

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.05.013

· 基础研究 ·

## $\gamma$ -氨基丁酸抑制结直肠癌细胞增殖及其对化疗的增敏作用

熊瑛,姜婧,张瑶,宋立华(上海交通大学 食品科学与工程系,上海 200240)

**[摘要]** **目的:** 通过体内、体外实验,探讨  $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA)对结直肠癌 SW480、HCT116 细胞的抑制作用及其与化疗联用的增敏作用。**方法:** 采用 CCK-8 方法分析 GABA 及其与抗癌药 5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)或奥沙利铂(Oxaliplatin, OXA)联用对结直肠癌 SW480、HCT116 细胞增殖的影响,流式细胞术分析 GABA 对 SW480、HCT116 细胞周期的影响。通过裸鼠成瘤实验观察移植瘤质量和体积,免疫组化法检测裸鼠肿瘤组织 Ki67 蛋白的表达, TUNEL 染色观察裸鼠结直肠癌细胞的凋亡,体内实验研究 GABA 与 OXA 联用对肿瘤细胞生长的影响。**结果:** 100  $\mu\text{mol/L}$  GABA 可显著抑制结直肠癌 SW480、HCT116 细胞的增殖,其抑制率分别为(37.38  $\pm$  2.62)%、(15.54  $\pm$  1.33)%, GABA 浓度增加至 200  $\mu\text{mol/L}$  时,其抑制作用未见明显增强。GABA 使 SW480、HCT116 细胞 S 期数量分别减少 11.8% 及 10.7%。GABA 与 5-FU 或 OXA 联用组对 SW480 细胞增殖抑制率高于 5-FU 或 OXA 组[(72.76  $\pm$  1.07)% vs (63.82  $\pm$  3.29)% 或 (65.60  $\pm$  1.19)% vs (57.09  $\pm$  1.25)% ,  $q=4.079$  或 4.128,  $P<0.05$ ], 对 HCT116 细胞增殖抑制率也高于单用 5-FU 及 OXA 组[(79.53  $\pm$  1.12)% vs (69.71  $\pm$  0.09)% 或 (73.19  $\pm$  0.07)% vs (64.65  $\pm$  1.99)% ,  $q=4.569$  或 4.561,  $P<0.05$ ]。实验结束时, GABA 与 OXA 联用组小鼠移植瘤质量、体积显著低于对照组和 OXA 组[(0.20  $\pm$  0.016) vs (0.42  $\pm$  0.039)、(0.36  $\pm$  0.030)g 和 (250  $\pm$  27) vs (780  $\pm$  60)、(520  $\pm$  46)mm<sup>3</sup>, 均  $P<0.01$ ]; 抑制 Ki67 蛋白在肿瘤组织的表达、促进肿瘤组织细胞的凋亡。**结论:** GABA 对结直肠癌细胞增殖具有较强的抑制作用,与 5-FU 或 OXA 联用可增强化疗效果。

**[关键词]**  $\gamma$ -氨基丁酸(GABA); 结直肠癌; 增殖; 凋亡; 化疗增敏

**[中图分类号]** R739.5; R730.51; R967

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2016)05-0663-07

## Effects of $\gamma$ -aminobutyric acid on proliferation of colorectal cancer cells and its sensitive effect on chemotherapy

XIONG Ying, JIANG Jing, ZHANG Yao, SONG Lihua( Department of Food Science and Engineering, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China )

**[Abstract]** **Objective:** To explore the inhibition effect of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) on colorectal cancer cells (SW480 and HCT116 lines) and its sensitization activity while combined with chemotherapy. **Methods:** The effects of GABA and its combination with anticancer drugs 5-fluorouracil (5-FU) or oxaliplatin (OXA) on proliferation of colorectal cancer cells (SW480, HCT116) were determined using CCK-8 assay; the effects of GABA on cell cycles of SW480 and HCT116 were analyzed using Flow cytometry assay; the tumor weight and size were investigated in experiment of tumor-bearing nude mice; the expression of Ki67 protein in cancer tissues of the nude mice and the apoptosis of colorectal cancer cells in the nude mice were observed using immunohistochemistry and TUNEL staining assays respectively; the effect of GABA combined with OXA on growth of the tumor cells was observed with experiment *in vivo*. **Results:** GABA (100  $\mu\text{mol/L}$ ) significantly inhibited the proliferation of SW480 and HCT116 cells, their inhibition rates were (37.38  $\pm$  2.62)% and (15.54  $\pm$  1.33)%, respectively. Further increasing of the GABA concentration to 200  $\mu\text{mol/L}$  did not obviously enhance the inhibitory rate. GABA decreased the number of SW480 and HCT116 cells at S phase by 11.8% and 10.7%, respectively. Inhibitory rates of the SW480 cell in GABA combined with 5-FU or OXA groups were higher than those in 5-FU or OXA groups (combined with 5-FU: [72.76  $\pm$  1.07]% vs [63.82  $\pm$  3.29]%,  $q=4.079$ ,  $P<0.05$ ; combined with OXA: [65.60  $\pm$  1.19]% vs [57.09  $\pm$  1.25]%,  $q=4.128$ ,  $P<0.05$ ); inhibitory rates of HCT116 cells in GABA

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(No.81472770)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China(No.81472770)

