

· 论著 ·

表没食子儿茶素没食子酸酯联合曲妥珠单抗对 HER2 过表达乳腺癌细胞增殖的影响及其机制

雷碧黠¹, 张梦瑶¹, 陈晓锐², 梁蓓蓓^{3a}, 解伟^{3a}, 王华菁², 李博华^{1,3b} (1. 上海中医药大学研究生院, 上海 201203; 2. 原启生物科技(上海)有限责任公司, 上海 201203; 3. 上海健康医学院: a. 药学院, b. 分子影像学重点实验室, 上海 201318)

[摘要] **目的** 研究表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)联合曲妥珠单抗对人表皮生长因子受体 2(HER2)过表达乳腺癌细胞增殖的影响及其作用机制。**方法** 表达纯化曲妥珠单抗;用 CCK-8 细胞增殖检测试剂盒(CCK8)检测不同浓度 EGCG、曲妥珠单抗及两药联用对 HER2 过表达乳腺癌细胞 BT474、SK-BR-3 的增殖抑制作用;用 Western blot 法检测 EGCG、曲妥珠单抗及两药联用对 BT474 乳腺癌细胞中 HER2、表皮生长因子受体(EGFR)、丝裂原激活的蛋白激酶(MAPK)和蛋白激酶 B(Akt)及它们的磷酸化蛋白的表达水平的影响。**结果** 细胞增殖试验结果显示,EGCG、曲妥珠单抗以及二者联用均能有效抑制 BT474 和 SK-BR-3 细胞的增殖,且在一定浓度范围内,EGCG 与曲妥珠单抗联用显示出协同增殖抑制作用。Western blot 结果显示 EGCG、曲妥珠单抗以及二者联合均能抑制 BT474 细胞中 Akt, MAPK, EGFR, HER2 的磷酸化蛋白表达,与单药相比,二者联合抑制作用显著增强,其差异具有统计学意义($P<0.05$)。**结论** EGCG 联合曲妥珠单抗能协同抑制 HER2 过表达乳腺癌细胞的增殖,其机制可能与 Akt、MAPK 信号通路有关。

[关键词] 表没食子儿茶素没食子酸酯;曲妥珠单抗;人表皮生长因子受体 2 过表达;乳腺癌;协同;增殖抑制

[中图分类号] R737.9

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2022)02-0136-07

[DOI] 10.12206/j.issn.1006-0111.202112035

The effect and mechanism of epigallocatechol gallate combined with trastuzumab on the proliferation of HER2 overexpressing breast cancer cells

LEI Bixia¹, ZHANG Mengyao¹, CHEN Xiaorui², LIANG Beibei^{3a}, XIE Wei^{3a}, WANG Huajing², LI Bohua^{1,3b} (1. Graduated School, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Origin Cell Therapeutics, Shanghai 201203, China; 3a. School of Pharmacy, 3b. Shanghai Key Laboratory for Molecular Imaging, Shanghai University of Medicine and Health Sciences, Shanghai 201318, China)

[Abstract] **Objective** To study the effect and mechanism of epigallocatechol gallate (EGCG) combined with trastuzumab on the proliferation of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) overexpressing breast cancer cells. **Methods** Trastuzumab was expressed and purified. The cell proliferation of HER2 overexpressing breast cancer cells BT474 and SK-BR-3 treated with trastuzumab, EGCG, or trastuzumab plus EGCG was evaluated by CCK8 assay. The effects of EGCG and trastuzumab on the expression of HER2, epidermal growth factor receptor (EGFR), mitogen-activated protein kinase (MAPK), protein kinase B (Akt), and their phosphorylated proteins in BT474 breast cancer cells were detected by Western blot. **Results** The results of cell proliferation assay indicated that EGCG and trastuzumab, alone or in combination, effectively inhibited the proliferation of BT-474 and SK-BR-3 cells. And within a certain concentration range, EGCG and trastuzumab showed a synergistic proliferation inhibitory effect on HER2 overexpressing breast cancer cells. Consistent with these results, Western blot results showed that trastuzumab and EGCG, alone or in combination significantly reduced the phosphorylation levels of Akt, MAPK, EGFR, and HER2 in BT474 cells. Moreover, the inhibition effect of EGCG plus trastuzumab was significantly more potent than either EGCG or trastuzumab. **Conclusion** EGCG and trastuzumab could synergistically inhibit the proliferation of HER2 overexpressing breast cancer cells, which may be related to the regulation of Akt and MAPK signaling pathways.

