞悬液,接种于 96 孔平底培养板,培养 24h 后,无血清培养基同步化 24 小时,加入处理因素(EGCG,10 μ g/mL、20 μ g/mL、40 μ g/mL、60 μ g/mL),每组取 6 个复孔,分别培养 12h、24h、48h,取出培养板,每孔加入 20 μ L 的 5mg/mL 的 MTT 溶液,继续培养 4h,轻轻吸去全部的上清液,每孔加入 200 μ L 的 DMSO,振荡摇匀,使结晶充分溶解。置酶联免疫仪上测各孔吸光度(A 值)检测波长 570nm,计算细胞生长抑制率,生长抑制率=(1-实验组 A570 值/对照组 A570 值)×100%。

1.2.3 ELISA 检测细胞凋亡 将同步化 24 小时的 HT-29 细胞用 10 μ g/mL、20 μ g/mL、40 μ g/mL、60 μ g/mL EGCG 分别培养 12h、24h、48h 后,按细胞凋亡 ELISA 检测试剂盒的说明提取细胞质组蛋白/DNA 片段,加入组蛋白抗体包被的酶标板与之免疫杂交 1h,清洗去除未杂交的溶液后加入辣根过氧化物酶偶联的 DNA 抗体与之结合 1h,清洗去除未结合的溶液后加入过氧化物酶底物溶液反应 30 min,加入 1 mol/L H₂SO₄ 中止反应,酶标仪 405 nm 测吸光度。

1.2.4 FITC 标记 Annexin-V/PI 双染流式细胞术分析 取对数生长期 HT-29 细胞,同步化 24 小时的 HT-29 细胞用 10 μ g/mL、20 μ g/mL、40 μ g/mL、60 μ g/mL EGCG 分别培养 12h、24h、48h 后,取适量 Annexin V-FITC 结合液(4X),用双蒸水稀释至 1X。细胞培养液吸出至离心管内,PBS 洗涤贴壁细胞一次,用 0.25%胰酶消化细胞后,加入回收的细胞培养液,稍混匀,转移到离心管内,1000g 离心 5 分钟,弃上清,收集细胞,用 PBS 轻轻重悬细胞并计数。取 10 万重悬的细胞,1000r 离心 5 分钟,弃上清,加入 195 μ L Annexin V-FITC 结合液(1X)轻轻重悬细胞。加入 5 μ L Annexin V-FITC,轻轻混匀。室温(20-25℃)避光孵育 10 分钟。1000g 离心 5 分钟,弃上清,加入 190 μ L Annexin V-FITC 结合液(1X)轻轻重悬细胞。加入 10 μ L 碘化丙啶染色液,轻轻混匀,冰浴避光放置。随即进行流式细胞仪检测细胞凋

亡率。

1.2.5 Western blot 检测蛋白表达 提取细胞总蛋白,定量,按比例加入上样缓冲液,混匀,100℃煮 5 min,8% SDS-PAGE 电泳后,电转移至 PVDF 膜上,5%脱脂牛奶室温封闭 1 h,加入一抗,4℃孵育过夜,TBST 洗涤 3 次,每次 10 min。加入二抗,37℃孵育 45 min,TBST 洗涤 3 次,每次 15 min,在暗室中压片,然后显影、定影。

1.2.6 RT-PCR 检测 mRNA 表达 分别提取总 RNA,定量后进行逆转录聚合酶链反应,以 β -actin 为内参,上游引物序列为 5'-CATCCTGCGTCTGGACCT-3',上游引物序列为 5'-CAGGAGGAGCAATGATCTTG-3',扩增长度为 480bp,其 PCR 条件:94℃预变性 5 min,然后 94℃变性 30 s、58℃退火 30 s、72℃延伸 40 s,30 个循环后再 72℃终末延伸 5 min,MMP-2 的上游引物序列 5'-AGATCTTCTTCTCAAGGACCGGT-3',下游引物序列为 5'-GGCTGG TCAGTGGCTTGGGGTA-3',扩增长度为 225bp,PCR 条件:94℃预变性 3 min,94℃变性 30s、48℃退火 30s、72℃延伸 1 min,30 个循环后再 72℃延伸 5 min;RECK 的上游引物序列 5'-TAACCAAATGTGCCGTGATG-3',下游引物序列为 5'-TCCAAGGCAATAGCCAGTTC-3',扩增长度为 207bp,PCR 条件:94℃预变性 5 min,94℃变性 45s、50℃退火 45s、72℃延伸 50S,25 个循环后再 72℃延伸 10 min;取 5 μ L PCR 产物,2%琼脂糖凝胶电泳分析。

