

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.23.004

EGCG 对人肺癌细胞 NCI-H1975 和 NCI-H520 细胞增殖及凋亡的影响*

黄洁,李承红[△],孟庆华,王小江,陈实,石奕
(江汉大学附属医院/武汉市第六医院呼吸内科 430016)

[摘要] **目的** 探讨表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)对非小细胞肺癌(NSCLC)细胞系增殖凋亡、周期的作用机制。**方法** 对数生长期 NSCLC 细胞系 NCI-H1975 和 NCI-H520,分为空白对照组(0 mol/L EGCG)和不同剂量(20、40、80、160、320 mol/L)EGCG 组,分别处理作用 24、48、72 h,CCK-8 法检测细胞凋亡率;细胞流式细胞术检测细胞凋亡和周期;Western blot 检测细胞周期、凋亡相关蛋白表达及 NF- κ B/Bcl2 和 EGFR/ERK/AKT 信号通路变化;细胞分为:Control siRNA 组、EGFR siRNA 组和 EGFR siRNA+EGCG 组,采用 siRNA 转染技术,分析下调 EGFR 对 NF- κ B/Bcl2 和 EGFR/ERK/AKT 信号通路的影响。**结果** 分组的相应浓度 EGCG 组 NCI-H1975 和 NCI-H520 细胞的增殖显著降低($P<0.05$),同时 G_1/G_0 细胞比例增高, G_1/S 期细胞比例下降($P<0.05$),CyclinD1、CyclinE、CDK6 蛋白表达降低($P<0.05$),但对 CDK4 无明显影响($P>0.05$),同时细胞凋亡增多,Cleaved caspase 3 和 Cleaved caspase 9 蛋白表达上调($P<0.05$)。P-P65、Bcl2、P-EGFR、P-AKT 蛋白表达下调,Bax 蛋白表达上调,但对 P-ERK 没有明显的影响。而 EGCG+EGFR siRNA 组,相比于 EGFR siRNA 组,明显降低各蛋白的表达,升高 Bax 蛋白($P<0.05$)。**结论** EGCG 下调 NF- κ B/Bcl2 和 EGFR/ERK/AKT 信号通路抑制 NCI-H1975 和 NCI-H520 细胞增殖、促进凋亡,并阻断细胞周期。

[关键词] 表没食子儿茶素没食子酸酯;NCI-H1975;NCI-H520;EGFR/ERK/AKT;NF- κ B/Bcl2;细胞增殖;细胞凋亡

[中图分类号] R97;R730.21

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)23-3017-04

Effect of EGCG on proliferation and apoptosis of human lung carcinoma line NCI-H1975 and NCI-H520 cells*

HUANG Jie, LI Chenghong[△], MENG Qinghua, WANG Xiaojiang, CHEN Shi, SHI Yi
(Department of Respiratory, the Affiliated Hospital of Jianghan University/the Sixth Hospital of Wuhan, Wuhan, Hubei 430016, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of epigallocatechin gallate (EGCG) on the proliferation, apoptosis and cell cycle of non-small cell lung cancer (NSCLC) cell line in vitro. **Methods** Human NSCLC cell line NCI-H1975 and NCI-H520 cells in logarithmic growth phase were divided into two groups: the blank control group (0 mol/L EGCG) and the EGCG groups (20, 40, 80, 160, 320 mol/L), then treated with different doses of EGCG for 24, 48 and 72 h, respectively. The cell proliferation rate was detected by CCK-8, cell apoptosis and cell cycle were tested by flow cytometry; cell cycle and apoptosis-related protein, NF- κ B/Bcl2 and EGFR/ERK/AKT signaling pathway were detected by Western blot; the effect of down-regulation of EGFR on NF- κ B/Bcl2 and EGFR/ERK/AKT signaling pathway was evaluated by siRNA transfection technique after the cells were divided into the Control siRNA group, the EGFR siRNA group and the EGFR siRNA + EGCG group. **Results** The proliferation of NCI-H1975 and NCI-H520 cells in the EGCG group significantly decreased ($P<0.05$), and the proportion of G_1/G_0 cells increased, the proportion of G_1/S cells decreased ($P<0.05$), the protein expressions of CyclinD1, CyclinE and CDK6 decreased ($P<0.05$), but there was no significant influence on CDK4 ($P>0.05$). The apoptosis increased, the expression of Cleaved caspase 3 and Cleaved caspase 9 protein up-regulated ($P<0.05$). The expression of P-P65, Bcl2, P-EGFR and P-AKT protein down-regulated, and the expression of Bax protein up-regulated, but there was no obvious influence on P-ERK. Compared with the EGFR siRNA group, the EGCG + EGFR siRNA group reduced the expression of each protein and increased Bax protein ($P<0.05$). **Conclusion** EGCG inhibits the proliferation of NCI-H1975 and NCI-H520 cells, promotes apoptosis, and arrests cell cycle by down-regulating the NF- κ B/Bcl2 and EGFR/ERK/AKT signaling pathways.

