

粉防己碱对人乳腺癌 MCF-7 细胞线粒体能量代谢的影响

王蒙, 王知斌, 孙延平, 杨炳友, 匡海学*

黑龙江中医药大学 教育部北药基础与应用研究重点实验室, 黑龙江省中药及天然药物药效物质基础研究重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要:目的 研究粉防己碱对人乳腺癌 MCF-7 细胞线粒体能量代谢的影响, 探讨其抗肿瘤作用及其机制。方法 采用 MTT 法检测粉防己碱对 MCF-7 细胞的细胞毒活性, 评价其增殖抑制作用; 通过检测线粒体膜电位 (mitochondrial membrane potential, MMP) 变化、三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 含量、活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平和呼吸电子传递链复合酶 I~IV 活力, 评价粉防己碱对 MCF-7 细胞线粒体功能的影响; 运用细胞能量代谢分析仪对活体细胞能量代谢进行实时全过程分析, 评价粉防己碱对 MCF-7 细胞能量代谢的影响。结果 粉防己碱可抑制 MCF-7 细胞增殖, 其半数抑制浓度 (50% concentration of inhibition, IC₅₀) 值为 20.13 μmol/L; 粉防己碱显著降低 MCF-7 细胞 MMP、ATP 含量、ROS 水平和呼吸电子传递链复合酶 I~IV 活力 ($P < 0.05, 0.01$); 粉防己碱可对 MCF-7 细胞能量代谢过程中基础氧消耗、ATP 产能、线粒体储备能和质子漏产生影响。结论 粉防己碱能够通过破坏线粒体功能并减少细胞能量代谢, 从而抑制 MCF-7 细胞增殖。

关键词: 粉防己碱; 乳腺癌; MCF-7 细胞; 线粒体功能; 能量代谢

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)17-5244-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.17.016

Effect of tetrandrine on mitochondrial energy metabolism in human breast cancer MCF-7 cells

WANG Meng, WANG Zhi-bin, SUN Yan-ping, YANG Bing-you, KUANG Hai-xue

Heilongjiang Key Laboratory of Drug Efficacy Study Material of Traditional Chinese Medicine and Natural Product, Key Laboratory of Basic and Applied Research in North Medicine, Ministry of Education, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: Objective To study the effect of tetrandrine on mitochondrial energy metabolism of MCF-7 cells, explore the antitumor effect and mechanism of tetrandrine. **Methods** Cytotoxicity of tetrandrine on MCF-7 cells was measured to evaluate cell proliferation inhibition by MTT assay. The changes of mitochondrial membrane potential (MMP), adenosine triphosphate (ATP) content, reactive oxygen species (ROS) level and respiratory electron transport chain complex enzyme I—IV activities were measured to evaluate the effect of tetrandrine on mitochondrial function. The real-time metabolic process of MCF-7 cells were analyzed by Seahorse Extracellular Analyzer to evaluate the effect of tetrandrine on energy metabolism. **Results** Tetrandrine inhibited the proliferation of MCF-7 cells, with the 50% concentration of inhibition (IC₅₀) was 20.13 μmol/L. Tetrandrine significantly reduced MMP, ATP content, ROS level and respiratory electron transport chain complex enzyme I—IV activities ($P < 0.05, 0.01$). Tetrandrine affected basal oxygen consumption, ATP production, mitochondrial reserve energy and proton leakage in the

收稿日期: 2021-07-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81803686); 国家自然科学基金配套项目 (2018PP01); 教育部“春晖计划”合作科研项目 (HLJ2019035); 黑龙江省普通本科高等学校青年创新人才培养计划项目 (UNPYSCT-2020225); 黑龙江省博士后专项经费资助 (LBH-Q20180)

作者简介: 王蒙 (1987—), 男, 博士, 主要从事中药及复方药效物质基础研究。Tel: (0451)82197047 E-mail: wangmeng@hljucm.net

*通信作者: 匡海学 (1955—), 男, 1982年毕业于沈阳药学院天然药物化学专业获得硕士学位, 教授, 博士, 博士生导师。全国第4批学科评估 A+学科国家一级学科重点学科中药学学科和中药学一级博士授权学科中药学学科带头人, 现为教育部北药基础与应用研究重点实验室主任、国务院学位委员会第7届学科评议组中药学学科召集人、教育部高等学校中药学类专业教指委主任委员、国家973计划项目首席科学家、国家普通高校教学名师和全国中医药高等学校教学名师、全国优秀博士学位论文指导教师、《中国药典》第8~11届委员会委员、全国优秀科技工作者、岐黄工程首席科学家, 研究方向为中药学。

Tel: (0451)82193001 E-mail: hxkuang@hljucm.net

process of energy metabolism in MCF-7 cells. **Conclusion** Tetrandrine can inhibit MCF-7 cells proliferation by damaging mitochondrial function and reducing cell energy metabolism.

