

甜菜碱的抗肿瘤作用及对 S₁₈₀ 荷瘤小鼠机体糖代谢过程的影响

张宇金¹, 季宇彬^{1*}, 何立巍²

(1. 哈尔滨商业大学 生命科学与环境科学研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150076; 2. 哈尔滨商业大学
药物研究所 博士后科研工作站, 黑龙江 哈尔滨 150076)

摘要:目的 研究甜菜碱的抗肿瘤作用及其对 S₁₈₀ 荷瘤小鼠机体糖酵解过程的影响。方法 建立 S₁₈₀ 荷瘤小鼠模型, 以抑瘤率、血清乳酸脱氢酶 (LDH)、醛缩酶 (ALD) 活力为检测指标, 用试剂盒进行测定。结果 甜菜碱不同剂量 (4.535、2.267、1.133 g/kg) 对 S₁₈₀ 荷瘤小鼠的抑瘤率分别为 39.8%、25.7%、17.7%, 甜菜碱高剂量可以非常显著地降低 LDH、ALD 活力 ($P < 0.01$), 中剂量和低剂量可显著地降低血清 LDH、ALD 活力 ($P < 0.05$)。结论 甜菜碱能抑制实验性 S₁₈₀ 小鼠的肿瘤细胞的生长, 并呈现出一定的量效关系, 同时能降低血清 LDH、ALD 活力, 抑制 S₁₈₀ 荷瘤小鼠的糖代谢过程, 可能是甜菜碱潜在的抗肿瘤作用的机制之一。

关键词:甜菜碱; 抗肿瘤; 糖代谢

中图分类号: R286.91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)09-1378-03

Antitumor effect of betaine and its influence on glycometabolism of S₁₈₀ bearing mice

ZHANG Yu-jin¹, JI Yu-bin¹, HE Li-wei²

(1. Research Center on Life Science and Environmental Science of Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China;
2. Postdoctoral Programme, Institute of Materia Medica, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

Abstract: **Objective** To study the antitumor activity of betaine and its effect on the glycometabolism of S₁₈₀ bearing mice. **Methods** On the basis of S₁₈₀ bearing mice, taking tumor inhibition rate, the activity of LDH and ALD in serum as indexes which were determined by test kits. **Results** The different dosages for tumor inhibition rate of betaine are 39.8%, 25.7%, and 17.7%, respectively, betaine of high dosage can remarkably decrease the activity of LDH, and ALD ($P < 0.01$). Betaine of median and low dosages can decrease the activity of LDH and ALD ($P < 0.05$). **Conclusion** Betaine can inhibit the growth of tumor cells in S₁₈₀ bearing mice, its effect has correlation with dosage. Meanwhile, it can decrease the activity of LDH and ALD in serum, which means betaine can inhibit the glycometabolism process and is probably one of potential mechanisms of its anti-tumor effect.

Key words: betaine; antitumor; glycometabolism

甜菜碱化学名称为 *N,N,N*-三甲铵乙内酯, 近年来, 陆续发现甜菜碱有多种药理作用, 其可以取代山梨醇保护体外培养的肾髓质细胞抵抗高渗^[1], 调节多种细胞对高渗的反应, 大大缓解或消除由于高渗导致的 DNA 复制、蛋白质合成及细胞增殖速率下降^[2], 并且抑制高渗介质诱导的 HSP70 基因的表达^[3]。甜菜碱还可抑制 L1210 白血病细胞、肉瘤 37 及埃利希瘤等肿瘤细胞株的有丝分裂, 当和维生素 C 的同分异构体 *D*-异抗坏血酸联合作用时, 这种抑制作用更为显著^[4]。