**[作者简介]** 熊瑛(1991-),女,湖北随州人,硕士,主要从事肿瘤与营养关系的研究, E-mail: xybear@foxmail.com

**[通信作者]** 宋立华(SONG Lihua, corresponding author), E-mail: lihua@sytu.edu.cn

combined with 5-FU or OXA groups were higher than those in 5-FU or OXA alone groups ( combined with 5-FU:  $[ 79.53 \pm 1.12 ]\%$  vs  $[ 69.71 \pm 0.09 ]\%$ ,  $q = 4.569$ ,  $P < 0.05$ ; combined with OXA:  $[ 73.19 \pm 0.07 ]\%$  vs  $[ 64.65 \pm 1.99 ]\%$ ,  $q = 4.561$ ,  $P < 0.05$  ). At end of the experiment, the tumor weight and size of the nude mice in the combined group of GABA and OXA were significantly lower than those in control group and the oxaliplatin alone group ( $[ 0.20 \pm 0.016 ]$  g vs  $[ 0.42 \pm 0.039 ]$  g,  $[ 0.36 \pm 0.030 ]$  g;  $[ 250 \pm 27 ]$  mm<sup>3</sup> vs  $[ 780 \pm 60 ]$  mm<sup>3</sup>,  $[ 520 \pm 46 ]$  mm<sup>3</sup>,  $P < 0.01$  ). The combination of GABA with OXA also significantly inhibited the expression of Ki67 protein in the tumor tissues and promoted apoptosis of the tumor cells in tumor tissues. **Conclusion:** GABA could have strong inhibitory effect on proliferation of the colorectal cancer cells and its combination use with 5-FU or OXA could enhance efficacy of chemotherapy.

[ **Key words** ]  $\gamma$ -aminobutyric acid ( GABA ); colorectal cancer; proliferation; apoptosis; sensitive effect on chemotherapy

[ **Key words** ]  $\gamma$ -aminobutyric acid ( GABA ); colorectal cancer; proliferation; apoptosis; chemosensitization

[ Chin J Cancer Biother, 2016, 23(5): 663-669. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.05.013 ]

结直肠癌是全世界范围内高发的恶性肿瘤,居恶性肿瘤发病率第3位,在所有新发癌症病例中占10%<sup>[14]</sup>,发病率也以每年4.2%的速度增长<sup>[5]</sup>。由于结直肠癌起病隐匿,早期常无明显的临床表现,所以明确诊断时大多数患者已成为中晚期或伴有淋巴结、肝或肺部转移,成为结直肠癌引起死亡的主要原因<sup>[6]</sup>。化疗是治疗中晚期肿瘤的主要手段,5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)和奥沙利铂(Oxaliplatin, OXA)是治疗结直肠癌常用化疗药物,但由于肿瘤存在对化疗药的不敏感性与耐药性及患者个体差异等因素,即使针对特定肿瘤选择经典的化疗方案,也会出现肿瘤未得到有效控制,产生严重不良反应,因而肿瘤细胞对抗肿瘤药物的耐药是导致化疗失败的主要原因之一。因此,寻找一些高效、低毒或无毒的天然活性物质来增加化疗药物的敏感性对结直肠癌的治疗具有积极意义。 $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA)作为新资源食品,具有多种重要的生理功能,如镇静、调节心血管、抗衰老、增强免疫等。体内外研究<sup>[7-10]</sup>发现,GABA可通过抑制肿瘤细胞增殖、调节肿瘤细胞周期及诱导肿瘤细胞凋亡等机制发挥抗癌活性,但GABA与5-FU或OXA联用对结直肠癌的治疗效果如何尚无报道。本研究通过细胞实验和小鼠成瘤实验,探讨GABA单独用药及与化疗药物联合用药对结直肠癌的抑制作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞株及主要试剂

结直肠癌细胞系SW480、HCT116细胞购于中科院上海细胞库。GABA( $\geq 99\%$ , A2129)购于Sigma公司;MyCoy's 5A、DMEM培养基购于上海源培生物科技有限公司;胎牛血清(FBS)购于Gibco公司;细胞增殖-毒性检测试剂盒(CCK-8)购于东仁化

学科技(上海)有限公司;BALB/c裸鼠购于上海斯莱克实验动物有限责任公司;鼠抗人Ki67单克隆抗体工作液购自上海长岛生物技术有限公司;TUNEL试剂盒购于瑞士罗氏公司。

### 1.2 SW480、HCT116细胞的培养

结直肠癌SW480、HCT116细胞分别接种在含10%胎牛血清的DMEM培养基和MyCoy's 5A培养基中,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>细胞培养箱中常规培养,选取对数生长期的细胞进行后续实验。

### 1.3 CCK-8法检测SW480、HCT116细胞的增殖

GABA单用:将100  $\mu$ l SW480、HCT116细胞的单个细胞悬液分别接种于96孔板(1300个/孔)中培养24h后,分别用含0、50、100、200和400  $\mu$ mol/L GABA的培养基孵育细胞,孵育24、48及72h后收集细胞,每孔加入10  $\mu$ l CCK-8,置于培养箱中培养80min,用酶标仪测定在450nm处的光密度(D)。每组设4复孔,实验重复3次。

GABA与化疗药物联用:将SW480及HCT116细胞分别分为6组:阴性对照组(灭菌水)、GABA组(50  $\mu$ mol/L)、5-FU组(SW480 1.0  $\mu$ g/ $\mu$ l, HCT116 1.5  $\mu$ g/ $\mu$ l)、OXA组(0.5  $\mu$ g/ $\mu$ l)及GABA与5-FU联用组(用药浓度同单独用药)、GABA与OXA联用组(用药浓度同单独用药),每组设6复孔,其他步骤同上,实验重复3次。