1.2.7 统计学处理 所有的数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表,采用 T-test 法进行分析,确定 P<0.05 为有统计学意义。

2 结果

2.1 MTT 法检测 EGCG 对 HT-29 细胞增殖的影响

不同浓度 EGCG 作用不同时间后,MTT 分析结果见表 1。随着 EGCG 作用的浓度增加和时间延长,HT-29 细胞增殖抑制率增高,提示 EGCG 可抑制 HT-29 细胞增殖,并呈现出一定的时效量效关系,见表 1 和图 1。

2.2 ELISA 法检测细胞凋亡

ELISA 检测细胞凋亡,如图 2 所示,相对于 control 组,EGCG 在 24 小时之后对 HT-29 细胞具有明显的促凋亡作用,20 μ g/mL、40 μ g/mL、60 μ g/mL 的 EGCG 作用于 HT-29 细胞,在 24 小时凋亡率分别增加 21.64%(1.64 0.10 vs 1.34 0.08)、32.84%(1.78 0.09 vs 1.34 0.08)、42.54%(1.91 0.11 vs 1.34 0.08),48 小时分别增加了 23.53%(1.89 0.12 vs 1.53 0.07)、44.44%(2.21 0.11 vs 1.53 0.07)、62.09%(2.48 0.10 vs 1.53 0.07),而 10 μ g/mL 的 EGCG 与 control 组相比,不具有统计学差异(P>0.05)。实验结果提示 EGCG 促进 HT-29 细胞凋亡,并且具有浓度和时间依赖性。

用 FITC 标记的 Annexin-V/PI 双染流式细胞术可反映 HT-29 细胞凋亡状况,不同浓度 EGCG(10、20、40、60 μ g/mL)作用 12-48 小时后,HT-29 细胞呈现不同程度的凋亡,凋亡率见表 2。Annexin-V/PI 双染色可看出细胞的死亡状况,图 2 左下象限中为正常细胞,左上象限为坏死细胞,右下象限为 G0/G1 期凋亡细胞,右上象限为 G2/M 期凋亡细胞。不同浓度 EGCG 作用 48 小时后 HT-29 细胞的凋亡率见图 3。

2.3 EGCG 对 HT-29 细胞中 MMP-2 表达的影响

表 1. EGCG 对 HT-29 细胞增殖的影响(n=6)
Tab 1. Effect of EGCG on proliferation of HT-29 cells

Treatment factors	12h($\bar{X} \pm S$)	24h($\bar{X} \pm S$)	48h($\bar{X} \pm S$)
Control	1.168± 0.14	1.099± 0.14	1.107± 0.15
PBS	1.155± 0.15	1.101± 0.09	1.113± 0.09
10μg/mL	1.142± 0.16	0.998± 0.19	0.946± 0.09
20μg/mL	1.059± 0.08	0.875± 0.08	0.702± 0.07
40μg/mL	0.963± 0.11	0.747± 0.12*	0.601± 0.09*
60μg/mL	0.741± 0.13*	0.563± 0.07*	0.406± 0.08*