[Key words] epigallocatechin gallate; NCI-H1975; NCI-H520; EGFR/ERK/AKT; NF- κ B/Bcl2; cell proliferation; apoptosis

非小细胞肺癌(NSCLC)是临床生存率远不足10%的以肺腺癌细胞和肺鳞状上皮癌细胞的增殖异常为主要特征的癌症^[1-3]。表皮生长因子受体(EGFR)突变 NSCLC 病患常表现为常规治疗药物的耐药和低效^[4]。因此,寻找新型药物迫在眉睫。EGFR 是调控细胞生长参与癌症病程的酪氨酸激酶受体^[5-7]。且 EGFR(Tyr845)/ERK/AKT 信号通路参与增殖等多细胞应答^[8-10]。表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)是绿茶中具有抗菌、增强免疫力和抗肿瘤活性的儿茶素^[11-12]。且 EGCG 可增强癌细胞对化疗的敏感性^[13-15]。然而,在 EGCG 对 NSCLC 治疗没有详细的研究基础。本研究利用公认的 NSCLC 的肺腺癌和肺鳞状上皮癌细胞系,对 EGCG 的体外抗 NSCLC 作用进行探索性研究,分析其对肿瘤细胞增殖、凋亡的影响及其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

EGCG 购于美国 Sigma 公司,胎牛血清(FBS)RPMI 1640 和 Opti-MEM 培养基购于美国 Gibco 公司,NCI-H1975 和 NCI-H520 细胞系购于美国模式培养物保藏所(American Type Culture Collection, ATCC)。脂质体 Lipofectamine™ 3000、cDNA 合成试剂盒购于美国 Thermo 公司,蛋白酶抑制剂 cocktail、磷酸化酶抑制剂、RIPA 裂解、Cell Counting Kit-8(CCK-8)试剂盒、Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂、RNase A 购自碧云天生物有限公司,抗 CyclinD1、CyclinE、CDK4、CDK6 购自美国 Cell Signaling Technology 公司,cleaver-caspase 3、cleaver-caspase 9、Bax、Bcl2 购自武汉 proteintech 公司, p65、phospho-p65、EGFR、phospho-EGFR (Tyr845)、phospho-AKT (Ser473)、AKT、phospho-ERK、ERK 购自于武汉 Abclonal 公司。EGFR siRNA 由广州锐博生物设计合成(EGFR siRNA 序列: CAC AGU GGA GCG AAU UCC U, Control siRNA 序列: GGA CUU GGA UGA AG AAA UC),其他试剂均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及 siRNA 转染

NCI-H1975 和 NCI-H520 细胞以 10% FBS 的 RPMI 1640 培养基在 5% CO₂, 37 °C 条件下培养传代。细胞经消化计数后,以 2 × 10⁴ 个/孔的数量接种到 12 孔培养板中, 37 °C 5% CO₂ 培养 6 h。实验分为 Control siRNA 组、EGFR siRNA 组和 EGFR siRNA+EGCG 组。依照脂质体 Lipofectamine™ 3000 使用说明书,各孔加入相应 Control siRNA 50 ng/μL、EGFR siRNA 50 ng/μL 和 EGFR siRNA 50 ng/μL+EGCG 20 μmol/L 后孵育 24 h,收集细胞做蛋白质印迹检测。