### 1.4 流式细胞术检测SW480、HCT116细胞的周期

将SW480、HCT116细胞分别接种于10cm培养皿中,分别用100  $\mu$ mol/L GABA处理72h,阴性对照组不加GABA。用胰酶消化细胞,并用预冷的PBS洗2遍,再用预冷的70%乙醇固定并4℃过夜。接着,用预冷的PBS洗一遍,加入PI/RNase染色缓冲液,500  $\mu$ l/次( $1 \times 10^6$ 个细胞),室温下避光15min。最后用流式细胞术检测细胞周期分布情况。

### 1.5 癌荷瘤小鼠肿瘤动物模型的建立

将 15 只 4 周 (20 ± 2) g 的 BALB/c 裸鼠按照数字表法随机分为阴性对照组、OXA 组、GABA 与 OXA 联用 3 组。先取对数生长期的 SW480 细胞,于裸鼠背部右侧皮下接种 (4 × 10<sup>6</sup> 个/只),之后给予药物干预,其中阴性对照组荷瘤小鼠每日给予灭菌水,单药组给予 OXA (4 mg/kg, 1 次/4 d),联合用药组给予 GABA (2 mg/g, 1 次/2 d) 和 OXA (4 mg/kg, 1 次/4 d)。3 组给药方式均为腹腔内注射。每日观察小鼠的饮食、活动及肿瘤生长情况。游标卡尺测量瘤体的长径 (A) 和短径 (B), 测量 1 次/4 d, 计算肿瘤的体积:  $V(\text{mm}^3) = A \times B^2 \pi / 6$ 。28 d 后处死动物,完整剥离肿瘤,称取肿瘤质量,并进行后续实验。

### 1.6 免疫组化法检测结直肠癌细胞 Ki67 蛋白表达

取裸鼠肿瘤组织蜡块连续切片,切片厚度 4  $\mu\text{m}$ ,脱蜡、水化,加 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液,室温下孵育 10 min,以阻断内源性过氧化物酶,PBS 冲洗,用 EDTA (pH = 8) 高温高压修复抗原。滴加鼠抗人 Ki67 单克隆抗体工作液,37  $^{\circ}\text{C}$  水浴箱内孵育 1 h, PBS 冲洗,加 EnVision™ 二抗,37  $^{\circ}\text{C}$  水浴箱内孵育 30 min, PBS 冲洗,加新配制的 DAB 显色液,显微镜下观察,阳性显色为棕黄色。按常规制片。由病理科医师盲法独立阅片,根据细胞核染色为淡黄至棕黄色定义为 Ki67 阳性细胞,随机选择 10 个,于 400 倍镜视野进行计数,每个视野计数 500 个细胞,计算 Ki67 阳性细胞数占总细胞数的百分数。

### 1.7 TUNEL 法检测 SW480、HCT116 细胞的凋亡

制备石蜡切片,脱蜡至水;用 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的甲醇

液室温下封闭 5 min, PBS 洗 2 次, 10 min/次; 蛋白酶 K 处理, 湿盒中 37  $^{\circ}\text{C}$  避光孵育 30 min; 加 TUNEL 反应液, 湿盒中 37  $^{\circ}\text{C}$  避光孵育 1 h。切片用 PBS 漂洗 3 次, 10 min/次; 阴性对照组 TUNEL 反应液中不加 TdT; 加入含 HRP 的二抗, 放入湿盒中, 37  $^{\circ}\text{C}$  避光孵育 30 min, 用 PBS 漂洗 3 次, 5 min/次; DAB 显色液, 显色 5 ~ 10 min, PBS 漂洗 3 次, 5 min/次; 常规复染制片; 选取 5 个非重叠 400 × 镜视野观察, 计算凋亡细胞数。

### 1.8 统计学处理

所有统计资料均采用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析。计量资料  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间比较采用独立样本 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 GABA 抑制 SW480、HCT116 细胞的增殖

CCK-8 细胞增殖实验结果 (图 1) 显示, 与阴性对照组比较, 细胞处理 72 h 后, 100  $\mu\text{mol/L}$  GABA 可显著抑制结直肠癌 SW480 细胞 [ (0.77 ± 0.08) vs (1.11 ± 0.16),  $q = 5.138, P < 0.01$  ] 及 HCT116 细胞 [ (1.50 ± 0.02) vs (1.67 ± 0.12),  $q = 3.223, P < 0.05$  ] 的增殖; 100  $\mu\text{mol/L}$  GABA 对 SW480 及 HCT116 细胞增殖抑制率分别为 (37.38 ± 2.62)%、(15.54 ± 1.33)%; 继续增加 GABA 浓度至 200  $\mu\text{mol/L}$  及 400  $\mu\text{mol/L}$  时, 对上述两种细胞增殖抑制率未见明显增强。由此表明, 100  $\mu\text{mol/L}$  GABA 即可显著抑制 SW480、HCT116 细胞的增殖。

