

合成的新茶氨酸衍生物茶双溴香酰胺 对人乳腺癌细胞生长的抑制作用

田绘绘, 吴菲, 张华荣, 季德鑫, 刘真真, 朱荣芹, 姚建文, 刘昆, 张国营*

(烟台大学药学院分子药理学实验室, 烟台 264005)

摘要: 为提高茶氨酸的活性, 开发新型抗肿瘤药物, 合成了新的茶氨酸衍生物茶双溴香酰胺 (DTBrC), 比较茶氨酸和茶双溴香酰胺对高转移的人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞生长的抑制作用与其分子机制。采用 MTT 方法检测不同浓度的 DTBrC 对 MDA-MB-231 细胞生长的影响, 应用蛋白质印迹法检测解析 MDA-MB-231 细胞中与凋亡和生长密切相关蛋白的表达和药物可能的作用靶点。结果表明, DTBrC 抑制 MDA-MB-231 细胞生长的活性超过其母体化合物茶氨酸多倍; DTBrC 显著减少抗凋亡蛋白 Bcl-2 水平, 大大提高促凋亡蛋白 Bax 表达, 从而减少 Bcl-2/Bax 比率; 此外, DTBrC 明显抑制血管内皮生长因子受体 VEGFR2 和蛋白激酶 Akt 的表达及磷酸化, DTBrC 对这些蛋白的作用活性强于茶氨酸。DTBrC 作用机制可能与抑制 MDA-MB-231 细胞 VEGFR2-Akt 信号传导通路相关。本研究结果提示, DTBrC 可能具有广泛应用于临床治疗和 (或) 辅助治疗高转移乳腺癌的潜力。

关键词: 茶氨酸; 茶双溴香酰胺; 乳腺癌; 体外生长抑制

中图分类号: S571.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2015)01-0001-06

Inhibitory effects of a novel theanine derivative DTBrC on the growth of human breast cancer cells

TIAN Huihui, WU Fei, ZHANG Huarong, JI Dexin, LIU Zhenzhen,

ZHU Rongqin, YAO Jianwen, LIU Kun, ZHANG Guoying

(Laboratory of Molecular Pharmacology, School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264005)

Abstract: In order to develop new anticancer drugs, we synthesized a novel theanine derivative DTBrC and investigated the inhibitory effects of DTBrC on the growth of highly metastatic human breast cancer MDA-MB-231 cells and the mechanisms of action. The MTT assay was used to evaluate the *in vitro* effects of different concentrations of DTBrC on the growth of MDA-MB-231 cells. Western blotting was employed to analyze the protein expressions and the possible targets of action related to the growth inhibition in MDA-MB-231 cells treated with DTBrC cells. The experimental results showed that DTBrC enhanced the growth inhibition of MDA-MB-231 cells by multifold as compared with theanine. DTBrC decreased the expression of antiapoptotic Bcl-2 protein and increased the level of proapoptotic Bax protein, resulting in reduction of Bcl-2/Bax ratio. Moreover, DTBrC greatly reduced the levels of VEGFR2 receptor protein and Akt kinase as well as Akt phosphorylation. DTBrC exhibited much stronger activity than theanine on the regulation of these protein expressions relevant to the mechanism of action for repression the growth of MDA-MB-231 cells. All these results suggested that DTBrC may have a wide therapeutic and/or adjuvant therapeutic application in the treatment of highly-metastatic human breast cancer.