[Key words] EGCG; trastuzumab; HER2 overexpression; breast cancer; synergy; proliferation inhibition

[作者简介] 雷碧黠, 硕士研究生, 研究方向: 肿瘤靶向治疗, Email: 18288739156@163.com

[通信作者] 李博华, 研究员, 研究方向: 肿瘤靶向治疗、基因工程抗体, Email: bohuali1020@163.com

据国际癌症研究机构(IARC, <https://www.iarc.who.int/>)提供的数据显示,2020 年女性乳腺癌现已成为全球最常见的癌症之一^[1]。其中有 15%~25% 的乳腺肿瘤存在人类表皮生长因子受体 2(HER2) 过表达。HER2 阳性的乳腺癌浸润性强、无病生存期短、预后差,对化疗敏感性差,且易复发^[2]。曲妥珠单抗是一株靶向 HER2 的人源化单克隆抗体。虽然曲妥珠单抗单药对乳腺癌治疗起到了很好的改善的效果,但其疗效还有所不足,如对 HER2 过表达的乳腺癌患者初次治疗有效率仅在 30% 左右^[3]。EGCG 是绿茶中主要的多酚^[4],有抑制肿瘤细胞生长、增殖、转移和血管生成,诱导细胞凋亡和增强抗肿瘤免疫等多种抗肿瘤作用^[5-9]。据报道,EGCG 在乳腺癌、胃癌、白血病、膀胱癌治疗中均显示有抗肿瘤作用^[10-13]。本实验旨在探讨曲妥珠单抗与 EGCG 对 HER2 过表达细胞株是否具有协同增殖抑制作用,为 HER2 高表达乳腺癌的治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料

EGCG(MedChemExpress 公司),CCK-8 检测试剂盒(美国 bimake 生物科技有限公司);GAPDH 一抗、AKT 一抗、p-AKT 一抗、MAPK 一抗、p-MAPK 一抗、EGFR 一抗、p-EGFR 一抗、HER2 一抗、p-HER2 一抗、抗兔 IgG 一抗、抗鼠 IgG 一抗、HRP 抗体二抗(美国 Cell Signaling Technology 公司),凝胶过滤层析标准品(美国 BIO-RAD 公司),二抗 Goat pAb to Human IgG(英国 Abcam 公司)。

1.1.2 细胞株

人乳腺癌细胞系 BT474、SK-BR-3(购自中国科学院细胞库并保存于本实验室)。

1.1.3 仪器

AKTA Avant 25 蛋白纯化仪、Imager 600 超灵敏多功能成像仪(美国 Cytiva 公司);Agilent 1200 series 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);Spark 多功能酶标仪(瑞士 TECAN);Intellicyt® iQue3 高通量流式细胞仪(德国赛多利斯)。

1.2 方法

1.2.1 曲妥珠单抗的表达与纯化

用含有曲妥珠单抗重链和轻链表达载体的质粒共转染 Expi293F 细胞 7 d 后收集培养上清液,用 Protein A 亲和层析法进行纯化。SEC-HPLC 对抗

体的纯度进行检测,并用流式细胞术检测曲妥珠单抗抗体与 HER2 过表达细胞株 SK-BR-3、BT474 的结合活性。

1.2.2 流式细胞术

细胞按 3×10^4 个细胞/孔铺于 V 型底 96 孔板中,每孔 30 μ l。曲妥珠单抗按 100 nmol/L 的起始浓度,3 倍比稀释,分成 11 个浓度梯度,末孔为 PBS 作为阴性对照,加入铺有细胞的 96 孔板中,每孔 30 μ l。曲妥珠单抗与细胞 4℃ 共孵育 1~2 h,用含 0.1% BSA 的 PBS 洗 1 遍,加入二抗 Goat pAb to Human IgG,1:200 稀释,每孔 30 μ l,4℃ 孵育 30 min。二抗孵育结束,用含 0.1% BSA 的 PBS 洗 2 遍,每孔加入 30 μ l 含 0.1% BSA 的 PBS,用 Intellicyt® iQue3 高通量流式细胞仪进行检测。

1.2.3 细胞培养

采用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基培养 SK-BR-3 细胞,用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基培养 BT474 细胞,培养条件为 5% CO₂,37℃。当细胞密度达到 80%~90% 时进行传代,每周 2~3 次。取对数生长期的细胞进行实验。

1.2.4 CCK8 检测细胞增殖

将细胞按 1×10^4 个细胞/孔的数量接种于 96 孔板中,在 37℃、5% CO₂ 条件下培养 24 h。每孔加入 100 μ l 含设定浓度药物的培养基,培养 48 h 后,弃去孔内培养基,每孔加入 100 μ l 含 10% CCK8 试剂的培养基,继续培养 1~3 h,用酶标仪在 450 nm 测定光密度值(A),并计算细胞的增殖抑制率。增殖抑制率 = $(A_{\text{对照}} - A_{\text{实验}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{背景}})$ 。联合给药组用 CompuSyn 软件计算 CI 值(药物联合指数),通过 CI 值的数值可以定量判断药物间相互作用的强度以及性质(CI>1 为拮抗作用;CI=1 为相加作用;CI<1 为协同作用)。