1.2.2 CCK-8 比色法检测细胞增殖

细胞增殖实验采用 CCK-8 比色法检测,参照 CCK-8 试剂盒说明书,细胞经消化计数后,以 2 × 10³ 个/孔接种到 96 孔培养

板中,37 °C 5% CO₂ 培养 6 h 后,更换 2% FBS 培养基培养 6 h 同步化,依次加入 0、20、40、80、160、320 μmol/L EGCG 处理 24、48、72 h 的 EGCG 组。每孔加入 10 L 的 CCK-8 溶液,混匀后培养 2 h 后于 450 nm 处检测各孔光密度(A)值,绘制细胞增殖统计图,同时以 2 × 10⁴ 个/孔接种到 24 孔培养板中,经相同处理后收集细胞做蛋白质印迹检测和 q-PCR 检测。

1.2.3 Annexin V/PI 双染色法流式细胞仪检测凋亡

对数生长期的细胞经消化计数后,1 × 10⁵ 个/孔的数量接种到 6 孔培养板中,37 °C 5% CO₂ 培养 6 h 后,更换 2% FBS 培养基培养 6 h 同步化,依次加入 0、20、40、80、160、320 μmol/L EGCG 处理 24 h 的 EGCG 组。每孔细胞以乙二胺四乙酸(EDTA)消化液消化收集细胞,冷 PBS 漂洗 2 次,依照 Annexin V/PI 细胞凋亡检测试剂说明操作。采用 FACS Calibur 型流式细胞仪检测细胞周期。

1.2.4 流式细胞术检测细胞周期

对数生长期的细胞经消化计数后,1 × 10⁵ 个/孔的数量接种到 6 孔培养板中,按照“1.2.1”实验方法处理。每孔细胞以 EDTA 消化液消化收集细胞,加入 75% 冷乙醇后 4 °C 固定过夜,冷 PBS 漂洗两次,加入 300 μL PBS,10 mg/mL RNase A 溶液 15 L 混匀后,37 °C 孵育 30 min,加入 1 mg/mL 碘化丙啶(PI)染料溶液混匀后,闭光孵育 30 min,PBS 漂洗 2 次,加入 200 μL PBS 重悬细胞。采用 FACS Calibur 型流式细胞仪检测细胞周期。

1.2.5 蛋白质印迹法检测 EGFR 及相关蛋白的表达

EGCG 和 EGFR siRNA 处理后的 NCI-H1975 和 NCI-H520 细胞用细胞总蛋白提取、BCA 蛋白浓度监测方法收集细胞裂解上清。加入 5 × loading buffer 于 95 °C 干热变性 10 min。制作 4% 的浓缩胶和 12% 的分离胶,电泳后湿法转膜 2 h 至聚偏二氟乙烯膜(PVDF),然后使用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 溶液室温封闭 2 h,AKT、CyclinD1、CyclinE、CDK4、CDK6、Bax、Bcl2、P65 和 EGFR、ERK 抗体按 1 : 1 000 比例稀释,cleaver-caspase 3、cleaver-caspase 9、phospho-p65、phospho-EGFR、phospho-AKT、phospho-ERK 抗体按 1 : 800 比例稀释,内参 b-actin 抗体按 1 : 5 000 比例稀释,4 °C 摇床孵育 16 h 后,TBST 漂洗后孵育相应种属的辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗,按 1 : 8 000 比例稀释,室温轻摇孵育 2 h,采用 ECL 法显影。

1.3 统计学处理

采用 SPSS19.0 对数据进行统计分析。每个实验重复 3 次,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间数据进行单因素方差分析,组间比较采用 *t* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EGCG 诱导 NCI-H520 和 NCI-H1975 细胞凋亡

