

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.01.005

· 基础研究 ·

## 二氯乙酸钠联合顺铂对胃癌细胞的抑制作用

刘小军<sup>1</sup>,刘敏<sup>2</sup>,段玲<sup>1</sup>,张涛<sup>1</sup>,乔慧<sup>1</sup>,赵达<sup>1</sup>(1. 兰州大学第一医院 肿瘤内科,甘肃 兰州 730000;2. 兰州大学第一医院 消化科,甘肃 兰州 730000)

**[摘要]** **目的:** 研究丙酮酸脱氢酶激酶抑制剂二氯乙酸钠(sodium dichloroacetate, DCA)对胃癌细胞的体外抗肿瘤效应。**方法:** 使用不同浓度的DCA分别干预处理体外培养的胃癌SGC-7901和BGC-823细胞24 h, MTT法检测胃癌细胞存活率,中位效应法观察DCA联合顺铂(cisplatin, DDP)干预的协同效应, Transwell小室实验检测胃癌细胞的侵袭性,流式细胞术双染法检测细胞的早期凋亡率。**结果:** DCA(20、40、60、80和100 mmol/L)以浓度依赖方式显著抑制胃癌SGC-7901和BGC-823细胞增殖,24 h的IC<sub>50</sub>值分别为60.9 mmol/L和53.8 mmol/L;较小剂量(20、40 mmol/L)DCA和DDP(5、10 μmol/L)联合干预SGC-7901和BGC-823细胞的联合指数值均<1,提示两者具有协同抑制胃癌细胞增殖的效应。与对照组相比,DCA(60、80、100 mmol/L)组SGC-7901细胞穿膜数目显著降低[(99.3±11.7)、(55.7±6.0)、(38.3±6.7)]vs(182.7±17.3)个,均P<0.05;同样浓度组的BGC-823穿膜细胞数目也显著降低[(88.7±8.3)、(49.0±5.7)、(42.3±6.7)]vs(170.7±15.0)个,均P<0.05。与对照组相比,DCA(60、80、100 mmol/L)组SGC-7901细胞的早期凋亡率显著增加[(31.7±5.2)%、(35.0±5.4)%、(37.8±6.2)% vs(8.1±1.3)%],均P<0.05;BGC-823细胞的早期凋亡率也显著增加[(24.2±4.6)%、(31.9±4.2)%、(40.4±5.7)% vs(6.6±1.4)%],均P<0.05。**结论:** DCA明显抑制体外培养胃癌细胞的增殖,并可与化疗药物产生协同效应;DCA可抑制胃癌细胞的侵袭及诱导胃癌细胞凋亡;靶向丙酮酸脱氢酶激酶有望成为未来胃癌治疗新的方法。