* P<0.05 compared with control

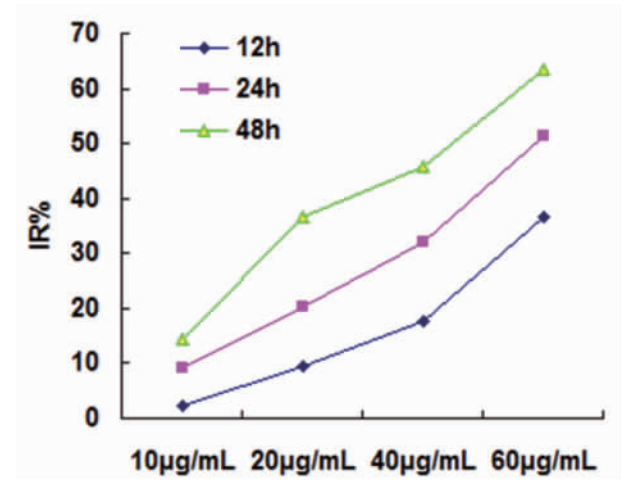


图 1 不同浓度 EGCG(10、20、40、60μg/mL)作用 12h、24h、48h 后 HT-29 细胞增殖抑制率

Fig 1 Inhibitory rate of HT-29 after exposure to EGCG(10,20,40,60μg/mL) for 12h, 24h and 48 hours (n=6)

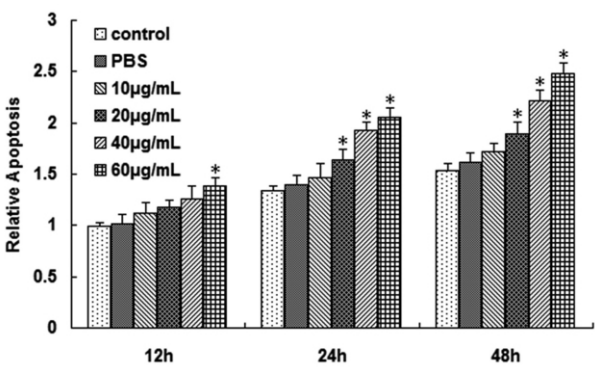


图 2 ELISA 法检测不同浓度 EGCG(10,20,40,60μg/mL)作用 12h、24h、48h 后 细胞培养液组蛋白 /DNA 碎片 (* P<0.05 vs control)
Fig. 2 Histone-associated DNA fragmentation was assessed by cell death enzyme-linked immunosorbent assay in HT-29 cells with treating with 10μg/mL, 20μg/mL, 40μg/mL, 60μg/mL of EGCG at 12h, 24h and 48h. *P<0.05 compared with the control.

表 2 不同浓度 EGCG(10,20,40,60μg/mL)作用 12-48 小时后 HT-29 细胞凋亡率
Tab 2. Apoptotic rate of HT-29 after exposure to EGCG(10,20,40,60μg/mL) for 12-48 hours (n=3)

	12h(%)	24h(%)	48h(%)
10μg/mL	1.55± 0.63	8.45± 1.95	14.36± 3.98
20μg/mL	7.99± 0.84	18.24± 3.84	35.57± 5.43
40μg/mL	14.68± 3.04	28.77± 6.88	45.21± 7.13
60μg/mL	32.18± 6.42	46.52± 7.95	62.37± 9.4

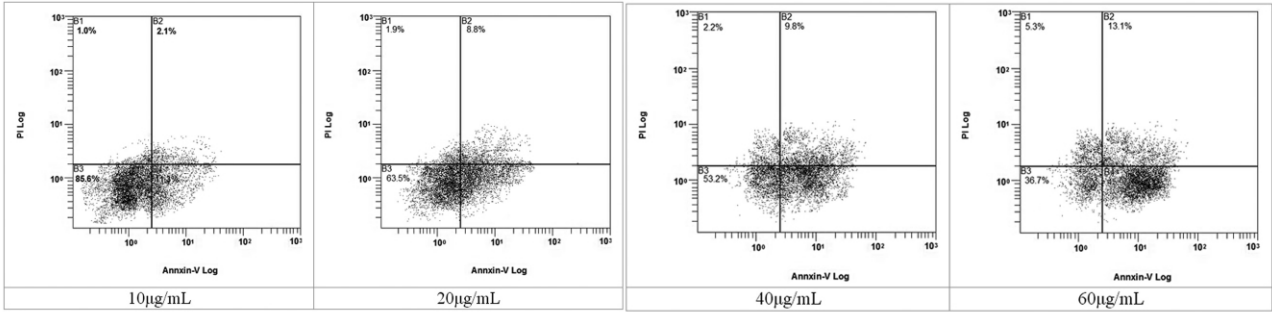


图 3 不同浓度 EGCG(10、20、40、60μg/mL)作用 48 小时后 HT-29 细胞凋亡率
Fig 3. Apoptotic rate of HT-29 after exposure to EGCG(10、20、40、60μg/mL) for 48h