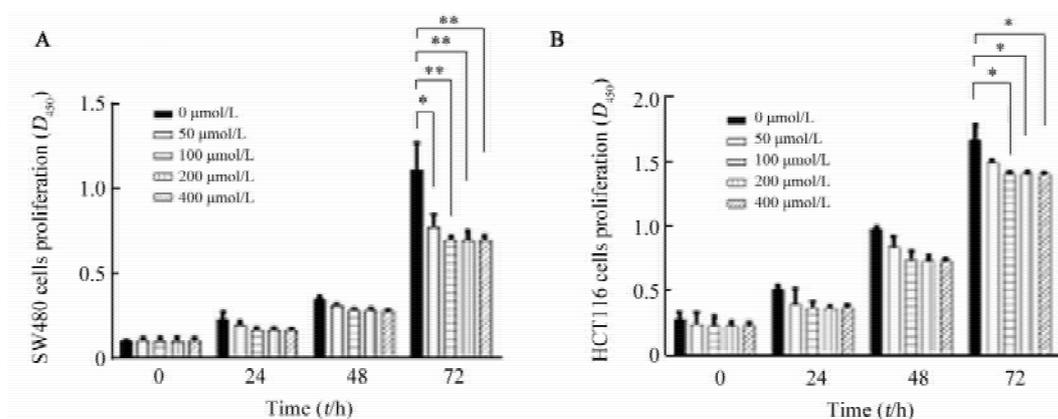


图 1 GABA 对结直肠癌 SW480、HCT116 细胞增殖的抑制作用

Fig. 1 Inhibitory effect of GABA on the proliferation of SW480 and HCT116 cells

A: SW480 cells; B: HCT116 cells

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs 0  $\mu\text{mol/L}$  group

### 2.2 GABA 对 SW480、HCT116 细胞周期的影响

流式细胞术检测 100 μmol/L GABA 处理组细胞结果(图2)显示,SW480 细胞和 HCT116 细胞的周期分布均发生改变,其中 SW480 细胞的 S 期数量

减少 11.8%,HCT116 细胞的 S 期数量减少 10.7%。S 期是 DNA 合成期,此期细胞的减少表明 DNA 合成受阻,即细胞的生长受到了抑制。

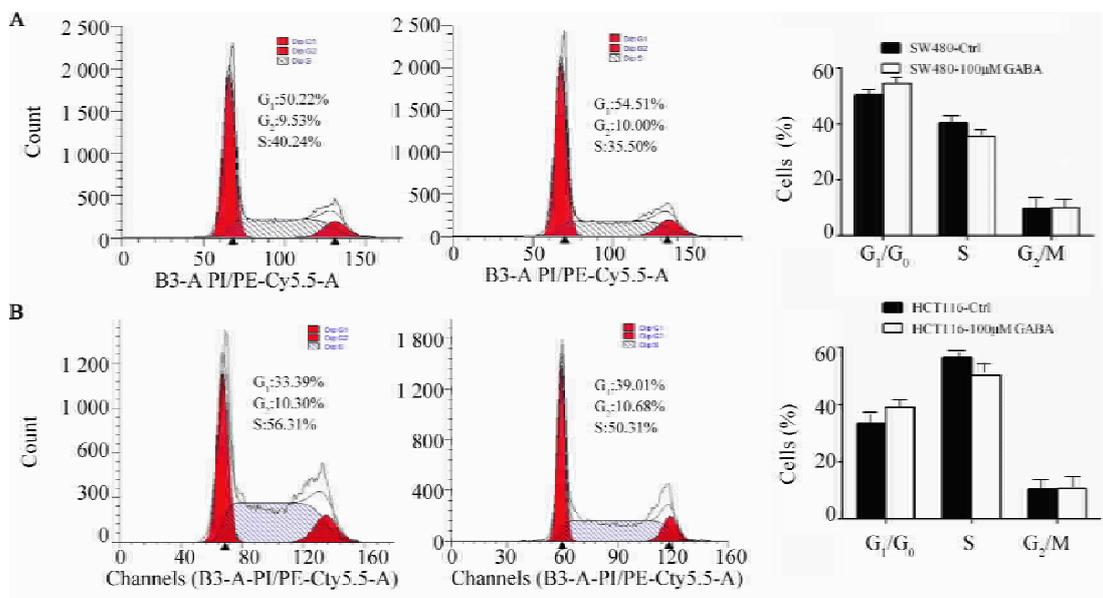


图2 GABA(100 μmol/L)对SW480及HCT116细胞周期分布的影响

Fig. 2 Effect of GABA(100 μmol/L) on cell cycle distribution of SW480 and HCT116 cells