**[关键词]** 胃癌;二氯乙酸钠;顺铂;增殖;凋亡;侵袭

**[中图分类号]** R735.2; R730.54

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2016)01-0030-06

## Inhibitory effects of sodium dichloroacetate combined with cisplatin on gastric cancer cells

LIU Xiaojun<sup>1</sup>, LIU Min<sup>2</sup>, DUAN Ling<sup>1</sup>, ZHANG Tao<sup>1</sup>, QIAO Hui<sup>1</sup>, ZHAO Da<sup>1</sup>(1. Department of Medical Oncology, the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu, China; 2. Department of Gastroenterology, the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the anti-tumor effect of dichloroacetate (DCA), an inhibitor of pyruvate dehydrogenase kinase, on gastric cancer cells *in vitro*. **Methods:** Gastric cancer cell SGC-7901 and BGC-823 lines cultured *in vitro* were treated respectively by different concentrations of DCA for 24 h. Viability rates of the gastric cancer cells were evaluated by MTT assay. The synergistic effect of DCA combined with cisplatin (DDP) on the gastric cancer cells was analyzed with the median effect principle. Invasive ability of the gastric cancer cells were then evaluated by Transwell assay. Their apoptotic rates were measured by double staining flow cytometry. **Results:** DCA (20, 40, 60, 80 and 100 mmol/L) remarkably reduced survival rates of the gastric cancer cells (SGC-7901 and BGC-823) in a concentration-dependent manner. The IC<sub>50</sub> of DCA for 24 h in SGC-7901 and BGC-823 cells were 60.9 mmol/L and 53.8 mmol/L, respectively. Small-concentrations of DCA (20, 40 mmol/L) in combination with DDP (5, 10 μmol/L) synergistically reduced cell viability in the gastric cancer cells, their combination index was less than 1 both. Compared to control group, the number of invaded SGC-7901 cells in 60, 80 and 100 mmol/L DCA groups significantly decreased ([99.3±11.7], [55.7±6.0] and [38.3±6.7] vs [182.7±17.3], P<0.05); the number of invaded BGC-823 cells in the same concentra-

**[基金项目]** 甘肃省自然科学基金资助项目(No. 145RJZA036);兰州大学第一医院院内基金资助项目(No. ldyynjx201112)。Project supported by the Natural Science Foundation of Gansu (No. 145RJZA036), and the Foundation of the First Hospital of Lanzhou University(No. ldyynjx201112)

**[作者简介]** 刘小军(1976-),男,甘肃省通渭县人,博士,副主任医师,主要从事胃癌的分子靶向治疗研究, E-mail: lxjmail2008@126.com

**[通信作者]** 赵达(ZHAO Dao, corresponding author), E-mail: zhaodamail@126.com

tions of DCA groups also significantly decreased ( $[88.7 \pm 8.3]$ ,  $[49.0 \pm 5.7]$  and  $[42.3 \pm 6.7]$  vs  $[170.7 \pm 15.0]$ ,  $P < 0.05$ ). In addition, the early apoptotic rates of the SGC-7901 cells in 60, 80 and 100 mmol/L DCA groups significantly increased ( $[31.7 \pm 5.2]\%$ ,  $[35.0 \pm 5.4]\%$ ,  $[37.8 \pm 6.2]\%$  vs  $[8.1 \pm 1.3]\%$ ,  $P < 0.05$ , compared to control group); while the early apoptotic rates of the BGC-823 cells in the same concentrations of DCA groups also significantly increased ( $[24.6 \pm 4.6]\%$ ,  $[31.9 \pm 4.2]\%$ ,  $[40.4 \pm 5.7]\%$  vs  $[6.6 \pm 1.4]\%$ ,  $P < 0.05$ , compared to control group). **Conclusion:** DCA can obviously inhibit survival of gastric cancer cells cultured *in vitro*, and produce a synergistic effect with chemotherapeutic agents. DCA can inhibit invasiveness of gastric cancer cells and induce their apoptosis. Targeting pyruvate dehydrogenase kinase may be a novel therapeutic method of gastric carcinoma in future.

[ **Key words** ] gastric cancer; dichloroacetate (DCA); cisplatin; proliferation; apoptosis; invasion

[ Chin J Cancer Biother, 2016, 23(1): 30-35. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.01.005 ]

胃癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一。多年来,我国的胃癌发病率仍然居高不下<sup>[1]</sup>。绝大多数胃癌患者在就诊时处于晚期阶段,化疗成为最重要的治疗手段。以氟尿嘧啶及铂类为基础的联合化疗一直是胃癌的标准一线化疗方案。胃癌的预后欠佳,亟需新型治疗药物的问世<sup>[2]</sup>。二氯乙酸钠(sodium dichloroacetate, DCA)是丙酮酸脱氢酶激酶(pyruvate dehydrogenase kinase, PDK)的抑制剂,DCA可抑制线粒体中PDK的活性,间接增加的丙酮酸脱氢酶(pyruvate dehydrogenase, PDH)的活性<sup>[3]</sup>。既往DCA被用于治疗一些遗传性、代谢性线粒体疾病,如先天性乳酸性酸中毒等。DCA激活PDH后三羧酸循环增加,细胞氧含量增加,化疗药物敏感性增加。氧化磷酸化的增加导致细胞相对缺氧,因此可诱导癌细胞凋亡<sup>[4-6]</sup>。目前,DCA治疗胃癌的价值和可能的作用机制尚未完全明确。本研究探索DCA对体外培养胃癌细胞的治疗干预作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞株与主要试剂