Key words: theanine; DTBrC; human breast cancer; growth inhibition *in vitro*

收稿日期: 2014-03-05

基金项目: 国家科技部十二五“863”课题 (2012AA020206), 山东省科技攻关项目 (2009GG10002087)和山东省自然科学基金 (ZR2012HM016) 共同资助。

作者简介: 田绘绘, 硕士研究生。

* 通信作者: 张国营, 博士, 教授。E-mail: zhang_zhang6173@aliyun.com

茶氨酸 (*L*-theanine) 是茶叶中影响其品质的一种特征性游离茶氨酸, 化学命名为 *N*-乙基-*L*-谷氨酰胺。研究表明: 茶氨酸可以作为生物调节剂提高抗肿瘤药物疗效; 茶氨酸通过干扰谷氨酸盐的代谢来抑制癌细胞的生长^[1]; 可以显著地抑制大鼠肝癌细胞的侵袭^[2]、人乳腺癌细胞的生长、迁移和侵袭^[2-5]。但是, 由于茶氨酸的水溶性高限制了它的抗癌作用。为提高茶氨酸的生物活性、研发新型抗癌药物, 本研究以茶氨酸为母体化合物, 对其化学结构进一步改造修饰, 成功获得了另一种新的茶氨酸衍生物-茶双溴香酰胺 (DTBrC), 并且与茶氨酸抗癌活性相比较, 通过体外实验, 评估了 DTBrC 对高转移的人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞生长的影响, 初步确认其作用的机制和可能的药物分子靶点。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

1.1.1 药品与试剂 NF- κ B 抑制剂 Bay 和 PI3K/Akt 抑制剂 Ly294002(Ly) 以及非必须氨基酸购自碧云天生物技术研究所; 胎牛血清、100 mg·L⁻¹ 链霉素、100 U·mL⁻¹ 青霉素和 DMEM 培养基购自美国 Hyclone 公司; BCA 工作液、苔芬兰染色液、MTT、VEGFR2、Akt、pAkt、Bax、Bcl-2、 β -tubulin 抗体、辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔和 ECL Plus 发光试剂盒购自美国 Cell Signaling Technology Inc. 公司; 薄层色谱(TLC)采用烟台市化学工业研究所的薄层色谱预制硅胶 (60GF254, 厚 0.2 mm), 柱层析硅胶 (200~300 目) 由烟台市化学工业研究所研制。所用试剂为市售化学纯或分析纯商品。

1.1.2 仪器 3111 型二氧化碳培养箱(Thermo 公司); TE2000-U 型倒置荧光显微镜(Nikon 公司); 全自动酶标仪(Bio-tek 公司); 小型垂直电泳槽、电转移槽(BIO-RAD 公司); 熔点用 XT3A-显微熔点仪测定, 温度未校正。质谱仪为 TSQ QUANTUM ACCESS 型三重四极杆串联质谱仪, 配有 ESI 源以及 Xcalibur 数据处理软件 (美国 Thermo Fisher 公司); Agilent 1100 自动进样液相色谱系统, 包括四元输液泵, 自动进样器, 柱温箱(美国 Agilent 公司); 色谱柱为 Waters Xterra-C18, 2.1×100 mm, 3.5 μ m。核磁共振谱 AVNCE-500 型核磁共振仪用测定, TMS 为内标。

1.2 实验方法

1.2.1 茶双溴香酰胺 (DTBrC) 的合成 茶双溴香酰胺 (DTBrC) 的合成的具体流程见图 1 (图中 X=Br)。

(1) 茶氨酸乙酯的合成。取 *L*-茶氨酸 4.35 g (0.025 mol) 溶于无水乙醇 50 mL, 搅拌下缓慢滴加 SOCl₂ 5 mL (0.0902 g; 0.76 mmol); 室温下搅拌, TLC 监测反应 (TLC 条件: 氯仿: 甲醇=5:1, 茚三酮染色) 进度。反应结束后蒸干溶剂, 得白色油状液体。待反应完全时, 减压蒸干用无水二氯甲烷旋蒸几次, 去除易挥发杂质, 即得茶氨酸乙酯。

(2) 3,5-二溴香豆素三羧酸的合成。取 3,5-二溴水杨醛 11.2 g (0.04 mol) 溶于 100 mL 乙醇中, 加入丙二酸二乙酯 11.5 mL (0.076 mol), 2 mL 哌啶; 80℃ 水浴反应; TLC 检测反应 (TLC 条件: 石油醚: 丙酮为 5:1)。反应结束后将体系降温至固体完全析出, 抽滤得到固体。将反应所得的固体, 分批加入到 160 mL 50% 乙醇中, 加入 NaOH 8 g (0.2 mol); TLC 监测反应进程 (TLC 条件: 石油醚: 丙酮为 3:1)。反应结束后向反应体系内再加 80 mL 50% 乙醇溶液, 搅拌下滴加盐酸至大量白色固体析出。即得第 2 步产物。