Key words: tetrandrine; breast cancer; MCF-7 cells; mitochondrial function; energy metabolism

粉防己碱是一种双苄基异喹啉类生物碱，为防己 *Stephania tetrandra* S. Moore 的主要成分^[1]。现代药理学研究表明，粉防己碱具有治疗免疫性疾病、心血管疾病、矽肺病和抗肿瘤等多种生物活性^[2]。粉防己碱可以通过抑制细胞增殖、减少血管新生、抑制细胞迁移与侵袭、诱导细胞凋亡与自噬等途径，影响乳腺癌、肝癌、胃癌、结肠癌、鼻咽癌、胶质瘤和骨肉瘤等多种肿瘤，有效发挥抑制肿瘤生长、转移以及逆转多药耐药的作用^[3-5]。

肿瘤细胞获取能量的方式区别于正常细胞，表现为瓦博格效应^[6]。正常分化细胞主要依靠线粒体的氧化磷酸化为细胞供能，而肿瘤细胞则主要依靠有氧糖酵解，瓦博格效应是肿瘤细胞的重要代谢特征^[7]。糖酵解过程提供能量，产能快捷但供能效率低；氧化磷酸化过程提供能量，产能缓慢但供能效率高^[8]。肿瘤细胞通过糖酵解获取能量实现快速增殖，并以此适应肿瘤组织因快速增殖而导致的局部缺氧缺血环境^[9]。因此，对肿瘤细胞线粒体功能与能量代谢过程进行干预，可以抑制肿瘤细胞增殖并促进肿瘤细胞凋亡，同时可以改变肿瘤组织周围微环境，从而抑制肿瘤细胞迁移与侵袭。

本研究以粉防己碱对人乳腺癌 MCF-7 细胞进行干预，从线粒体功能变化与细胞能量代谢改变角度出发，探究粉防己碱抗肿瘤的作用机制。本研究分别对线粒体膜电位 (mitochondrial membrane potential, MMP)、三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 含量、活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平和位于呼吸电子传递链的复合酶 I~IV 活力进行检测，考察能量代谢重要细胞器线粒体的功能变化；同时运用实时活体细胞能量代谢分析仪对粉防己碱干预的 MCF-7 细胞进行能量代谢过程全时分析，监测活体细胞能量代谢动态全过程，为其深入研究及新型抗肿瘤药物的开发提供科学依据。

1 材料

1.1 细胞

MCF-7 细胞购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。

1.2 药品与试剂

粉防己碱 (质量分数 $\geq 98\%$) 购自上海源叶生

物科技有限公司；5-氟尿嘧啶 (5-Fu, 批号 20190315) 购自湖北艺康源化工有限公司；胎牛血清 (批号 1418110) 购自美国 Gibco 公司；RPMI 1640 培养液 (批号 AAG204847) 购自美国 Hyclone 公司；胰蛋白酶 (批号 0106A16) 购自美国 Sigma 公司；噻唑蓝 (批号 0793) 购自美国 Amresco 公司；线粒体膜电位检测试剂盒 (批号 E001)、腺嘌呤核苷三磷酸检测试剂盒 (批号 A095)、活性氧检测试剂盒 (批号 E004) 购自南京建成生物工程研究所；烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NADH) 脱氢酶检测试剂盒 (批号 SW040)、琥珀酸脱氢酶检测试剂盒 (批号 SW041)、细胞色素还原酶检测试剂盒 (批号 SW042)、细胞色素氧化酶检测试剂盒 (批号 SW043) 购自上海信帆生物科技有限公司。