EGCG 在不同剂量和作用时间上明显诱导 NCI-

H520 和 NCI-H1975 细胞凋亡 ($P < 0.05$), 但是, 相同浓度的 EGCG 作用 NCI-H520 和 NCI-H1975 细胞 24 h 与作用 48、72 h 相比, 凋亡率相当, 不同浓度的 EGCG 作用 (0、20、40、80、160、320 $\mu\text{mol/L}$) NCI-H520 和 NCI-H1975 细胞相同时间 (24、48、72 h) 相比, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 1。

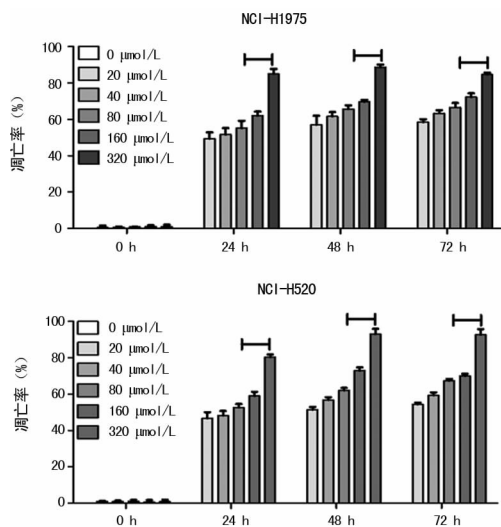


图 1 EGCG 抑制 NCI-H520 和 NCI-H1975 细胞凋亡

2.2 EGCG 抑制细胞周期及其相关蛋白的表达 与 0 $\mu\text{mol/L}$ EGCG 组比, 20、40、80、160、320 $\mu\text{mol/L}$ 的 EGCG 组 NCI-H520 和 NCI-H1975 细胞 G_1/G_0 期细胞比率明显增加, G_1/S 明显减少, G_2/M 起没有明显的变化。蛋白质印迹法检测结果发现, EGCG 作用 NCI-H520 和 NCI-H1975 细胞 24 h 可以明显抑制 Cyclin D1、Cyclin E 和 CDK4/6 的表达, 并且随着浓度增大蛋白水平逐渐降低, 见图 2。

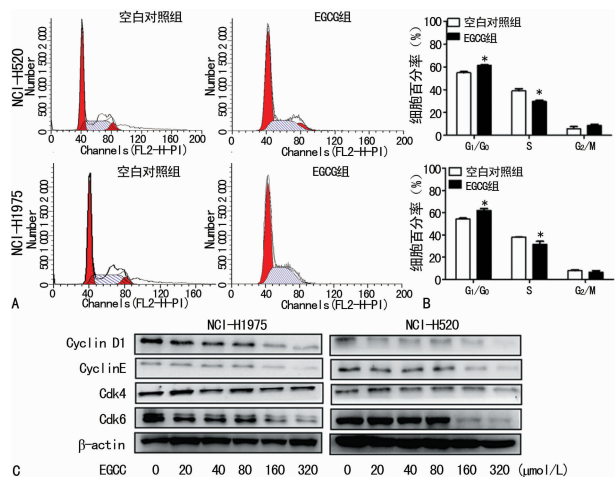


图 2 EGCG 抑制细胞周期相关蛋白的表达

2.3 EGCG 对 NCI-H520 和 NCI-H1975 细胞凋亡的影响 与 0 $\mu\text{mol/L}$ EGCG 组比, 以 20、40、80、160、320 $\mu\text{mol/L}$ 的 EGCG 处理 NCI-H520 和 NCI-H1975 细胞 24 h 明显增加凋亡细胞的数量。蛋白免疫印迹

实验证实, EGCG 明显升高 NCI-H520 和 NCI-H1975 细胞的 cleaved-caspase 3 和 cleaved-caspase 9 蛋白水平, 且呈现剂量依赖性增加, 见图 3。