2.3.1 EGCG 对 HT-29 细胞中 MMP-2 蛋白表达的影响 Western Blot 检测不同浓度 EGCG(10、20、40、60μg/mL)作用 HT-29

细胞 24 小时后 ,MMP-2 蛋白表达的变化 (见图 4) 20μg/mL、40μg/mL、60μg/mL 的 EGCG 均减少 MMP-2 蛋白的表达量 ,分

别降低了 9.79%(0.682 0.08 vs 0.756 0.04)、21.83%(0.591 0.07 vs 0.756 0.04)、42.86%(0.432 0.04 vs 0.756 0.04), 而 10 μ g/mL EGCG 处理组与对照组间无统计学差异。实验结果表明 EGCG 降低 MMP-2 蛋白的表达。

2.3.2 EGCG 对 HT-29 细胞中 MMP-2 mRNA 表达的影响 RT-PCR 结果显示(如图 5):与 control 组相比,10 μ g/mL EGCG

处理组 MMP-2 mRNA 的表达量无显著性变化,20 μ g/mL、40 μ g/mL、60 μ g/mL 的 EGCG 均减少 MMP-2 mRNA 的表达量,分别降低了 10.36%(0.701 0.05 vs 0.782 0.06)、21.74%(0.612 0.07 vs 0.782 0.06)、42.33%(0.451 0.04 vs 0.782 0.06), 实验结果表明 EGCG 降低 MMP-2 mRNA 的表达。

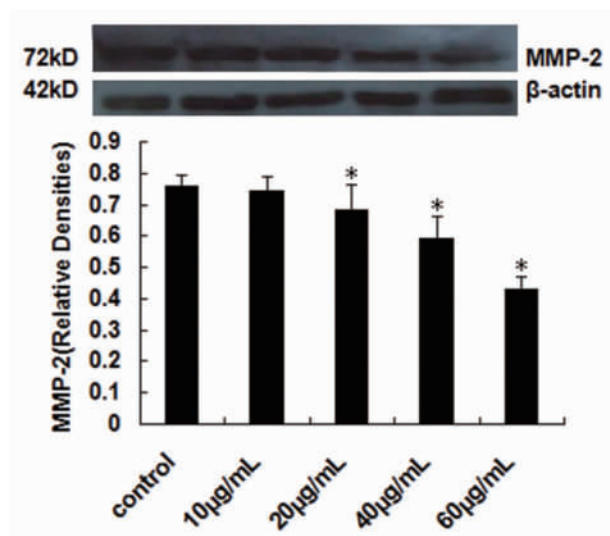


图 4 Western Blotting 检测不同浓度 EGCG(10、20、40、60 μ g/mL)处理 HT-29 细胞后 MMP-2 蛋白表达(* P<0.05 vs control)

Fig. 4 Detection of MMP-2 protein expression by Western Blotting after EGCG treating with HT-29 cells at different concentrations (10、20、40、60 μ g/mL) (* P<0.05 vs control)

2.4 EGCG 对 HT-29 细胞中 RECK 表达的影响

2.4.1 EGCG 对 HT-29 细胞中 RECK 蛋白表达的影响 Western Blot 结果显示(如图 6):与 control 组相比,10 μ g/mL 和 20 μ g/mL EGCG 处理组 RECK 蛋白表达量无显著性变化,而 40 μ g/mL 和 60 μ g/mL 的 EGCG 均增加 RECK 蛋白的表达量,分别增加了 14.42%(0.714 0.05 vs 0.624 0.07)、23.88%(0.773 0.07 vs 0.624 0.07), 实验结果表明 EGCG 能够增加 RECK 蛋白的表达。