1.3 仪器

XFe24 型细胞能量代谢分析仪 (美国 Seahorse Bioscience 公司)；VICTOR X3 型酶联免疫分析仪 (美国 PerkinElmer 公司)；Vert A1 型倒置显微镜 (德国 Zeiss 公司)；HERACELL 150i 型二氧化碳培养箱 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司)；SWCJ2G 型超净工作台 (广州瑞智净化设备有限公司)。

2 方法

2.1 粉防己碱对 MCF-7 细胞增殖的影响

MCF-7 细胞用含 10% 胎牛血清、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 链霉素、100 U/mL 青霉素的 RPMI 1640 培养基，于 5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 培养箱中培养，每 2 天传代 1 次。取处于对数生长期的细胞，以胰酶消化后，用培养基吹打成细胞悬液，以 8×10^4 /孔接种于 96 孔板中，100 μL /孔，培养 24 h。设置对照组和粉防己碱 (6.25、12.50、25.00、50.00、100.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组，同时选取 5-Fu 作为阳性对照药物。各给药组分别加入相应药物，对照组加入不含药物的培养基，培养 48 h，加入 20 μL MTT 溶液 (5 mg/mL)，继续孵育 4 h，吸去上清液，加入 150 μL 二甲基亚砜 (DMSO) 溶解结晶，采用酶标仪测定 490 nm 处吸光度 (A) 值，计算粉防己碱各剂量组的增殖抑制率和半数抑制浓度 (50% concentration of inhibition, IC_{50})。

$$\text{细胞增殖抑制率} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{给药}}) / A_{\text{对照}}$$

2.2 粉防己碱对 MCF-7 细胞线粒体功能的影响

取处于对数生长期的 MCF-7 细胞, 以 1×10^6 /孔接种于 6 孔板中, 培养 24 h。设置对照组和粉防己碱 (12.5、25.0、50.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组, 各给药组分别加入 200 μL 相应药物, 对照组加入不含药物的培养基, 培养 6 h。以 490 nm 激发波、530 nm 照射波检测各组 MMP 变化; 以 636 nm 波长检测各组 ATP 含量; 以 500 nm 激发波、525 nm 照射波检测各组 ROS 水平; 复合酶 I 为 NADH 脱氢酶、复合酶 II 为琥珀酸脱氢酶、复合酶 III 为细胞色素还原酶、复合酶 IV 为细胞色素氧化酶, NADH 脱氢酶检测波长为 340 nm、琥珀酸脱氢酶检测波长为 605 nm、细胞色素还原酶检测波长为 550 nm、细胞色素氧化酶检测波长为 550 nm, 检测各组呼吸电子传递链复合酶 I~IV 活力。

2.3 粉防己碱对 MCF-7 细胞能量代谢的影响

细胞能量代谢分析仪测试板和探针暗盒于无 CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 培养箱中孵育 12 h 进行活化。取处于对数生长期的 MCF-7 细胞, 以 3×10^4 /孔接种于 24 孔细胞能量代谢分析仪接种板中, 加入 525 μL 培养基, 于 5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 培养箱中培养 24 h。设置对照组和粉防己碱 (12.5、25.0、50.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组, 各给药组分别加入 20 μL 相应药物, 对照组加入不含药物的培养基, 培养 6 h。将培养液吸出后, 加入由 4.5 g/L 葡萄糖、2 mmol/L 丙酮酸钠和无糖 DMEM 组成的测试液, 于无 CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 的培养箱中培养 30 min。探针板测试槽中分别加入寡霉素、FCCP 和鱼藤酮, 将接种板置于测试位校正 30 min 后开始

检测, 仪器水化 12 min 后进行自检, O_2 和 pH 值自检合格之后进行测试。

2.4 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 22.0 软件进行单因素方差分析, 组均数之间比较用 ANOVA 检验。

3 结果

3.1 粉防己碱对 MCF-7 细胞增殖的影响

阳性对照药物 5-Fu 对 MCF-7 细胞的 IC_{50} 值为 8.43 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 。如表 1 所示, 粉防己碱表现出明显细胞毒活性, 可抑制 MCF-7 细胞增殖, 其 IC_{50} 值为 20.13 $\mu\text{mol}/\text{L}$, 以此为参考确定以 12.5、25.0、50.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 3 个剂量开展后续研究。