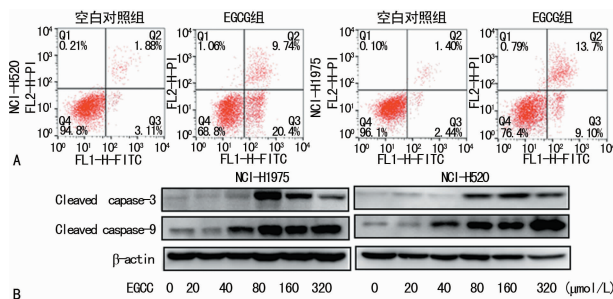


图 3 EGCG 诱导 NCI-H520 和 NCI-H1975 细胞凋亡及相关蛋白表达

2.4 EGCG 对 NCI-H520 和 NCI-H1975 细胞 NF- κ B/Bcl2 信号通路的影响 phospho-p65 和 Bcl2 在 EGCG 组明显降低, Bax 水平明显增加, 且均呈现剂量依赖性。EGCG 通过下调 phospho-p65 和下游 Bcl2 蛋白表达诱导 NCI-H520 和 NCI-H1975 细胞凋亡, 见图 4。

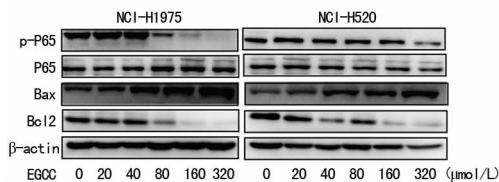


图 4 EGCG 对 NCI-H520 和 NCI-H1975 细胞 NF- κ B/Bcl-2 的影响

2.5 EGCG 对 NCI-H520 和 NCI-H1975 细胞 EGFR/ERK/AKT 信号通路的影响 本研究实验结果证明, EGCG 抑制 EGFR 蛋白 Tyr845 位点磷酸化, 同时下调下游因子 phospho-AKT, 但 phospho-ERK 没有明显的变化, 见图 5。

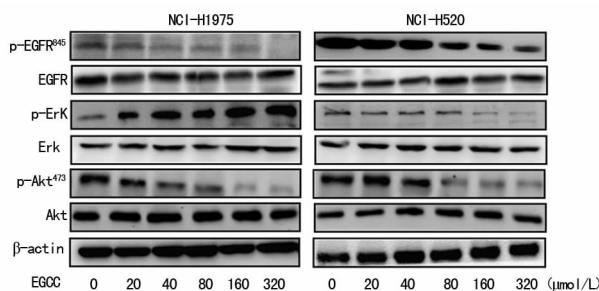


图 5 EGCG 调节 NCI-H520 和 NCI-H1975 细胞 EGFR/ERK/AKT 信号通路

2.6 下调 EGFR 促进 EGCG 对 NCI-H520 和 NCI-H1975 细胞凋亡诱导效应 与 Control siRNA 组相比, EGFR siRNA 组 EGFR 蛋白明显降低 ($P < 0.05$)。同时, EGFR siRNA 抑制 EGFR 蛋白 Tyr845 位点磷酸化表达后, 下游因子 phospho-ERK 和 phospho-AKT 亦明显下调, 见图 6。与 EGFR siRNA 组比较, EGCG siRNA+EGFR 组中 EGFR(Tyr845)蛋

A: 流式细胞术检测细胞周期; B: NCI-H520 和 NCI-H1975 细胞周期 G_1/G_0 、S 和 G_2/M 期统计分析; C: Western blot 检测蛋白水平; * : $P < 0.05$, 与空白对照组比较