1.2.5 Western blot 检测

根据分组将细胞按 5×10^5 个细胞/孔的数量接种于 6 孔板培养 24 h。弃去原培养基,加入含设定浓度药物的培养基继续培养 24 h。采用细胞裂解液试剂盒提取各组细胞总蛋白,用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。按每泳道 30 μ g 蛋白样品的上样量进行聚丙烯酰胺凝胶电泳后,转移至 PVDF 膜。用 5% 脱脂奶粉在摇床上室温封闭 1 h,加入一抗 4℃ 孵育过夜,加入二抗室温孵育 1 h。一抗、二抗均按照抗体使用说明书稀释。洗膜后,加 ECL 发光液,用超灵敏多功能成像仪进行显影,并用 ImageJ 软件对条带进行灰度值分析。目的蛋白相对表达量 = 目的蛋白灰度值 / 内参 GAPDH 灰度值。

1.2.6 统计学方法

采用 GraphPad prism 8.0 软件(Version X, USA) 进行统计学分析和作图,用 compuSyn 软件计算联合指数。两组数据之间比较采用 t 检验,多组数据之间比较采用单因素方差分析(ANOVA)。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SEC-HPLC 检测曲妥珠单抗的纯度

将表达纯化后的曲妥珠单抗用 SEC-HPLC 进行检测,结果显示曲妥珠单抗的纯度为 100%,且分子量大小在 150 kDa($1\text{kDa}=1\times 10^3$)左右(图 1)。

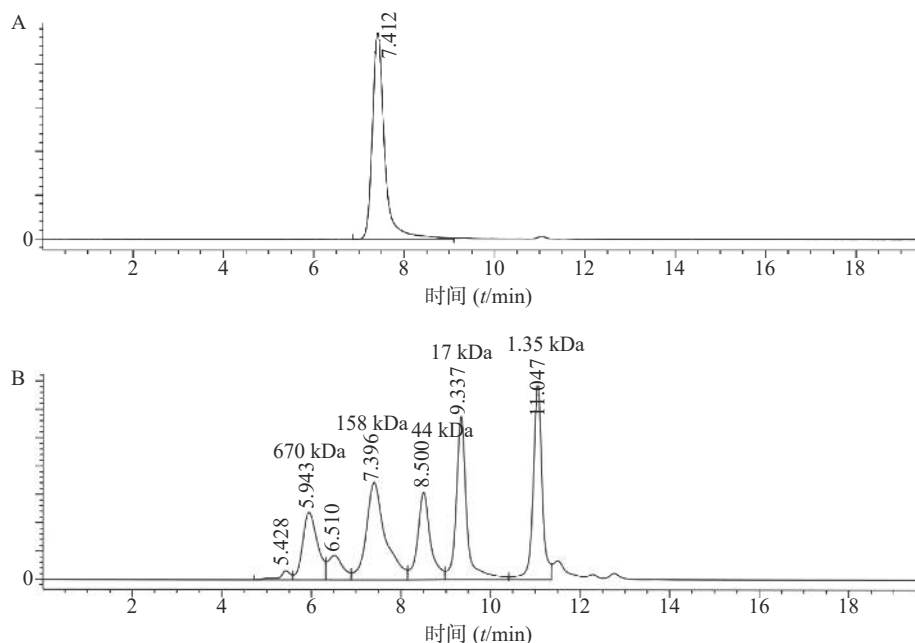


图 1 SEC-HPLC 检测曲妥珠单抗的纯度

注: A.曲妥珠单抗;B.凝胶过滤层析标准品

2.2 流式细胞术验证曲妥珠单抗与 SK-BR-3、BT474 的结合活性

采用流式细胞术测定曲妥珠单抗与 HER2 过表达乳腺癌细胞株 SK-BR-3 和 BT474 的结合活性。结果显示,曲妥珠单抗以浓度依赖性的方式结合 SK-BR-3 和 BT474 细胞,其中,曲妥珠单抗与 SK-BR-3 细胞株结合的 EC_{50} 值为 1.128 nmol/L,与 BT474 细胞株结合的 EC_{50} 值为 1.203 nmol/L,两者 EC_{50} 值大约一致(图 2)。

2.3 用 CCK8 法测定 EGCG、曲妥珠单抗单独及联合对 BT474 的增殖抑制作用

采用 CCK8 法测定 EGCG 单药、曲妥珠单抗单药及两者联合对 BT474 的增殖抑制作用。图 3A 和图 3B 结果显示,EGCG 和曲妥珠单抗对 BT474 细胞均显示出浓度依赖性的增殖抑制作用。图 3C 结果显示 EGCG 和曲妥珠单抗联合给药组的增殖抑制作用显著强于单药组。图 3D 结果显示 EGCG 在一定浓度范围内($45\sim 200\ \mu\text{mol/L}$)与 16.67 nmol/L 曲妥珠单抗联用时显示有协同抗肿瘤作用($CI<1$)。