(3) 茶双溴香酰胺的合成。取第 1 步反应产物 (茶氨酸乙酯) 3.64 g (0.018 mol), 称取第 2 步反应产物 (3,5-二溴代香豆素-3-COOH) 2.52 g (0.009 mol) 加入取 300 mL 无水二氯甲烷, 1.07 mL DIPEA (二异丙基乙胺) (0.7918 g; 0.0061 mol), 383 mg EDCI (0.002 mol), 室温 (20~25℃) 搅拌反应, TLC 监测反应进度 (TLC 条件: 石油醚: 丙酮为 1:1)。待反应完全, 减压蒸除溶剂, 得粗品。粗品加入 50 mL 乙醇超声处理至固体全部变成细粉末, 抽滤获得的浅黄色粉末即为最终产物。

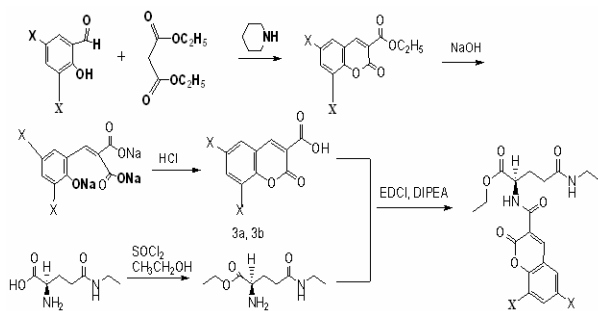


图 1 茶双溴香酰胺 (DTBrC) 的合成
Figure 1 The synthesis of DTBrC from theanine

1.2.2 细胞培养 取人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞系 (购自中科院上海细胞库) 置于含 10% 胎牛血清的 DMEM, 37℃、5% CO₂ 饱和湿度条件下常规培养, 细胞呈贴壁状态, 2~3 d 换培养液 1 次, 取对数生长期细胞用于实验。

1.2.3 MTT 法检测 DTBrC 对 MDA-MB-231 细胞生长的影响 根据已经报道的方法^[5-6], 收集对数生长期 MDA-MB-231 细胞接种于 96 孔培养板(100 $\mu\text{L}\cdot\text{孔}^{-1}$) 中, 每孔 3×10^3 个细胞。24 h 后加入茶氨酸、DTBrC 终浓度分别为 16、64、125 和 250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Bay 和 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Ly, 同时设空白对照组(加入等体积的溶媒), 每个药物浓度设 3 个复孔。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中继续培养 48 h、72 h 后, 加入 10 $\mu\text{L}\cdot\text{孔}^{-1}$ MTT (5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 溶液, 继续培养 4 h 后, 弃上清液, 加入 DMSO 150 $\mu\text{L}\cdot\text{孔}^{-1}$, 避光振荡 15 min, 使用酶联免疫检测仪检测 570 nm 波长(参考波长 630 nm) 处各孔的吸光度(OD) 值, 计算细胞相对生长率(%) = (药物组 OD 值/空白对照组 OD 值 $\times 100\%$)。

1.2.4 蛋白印迹法检测 DTBrC 对 MDA-MB-231 细胞中相关蛋白的表达 依据已经报道的方法^[5-6], 常规收集各组经上述不同浓度的茶氨酸、DTBrC、5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Bay 和 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Ly 作用 48 h 的 MDA-MB-231 细胞, 裂解于含有 1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 PMSF 的 RIPA 裂解液中, 冰浴下超声破碎, 12000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 20 min, 取上清, 用 BCA 法测定蛋白浓度。每个样品取总蛋白 40 μg , 以 15% 的 SDS-PAGE 凝胶电泳分离。电泳后湿转法将蛋白转印至 PVDF 膜上, 5% 脱脂奶粉封闭后, 与适当稀释的一抗共孵, 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜; TBST 洗 3 次, 每次 5 min; 再与适当稀释的二抗室温共孵 1 h, 同法洗涤 3 次, ECL Plus 显色, 膜与 X-感光胶片在暗盒曝光。结果进行灰度扫描后, Quantity One 分析软件测定平均吸光度。