表 1 粉防己碱对 MCF-7 细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Table 1 Effect of tetrandrine on proliferation of MCF-7 cells ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

| 组别 | 剂量/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ | 抑制率/% |
|------|--|-------|
| 粉防己碱 | 6.25 | 26.13 |
| | 12.50 | 46.79 |
| | 25.00 | 63.28 |
| | 50.00 | 81.74 |
| | 100.00 | 91.62 |

3.2 粉防己碱对 MCF-7 细胞线粒体功能的影响

3.2.1 粉防己碱对 MCF-7 细胞 MMP、线粒体 ATP 含量和 ROS 水平的影响 如表 2 所示, 粉防己碱显著降低 MCF-7 细胞 MMP、ATP 含量和 ROS 水平 ($P < 0.05$ 、0.01), 且呈剂量相关性。

3.2.2 粉防己碱对 MCF-7 细胞线粒体呼吸电子传递链复合酶 I~IV 活力的影响 如表 3 所示, 粉防己碱显著降低 MCF-7 细胞呼吸电子传递链复合酶

表 2 粉防己碱对 MCF-7 细胞线粒体功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effect of tetrandrine on mitochondrial function of MCF-7 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

| 组别 | 剂量/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ | MMP/% | ATP/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1})$ | ROS/% |
|------|--|--------------------|--|--------------------|
| 对照 | — | 100.00 | 789.98 \pm 35.91 | 100.00 |
| 粉防己碱 | 12.5 | 25.93 \pm 1.45* | 423.56 \pm 20.09* | 32.34 \pm 2.16** |
| | 25.0 | 10.34 \pm 0.99** | 334.26 \pm 15.74** | 15.78 \pm 1.34** |
| | 50.0 | 3.43 \pm 0.21** | 227.54 \pm 11.89** | 7.45 \pm 0.41** |

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

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

表 3 粉防己碱对 MCF-7 细胞线粒体呼吸电子传递链复合酶 I~IV 活力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of tetrandrine on mitochondrial respiratory electron transport chain complex enzyme I—IV of MCF-7 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

| 组别 | 剂量/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ | 复合酶 I/% | 复合酶 II/% | 复合酶 III/% | 复合酶 IV/% |
|------|--|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| 对照 | — | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| 粉防己碱 | 12.5 | 78.29 \pm 6.34** | 93.89 \pm 8.57 | 83.01 \pm 6.23* | 86.45 \pm 7.98* |
| | 25.0 | 64.32 \pm 5.76** | 84.11 \pm 7.91* | 63.12 \pm 4.99** | 62.34 \pm 5.18* |
| | 50.0 | 43.12 \pm 4.63** | 68.23 \pm 5.78* | 44.56 \pm 3.67** | 42.12 \pm 3.78** |

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

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

I、III、IV活力 ($P < 0.05$ 、 0.01)，粉防己碱 (25.0、50.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 显著降低 MCF-7 细胞呼吸电子传递链复合酶 II 活力 ($P < 0.05$)，且呈剂量相关性。

3.3 粉防己碱对 MCF-7 细胞能量代谢的影响

细胞能量代谢分析仪可以对活体细胞的能量代谢进行实时分析，记录细胞能量代谢全过程并通过 4 阶段测试分析细胞的不同能量代谢状态，粉防己碱干预 MCF-7 细胞的能量代谢过程见图 1。细胞能量代谢分析见表 4。能量代谢分析 4 阶段图如图 2 所示，与对照组比较，粉防己碱显著降低 MCF-7