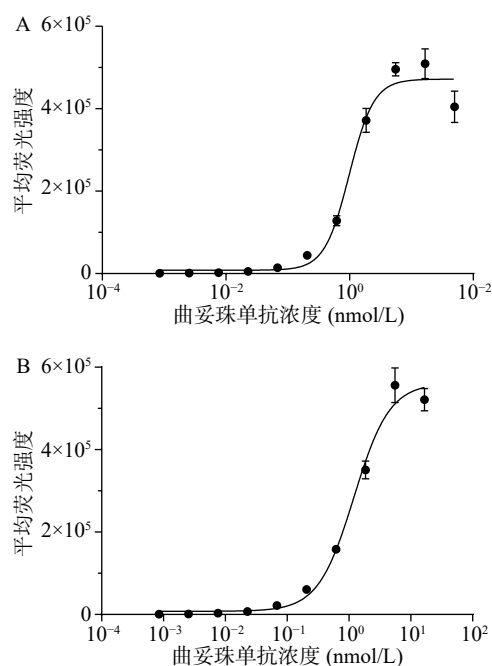


图 2 流式细胞术检测曲妥珠单抗与 SK-BR-3、BT474 细胞的结合活性

注: A.曲妥珠单抗与 SK-BR-3 细胞的结合活性; B.曲妥珠单抗与 BT474 细胞的结合活性

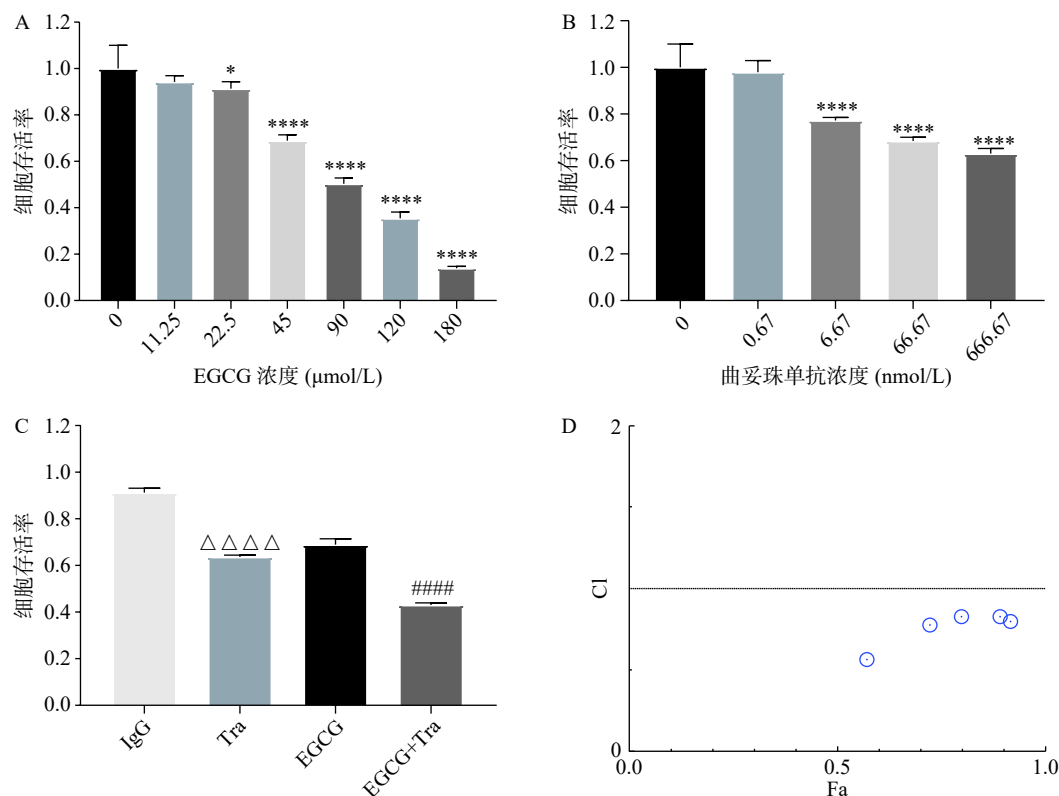


图 3 EGCG 单药组、曲妥珠单抗单药组及两者联用组对 BT474 细胞增殖的影响

注: A. EGCG 对 BT474 细胞增殖的影响; B. 曲妥珠单抗对 BT474 细胞增殖的影响; C. 16.67 nmol/L 曲妥珠单抗、16.67 nmol/L IgG 曲妥珠单抗同型对照、45 μmol/L EGCG、16.67 nmol/L 曲妥珠单抗与 45 μmol/L EGCG 联用对 BT474 细胞增殖的影响; D. 16.67 nmol/L 曲妥珠单抗联合不同浓度 EGCG 对 BT474 细胞增殖的影响, 计算联合指数(CI), Fa 表示效应值; * $P < 0.05$, **** $P < 0.0001$, 与空白组比较; △△△ $P < 0.0001$, 与 IgG 组比较; ##### $P < 0.0001$, 与曲妥珠单抗组比较