A: SW480 cells; B: HCT116 cells

### 2.3 GABA 增强 SW480、HCT116 细胞对 5-FU 或 OXA 的敏感性

CCK-8 法检测 GABA 与临床常用化疗药联用结果(图3)显示,48 h 时,5-FU 或 OXA 对 SW480 细胞 [(0.25 ± 0.03) vs (0.69 ± 0.06)] 或 [(0.30 ± 0.02) vs (0.69 ± 0.06)],  $q = 21.53$  或  $22.60$ ,  $P < 0.01$  和 HCT116 细胞 [D 值 (0.19 ± 0.02) vs (0.63 ± 0.02)] 或 [(0.21 ± 0.03) vs (0.63 ± 0.02)],  $q = 27.17$  或  $23.76$ ,  $P < 0.01$  细胞的生长具有显著抑制作用,相同用药浓度条件下 HCT116 细胞对 OXA 的敏感性较 SW480 细胞更强。GABA 与 5-FU 或 OXA 联用组疗效均优于单药组:5-FU 或 OXA 与 GABA 联用组对 SW480 细胞增殖抑制率高于单用 5-FU 或 OXA 组 [(72.76 ± 1.07)% vs (63.82 ± 3.29)% 或 (65.60 ± 1.19)% vs (57.09 ± 1.25)%],  $q = 4.079$  或  $4.128$ ,  $P < 0.05$ ; 5-FU 或 OXA 与 GABA 联用组对 HCT116 细胞增殖抑制率高于单用 5-FU 及 OXA 组 [(79.53 ± 1.12)% vs (69.71 ± 0.09)% 或 (73.19 ± 0.07)% vs (64.65 ± 1.99)%],  $q = 4.569$  或  $4.561$ ,  $P < 0.05$ 。结果表明,GABA 与 5-FU 或 OXA 联用后对结直肠癌细胞增殖具有一定的协同

抑制作用,对 HCT116 细胞抑制作用更为明显。

### 2.4 GABA 抑制 SW480 细胞裸鼠体内成瘤

图4A显示,GABA与OXA联用组及OXA组小鼠肿瘤质量和体积均明显小于对照组,并且GABA与OXA联用组肿瘤明显小于OXA组。实验结束时,GABA与OXA联用组小鼠肿瘤质量、体积明显小于对照组和OXA组 [(0.20 ± 0.016)g vs (0.42 ± 0.039)g、(0.36 ± 0.030)g],  $q = 0.002$  或  $0.009$  和 (250 ± 27)mm<sup>3</sup> vs (780 ± 60)mm<sup>3</sup>、(520 ± 46)mm<sup>3</sup>,  $q = 0.004$  或  $0.008$ , 均  $P < 0.01$ 。从图4B中看出,随着药物干预时间的延长,药物对肿瘤生长的抑制作用逐渐增强,尤其是联用组,药物注射第16天后,裸鼠肿瘤的生长速率明显减缓,抑制作用增强。

免疫组化法检测结果(图4C左图)显示,Ki67蛋白表达于细胞核,呈现棕黄色颗粒为阳性表达。OXA组肿瘤组织中Ki67阳性表达率显著低于对照组 [(54 ± 6.1)% vs (82 ± 9.3)%],  $P < 0.05$ ; OXA与GABA联用组Ki67阳性表达率显著低于OXA组 [(18 ± 2.3)% vs (54 ± 6.1)%],  $q = 0.002$ ,  $P < 0.01$ 。

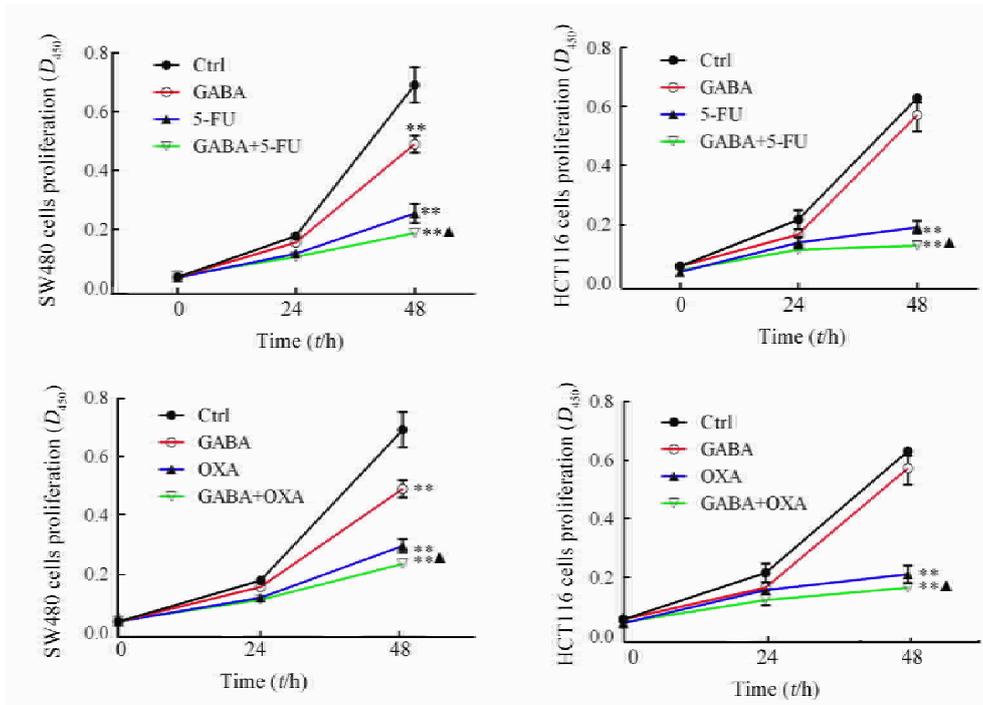


图3 GABA与5-FU或OXA联用对结肠癌细胞增殖的抑制作用

Fig. 3 Synergistic inhibitory effect of GABA combined with 5-FU or OXA on cell proliferation

SW480 cells: 50  $\mu$ mol/L GABA, 1.0  $\mu$ g/ml 5-FU, 0.5  $\mu$ g/ml OXA;

HCT116 cells: 50  $\mu$ mol/L GABA, 1.5  $\mu$ g/ml 5-FU, 0.5  $\mu$ g/ml OXA Ctrl