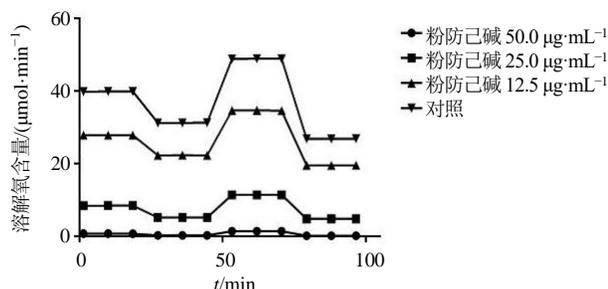


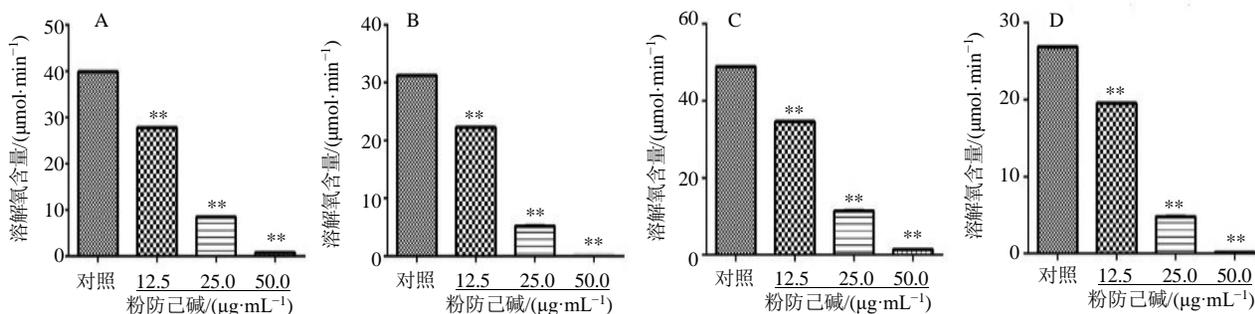
图 1 粉防己碱干预 MCF-7 细胞能量代谢过程图

Fig. 1 Energy metabolism diagram of MCF-7 cells treated with tetrandrine

表 4 粉防己碱对 MCF-7 细胞能量代谢的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 4 Effect of tetrandrine on energy metabolism of MCF-7 cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

| t/min | 溶解氧含量/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1})$ | | | |
|-------|--|--|--|--|
| | 对照 | 粉防己碱 $12.5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ | 粉防己碱 $25.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ | 粉防己碱 $50.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ |
| 1.40 | 38.92 ± 0.93 | 28.22 ± 1.22 | 8.66 ± 0.54 | 0.73 ± 0.16 |
| 10.02 | 39.67 ± 1.19 | 27.54 ± 1.14 | 8.17 ± 0.76 | 0.80 ± 0.19 |
| 18.65 | 38.27 ± 1.13 | 27.39 ± 1.32 | 8.28 ± 0.84 | 0.79 ± 0.14 |
| 27.39 | 31.33 ± 1.04 | 22.72 ± 1.47 | 5.43 ± 0.52 | 0.28 ± 0.12 |
| 35.98 | 31.19 ± 0.84 | 22.72 ± 1.57 | 5.48 ± 0.74 | 0.29 ± 0.12 |
| 44.62 | 31.41 ± 0.33 | 21.94 ± 1.47 | 5.37 ± 0.63 | 0.30 ± 0.16 |
| 53.31 | 49.01 ± 1.07 | 34.97 ± 1.84 | 11.23 ± 0.98 | 1.39 ± 0.41 |
| 61.95 | 48.63 ± 0.72 | 34.83 ± 2.18 | 11.16 ± 1.03 | 1.48 ± 0.45 |
| 70.59 | 48.82 ± 1.09 | 34.12 ± 2.63 | 11.73 ± 1.14 | 1.49 ± 0.22 |
| 79.34 | 26.75 ± 1.13 | 19.92 ± 1.86 | 5.03 ± 0.77 | 0.19 ± 0.02 |
| 87.99 | 26.94 ± 0.94 | 19.79 ± 1.72 | 4.96 ± 0.69 | 0.18 ± 0.02 |
| 96.64 | 26.35 ± 1.12 | 19.15 ± 1.57 | 4.69 ± 0.74 | 0.19 ± 0.03 |



A-基础氧消耗 B-ATP 产能 C-线粒体储备能 D-质子漏 与对照组比较: ** $P < 0.01$

A-base oxygen consumption B-ATP production C-mitochondria reserve energy D-proton leakage ** $P < 0.01$ vs control group

图 2 粉防己碱干预 MCF-7 细胞能量代谢分析 4 阶段图

Fig. 2 Four stages in energy metabolism diagram of MCF-7 cells treated with tetrandrine

细胞基础氧消耗、ATP 产能、线粒体储备能、质子漏 ($P < 0.01$)。

4 讨论

肿瘤细胞因具有快速增殖的特性，其代谢过程对能量的需求也相应增加^[10]。肿瘤细胞表现出以有氧糖酵解为主的能量代谢方式，其放弃能效更高的氧化磷酸化过程，而选用能效低但产能快捷的糖酵