人胃癌SGC-7901和BGC-823细胞由兰州大学第一医院中心实验室馈赠,在含10%胎牛血清、100 U/ml青霉素及100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 链霉素的DMEM培养基中,置37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ 条件下饱和湿度培养。DMEM细胞培养基购自Gibco公司;DCA购自Sigma-Aldrich公司(工作浓度为20~100 mmol/L);DDP(cisplatin, DDP)购自山东齐鲁制药厂(工作浓度为5~25  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ),噻唑兰(MTT)购自江苏碧云天生物技术有限公司,Transwell小室购自美国Millipore公司,Matrigel胶为美国BD公司产品,Annexin-V-FITC/PI双染法检测试剂盒购自美国Invitrogen公司。

### 1.2 MTT法检测DCA和DDP处理对胃癌细胞增

殖的影响

使用96孔细胞板,每孔分别加入大约 $5 \times 10^4$ 胃癌SGC-7901和BGC-823细胞,悬浮于200  $\mu\text{l}$  DMEM培养基中,每组设立3个复孔,过夜,次日加入不同浓度的DCA溶液,使其终浓度分别为20、40、60、80、100 mmol/L,并设立对照组(仅加入PBS溶液)。孵育24 h后,每孔加入20  $\mu\text{l}$  0.5% MTT溶液,继续孵育4 h后吸取上清液,加入二甲基亚砜150  $\mu\text{l}$ ,低速震荡10 min。酶联免疫检测仪检测540 nm处光密度( $D$ )值。分别计算DCA干预处理24 h后胃癌细胞增殖率和半数抑制浓度( $\text{IC}_{50}$ )。用同法分别检测DDP以及DCA联合DDP对上述两株细胞增殖率的影响。DDP的终浓度分别为5、10、15、20、25  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ,对照组仅加入PBS溶液。绘制浓度-增殖率曲线。细胞增殖率( $\%$ ) = (加药组 $D$ 值/对照组 $D$ 值)  $\times 100\%$ 。

### 1.3 中位效应法分析DCA及DDP联合处理对胃癌细胞增殖的影响

采用中位效应法<sup>[7]</sup>结合上述MTT法分析DCA和DDP药物处理对胃癌细胞增殖的协同作用。联合指数(combination index, CI)  $> 1$ 、 $= 1$ 及 $< 1$ 分别代表拮抗作用、相加作用和协同作用。DCA和DDP两药比例分别采用固定比例和非固定比例进行检测。

首先检测固定比例的DCA和DDP对胃癌细胞的联合效应。DCA的终浓度分别为20、40、60、80和100 mmol/L,DDP的对应终浓度分别采用5、10、15、20和25  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ,两者的浓度比为4:1,分别单独或联合干预处理胃癌细胞24 h。

然后检测非固定比例的DCA和DDP对胃癌细胞的联合效应,DCA的终浓度分别为20、40和60 mmol/L,DDP的对应终浓度分别为5和10  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ,两者以非固定比例联合干预处理胃癌细胞24 h。各组细胞的增殖率由MTT法检测,CI由CalcuSyn 2.0软件自动计算。