白的表达明显更低($P < 0.05$),同时,下游 phospho-ERK 和 phospho-AKT 亦明显下调($P < 0.05$)。

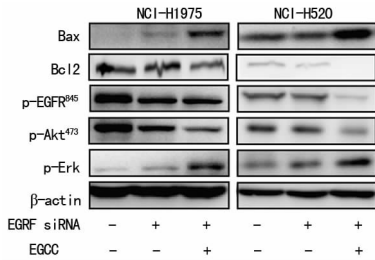


图6 下调 EGFR 促进 EGCG 对 NCI-H520 和 NCI-H1975 细胞凋亡诱导效应

3 讨论

肿瘤细胞增殖与凋亡的发生、发展涉及多种癌基因和抑癌基因表达或功能失常^[16]。研究报道:EGFR 作为增殖和凋亡调节型受体蛋白,参与多种肿瘤的增殖与凋亡的多个环节^[17-18]。它能降低多种肿瘤细胞的迁移,同时抑制细胞增殖^[19]。临床研究发现,肺癌越重,EGFR 蛋白表达越高^[20]。然而,EGFR 的突变与临床药物的敏感性降低有关,这说明 EGFR 在肺癌的发生于发展中具有重要作用^[19,21]。同时有报道称,EGCG 可以通过调节 EGFR 的表达影响顺铂等药物对肿瘤的敏感性。因此,EGCG 可能成为新型的治疗肿瘤与改善肿瘤耐受性的药物。

本研究中,借助公认的人肺腺癌细胞 NCI-H1975 细胞和人肺鳞状上皮癌细胞 NCI-H520 细胞,EGCG 明显抑制 NCI-H1975 和 NCI-H520 细胞的增殖,且具有剂量依赖性和时间依赖性。而且,EGCG 明显升高 NCI-H520 和 NCI-H1975 细胞 G₁/G₀ 期细胞比率,降低 G₁/S 细胞比率,同时,EGCG 明显抑制 cyclinD1、cyclinE、CDK4/6 的表达,继而影响细胞的增殖。再者,Annexin V/IP 染色法表明:EGCG 促进 NCI-H520 和 NCI-H1975 凋亡,并且与升高 cleaved-caspase 3 和 cleaved-caspase 9 蛋白有关。

EGFR/AKT/ERK 信号通路和 NF-κB/Bcl2 信号通路是细胞内重要的参与细胞增殖、凋亡的信号转导途径。本研究中 EGCG 明显下调 EGFR/AKT/ERK 和 NF-κB/Bcl2 信号通路相关蛋白。因此,EGCG 的抑制 NCI-H1975 和 NCI-H520 细胞增殖效应可能与此两条信号通路有关,并且在 EGFR siRNA 转染后,相比于只用 EGFR siRNA 转染的细胞,EGCG 可以更加明显的抑制 EGFR/AKT/ERK 和 NF-κB/Bcl2 信号通路相关蛋白。由此可知,下调 EGFR 促进 EGCG 对 NCI-H520 和 NCI-H1975 细胞凋亡诱导效应。

综上所述,EGCG 可以通过下调 EGFR/AKT/ERK 和 NF-κB/Bcl2 信号通路促进 NCI-H520 和 NCI-H1975 细胞凋亡,并抑制细胞增殖。

参考文献

[1] ZWITTER M, RAJER M, STANIC K, et al. Intercalated

chemotherapy and erlotinib for non-small cell lung cancer (NSCLC) with activating epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations [J]. *Cancer Biol Ther*, 2016, 17 (8):833-839.