糖酵解是肿瘤细胞能量代谢的主要方式, 抑制

肿瘤细胞的糖酵解即抑制了肿瘤细胞的能量代谢, 由于内能的缺乏而促使肿瘤细胞凋亡。乳酸脱氢酶 (LDH) 和醛缩酶 (ALD) 是糖酵解代谢途径中的关键酶, 对机体的糖代谢过程起重要作用。本实验主要通过观察甜菜碱对 S₁₈₀ 荷瘤小鼠血 LDH 和 ALD 的活性的影响, 研究甜菜碱对荷瘤机体糖酵解过程的影响, 探究其变化与肿瘤发展的相关性, 为研究甜菜碱体内抗肿瘤作用机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 药物及试剂: 甜菜碱, 浙江巨成化工有限公司, 质量分数 98%; 5-氟尿嘧啶 (5-Fu), 上海旭东海普

收稿日期: 2006-03-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30400352, 30400591); 教育部重点科研项目 (205045); 黑龙江研究生创新科研项目 (YJSCX2006-66HLJ, YJSCX2005-133HLJ)

作者简介: 张宇金 (1982—), 男, 黑龙江哈尔滨人, 硕士研究生, 研究方向为抗肿瘤药物作用机制研究。

Tel: (0451) 84800297 E-mail: asdpppqq@163.com

* 通讯作者 季宇彬

药业有限公司产品,批号 000706;ALD、LDH 试剂盒,南京建成生物技术公司。

1.2 动物及瘤株:昆明种小鼠,体重 (20 ± 2.0) g,雌雄各半,购自黑龙江中医药大学动物室(动物质量合格证号:黑动字第 00101003 号);S₁₈₀瘤株购自黑龙江省肿瘤医院。

1.3 仪器:细胞计数板;RF—540 (荧光分光光度计)日本岛津公司生产;低速离心机 (北京离心机厂)。

1.4 瘤株接种:无菌条件下抽取接种生长良好的 S₁₈₀荷瘤小鼠腹水 (癌细胞数 > 95%),冰浴条件下,用无菌生理盐水 1:4 稀释,按每只 0.2 mL (每毫升 4×10^7 个细胞),于小鼠右前肢腋部皮下接种。

1.5 实验分组及给药:小鼠随机分为 5 组,雌雄各半,每组 10 只。分别为甜菜碱高、中、低剂量 (4.535、2.267、1.133 g/kg) 组;阳性对照 5-Fu (25 mg/kg) 组;生理盐水组。各组于接种 24 h 后开始 ip 给药,连续 7 d。

1.6 肿瘤生长抑制率测定:停药后次日,处死全部动物,剥取瘤块,称质量,计算抑瘤率 [(对照组瘤质量 - 治疗组瘤质量)/对照组瘤质量 $\times 100\%$]。

1.7 血清 LDH 及 ALD 活力的测定:按试剂盒方法操作测定 LDH 和 ALD 活性。

1.8 数据处理:统计学方法采用 SPSS 10.0 统计软件进行处理,所有资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数比较用 *t* 检验。

2 结果

2.1 甜菜碱对 S₁₈₀肉瘤的抑制作用:见表 1。对 S₁₈₀荷瘤小鼠用药 7 d 后发现,甜菜碱高剂量组的平均瘤质量非常显著地低于对照组 ($P < 0.01$)。甜菜碱中剂量和低剂量组的平均瘤质量明显低于对照组 ($P < 0.05$)。抑瘤率随药物剂量增加而增加,抑瘤作用与剂量有一定量效关系。

表 1 甜菜碱对 S₁₈₀荷瘤小鼠的肿瘤抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Inhibition of betaine on tumor of S₁₈₀ bearing mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g · kg ⁻¹)	瘤质量/g	抑瘤率/%
生理盐水	—	2.26 ± 0.42	—
5-Fu	0.025	1.27 ± 0.29**	43.8
甜菜碱	4.535	1.30 ± 0.30**	39.8
	2.267	1.68 ± 0.37*	25.7
	1.133	1.86 ± 0.38*	17.7

与生理盐水组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs NS group

2.2 血清 LDH 测定结果:见表 2。可以看出,甜菜碱高剂量非常显著地降低 LDH 活力 ($P < 0.01$);