#### 1.4 Transwell 小室法检测 DCA 处理对胃癌细胞侵袭性的影响

应用 Transwell 法, 使用终浓度为 20、40、60、80 和 100 mmol/L 的 DCA 溶液分别单独干预 SGC-7901 和 BGC-823 细胞 24 h, 分析其对细胞侵袭性的影响。将 Transwell 小室置于 24 孔板中, 将稀释后的 Matrigel 胶加入上室中。上室底部铺有 8  $\mu\text{m}$  孔径的聚碳酸酯膜; 重悬 SGC-7901 细胞, 上室每孔加入  $2 \times 10^5$  个胃癌细胞, 重悬于 250  $\mu\text{l}$  DMEM 无血清培养基中; 上室加入不同浓度的 DCA 溶液(终浓度参照 MTT 实验), 并设立对照组(仅加入 PBS 溶液); 在 Transwell 下室加入 1 ml 含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基; 孵育 24 h 后弃去上、下室的培养液, PBS 溶液洗涤, 固定, 结晶紫染色; 每个小室随机选取 10 个视野( $\times 100$  倍)进行计数, 计算平均值。每组设立 3 个平行对照。

#### 1.5 流式细胞术检测 DCA 处理对胃癌细胞早期凋亡的影响

分别取对数生长期的 SGC-7901 和 BGC-823 细胞, 将  $5 \times 10^5$  个细胞分散于 2 ml DMEM 完全培养基, 接种于 6 孔板, 第 2 天加入不同浓度的 DCA 溶液, 使其终浓度分别为 20、40、60、80 及 100 mmol/L, 并设立对照组(仅加入 PBS 溶液), 于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱培养 24 h 时后, 第 3 天收集细胞。PBS 清洗后加入 Annexin-V-FITC 和 PI 孵育, 上机检测, 计算细胞早期凋亡率。早期凋亡率(%) = (早期凋亡细胞数/细胞总数)  $\times 100\%$ 。

#### 1.6 统计学处理

本实验均重复 3 次, 采用 SPSS 11.0 统计学软件, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多个样本均数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 DCA 和 DDP 单独处理显著抑制胃癌细胞的增殖

MTT 法检测结果(图 1)显示, DCA(20、40、60、80 及 100 mmol/L)组干预 SGC-7901 和 BGC-823 细胞 24 h 后, 与对照组相比, SGC-7901 细胞增殖率明显减少[(85.3  $\pm$  13.3)%、(72.6  $\pm$  11.3)%、(51.6  $\pm$  8.2)%、(38.2  $\pm$  6.7)%、(32.2  $\pm$  5.5)% vs 100%, 均  $P < 0.05$ ]; BGC-823 细胞增殖率也明显降低[(80.0  $\pm$  11.6)%、(62.6  $\pm$  8.3)%、(46.2  $\pm$  6.1)%、(37.2  $\pm$  5.5)% 及 (30.5  $\pm$  4.2)% vs 100%, 均  $P < 0.05$ ]。DCA 抑制 SGC-7901 和 BGC-823 细胞 24 h 的  $\text{IC}_{50}$  分别为 60.9 mmol/L ( $r = 0.98$ )

和 53.8 mmol/L ( $r = 0.99$ )。

DDP(5、10、15、20 及 25  $\mu\text{mol/L}$ )组分别干预 SGC-7901 和 BGC-823 细胞 24 h 后, SGC-7901 细胞增殖率分别为(88.2  $\pm$  11.4)%、(71.3  $\pm$  9.2)%、(62.5  $\pm$  9.2)%、(48.5  $\pm$  7.2)% 和 (22.4  $\pm$  3.1)%, 均显著低于对照组(均  $P < 0.05$ ); BGC-823 细胞增殖率分别为(83.1  $\pm$  8.4)%、(73.3  $\pm$  10.2)%、(58.6  $\pm$  8.4)%、(43.7  $\pm$  5.0)% 和 (34.8  $\pm$  4.3)%, 也明显低于对照组(均  $P < 0.05$ )。DDP 抑制 SGC-7901 和 BGC-823 细胞 24 h 的  $\text{IC}_{50}$  分别为 16.3  $\mu\text{mol/L}$  ( $r = 0.92$ ) 和 16.7  $\mu\text{mol/L}$  ( $r = 0.97$ )。结果提示, DCA 和 DDP 单独处理时随着药物浓度的增加均可显著抑制胃癌细胞的增殖, 并呈浓度依赖性。