\*\*  $P < 0.01$  vs Ctrl group;  $\blacktriangle P < 0.05$  vs 5-FU or OXA group

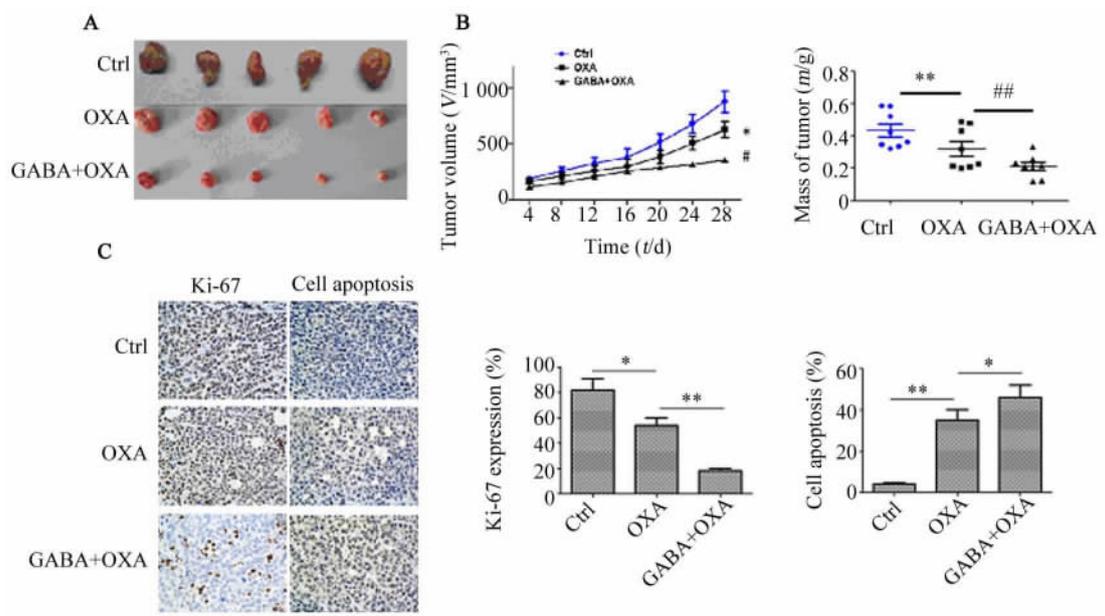


图4 GABA对SW480细胞裸鼠体内成瘤能力的影响

Fig. 4 Effects of GABA on the tumorigenesis ability of SW480 cells in nude mice

A: Tumors separated from nude mice; B: Volume and mass of tumors;

C: Ki67 protein expression (Left) and cell apoptosis detected by TUNEL assay (right)

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs Ctrl group; #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$  vs OXA group

TUNEL 法检测结果(图 4C 右图)显示, OXA 组、GABA 与 OXA 联用组小鼠肿瘤组织出现大量的深棕色凋亡细胞, 凋亡细胞阳性率明显高于对照组 [分别为  $(35 \pm 5.0)\%$ 、 $(46 \pm 5.2)\%$  vs  $(4.0 \pm 1.1)\%$ ;  $q = 0.012, 0.018, P < 0.05$ ]。结果表明, OXA 能够抑制移植瘤细胞的增殖并促进其凋亡, 与 GABA 联用后可进一步增强 OXA 对肿瘤细胞增殖抑制作用及其促凋亡作用, 证明 GABA 与 OXA 联用可以增强结直肠癌细胞对 OXA 的敏感性。

### 3 讨论

化疗作为结直肠癌治疗的主要手段, 其作用在于控制或消除对患者威胁最大的转移病灶。因此, 化疗药物能否有效杀伤(死)肿瘤细胞是决定疗效的关键因素。尽管结直肠癌治疗方案在不断改进, 但肿瘤的耐药性及化疗药物的毒副作用一直是该病治疗难以突破的瓶颈, 也是患者治疗失败、复发转移的重要原因之一。据美国癌症协会估计, 90% 以上肿瘤患者的死亡在不同程度上受到耐药的影响, 因此, 临床上迫切需要高效、低毒或无毒的抗癌活性成分辅助化疗以增强结直肠癌细胞对化疗药物的敏感性, 以改善疗效、减轻较高剂量的化疗药物所产生的毒副作用。

研究<sup>[11-14]</sup>表明, 一些天然活性物质包括生物碱类、植物多酚类、黄酮类及植物多糖等与化疗药物联用可显著改善治疗效果。其中, 部分体外实验研究结果表明, 灵芝多糖<sup>[15]</sup>、金雀异黄素<sup>[16]</sup>联合 5-FU 能协同抑制结直肠癌细胞的增殖, 并促进其凋亡; 此外, 经常食用富含 DHA 的食品, 如深海鱼油等, 也能增强人结直肠癌细胞对化疗药物的敏感性<sup>[17]</sup>, 降低化疗给患者带来的毒副作用; 体内外实验研究<sup>[18-19]</sup>发现, 姜黄素能增强结直肠癌细胞对 OXA 的敏感性, 姜黄素与 OXA 联用对裸鼠移植瘤的生长也有明显的抑制作用。上述研究结果提示, 天然活性物质在辅助化疗、减轻化疗毒副作用等方面可发挥较好的作用。但是很多天然物质来源有限, 价格较贵, 如灵芝多糖需从名贵中药灵芝中提取。与上述活性成分相比, GABA 更易获得, 其可从米糠、茶、乳酸菌及酵母等食品、饮料或加工废弃物中获得, 来源广泛, 2009 年, 国家卫计委已批准 GABA 为新资源食品。