- [2] DENG P B, HU C P, XIONG Z, et al. Treatment with EGCG in NSCLC leads to decreasing interstitial fluid pressure and hypoxia to improve chemotherapy efficacy through rebalance of Ang-1 and Ang-2 [J]. *Chin J Nat Med*, 2013, 11(3):245-253.
- [3] DUGAY F, LLAMAS-GUTIERREZ F, GOURNAY M, et al. Clinicopathological characteristics of ROS1- and RET-rearranged NSCLC in Caucasian patients. Data from a cohort of 713 non-squamous NSCLC lacking KRAS/EGFR/HER2/BRAF/PIK3CA/ALK alterations [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(32):53336-53351.
- [4] 邹佩美. 在小鼠中 EGCG 可通过抑制凋亡途径来减轻顺铂所致的肾毒性 [D]. 济南:山东大学, 2015.
- [5] ALORABI M, SHONKA N A, GANTI A K. EGFR monoclonal antibodies in locally advanced head and neck squamous cell carcinoma; what is their current role? [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2016, 99:170-179.
- [6] NASCIMENTO A V, SINGH A, BOUSBAA H, et al. Overcoming cisplatin resistance in non-small cell lung cancer with Mad2 silencing siRNA delivered systemically using EGFR-targeted chitosan nanoparticles [J]. *Acta Biomater*, 2017, 47:71-80.
- [7] ANVARI K, SIMA H R, SEILANIAN TOUSSI M, et al. EGFR expression in patients with esophageal squamous cell carcinoma and its association with pathologic response to pre-operative chemoradiotherapy; a study in northeastern Iran [J]. *Arch Iran Med*, 2017, 20(4):240-245.
- [8] LOSANNO T, ROSSI A, MAIONE P, et al. Anti-EGFR and antiangiogenic monoclonal antibodies in metastatic non-small-cell lung cancer [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2016, 16(6):747-758.
- [9] ARORA R, KRISHNAN V. Selective targeting of the L858R mutation (EGFR) in Non-Small cell lung cancer; a mechanism for advancing targeted chemotherapy [J]. *Front Oncol*, 2017, 7(1):104.
- [10] KELLER S, SCHMIDT M H. EGFR and EGFRvIII promote angiogenesis and cell invasion in glioblastoma; combination therapies for an effective treatment [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(6):1295-1314.
- [11] BENSON R, MALLICK S, JULKA P K, et al. Anti EGFR therapy in the treatment of non-metastatic head and neck squamous cell carcinoma; The current evidence [J]. *J Egypt Natl Canc Inst*, 2016, 28(3):141-148.
- [12] BOZEC A, EBRAN N, RADOSEVIC-ROBIN N, et al. Combination of mTOR and EGFR targeting in an orthotopic xenograft model of head and neck cancer [J]. *Laryngoscope*, 2016, 126(4):156-163.
- [13] 萧赓, 罗招阳, 赵慧, 等. EGCG 对肺癌 A549/DDP 细胞药物敏感性的影响及机制 [J]. *南华大学学报(医学版)*, 2009, 37(3):288-291.

(下转第 3024 页)

- 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia [J]. *Blood*, 2016, 127(20):2391-2405.
- [2] POURHASSAN H, DEFOR T, TROTTIER B, et al. MDS disease characteristics, not donor source, predict hematopoietic stem cell transplant outcomes [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2017, 52(4):532-538.
- [3] SCHILLER G J, SLACK J, HAINSWORTH J D, et al. Phase II multicenter study of arsenic trioxide in patients with myelodysplastic syndromes [J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(16):2456-2464.
- [4] WEI W, ZHOU F, ZHANG Y, et al. A combination of thalidomide and arsenic trioxide is effective and well tolerated in patients with myelodysplastic syndromes [J]. *Leuk Res*, 2012, 36(6):715-719.
- [5] WU P, LIU L, WENG J, et al. The synergistic effects of decitabine combined with arsenic trioxide (ATO) in the human myelodysplastic syndrome cell line SKM-1 [J]. *Indian J Hematol Blood Transfus*, 2016, 32(4):412-417.
- [6] TAKAHASHI S. Combination therapy with arsenic trioxide for hematological malignancies [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2010, 10(6):504-510.
- [7] ESSERS M A, TRUMPP A. Targeting leukemic stem cells by breaking their dormancy [J]. *Mol Oncol*, 2010, 4(5):443-450.
- [8] TAKEISHI S, NAKAYAMA K I. To wake up cancer stem cells, or to let them sleep, that is the question [J]. *Cancer Sci*, 2016, 107(7):875-881.
- [9] OZCAN M A, ILHAN O, OZCEBE O I, et al. Review of therapeutic options and the management of patients with myelodysplastic syndromes [J]. *Expert Rev Hematol*, 2013, 6(2):165-189.
- [10] RANKIN E B, NARLA A, PARK J K, et al. Biology of the bone marrow microenvironment and myelodysplastic syndromes [J]. *Mol Genet Metab*, 2015, 116(1/2):24-28.
- [11] CHEN G Q, SHI X G, TANG W, et al. Use of arsenic trioxide (As₂O₃) in the treatment of acute promyelocytic leukemia (APL): I. As₂O₃ exerts dose-dependent dual effects on APL cells [J]. *Blood*, 1997, 89(9):3345-3353.
- [12] IRIYAMA N, YUAN B, HATTA Y, et al. Granulocyte colony-stimulating factor potentiates differentiation induction by all-trans retinoic acid and arsenic trioxide and enhances arsenic uptake in the acute promyelocytic leukemia cell line HT93A [J]. *Oncol Rep*, 2012, 28(5):1875-1882.
- [13] BAI A, KOJIMA H, HORI M, et al. Priming with G-CSF effectively enhances low-dose Ara-C-induced in vivo apoptosis in myeloid leukemia cells [J]. *Exp Hematol*, 1999, 27(2):259-265.
- [14] 华海应, 高华强, 孙爱宁, 等. 三氧化二砷诱导骨髓增生异常综合征 SKM-1 细胞凋亡机制的研究 [J]. *重庆医学*, 2014, 43(29):3897-3900.
- [15] XU H, LI A, YU Y, et al. Comparative analysis of G-CSFR and GM-CSFR expressions on CD34+ cells in patients with aplastic anemia and myelodysplastic syndrome [J]. *Int J Lab Hematol*, 2009, 31(6):597-602.
- [16] 薛胜利, 戴兰, 陈艳, 等. G-CSF 对急性淋巴细胞白血病细胞增殖活性的影响及协同化疗药物杀伤作用的实验研究 [J]. *中华血液学杂志*, 2011, 32(1):61-63.
- [17] FALCHI L, VERSTOVSEK S, RAVANDI-KASHANI F, et al. The evolution of arsenic in the treatment of acute promyelocytic leukemia and other myeloid neoplasms: Moving toward an effective oral, outpatient therapy [J]. *Cancer*, 2016, 122(8):1160-1168.