1.3 统计学处理

各项实验重复 3 次以上, 采用 SPSS 16.0 统计学软件对实验结果数据进行分析, 计量数据以 $\bar{x}\pm\text{SD}$ 表示, 采用 ANOVA 和 Bonferroni test 检验, 以 $P<0.05$ 具有统计学意义。

2 结果与分析

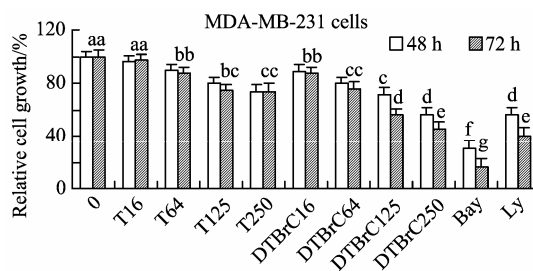
2.1 合成的茶双溴香酰胺 (DTBrC) 结构鉴定

合成获得的浅黄色粉末状固体化合物为茶双溴香酰胺, 其分子式 $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_6\text{Br}_2$, MW:531; 熔点 m.p.: 121~123 $^{\circ}\text{C}$, 经核磁共振和质谱 (^1H NMR, ^{13}C NMR 和 MS) 分析确认其分子结构特征: ^1H -NMR δ : 1.12 (*t*, $J = 7.3$ Hz, 3H, NHCH_2CH_3), 1.28 (*t*, $J = 7.2$ Hz, 3H, OCH_2CH_3), 2.17-2.28 (*m*, 4H, CH_2CH_2), 3.22-3.29 (*m*, 2H, NHCH_2CH_3), 4.18-4.26 (*m*, 3H), 5.75 (*br s*, 1H, NH), 7.38 (*d*, $J = 2.3$ Hz, 1H,

coumarin-5H), 7.71 (*d*, $J = 2.3$ Hz, 1H, coumarin-7H), 8.32 (*s*, coumarin-4H), 14.12 (*br s*, 1H, NH); ^{13}C -NMR (100MHz, CDCl_3) δ : 14.07 (CH_3), 14.71 (CH_3), 28.99 (CH_2), 31.65 (CH_2), 34.34 (CH_2), 61.66 (CH), 69.16 (CH_2), 109.80 (C), 112.09 (CH), 119.82 (C), 133.14 (CH), 137.96 (CH), 157.48 (C), 165.63 (C), 170.20 (C), 171.04 (C). ESI-MS (*m/z*): 528.5 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ 。

2.2 MTT 法检测 DTBrC 对 MDA-MB-231 细胞生长的抑制作用

MTT 结果显示: 随茶氨酸(T)和 DTBrC 浓度的增加, MDA-MB-231 细胞相对生长率逐渐减少, DTBrC 对 MDA-MB-231 细胞生长有一定的抑制作用, 与对照组和茶氨酸组相比均有显著差异 ($P<0.05$), 呈现良好的剂量依赖关系, 阳性对照组 NF- κB 抑制剂 Bay 和 PI3K/Akt 抑制剂 Ly 对 MDA-MB-231 细胞生长的抑制作用也显著, 具体见图 2。



($\bar{x}\pm\text{SD}$, $n=3$; 不同字母 (a~g) 表示统计学差异显著; $P<0.05$). Values with different letters (a-g) differ significantly; $P<0.05$)