GABA 是一种哺乳动物中枢神经系统重要的抑制性神经递质, 其通过与不同类型的 GABA 受体结合对机体多种功能发挥调节作用。近年来肿瘤生物学研究发现, GABA 及其受体还广泛存在于外周组织, 参与细胞间的信息传递, 与细胞的分化和成熟密

切相关。此外, GABA 及其受体还可通过特定的信号转导通路影响某些肿瘤的增殖和侵袭、转移等恶性潜能<sup>[20]</sup>, 通过刺激膜受体介导的信号级联, 参与肿瘤生长、侵袭和转移调控<sup>[21-22]</sup>。研究<sup>[23]</sup>发现, 内源性 GABA 及其受体在 SGC-7901 胃癌细胞中的表达可能促进细胞增殖, 扰乱细胞周期进程, 促使细胞分裂; 另有研究<sup>[24]</sup>发现, 不同浓度的外源性 GABA ( $20 \sim 320 \mu\text{mol/L}$ ) 可能通过受体后信号介导促进胰腺癌 SW1990 细胞的生长; 但有研究<sup>[25]</sup>发现, GABA 可通过调节 c-AMP 依赖型蛋白激酶 A/细胞外信号-调节激酶 1/2 途径抑制胆管癌细胞的生长; Joseph 等<sup>[26]</sup>发现, GABA 可通过 G 蛋白偶联受体和降低细胞内 cAMP 浓度抑制结直肠癌 SW480 细胞的迁移; 但目前关于 GABA 对结直肠癌的作用及其与化疗药物联用对肿瘤的作用效果如何报道不多。

本研究首先研究了单独使用 GABA 对结直肠癌 SW480 及 HCT116 细胞生长、增殖的抑制作用, 结果表明 GABA 通过影响细胞周期分布, 显著抑制结直肠癌细胞的增殖; 进一步将 GABA 与化疗药物 5-FU 或 OXA 联用, 发现其对细胞增殖的抑制作用优于单独使用化疗药物; 裸鼠皮下移植瘤动物模型研究结果表明, GABA 与化疗药物联用可显著抑制裸鼠皮下肿瘤的生长并促进细胞凋亡, 提示可通过将其与化疗药物联用, 降低化疗药物的剂量, 从而减轻化疗药物的毒副作用, GABA 在结直肠癌化疗增敏方面可能发挥重要的作用。本研究结果一方面提示结直肠癌化疗患者可通过膳食合理补充一定量的 GABA 以增强化疗效果, 从而可适当减少化疗药物的剂量, 减轻化疗的毒副作用。另一方面进一步表明癌细胞迁移可能会受神经生物学信号的调控, 为肿瘤治疗提供了新的理论依据。但 GABA 具体是通过何种途径发挥化疗协同作用, 其对其他肿瘤的疗效如何等尚需进一步研究。此外, 结直肠癌化疗患者食用富含 GABA 的食物对化疗效果影响的如何尚需要进一步实验研究。

### [参考文献]

- [1] MCHUGH S M, O'DONNELL J, GILLOEN P. Genomic and onco-proteomic advances in detection and treatment of colorectal cancer [J/OL]. World J Surg Oncol, 2009, 7:36[2016-06-15]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2667518/>. DOI: 10.1186/1477-7819-7-36.
- [2] JEMAL A, TIWARI R C, MURRAY T, et al. Cancer statistics, 2004 [J]. CA Cancer J Clin, 2004, 54(1): 8-29. DOI: 10.3322/canjclin.54.1.8.
- [3] JEMAL A, SIEGEL R, XU J, et al. Cancer statistics, 2010 [J].