2.4 用 CCK8 法测定 EGCG、曲妥珠单抗单独及联合对 SK-BR-3 细胞的增殖抑制作用

采用 CCK8 法测定 EGCG 单药、曲妥珠单抗单药及两者联合对 SK-BR-3 的增殖抑制作用。图 4A 和图 4B 结果显示, EGCG 和曲妥珠单抗均对 SK-BR-3 细胞显示出浓度依赖性的增殖抑制作用。图 4C 结果显示, EGCG 和曲妥珠单抗联合给药组的增殖抑制作用显著强于单药组。图 4D 结果显示, EGCG 在一定浓度范围内(7.5 ~ 120 μmol/L)与 16.67 nmol/L 曲妥珠单抗联用时有协同抗肿瘤作用(CI < 1)。

2.5 Western blot 法检测 EGCG、曲妥珠单抗单用及二者联用对 BT474 细胞中 EGFR、HER2、Akt、MAPK 及其磷酸化蛋白表达的影响

图 5A-F 结果显示, EGCG 单药、曲妥珠单抗单药及两者联用组均能显著降低 BT474 细胞中 p-Akt、p-MAPK、p-EGFR 的表达。图 5G-H 结果显示, 曲妥珠单抗单药组能显著降低 BT474 细胞 p-HER2 的表达, EGCG 单药组虽然无显著性差异($P > 0.05$), 但对 p-HER2 的表达有一定抑制作用。与 EGCG 和曲妥珠单抗单药组相比, EGCG 与曲妥珠单抗联用可进一步显著降低 BT474 细胞 p-Akt、

p-MAPK、p-EGFR、p-HER2 蛋白的表达。

3 讨论

ErbB-2(HER-2/neu) 是一种分子量为 1.85×10^5 的穿膜受体络氨酸激酶, 属于表皮生长因子受体家族^[14]。该家族由 4 个紧密相关的络氨酸激酶(TK)受体组成: HER1(EGFR)、HER2、HER3 和 HER4。HER2 主要是通过与其他成员形成同源或异源二聚体, 激活下游的 RAS/MAPK 和磷脂酰肌醇-3/激酶(PI3K)/ATK 信号通路, 进而促进细胞增殖、迁移、血管生成以及抑制细胞的凋亡^[15-16]。ERK/MAPK 通路是参与细胞增殖控制的主要细胞内信号通路之一。PI3K/ATK 信号通路在控制 Her-2/neu 过表达细胞的生长和转化表型中起重要作用^[17-18]。HER2 过表达的癌症表现出较强的转移能力和浸润能力, 对化疗敏感性差, 且易复发。

曲妥珠单抗是一株靶向 HER2 的人源化单克隆抗体。1998 年, 被美国食品药品监督管理局(FDA)批准应用于治疗 HER2 阳性的转移性乳腺癌^[19]。曲妥珠单抗可能通过下调 HER2 受体在细胞膜上的表达, 阻断 HER2 和 HER3 形成异源二聚