#### 2.2 DCA 和 DDP 联合处理对胃癌细胞增殖的影响

2.2.1 DCA 和 DDP 联合处理显著抑制胃癌细胞的增殖 MTT 法检测结果(图 1)显示, DCA(mmol/L)和 DDP( $\mu\text{mol/L}$ )的浓度分别为 20 和 5、40 和 10、60 和 15、80 和 20 及 100 和 25 时, 分别干预 SGC-7901 和 BGC-823 细胞 24 h 后, SGC-7901 细胞增殖率分别为(61.3  $\pm$  9.7)%、(35.4  $\pm$  5.7)%、(25.3  $\pm$  4.7)%、(18.5  $\pm$  3.2)%、(12.6  $\pm$  2.1)%, 均显著低于对照组(均  $P < 0.05$ ); BGC-823 细胞增殖率分别为(57.8  $\pm$  7.8)%、(30.4  $\pm$  4.0)%、(20.2  $\pm$  5.4)%、(13.0  $\pm$  3.1)%、(9.2  $\pm$  3.7)%, 均显著低于对照组(均  $P < 0.05$ )。提示 DCA 和 DDP 联合干预可显著抑制胃癌 SGC-7901 和 BGC-823 细胞的增殖, 亦呈浓度依赖性。

#### 2.2.2 DCA 联合 DDP 干预胃癌细胞的协同效应

中位效应及 MTT 法检测分析结果(图 2A、C)显示, 在 DCA 固定终浓度为 20 及 40 mmol/L, 所对应的 DDP 终浓度为 5 及 10  $\mu\text{mol/L}$  时, DCA 和 DDP 以固定比例联合作用于胃癌 SGC-7901 和 BGC-823 细胞的 CI 值均  $< 1$ , 提示 DCA 和 DDP 具有协同抑制胃癌细胞增殖的效应。

非固定比例浓度的 DCA 和 DDP 干预处理胃癌细胞的联合效应实验结果(图 2B、D)显示, DCA(mmol/L): DDP( $\mu\text{mol/L}$ )终浓度分别为 20:5、20:10、40:5、40:10 时, 两者联合作用于 SGC-7901 细胞的 CI 值  $< 1$ ; DCA(mmol/L): DDP( $\mu\text{mol/L}$ )终浓度分别为 20:5、20:10 及 40:5 时, 两者联合作用于 BGC-823 细胞的 CI 值  $< 1$ , 同样提示 DCA 和 DDP 具有协同抑制胃癌细胞增殖的效应。

#### 2.3 DCA 处理显著降低胃癌细胞的侵袭性

Transwell 小室法检测结果(图 3)显示, DCA(20、40、60、80 及 100 mmol/L)组 SGC-7901 细胞穿

膜数分别为(166.0 ± 15.3)、(140.7 ± 16.3)、(99.3 ± 11.7)、(55.7 ± 6.0)及(38.3 ± 6.7)个, 对照组 SGC-7901 细胞穿膜数为(182.7 ± 17.3)个(图 3A、B); 相同浓度 DCA 组 BGC-823 细胞穿膜数分别为(155.7 ± 13.3)、(127.3 ± 14.0)、(88.7 ± 8.3)、(49.0 ± 5.7)及(42.3 ± 6.7)个, 对照组 BGC-823 细

胞穿膜数为(170.7 ± 15.0)个(图 3A、C)。与对照组相比, 20 和 40 mmol/L 组的 DCA 降低 SGC-7901 和 BGC-823 细胞穿膜细胞数不明显( $P > 0.05$ ), 而 60、80 及 100 mmol/L 组 DCA 可明显降低 SGC-7901 和 BGC-823 细胞的穿膜细胞数( $P < 0.05$ )。