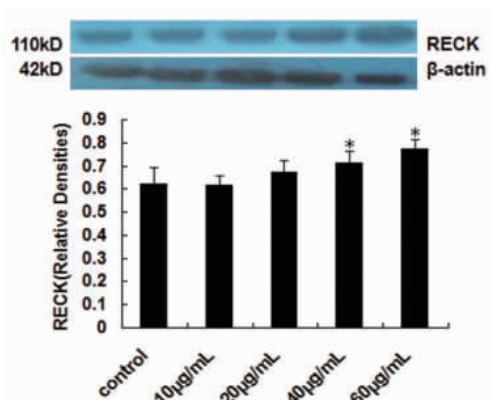


图 6 Western Blotting 检测不同浓度 EGCG(10、20、40、60 μ g/mL)处理 HT-29 细胞后 RECK 蛋白表达(* P<0.05 vs control)

Fig. 6 Detection of RECK protein expression by Western Blotting after EGCG treating with HT-29 cells at different concentrations (10、20、40、60 μ g/mL) (* P<0.05 vs control)

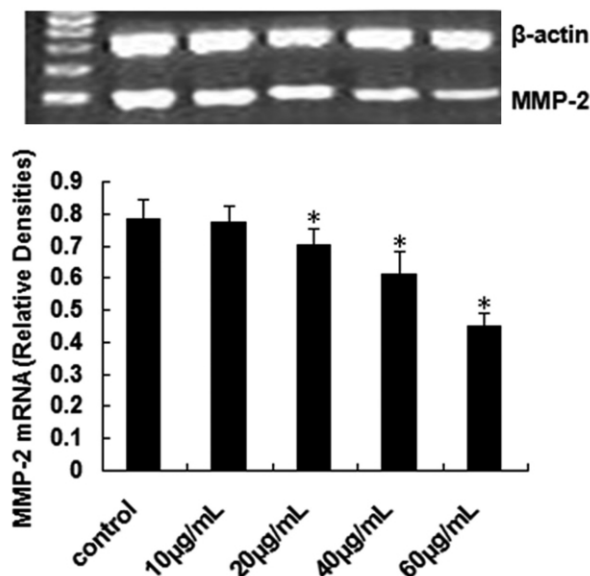


图 5 RT-PCR 检测不同浓度 EGCG(10、20、40、60 μ g/mL)处理 HT-29 细胞后 MMP-2 mRNA 表达水平(* P<0.05 vs control)

Fig. 5 Detection of MMP-2 mRNA expression by RT-PCR after EGCG treating with HT-29 cells at different concentrations (10、20、40、60 μ g/mL) (* P<0.05 vs control)

2.4.2 EGCG 对 HT-29 细胞中 RECK mRNA 表达的影响

RT-PCR 检测不同浓度 EGCG (10 μ g/mL、20 μ g/mL、40 μ g/mL、60 μ g/mL)作用 HT-29 细胞 24 小时后,RECK mRNA 表达的变化(见图 7) 40 μ g/mL 和 60 μ g/mL EGCG 处理组增加 RECK mRNA 的表达量,分别增加了 13.02%(0.729 0.08 vs 0.645 0.05)、22.33%(0.789 0.07 vs 0.645 0.05), 而 10 μ g/mL 和 20 μ g/mL EGCG 处理组与对照组间无统计学差异。实验结果表明 EGCG 能够增加 RECK mRNA 的表达。

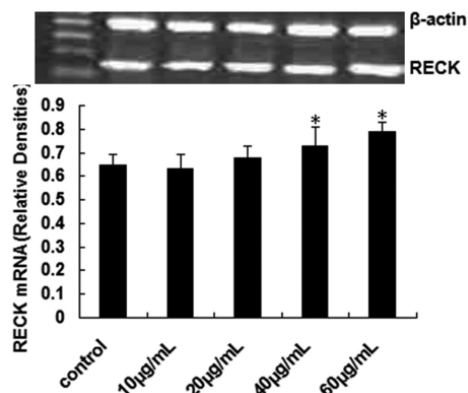


图 7 RT-PCR 检测不同浓度 EGCG(10、20、40、60 μ g/mL)处理 HT-29 细胞后 RECK mRNA 表达情况(* P<0.05 vs control)