解过程以满足其对快速增殖的能量需求^[11]。因此，干预肿瘤细胞的能量代谢过程也成为抑制其增殖的重要研究方向。真核细胞主要通过氧化磷酸化过程和糖酵解过程为细胞存活与增殖提供能量，葡萄糖经过一系列酶催化为丙酮酸，再进入线粒体后经丙酮酸脱氢酶催化为乙酰辅酶 A 进入三羧酸循环^[12]。线粒体作为有氧呼吸的主要场所，不仅是细胞能量

代谢的中心细胞器,同时也参与细胞脂肪酸、谷氨酰胺等物质代谢过程^[13]。考察化合物对细胞线粒体功能与能量代谢过程的影响,可以直观评价其对细胞能量代谢的干预作用。目前,已经有一些糖酵解抑制剂被发现并在肿瘤治疗过程中表现出较好的疗效。3-溴丙酮酸作为一种己糖激酶抑制剂,可有效抑制肿瘤细胞糖酵解过程从而降低 ATP 产生,使磷酸化 B 淋巴细胞瘤 2 相关 X 蛋白基因(B-cell lymphoma 2 associated X protein, Bax)去磷酸化诱导细胞色素 C 释放,从而引起细胞凋亡^[14]。氯尼达明作为吲唑-3-羧酸的一种衍生物,可以通过增加正常细胞的糖酵解速率进而抑制肿瘤细胞糖酵解速率,从而抑制肿瘤细胞的快速增殖^[15]。因此,靶向肿瘤细胞的能量代谢过程是开发新型抗肿瘤药物的一个非常有效的策略。

细胞能量代谢分析仪是近几年来开发出的一种实时监测活体细胞能量代谢的新技术,其极大地简化了细胞能量代谢过程的分析步骤,是目前最为先进的细胞能量代谢测定手段^[16]。仪器检测采用固态探针,利用瞬时微室专利技术监测溶解氧耗氧率(oxygen consumption rate, OCR)反映线粒体的有氧呼吸能力,同时测量细胞能量代谢氧化磷酸化和糖酵解 2 条主要的产能链,可获得细胞基础耗氧量、ATP 产能、线粒体储备能和质子漏等主要指标用以反映细胞能量代谢过程中氧化磷酸化和糖酵解产能情况^[17]。同时,该分析方法可以在不破坏细胞的条件下,对活体细胞实现实时能量代谢分析,获取细胞能量代谢数据形成细胞能量代谢变化过程图。

本研究以粉防己碱干预 MCF-7 细胞后,检测细胞线粒体功能相关指标,发现粉防己碱可有效降低 MCF-7 细胞 MMP,减少线粒体 ATP 含量和 ROS 水平,对线粒体产生破坏作用。同时,对细胞呼吸电子传递链复合酶 I~IV 活力进行检测,发现粉防己碱可以不同程度地降低 NADH 脱氢酶、琥珀酸脱氢酶、细胞色素还原酶和细胞色素氧化酶活力,影响线粒体呼吸电子传递链产能效率。进一步利用细胞能量代谢分析仪对粉防己碱干预后的 MCF-7 细胞进行实时活体细胞能量代谢分析,第 1 阶段检测基础耗氧量,细胞基础呼吸包括线粒体氧化磷酸化和质子漏耗氧,通过监测溶解氧耗氧率以反映细胞能量代谢;第 2 阶段加入寡霉素,寡霉素是有效的 ATP 合酶抑制剂,添加后减少的耗氧率可反映出细胞合成 ATP 的消耗从而间接显示细胞 ATP 合成量;