表 2 甜菜碱对 S₁₈₀荷瘤小鼠血清 LDH 及 ALD 活力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of betaine on activities of LDH and ALD in serum of S₁₈₀ bearing mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g · kg ⁻¹)	LDH/(U · L ⁻¹)	ALD/(U · L ⁻¹)
生理盐水	—	3 202.7 ± 1 122.7	602.7 ± 122.7
5-Fu	0.025	154.1 ± 106.5*	338.6 ± 146.7**
甜菜碱	4.535	1 657.9 ± 1 322.8	330.4 ± 182.6**
	2.267	1 901.5 ± 828.1*	394.6 ± 110.9*
	1.133	3 034.6 ± 2 237.7*	510.3 ± 111.9*

与生理盐水组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs NS group

中剂量和低剂量可显著降低血清 LDH 活力 ($P < 0.05$)。阳性药 5-Fu 可以非常显著降低血清 LDH 活力 ($P < 0.01$)。

2.3 血清 ALD 活力测定结果:见表 2。可以看出,甜菜碱高剂量可以非常显著降低血清 ALD 活力 ($P < 0.01$);中剂量和低剂量可明显地降低血清 ALD 活力 ($P < 0.05$);阳性药 5-Fu 可以非常显著降低血清 ALD 活力 ($P < 0.01$)。

3 讨论

LDH 是糖酵解途径中一种重要的酶^[5],在人体中主要分布于肾、心肌、肝、脾、红细胞和白细胞等组织或器官中,肝脏的 LDH 浓度最高,其次是骨骼肌、心脏、红细胞及肾脏。正常血清中含有 LDH,但多数组织中 LDH 活性比血清中的高,所以,即使少量组织坏死也能使血清 LDH 活性增高。肿瘤细胞具有一种代谢的独特性,其中糖酵解的顺序与三羧酸循环缺少关联,导致肿瘤细胞利用葡萄糖较正常组织细胞高 5~10 倍,其中多数转变为乳酸盐。当发生肿瘤或细胞坏死时,LDH 均升高。LDH 的测定对临床许多肿瘤性疾病的诊断、疗效判断及预后均有重要价值。临床上已经通过检测 LDH 及其同工酶来诊断心脏疾病。目前也有相当多的报道认为利用血清 LDH 及同工酶的检测也有助于恶性肿瘤如卵巢癌和肺癌及恶性淋巴瘤的诊断和判断治疗方法的疗效。因此,血清 LDH 的动态观察,可作为恶性肿瘤患者疗效及预后判断的一项可靠参考指标。

ALD 也是糖酵解代谢途径中的关键酶,催化 1,6-二磷酸果糖 (FDP) 裂解成一分子磷酸二羟丙酮 (DAP) 和一分子 3-磷酸甘油醛 (GLAP)。国外有学者报道 ALD 可作为观察肝癌细胞恶性表型逆转指标。肝癌时 ALD 活性升高,可能与肿瘤组织中存在 ALD 有关。当 PLC 细胞破坏,大量释放 ALD 致使血清 ALD 活性升高^[6,7],当介入治疗达到一定程度时,肝癌组织被损毁,肿块缩小,血清 ALD 活

性下降。因内也有报道说,肝癌治疗前后血清 ALD 活性差异有显著性 ($P < 0.05$),因此 ALD 适用于评价肝癌组织损毁程度。

在本实验中,与对照组相比,不同剂量的甜菜碱均可降低 S_{180} 荷瘤小鼠血清中 LDH 和 ALD 的活力,并呈现出了明显的量效关系,说明甜菜碱可能降低了肿瘤组织的坏死程度,限制了瘤细胞经由丙酮酸还原为乳酸的能力,限制了瘤细胞经由糖酵解获得能量的能力,有可能迫使肿瘤细胞转由经三羧酸循环有氧氧化供能,或因能量供应不足而使瘤细胞生长受阻、死亡。LDH、ALD 活性受抑制,糖酵解作用减弱,对于控制肿瘤发展,防止恶液质形成,延长宿主生存期具有重要意义。抑制肿瘤细胞内的无氧糖酵解作用有可能是甜菜碱抗肿瘤作用的机制之一。