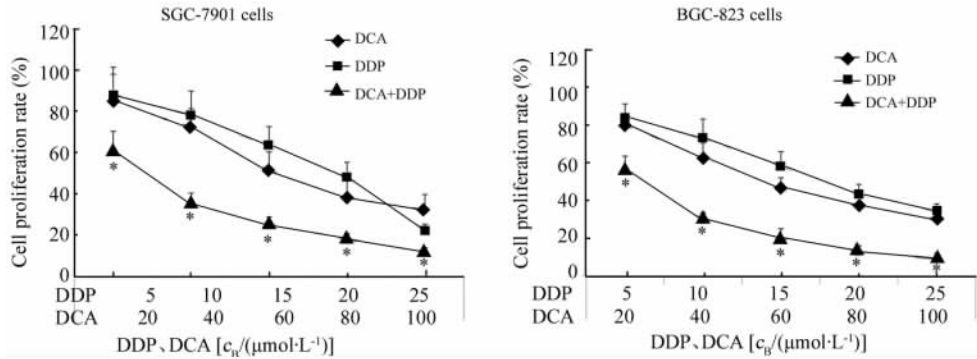


图 1 DCA 和/或 DDP 干预处理胃癌细胞 24 h 的增殖率

Fig. 1 Proliferation rates of gastric cancer cells treated by DCA and/or DDP for 24 h

\*  $P < 0.05$  vs DCA or DDP

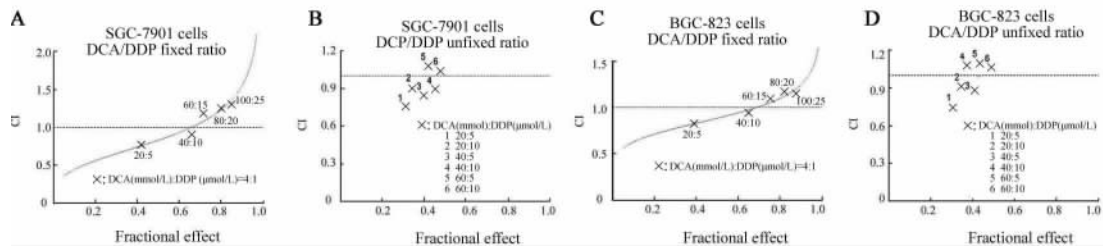


图 2 DCA 和 DDP 干预胃癌细胞 24 h 联合效应的 Fa-CI 曲线

Fig. 2 Fa-CI curves of combinative effect of DCA and DDP against gastric cancer cells for 24 h

2.4 DCA 处理明显诱导胃癌细胞发生早期凋亡。流式细胞术双染法检测结果(图 4)显示, DCA(20、40、60、80 及 100 mmol/L)组干预处理 SGC-7901 细胞 24 h 后, 早期凋亡率分别为(11.5 ± 1.3)%、(19.1 ± 3.6)%、(31.7 ± 5.2)%、(35.0 ± 5.4)%、(37.8 ± 6.2)% , 对照组为(8.1 ± 1.3)% ; 同样浓度 DCA 干预处理 BGC-823 细胞 24 h 后, 早期凋亡率分别为(8.6 ± 1.3)%、(14.1 ± 2.0)%、(24.2 ± 4.6)%、(31.9 ± 4.2)%、(40.4 ± 5.7)% , 对照组为(6.6 ± 1.4)%。与对照组相比, DCA(20 和 40 mmol/L)浓度组 SGC-7901 和 BGC-823 细胞的早期凋亡率差异无统计学意义( $P > 0.05$ ) ; 而 60 mmol/L 及更高浓度组可显著诱导胃癌 SGC-7901 和 BGC-823 细胞早期凋亡( $P < 0.05$ ) ; 同时, 较大剂量的 DCA 组( $\geq 60$  mmol/L)可在诱导胃癌细胞早期凋亡的同时诱导发