(收稿日期:2018-02-02 修回日期:2018-04-06)

(上接第 3020 页)

- [14] 连燕娜, 郭淑琴, 周绮云, 等. EGCG 对顺铂损伤 HEK293 细胞及杀伤 A549 细胞的影响 [J]. *癌变·畸变·突变*, 2016, 28(1):14-18.
- [15] 杨伟, 胡相卡, 陈香, 等. EGCG 通过 HIF-1 α 信号通路对顺铂诱导大鼠肾损伤的保护作用 [J]. *中药药理与临床*, 2016, 1(1):40-43.
- [16] LI Z P, YANG Z J, PASSANITI A, et al. A positive feedback loop involving EGFR/Akt/mTORC1 and IKK/NF- κ B regulates head and neck squamous cell carcinoma proliferation [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(22):31892-31906.
- [17] KIM K K, HAN A, YANO N, et al. Tetrathiomolybdate mediates cisplatin-induced p38 signaling and EGFR degradation and enhances response to cisplatin therapy in gynecologic cancers [J]. *Sci Rep*, 2015, 5(1):15911-15922.
- [18] LEDUC N, ATALLAH V, AGOSSOU M, et al. Lung adenocarcinoma survival in EGFR-Mutated African-Caribbean patients: a multicenter study in the French West Indies [J]. *Target Oncol*, 2017, 12(5):689-693.
- [19] 谭晓华, 张亚历, 周殿元. EGCG 诱导胃癌和肝癌细胞凋亡及 bcl-2 蛋白表达下调的研究 [J]. *癌症*, 2000, 19(7):638-641.
- [20] ZHENG Z, XIE D Y, SU H F, et al. Treatment outcome comparisons between exons 19 and 21 EGFR mutations for non-small-cell lung cancer patients with malignant pleural effusion after first-line and second-line tyrosine kinase inhibitors [J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(6):1010428317706211-1010428317706218.
- [21] 林晓贞, 梁钢, 黎莉, 等. EGCG 逆转人耐药肝癌细胞株多药耐药的体内实验研究 [J]. *广西医科大学学报*, 2006, 23(1):8-11.

(收稿日期:2018-02-27 修回日期:2018-04-11)