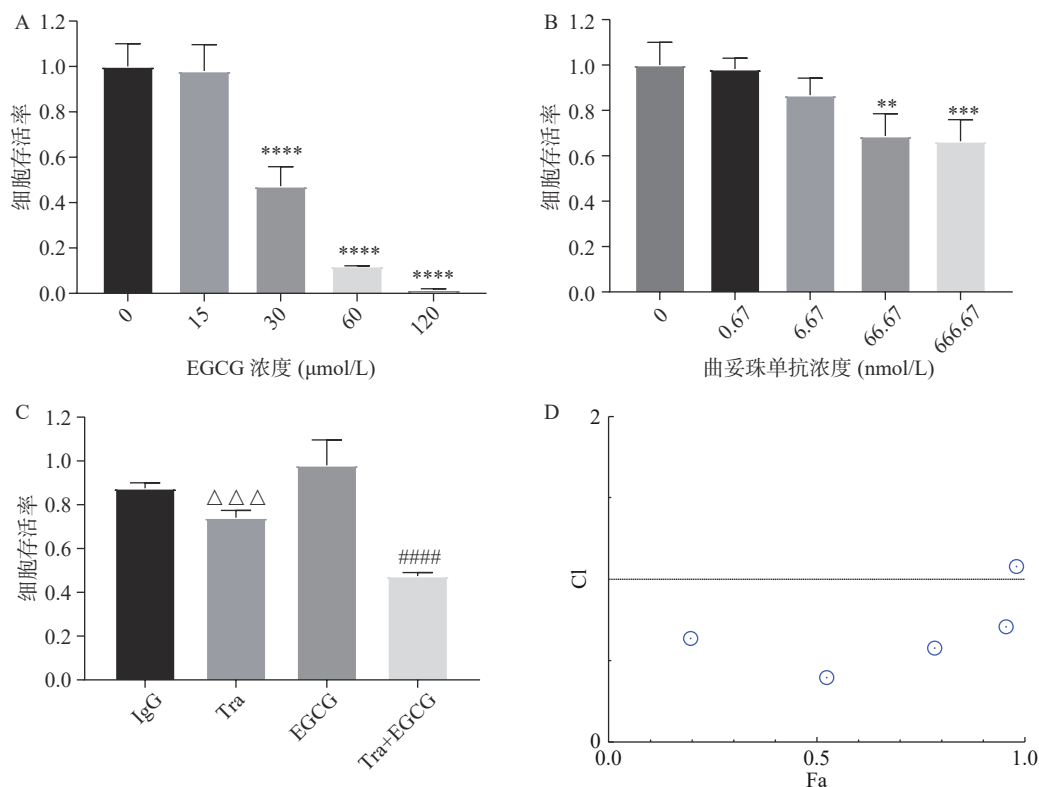


图 4 EGCG 单药组、曲妥珠单抗单药组及两者联用组对 SK-BR-3 细胞增殖的影响

注: A. EGCG 对 SK-BR-3 细胞增殖的影响; B. 曲妥珠单抗对 SK-BR-3 细胞增殖的影响; C. 16.67 nmol/L 曲妥珠单抗、16.67 nmol/L IgG 曲妥珠单抗同型对照、15 μmol/L EGCG、16.67 nmol/L 曲妥珠单抗与 15 μmol/L EGCG 联用对 SK-BR-3 细胞增殖的影响; D. 16.67 nmol/L 曲妥珠单抗联合不同浓度 EGCG 对 SK-BR-3 细胞增殖的影响, 计算联合指数 (CI), Fa 表示效应值; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, 与空白组比较; △△△ $P < 0.001$, 与 IgG 组比较; #### $P < 0.0001$, 与曲妥珠单抗组比较

体从而抑制下游通路, 导致细胞周期阻滞, 以及抗体依赖的细胞介导的细胞毒性活性^[20]等。虽然曲妥珠单抗单药治疗起到了一定的效果, 但大部分 HER2 过表达的乳腺癌患者对曲妥珠单抗治疗不产生反应, 初次治疗有效率大约在 30%, 即使对曲妥珠单抗产生反应的患者也有约 50% 会在 1 年内发生耐药。

茶多酚可以抑制多种与细胞增殖和肿瘤进展相关的酶活性。EGCG 是茶多酚中的主要成分之一。研究显示, 在人 A431 表皮样癌细胞中, EGCG 可能通过阻断 EGF 与其受体的结合进而抑制 EGFR 活性^[21]。EGCG 能抑制结肠癌细胞中 EGFR、HER2、HER3 的激活, 并抑制细胞生长^[22]。

为了进一步提高 HER2 靶向治疗疗效, 在本研究中我们探讨了曲妥珠单抗和 EGCG 在乳腺癌细胞的联合抗肿瘤作用。实验结果发现 EGCG 与曲妥珠单抗在一定浓度范围内可以协同抑制 HER2 过表达乳腺癌细胞的生长, 提示临床治疗中如果利用 EGCG 和曲妥珠单抗联合治疗则需重点关注两者各自的剂量。可以先利用乳腺癌荷瘤小鼠模型对不同剂量的 EGCG 和曲妥珠单抗的联合抗肿瘤

作用进行评价, 并参考动物体内药效实验的结果进行 EGCG 和曲妥珠单抗联合用药临床试验的设计, 通过临床试验的结果确定临床治疗时最佳的联合用药剂量。

本研究还对 EGCG 和曲妥珠单抗的联合抗肿瘤作用机制进行了阐明: 与 EGCG 和曲妥珠单抗单药组相比, EGCG 与曲妥珠单抗联用可进一步显著降低 BT474 细胞中 p-EGFR、p-HER2 和 p-Akt、p-MAPK 的表达, 提示 EGCG 和曲妥珠单抗联用对 HER2 过表达乳腺癌细胞的协同增殖抑制活性可能与其显著增强的对 Akt 和 MAPK 信号通路的抑制作用有关。本研究为 EGCG 与曲妥珠单抗的联合应用提供了理论支持, 并为 HER2 过表达乳腺癌的治疗提供新的思路。

【参考文献】

- [1] FERLAY J, COLOMBET M, SOERJOMATARAM I, et al. Cancer statistics for the year 2020: an overview[J]. Int J Cancer, 2021; ijc.33588.
- [2] LOIBL S, GIANNI L. HER2-positive breast cancer[J]. Lancet, 2017, 389(10087): 2415-2429.
- [3] VOGEL C L, COBLEIGH M A, TRIPATHY D, et al. Efficacy