Fig. 7 Detection of RECK mRNA expression by RT-PCR after EGCG treating with HT-29 cells at different concentrations (10、20、40、60 μ g/mL) (* P<0.05 vs control)

3 讨论

大量研究表明 EGCG 对乳腺癌^[10]、卵巢癌^[11]、头颈癌^[12]、前列腺癌^[13]、肺癌^[14]等多种肿瘤有抑制作用。本研究的发现之一是 EGCG 可以抑制结肠癌 HT-29 细胞增殖并诱导其凋亡。本研究用不同浓度 (10 μ g/mL、20 μ g/mL、40 μ g/mL 和 60 μ g/mL) 的 EGCG 分别处理 HT-29 细胞 12h、24h、48h 和 96h 后, 发现 HT-29 细胞发生增殖抑制, 并呈剂量浓度依赖性。同时 ELISA 染色和流式细胞术检验发现 EGCG 也能诱导 HT-29 细胞停滞于 G0/G1 期, 其凋亡率也随着 EGCG 浓度增加而增加。

RECK 基因在多种正常人体组织中均表达, 而在肿瘤组织中表达下降甚至不表达, 其表达可抑制肿瘤的侵袭转移能力^[15]。根据 RECK 基因在多种恶性肿瘤组织中的表达缺失或低表达, 以及其表达水平与肿瘤转移侵袭能力成反比的特性, 可将其作为判断患者预后新的分子标志物^[16]。我们的研究结果显示, 在 EGCG 诱导 HT-29 细胞凋亡的过程中, RECK 的 mRNA 和蛋白表达均上调, 可推测 RECK 表达上调可能是诱导 HT-29 细胞凋亡的机制之一。

基质金属蛋白酶 (MMPs) 是近年来发现的一组锌离子依赖性内肽酶, 为重要的细胞外基质 (ECM) 降解酶。它通过对细胞外基质中不同成份的降解, 在肿瘤侵袭、转移中起关键性作用^[17]。近年来研究表明 MMPs 家族至少已发现 22 个^[18]。其中 MMP-2 在神经胶质瘤^[19]、胰腺癌、前列腺癌和乳腺癌^[20]等多种肿瘤的迁徙过程中发挥越来越重要的作用。最新研究表明^[21], EGCG 能显著降低 MMP-2 表达并呈剂量依赖性。本研究显示, EGCG 处理 HT-29 细胞后, MMP-2 的 mRNA 和蛋白水平均下降, 与上述研究一致。另有研究表明, 非甾体抗炎药能通过诱导肺癌细胞中 RECK 蛋白表达上调, 从而阻碍前体 MMP-2 向活性 MMP-2 的转换^[22-24]。因此本研究中, MMP-2 表达下调可能受双重机制影响, 一是 EGCG 的直接调控, 二为 RECK 蛋白上调引起的负性调节。

综上所述, 本研究有以下发现: EGCG 能抑制 HT-29 细胞增殖并诱导其凋亡。在凋亡过程中, RECK 的 mRNA 和蛋白表达均上调, 同时 MMP-2 的 mRNA 和蛋白水平均降低。

参考文献 (References)