第 3 阶段加入解偶联剂 FCCP,其造成质子回流而大量耗氧,因 FCCP 形成的质子回流不能生成 ATP,因此增加的耗氧体现为细胞线粒体储备能;第 4 阶段加入鱼藤酮,鱼藤酮作为一种呼吸链抑制剂可以破坏线粒体,完全阻止其耗氧以检测质子漏非线粒体产生的能量。粉防己碱对 MCF-7 细胞进行干预后,其活体细胞能量代谢显著降低且在不同阶段均呈现出显著的下降趋势。通过对线粒体功能与细胞能量代谢分析,发现粉防己碱可以破坏 MCF-7 细胞线粒体功能,显著降低 MCF-7 细胞能量代谢过程,从而抑制肿瘤细胞增殖。粉防己碱可抑制 MCF-7 细胞增殖,其 IC₅₀ 值为 20.13 μmol/L。现代药理学研究表明,粉防己碱可不同程度地对多种肿瘤细胞产生抑制作用,粉防己碱抑制肿瘤细胞增殖的 IC₅₀ 值为 5~10 μmol/L,提示粉防己碱对肿瘤细胞线粒体能量代谢的影响可作为粉防己碱抗肿瘤作用机制的重要研究方向。粉防己碱作为一种具有显著抗肿瘤活性的生物碱类化合物极具研究价值,细胞能量代谢仪在活体细胞能量代谢实时分析领域也表现出优秀的应用能力。本研究为进一步阐明粉防己碱抗肿瘤的作用机制提供科学依据,并为细胞能量代谢分析仪在肿瘤领域的应用提供实例。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Luan F, He X, Zeng N. Tetrandrine: A review of its anticancer potentials, clinical settings, pharmacokinetics and drug delivery systems [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2020, 72(11): 1491-1512.
- [2] 孔晓旭,左红艳,李杨.粉防己碱的药理作用及临床应用研究进展[J].*国际药学研究杂志*,2020,47(7):496-501.
- [3] Wang J, Yao Z Z, Lai X P, et al. Tetrandrine sensitizes nasopharyngeal carcinoma cells to irradiation by inducing autophagy and inhibiting MEK/ERK pathway [J]. *Cancer Med*, 2020, 9(19): 7268-7278.
- [4] N B, Chandrashekar K R, Prabhu A, et al. Tetrandrine isolated from *Cyclea peltata* induces cytotoxicity and apoptosis through ROS and caspase pathways in breast and pancreatic cancer cells [J]. *Vitro Cell Dev Biol Animal*, 2019, 55(5): 331-340.
- [5] 尚雯倩,张艾民,付燕,等.粉防己碱抗肿瘤作用机制的研究进展[J].*现代中西医结合杂志*,2021,30(3):324-328.
- [6] Vaupel P, Schmidberger H, Mayer A. The Warburg effect:

- Essential part of metabolic reprogramming and central contributor to cancer progression [J]. *Int J Radiat Biol*, 2019, 95(7): 912-919.
- [7] Lebelo M T, Joubert A M, Visagie M H. Warburg effect and its role in tumourigenesis [J]. *Arch Pharm Res*, 2019, 42(10): 833-847.
- [8] Martínez-Reyes I, Cardona L R, Kong H, *et al*. Mitochondrial ubiquinol oxidation is necessary for tumour growth [J]. *Nature*, 2020, 585(7824): 288-292.
- [9] 王子恒, 杜宥呈, 陈璐璐, 等. 肿瘤微环境对肿瘤细胞能量代谢调节的研究进展 [J]. *交通医学*, 2020, 34(2): 155-158.
- [10] 庞皓玥, 胡凯文, 周天. 肿瘤能量代谢异常及其中医治疗研究 [J]. *中医肿瘤学杂志*, 2021, 3(1): 29-32.
- [11] 刘戈, 宋关斌. 肿瘤细胞的糖代谢调控与肿瘤治疗 [J]. *生物医学工程学杂志*, 2019, 36(4): 691-695.
- [12] Kim S Y. Targeting cancer energy metabolism: A potential systemic cure for cancer [J]. *Arch Pharm Res*, 2019, 42(2): 140-149.
- [13] Zong W X, Rabinowitz J D, White E. Mitochondria and cancer [J]. *Mol Cell*, 2016, 61(5): 667-676.
- [14] Yadav S, Pandey S K, Kumar A, *et al*. Antitumor and chemosensitizing action of 3-bromopyruvate: Implication of deregulated metabolism [J]. *Chem Biol Interact*, 2017, 270: 73-89.
- [15] Cheng G, Zhang Q, Pan J, *et al*. Targeting Iondamine to mitochondria mitigates lung tumorigenesis and brain metastasis [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2205.
- [16] 汪春龙, 郭苗苗, 吴艺琦, 等. 生物能量分析仪在肿瘤细胞生物能量代谢中的应用研究 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2016, 38(9): 1066-1076.
- [17] Zhang J, Zhang Q. Using seahorse machine to measure OCR and ECAR in cancer cells [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1928: 353-363.

[责任编辑 李亚楠]