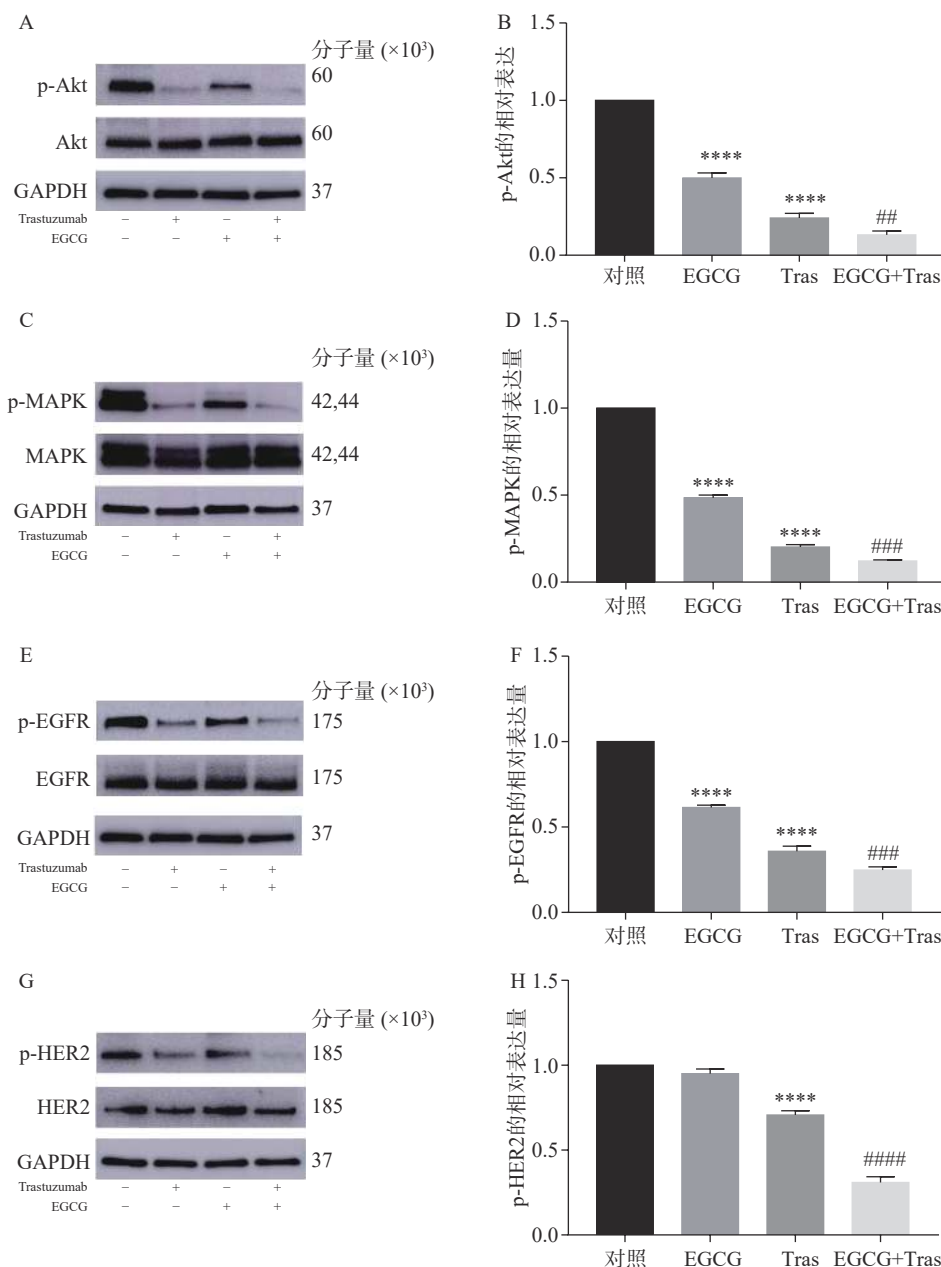


图 5 EGCG 单药组、曲妥珠单抗单药组及两者联用组对 BT474 细胞中 MAPK、Akt、EGFR、HER2 及其磷酸化蛋白的表达的影响

注: A. p-Akt、Akt 的蛋白表达水平; B. p-Akt、Akt 的相对蛋白表达量; C. p-MAPK、MAPK 的蛋白表达水平; D. p-MAPK、MAPK 的相对蛋白表达量; E. p-EGFR、EGFR 的蛋白表达水平; F. p-EGFR、EGFR 的相对蛋白表达量; G. p-HER2、HER2 的蛋白表达水平; H. p-HER2、HER2 的相对蛋白表达量; **** $P < 0.0001$, 与对照组比较; ## $P < 0.01$ 、### $P < 0.001$ 、#### $P < 0.0001$, 与曲妥珠单抗组比较

- and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of HER2-overexpressing metastatic breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2002, 20(3): 719-726.
- [4] LUO H, VONG C T, CHEN H, et al. Naturally occurring anti-cancer compounds: shining from Chinese herbal medicine[J]. *Chin Med*, 2019, 14: 48.
- [5] NI J, GUO X H, 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.
- [6] FLORES-PÉREZ A, MARCHAT L A, SÁNCHEZ L L, et al. Differential proteomic analysis reveals that EGCG inhibits HDGF and activates apoptosis to increase the sensitivity of non-small cells lung cancer to chemotherapy[J]. *Prot Clin Appl*, 2016, 10(2): 172-182.
- [7] TUDORAN O, SORITAU O, BALACESCU O, et al. Early transcriptional pattern of angiogenesis induced by EGCG treatment in cervical tumour cells[J]. *J Cell Mol Med*, 2012, 16(3): 520-530.
- [8] DENG Y T, LIN J K. EGCG inhibits the invasion of highly invasive CL1-5 lung cancer cells through suppressing MMP-2 expression via JNK signaling and induces G2/M arrest[J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(24): 13318-13327.