图 2 茶氨酸衍生物 DTBrC 对高转移的 MDA-MB-231 细胞生长的影响

Figure 2 Effects of DTBrC on the growth of MDA-MB-231 cells

2.3 DTBrC 对 MDA-MB-231 细胞中生长和凋亡相关蛋白表达的影响

如图 3 所示, 不同浓度茶氨酸 (T) 和 DTBrC 作用 MDA-MB-231 细胞 48 h 后可显著下调 VEGFR2 受体蛋白的表达, 与对照组相比有显著差异 ($P<0.05$), 且呈现良好的剂量依赖性, 其中以 250 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 组对 VEGFR2 蛋白下调作用最明显; 在同样 250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下, 茶氨酸组的抑制率为 28%, 而 DTBrC 组的抑制率为 54%; Bay 和 Ly 作为阳性对照对 VEGFR2 受体蛋白表达水平也表现为明显下调作用, 其抑制率分别为 64% 和 56%。

如图 4 所示, 不同浓度茶氨酸 (T) 和 DTBrC 作用 MDA-MB-231 细胞 48 h 后可下调 Akt 激酶表

达和磷酸化水平，与对照组相比有显著差异 ($P < 0.05$)，且呈现良好的剂量依赖性，其中以 250 $\mu\text{mol/L}$ 组对 Akt 蛋白表达和磷酸化水平的下作用最明显；在同样 250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下，茶氨酸组的抑制率约为 16%，而 DTBrC 组的抑制率约为 36%；阳性对照 Bay 和 Ly 对 Akt 激酶蛋白磷酸化的抑制率分别为 46%和 42%。

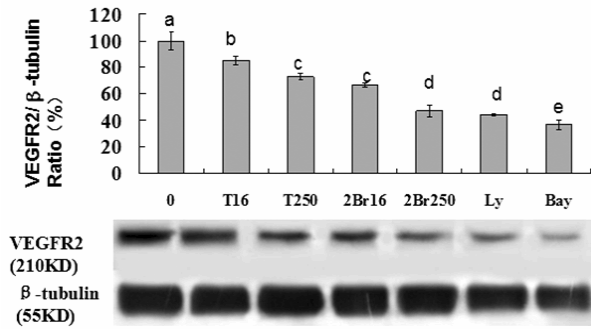


图 3 DTBrC 对 MDA-MB-231 细胞 VEGFR2 受体蛋白表达的影响

Figure 3 Effects of DTBrC on the protein expression of VEGFR2 receptor in MDA-MB-231 cells

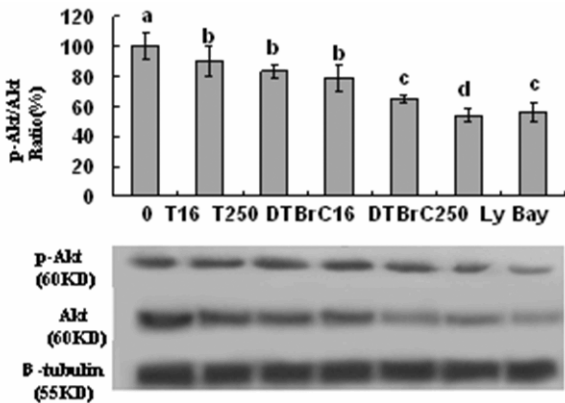


图 4 DTBrC 对细胞 Akt 蛋白表达和磷酸化水平的影响

Figure 4 Effects of DTBrC on the Akt protein expression and phosphorylation in MDA-MB-231 cells

如图 5 所示，不同浓度茶氨酸和 DTBrC 作用 MDA-MB-231 细胞 48 h 后可下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达，与对照组相比有显著差异 ($P < 0.05$)，且呈现良好的剂量依赖性，其中以 250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组对

Bcl-2 蛋白下调作用最明显，在同样 250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下，茶氨酸组的抑制率为 29%，而 DTBrC 组的抑制率为 45%；阳性对照 Bay 和 Ly 对 Bcl-2 蛋白表达水平也表现为明显下调作用，其抑制率分别为 42%和 49%。