本实验只是初步研究了甜菜碱对荷瘤机体的作用,因为给药方式的改变和药物剂量的改变都会对药效学结果有很大的影响。同时,甜菜碱作为一种营养物质,其在肿瘤预防方面的作用也有必要进一步研究,即从肿瘤营养学的角度。甜菜碱作为高效的甲基供体,可促进细胞的 DNA 甲基化,改变肿瘤细胞的甲基化模式,也就是说其更深一步的机制可能要

从表观遗传学的角度进行探讨。同时其对免疫系统的影响也需进一步研究。

References:

- [1] Moriyama T, Carcia Perez A, Olson A D, *et al.* Intracellular betaine substitutes for sorbitol in Protecting renal medullary from hypertonicity [J]. *Am J Physiol*, 1991, 260: 494-497.
- [2] Petronini P G, De Angelis E M, Borghetti P, *et al.* Modulation by betaine of cellular responses to osmotic stress [J]. *Biochem J*, 1992, 282(Pt1): 69-73.
- [3] Petronini P G, De Angelis E M, Borghetti P, *et al.* Effect of betaine on HSP70 expression and cell survival during adaption to osmotic stress [J]. *Biochem J*, 1993, 293: 553-558.
- [4] Freidel J F, Fardon J C, Tsuchiya Y, *et al.* *In vitro* effect of D-isoascorbic acid and betaine hydrate alone and in combination on normal and malignant cells [J]. *Exp Cell Biol*, 1979, 47: 463-469.
- [5] Jeong D W, Cho I T, Kim T S, *et al.* Effects of lactate dehydrogenase suppression and glycerol-3-phosphate dehydrogenase overexpression on cellular metabolism [J]. *Mol Cell Biochem*, 2006, 2(14): 1-8.
- [6] Jeong D W, Cho I T, Kim T S, *et al.* Effects of lactate dehydrogenase suppression and glycerol-3-phosphate dehydrogenase overexpression on cellular metabolism [J]. *Mol Cell Biochem*, 2006, 2(14): 1-8.
- [7] Miyagi S, Zhao Y P, Saitoh Y, *et al.* Replication of the rat aldolase B locus differs between aldolase B-expressing and non-expressing cells [J]. *FEBS Lett*, 2001, 505(2): 332-336.

银杏叶提取物对缺血再灌注大鼠脑线粒体的保护作用

杲海霞,李军霞,王永利*

(河北医科大学 药理学教研室,河北 石家庄 050017)

线粒体是一种结构和功能复杂而敏感的重要细胞器,是细胞能量产生的主要部位,是细胞的活力及生存和死亡的调节中心。缺血再灌注细胞凋亡过程中许多重要事件的发生都与线粒体密切相关,包括 caspases 激活因子的释放、细胞内氧化还原状态的改变、线粒体膜电位的丧失、Bcl-2 家族促进和抑制凋亡蛋白的参与等。其作为凋亡的中心环节已在许多凋亡系统被证实^[1,2]。

银杏 *Ginkgo biloba* L. 为中国特有的古老植物,用作药物在我国已有 5 000 年的历史。现代药理学研究证实,其提取物 (extract of *Ginkgo biloba*,

EGB) 具有清除自由基、降低血液黏度、延长血液凝固时间等功效。自 20 世纪 80 年代以来,国内外学者对 EGB 进行了大量研究工作,并在多种缺血模型上观察了其对于缺血再灌注脑损伤的保护作用及其机制。但关于 EGB 在脑线粒体保护方面,尤其对线粒体钙超载影响方面的研究很少。本实验主要观察银杏叶提取物注射液对局灶性脑缺血大鼠脑线粒体的保护作用,以进一步探讨其抗缺血性脑血管疾病的机制。

1 材料

雄性健康 SD 大鼠 96 只 (体重 250~300 g),

收稿日期:2006-02-17

作者简介:杲海霞(1972—),女,河北省泊头市人,硕士,讲师,研究方向为心脑血管药理学。

Tel: 13103212796 E-mail: gaoyuanzhaozhao@sohu.com.cn

* 通讯作者 王永利 Tel: (0311) 6266824 Fax: (0311) 6057291 E-mail: wangy152@heinfo.net