- [1] Saito ST, Gosmann G, Pungartnik C, et al. Green tea extract-patents and diversity of uses [J]. Recent Pat Food Nutr Agric. 2009, 1(3): 203-215
- [2] Sadava D, Whitlock E, Kane SE. The green tea polyphenol, epigallocatechin-3-gallate inhibits telomerase and induces apoptosis in drug-resistant lung cancer cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 360(1): 233-237
- [3] Takahashi C, Sheng Z, Horan TP, et al. Regulation of matrix metalloproteinase-9 and inhibition of tumor invasion by the membrane-anchored glycoprotein RECK [J]. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998, 95(22): 13221-13226
- [4] Johansson N, Ahonen M, K?h?ri VM. Matrix metalloproteinases in tumor invasion [J]. Cell Mol Life Sci, 2000, 57(1): 5-15
- [5] Curran S, Murray GI. Matrix metalloproteinases in tumour invasion and metastasis [J]. J Pathol, 1999, 189(3): 300-308
- [6] Okada A. Roles of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP) in cancer invasion and metastasis [J]. Gan To Kagaku Ryoho, 1999, 26(14): 2247-2252
- [7] Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry [J]. Circ Res, 2003, 92(8): 827-839
- [8] Larsen CA, Dashwood RH. (-)-Epigallocatechin-3-gallate inhibits Met signaling, proliferation, and invasiveness in human colon cancer cells [J]. Arch Biochem Biophys, 2010, 501(1): 52-57
- [9] Miao Y, Zhang Y, Wan H, et al. GABA-receptor agonist, propofol inhibits invasion of colon carcinoma cells [J]. Biomed Pharmacother, 2010, 64(9): 583-588
- [10] Oliveras G, Blancfort A, Urruticoechea A, et al. Novel anti-fatty acid synthase compounds with anti-cancer activity in HER2+ breast cancer [J]. Ann N Y Acad Sci, 2010, 1210: 86-92
- [11] Rao SD, Pagidas K. Epigallocatechin-3-gallate, a natural polyphenol, inhibits cell proliferation and induces apoptosis in human ovarian cancer cells [J]. Anticancer Res, 2010, 30(7): 2519-2523
- [12] Kim JW, Amin AR, Shin DM. Chemoprevention of head and neck cancer with green tea polyphenols [J]. Cancer Prev Res (Phila), 2010, 3(8): 900-909
- [13] Duhon D, Bigelow RL, Coleman DT, et al. The polyphenol epigallocatechin-3-gallate affects lipid rafts to block activation of the c-Met receptor in prostate cancer cells [J]. Mol Carcinog, 2010, 49(8): 739-749
- [14] Saha A, Kuzuhara T, Echigo N, et al. New role of (-)-epicatechin in enhancing the induction of growth inhibition and apoptosis in human lung cancer cells by curcumin [J]. Cancer Prev Res (Phila), 2010, 3(8): 953-962
- [15] Meng N, Li Y, Zhang H, et al. RECK, a novel matrix metalloproteinase regulator [J]. Histo Histopathol, 2008, 23(8): 1003-1010
- [16] Clark JC, Thomas DM, Choong PF, et al. RECK--a newly discovered inhibitor of metastasis with prognostic significance in multiple forms of cancer [J]. Cancer Metastasis Rev, 2007, 26(3-4): 675-683
- [17] Turner HE, Nagy Z, Esiri MM, et al. Role of matrix metalloproteinase 9 in pituitary tumor behavior [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2000, 85(8): 2931-2935
- [18] Farias E, Ranuncolo S, Cresta C, et al. Plasmin metalloproteinase activity is enhanced in the euglobulin fraction of breast and lung cancer patients [J]. Int J Cancer, 2000, 89(4): 389-394
- [19] McAteer MA, Choudhury RP. Chapter 4 - Applications of nanotechnology in molecular imaging of the brain [J]. Prog Brain Res. 2009, 180: 72-96
- [20] Jezierska A, Motyl T. Matrix metalloproteinase-2 involvement in breast cancer progression: a mini-review [J]. Med Sci Monit, 2009, 15(2): RA32-RA40
- [21] Park JH, Yoon JH, Kim SA, et al. (-)-Epigallocatechin-3-gallate inhibits invasion and migration of salivary gland adenocarcinoma cells [J]. Oncol Rep, 2010, 23(2): 585-590
- [22] Liu LT, Chang HC, Chiang LC, et al. Induction of RECK by nonsteroidal anti-inflammatory drugs in lung cancer cells [J]. Oncogene, 2002, 21(54): 8347-8350
- [23] Takahashi C, Sheng Z, Horan TP, et al. Regulation of matrix metalloproteinase-9 and inhibition of tumor invasion by the membrane-anchored glycoprotein RECK [J]. Proc Natl Acad Sci USA. 1998, 95(22): 13221-13226
- [24] Sasahara RM, Takahashi C, Noda M. Involvement of the Sp1 site in ras-mediated downregulation of the RECK metastasis suppressor gene [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1999, 264(3): 668-675