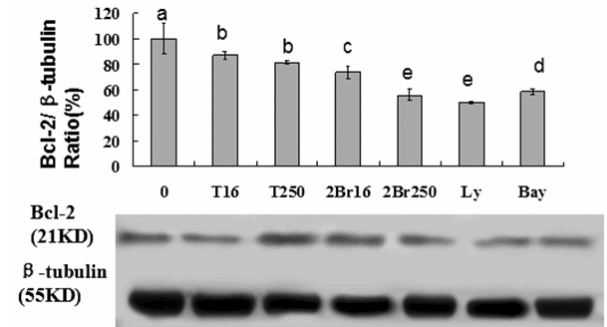


图 5 DTBrC 对 MDA-MB-231 细胞凋亡相关蛋白 Bcl-2 水平的影响

Figure 5 Effects of DTBrC on the level of Bcl-2 protein in MDA-MB-231 cells

如图 6 所示，不同浓度茶氨酸和 DTBrC 作用 MDA-MB-231 细胞 48 h 后可上调 Bax 蛋白的表达，与对照组相比有显著差异 ($P < 0.05$)，且呈现良好的剂量依赖性，其中以 250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组对 Bax 蛋白上调作用最明显；在同样 250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下，茶氨酸组上调 1.84 倍，而 DTBrC 组上调 5.56 倍；阳性对照 Bay 和 Ly 对 Bax 蛋白表达水平也分别上调 6.12 倍和 5.06 倍。

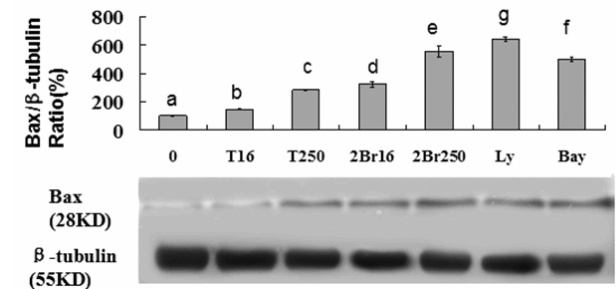
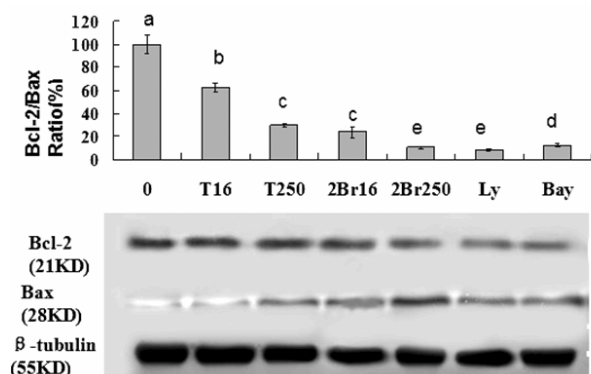


图 6 DTBrC 对 MDA-MB-231 细胞凋亡相关蛋白 Bax 表达的影响

Figure 6 Effects of DTBrC on the Bax protein in MDA-MB-231 cells



$\bar{x} \pm SD$, $n=3$; 不同字母 (a~e) 表示统计学差异显著; $P<0.05$ 。Values with different letters (a-e) differ significantly; $P<0.05$

图 7 DTBrC 对 MDA-MB-231 细胞凋亡相关蛋白 Bcl-2/Bax 比率的影响

Figure 7 Effects of DTBrC on the Bcl-2/Bax protein in MDA-MB-231 cells

如图 7 所示, 不同浓度茶氨酸(T)和 DTBrC 作用 MDA-MB-231 细胞 48 h 后可下调抗凋亡蛋白 Bcl-2、上调促凋亡蛋白 Bax 的表达、从而减少 Bcl-2/Bax 蛋白比率, 与对照组相比有显著差异 ($P<0.05$), 且呈现良好的剂量依赖性, 其中以 $250 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组对 Bcl-2/Bax 蛋白下调作用最明显, 在同样 $250 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下, 茶氨酸组的抑制率为 69%, 而 DTBrC 组的抑制率为 75%; 阳性对照 Bay 和 Ly 对 Bcl-2/Bax 蛋白表达水平也表现为明显下调作用, 其抑制率分别为 88%和 92%。