- [9] ZHANG J, LEI Z, HUANG Z, et al. Epigallocatechin-3-gallate(EGCG) suppresses melanoma cell growth and metastasis by targeting TRAF₆ activity[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(48): 79557-79571.
- [10] MANJEGOWDA M C, DEB G, KUMAR N, et al. Expression profiling of genes modulated by estrogen, EGCG or both in MCF-7 breast cancer cells[J]. *Genom Data*, 2015, 5: 210-212.
- [11] DETTLAFF K, STAWNY M, OGRODOWCZYK M, et al. Formulation and characterization of EGCG for the treatment of superficial bladder cancer[J]. *Int J Mol Med*, 2017, 40(2): 329-336.
- [12] BORUTINSKAITĖ V, VIRKŠAITĖ A, GUDELYTĖ G, et al. Green tea polyphenol EGCG causes anti-cancerous epigenetic modulations in acute promyelocytic leukemia cells[J]. *Leuk Lymphoma*, 2018, 59(2): 469-478.
- [13] YANG C G, DU W F, YANG D G. Inhibition of green tea polyphenol EGCG((-)-epigallocatechin-3-gallate) on the proliferation of gastric cancer cells by suppressing canonical wnt/ β -catenin signalling pathway[J]. *Int J Food Sci Nutr*, 2016, 67(7): 818-827.
- [14] KLOS K S, ZHOU X, LEE S, et al. Combined trastuzumab and paclitaxel treatment better inhibits ErbB-2-mediated angiogenesis in breast carcinoma through a more effective inhibition of Akt than either treatment alone[J]. *Cancer*, 2003, 98(7): 1377-1385.
- [15] CITRI A, YARDEN Y. EGF-ERBB signalling: towards the systems level[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7(7): 505-516.
- [16] ZHANG H, BEREZOV A, WANG Q, et al. ErbB receptors: from oncogenes to targeted cancer therapies[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(8): 2051-2058.
- [17] IGNATOSKI K M, MAEHAMA T, MARKWART S M, et al. ERBB-2 overexpression confers PI 3' kinase-dependent invasion capacity on human mammary epithelial cells[J]. *Br J Cancer*, 2000, 82(3): 666-674.
- [18] PIANETTI S, ARSURA M, ROMIEU-MOUREZ R, et al. Her-2/neu overexpression induces NF- κ B via a PI₃ kinase/Akt pathway involving calpain-mediated degradation of I κ B- α that can be inhibited by the tumor suppressor PTEN[J]. *Oncogene*, 2001, 20(11): 1287-1299.
- [19] YAKES F M, CHINRATANALAB W, RITTER C A, et al. Herceptin-induced inhibition of phosphatidylinositol-3 kinase and Akt is required for antibody-mediated effects on p27, cyclin D1, and antitumor action[J]. *Cancer Res*, 2002, 62(14): 4132-4141.
- [20] SPECTOR N L, BLACKWELL K L. Understanding the mechanisms behind trastuzumab therapy for human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(34): 5838-5847.
- [21] LIANG Y C, LIN-SHIAU S Y, CHEN C F, et al. Suppression of extracellular signals and cell proliferation through EGF receptor binding by (-)-epigallocatechin gallate in human A431 epidermoid carcinoma cells[J]. *J Cell Biochem*, 1997, 67(1): 55-65.
- [22] SHIMIZU M, DEGUCHI A, JOE A K, et al. EGCG inhibits activation of HER3 and expression of cyclooxygenase-2 in human colon cancer cells[J]. *J Exp Ther Oncol*, 2005, 5(1): 69-78.
- [收稿日期] 2021-12-11 [修回日期] 2022-02-28
[本文编辑] 李睿旻

(上接第 135 页)

- [16] CAVERO I, MESTRE M, GUILLON J M, et al. Drugs that prolong QT interval as an unwanted effect: assessing their likelihood of inducing hazardous cardiac dysrhythmias[J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2000, 1(5): 947-973.
- [17] WEBSTER R, LEISHMAN D, WALKER D. Towards a drug concentration effect relationship for QT prolongation and torsades de pointes[J]. *Curr Opin Drug Discov Devel*, 2002, 5(1): 116-126.
- [18] 梁永志. 大环内酯类抗生素心脏毒性防治[J]. *中国实用医药*, 2008, 3(5): 49-50.
- [19] 伦新强. 大环内酯类抗生素心脏毒性防治[J]. *中国药物应用与监测*, 2005, 2(3): 28-29.
- [收稿日期] 2021-10-25 [修回日期] 2022-01-12
[本文编辑] 李春德