- CA Cancer J Clin, 2010, 60(5): 277-300. DOI: 10.3322/caac.20073.
- [4] JEMAL A, BRAY F, CENTER M M, et al. Global cancer statistics [J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90. DOI: 10.3322/caac.20107.
- [5] WAN D S. Epidemiologic trend of and strategies for colorectal cancer [J]. Chin J Cancer, 2009, 28(9): 897-902. DOI: 10.5732/cjc.008.10833.
- [6] CONTI J, THOMAS G. The role of tumor stroma in colorectal cancer invasion and metastasis [J]. Cancers (Basel), 2011, 3(2): 2160-2168. DOI: 10.3390/cancers3022160.
- [7] CHEN Z A, BAO M Y, XU Y F, et al. Suppression of human liver cancer cell migration and invasion via the GABA receptor [J]. Cancer Biol Med, 2012, 9(2): 90-98. DOI: 10.3969/j.issn.2095-3941.2012.02.002.
- [8] AL-WADEI H A, PLUMMER H K 3rd, ULLAH M F, et al. Social stress promotes and gamma-aminobutyric acid inhibits tumor growth in mouse models of non-small cell lung cancer [J]. Cancer Prev Res (Phila), 2012, 5(2): 189-196. DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-11-0177.
- [9] AL-WADEI H A, PLUMMER H K 3rd, SCHULLER H M. Nicotine stimulates pancreatic cancer xenografts by systemic increase in stress neurotransmitters and suppression of the inhibitory neurotransmitter gamma-aminobutyric acid [J]. Carcinogenesis, 2009, 30(3): 506-511. DOI: 10.1093/carcin/bgp010.
- [10] 刘臣海. 抑制性神经递质— $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)对胆管癌细胞株 QBC939 增殖、侵袭转移的影响及其相关机制的研究 [D]. 安徽医科大学, 2008.
- [11] CHEN Z F, MAO L, LIU L M, et al. Potential new inorganic anti-tumor agents from combining the anticancer traditional Chinese medicine (TCM) matrine with Ga (III), Au (III), Sn (IV) ions, and DNA binding studies [J]. J Inorg Biochem, 2011, 105(2): 171-180. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2010.10.007.
- [12] MARTINOTTI S, RANZATO E, PARODI M, et al. Combination of ascorbate/epigallocatechin-3-gallate/gemcitabine synergistically induces cell cycle deregulation and apoptosis in mesothelioma cells [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2014, 274(1): 35-41. DOI: 10.1016/j.taap.2013.10.025.
- [13] SUZUKI R, KANG Y, LI X, et al. Genistein potentiates the anti-tumor effect of 5-Fluorouracil by inducing apoptosis and autophagy in human pancreatic cancer cells [J/OL]. Anticancer Res, 2014, 34(9): 4685-4692 [2016-06-20]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4240628/>. PMID: PMC4240628.
- [14] ZHOU X, WANG W, LI P, et al. Curcumin enhances the effects of 5-fluorouracil and oxaliplatin in inducing gastric cancer cell apoptosis both in vitro and in vivo [J]. Oncol Res, 2016, 23(1/2): 29-34. DOI: 10.3727/096504015X14452563486011.
- [15] 易有金, 郭雨桐, 王仁才, 等. 灵芝多糖联合 5-FU 对人结肠癌 HCT-116 细胞增殖及凋亡的影响 [J]. 食品科学, 2012, 33(19): 310-314.
- [16] 凌航, 陈裕庆, 高美钦, 等. Genistein 联合 5-FU 对人结肠癌细胞株 SW480 增殖与凋亡的影响 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2010, (12): 912-915. DOI: 10.16073/j.cnki.cjpt.2010.12.013.
- [17] SKENDER B, VACULOVA A H, HOFMANOVA J. Docosahexaenoic fatty acid (DHA) in the regulation of colon cell growth and cell death: a review [J]. Biomedical Papers, 2012, 156(3): 186-199. DOI: 10.5507/bp.2012.093.
- [18] PATEL B B, SENGUPTA R, QAZI S, et al. Curcumin enhances the effects of 5-fluorouracil and oxaliplatin in mediating growth inhibition of colon cancer cells by modulating EGFR and IGF-1R [J]. Int J Cancer, 2008, 122(2): 267-273. DOI: 10.1002/ijc.23097.
- [19] 郭立达. 姜黄素联合奥沙利铂抗结肠癌作用及其相关机制研究 [D]. 河北师范大学, 2012.
- [20] BANERJEE J, JOHN A M, AL-WADEI H M, et al. Prevention of pancreatic cancer in a hamster model by cAMP decrease [J/OL]. Oncotarget, 2016, 2016 (Epub ahead of print) [2016-06-20]. [http://www.impactjournals.com/oncotarget/index.php?journal=oncotarget&page=article&op=view&path\[\]=9790&pubmed-linkout=1](http://www.impactjournals.com/oncotarget/index.php?journal=oncotarget&page=article&op=view&path[]=9790&pubmed-linkout=1). DOI: 10.18632/oncotarget.9790.
- [21] SHU Q, LIU J, LIU X, et al. GABA B R/GSK-3  $\beta$ /NF- $\kappa$ B signaling pathway regulates the proliferation of colorectal cancer cells [J]. Cancer Med, 2016, 5(6): 1259-1267. DOI: 10.1002/cam4.686.
- [22] 缪宇锋, 汪芳裕, 陈龙邦.  $\gamma$ -氨基丁酸及其受体与肿瘤增殖和侵袭的关系 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2009, 16(1): 93-96. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2009.01.021.
- [23] 史良会, 张才全.  $\gamma$ -氨基丁酸及其 A 型受体在胃癌 SGC-7901 细胞的表达及对细胞增殖的影响 [J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(20): 2132-2135. DOI: 10.16016/j.1000-5404.2011.20.027.
- [24] 王莹, 余胜利, 刘军权, 等. GABA 对胰腺癌细胞株 SW1990 生长的影响 [J]. 世界华人消化杂志, 2006, 14(23): 2337-2339. DOI: 10.3969/j.issn.1009-3079.2006.23.016.
- [25] FAVA G, MARUCCI L, GLASER S, et al. Gamma-aminobutyric acid inhibits cholangiocarcinoma growth by cyclic AMP-dependent regulation of the protein kinase A/extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway [J]. Cancer Res, 2005, 65(24): 11437-11446. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1470.
- [26] JOSEPH J, NIGGEMANN B, ZAENKER K S, et al. The neurotransmitter gamma-aminobutyric acid is an inhibitory regulator for the migration of SW 480 coloncarcinoma cells [J/OL]. Cancer Res, 2002, 62(22): 6467-6469 [2016-06-20]. <http://cancerres.aacrjournals.org/content/62/22/6467.long>. PMID: 12438237.

[ 收稿日期 ] 2016 - 04 - 26

[ 修回日期 ] 2016 - 08 - 20

[ 本文编辑 ] 党瑞山