3 小结与讨论

乳腺癌是发生在乳腺上皮组织的恶性肿瘤, 乳腺癌的病因尚未完全清楚, 乳腺癌的发病率也在呈逐年上升的趋势。资料显示, 近些年来, 乳腺癌发病率增加了 35.2%。部分地区乳腺癌已经成为妇女发病率最高的恶性肿瘤, 近年来还以每年 2.4% 的速度上升, 现在年发病率已经达到每 10 万人中就有 40 人, 正呈现年轻化的发展趋势^[9]。

茶氨酸在化学构造上与脑内活性物质谷酰胺相似, 具有多种药理作用, 如降压、抗疲劳、镇静、提高记忆力、保护神经细胞、对某些抗癌药物的生物调节作用。有关研究显示, 茶氨酸可以有效促进药物的抗肿瘤作用^[10]。作者前期的实验研究也证明茶氨酸具有抗肝癌、肺癌和白血病的生物活性^[3-8]。本研究课题是基于茶氨酸的相关结构特性和生理活性, 对其进行结构修饰, 合成了衍生物茶双溴香酰胺 (DTBrC)。本研究的结果确认, 与对照组茶氨酸相比, DTBrC 表现出更强的活性, 在抑制高转移的

人乳腺癌细胞方面, DTBrC 明显优于茶氨酸, 具有开发成新型抗癌药物的潜力。

VEGFR2, 存在于血管和淋巴管内皮等处, 与 VEGF-C、VEGF-D 结合, 调节淋巴管内皮细胞和血管内皮细胞, 促进淋巴管和血管的生成, 还有调节淋巴细胞的迁移等作用。茶氨酸和茶双溴香酰胺通过抑制 VEGFR2 的表达、有可能抑制乳腺癌的生长和发展。

Akt, 又称蛋白激酶 B (Protein kinase B, PKB), 其持续活化与肿瘤的发生、发展密切相关, 是 PI3K/Akt 信号转导通路的核心。PI3K 激活的 Akt 可以通过磷酸化作用激活或抑制其下游靶蛋白 Caspase-9、NF- κ B 等, 介导多种生长因子诱发细胞生长和增殖, 经多种途径促进细胞存活。该信号转导通路的异常激活是肿瘤细胞的发生、发展重要的步骤, 在肿瘤的增殖、存活、细胞运动、抵抗凋亡、血管发生和转移以及对化疗耐药、放疗抗拒中发挥重要作用。目前以该通路为靶点的肿瘤治疗倍受关注^[10]。本研究结果显示: DTBrC 可以下调 Akt 蛋白的表达和磷酸化水平, 从而可能抑制 PI3K/Akt 信号通路, 抑制癌细胞生长和发展。

肿瘤是一种细胞增殖和死亡均发生异常的疾病。在恶性肿瘤发生和发展过程中, 细胞凋亡抑制比细胞过度增殖所起的作用更重要^[11]。细胞凋亡不仅在肿瘤发生和发展中有重要意义, 而且化疗、放疗和生物治疗多为诱导凋亡来治疗肿瘤^[12]。

抗凋亡蛋白 Bcl-2 和促凋亡蛋白 Bax 对细胞凋亡起重要调节作用^[13-14], Bcl-2 和 Bax 等结合形成异构二聚体抑制细胞凋亡, Bax 表达水平的增加可拮抗 Bcl-2 的作用, 并促进细胞凋亡^[15]。Bcl-2/Bax 比例是否平衡是决定细胞进入凋亡与否的关键因素, 二者之间相互作用决定了细胞死亡的阈值^[16]。本研究结果显示: DTBrC 明显下调了 Bcl-2/Bax 的比例, 可能促进肿瘤细胞凋亡。

综上所述, 作者认为茶双溴香酰胺 DTBrC 是一种有效抑制人乳腺癌细胞生长的抗癌活性成分, 其作用机制可能与诱导细胞凋亡, 影响 VEGFR2-Akt 信号转导通路蛋白表达有关; 其作用的靶点涉及到一系列重要的蛋白和酶的表达和磷酸化, 如下调 VEGFR2、Bcl-2、Akt 等蛋白的表达, 上调 Bax 等蛋白的表达, 显著地抑制乳腺癌细胞生长、诱导凋亡, 从而发挥抗肿瘤作用。我们的研究结果为扩大茶氨酸的应用、研发新型抗肿瘤药物提供有价值的科学依据。有关 DTBrC 的抗癌作用与分子机制本课题组正在进行更深入的研究探索。

参考文献:

- [1] Graham H N. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry[J]. *Prev Med*, 1992, 21(3): 334-350.
- [2] 杨建华. 茶氨酸抗肿瘤作用及其机制研究进展[J]. *国外医学肿瘤学分册*, 2004, 31(9): 686-687.
- [3] Zhang G, Miura Y, Yagasaki K. Effects of dietary powdered green tea and theanine tumor growth and endogenous hypedipidemia in hepatomabearing rata[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2002, 66(4): 711-716.
- [4] Zhang G, Miura Y, Yagasaki K. Inhibitory effects of theanine and sera from theanine-fed rats on receptor-mediated cancer cell beneath mesothelial-cell monolayers[J]. *Cytotechnology*, 2001, 36: 195-200.
- [5] Liu Q, Duan H, Luan J, et al. Effects of theanine on growth of human lung cancer and leukemia cells as well as migration and invasion of human lung cancer cells[J]. *Cytotechnology*, 2009, 59 (3): 211-217.
- [6] Zhang G, Wang Y, Zhang Y, et al. Anti-cancer activities of tea epigallocatechin-3-gallate in breast cancer patients under radiotherapy[J]. *Current Molecular Medicine*, 2012, 12: 163-176.
- [7] Yu P, Liu Q, Liu K, et al. Matrine suppresses breast cancer cell proliferation and invasion via VEGF-Akt-NF-kappaB signaling[J]. *Cytotechnology*, 2009, 59 (3): 219-229.
- [8] Luan J, Duan H, Liu Q, et al. Inhibitory effects of norcantharidin against human lung cancer cell growth and migration[J]. *Cytotechnology*, 2010, 62: 349-355.
- [9] 刘刚 邵志敏. 乳腺癌基础研究新进展[J]. *中国肿瘤* 2002, 11(1): 31-35.
- [10] 牛国梁, 张树友. PI3K/Akt 信号传导通路与肿瘤[J]. *现代生物医学进展*, 2010, 10(20): 3994-3995.
- [11] 李荣, 宋政军, 王粉荣. 人胃癌组织中 TGF β -1 的表达与胃癌血管形成的研究[J]. *现代肿瘤医学*, 2003, 11(4): 255-257.
- [12] Kawamura H, Li X, Harper S J, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-A165b is a weak in vitro agonist for VEGF receptor-2 due to lack of coreceptor binding and deficient regulation of kinase activity[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(12): 4683-4692.
- [13] Tsukaharas S, Yamamoto S, Shew T T, et al. Inhalation of low-level formaldehyde increases the bcl-2/Bax expression ratio in the hippocampus of immunologically sensitized mice [J]. *Neuroimmunomodulation*, 2006, 13(2): 63281.
- [14] 王彤, 刘存志, 刘玉珍, 等. *bcl2/bax* 基因调控机体细胞凋亡的机制研究进展[J]. *中国老年学杂志*, 2008, 28: 1658-1659.
- [15] Brooks C, Dong Z. Regulation of mitochondrial morphological dynamics during apoptosis by Bcl-2 family proteins: a key in Bak [J]. *Cell Cycle*, 2007, 6(24): 3043-3047.
- [16] De Giorgi F, Lartigue L, Bauer M K, et al. The permeability transition pore signals apoptosis by directing bax translocation and multimerization [J]. *FASEB J*, 2002, 16: 607-609.