生晚期凋亡或坏死。

### 3 讨论

抗代谢药用于恶性肿瘤的治疗由来已久。5-氟尿嘧啶、甲氨蝶呤等通过阻断相关核酸合成的关键酶, 影响 DNA 的生物合成, 从而发挥抗肿瘤效应, 至今仍在临床普遍使用。但这些传统的抗代谢药对正常细胞的核酸合成也具有抑制作用, 具有广泛的毒副作用, 缺乏选择性和靶向性。

能量代谢异常, 特别是糖代谢异常是恶性肿瘤最鲜明的特征之一。糖酵解是一种低效的能量代谢方式。即使在有氧条件下, 癌细胞也优先通过糖酵解获取能量。“有氧糖酵解”是恶性肿瘤能量代谢方面的最主要特征。以能量代谢, 特别是糖酵解的关键酶为靶点进行抗肿瘤治疗, 能够充分利用正常

细胞和癌细胞的代谢差异,因而具有较高的选择性和靶向性。一些糖酵解相关的酶,如乳酸脱氢酶、PDK及葡萄糖的转运载体等,有望成为新型分子靶向治疗的潜在靶点<sup>[8]</sup>。本课题组既往进行了以乳酸脱氢酶-A为靶点干预处理胃癌细胞的体外研究<sup>[9]</sup>,结果发现乳酸脱氢酶-A的抑制剂可以诱导胃癌细胞Caspase-3等的表达,具有促凋亡效应。有理由相信,以癌细胞能量代谢为靶点的分子靶向治疗有望成为未来恶性肿瘤治疗的重要手段,应用前景广阔。

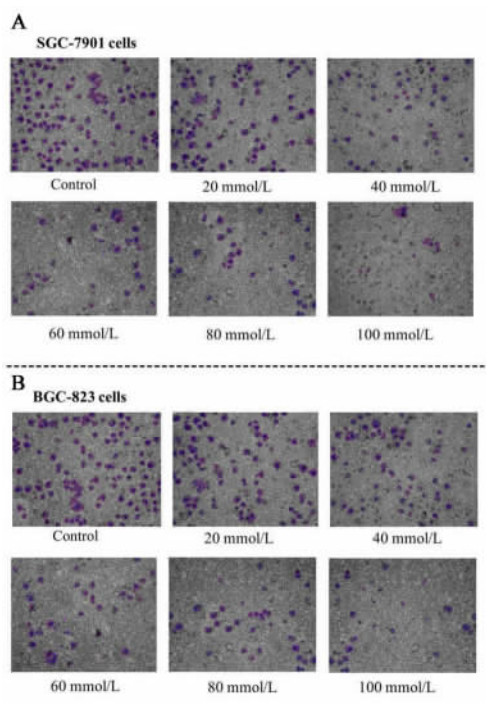


图3 Transwell侵袭实验检测DCA干预24h对胃癌细胞侵袭性的影响(×100)

Fig. 3 Invasiveness of gastric cancer cells treated with DCA for 24 h by transwell invasion assay(×100)

A: Representative micrograph of invading SGC-7901 cells;  
B: Representative micrograph of invading BGC-823 cells

研究表明,DCA单独处理具有显著抑制体外培养的胃癌细胞存活的作用( $P < 0.05$ )。DCA与化疗药物DDP联合处理可对胃癌细胞增殖产生协同抑制( $P < 0.05$ ),提示DCA可增加化疗药物的敏感性。DCA单独使用亦可降低胃癌细胞的侵袭性并诱导胃癌细胞凋亡( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。推测DCA可能通过抑制胃癌细胞PDK激活PDH,从而改变了癌细胞糖代谢途径,使癌细胞从依赖糖酵解获得能量向依赖氧化磷酸化获能发生转化<sup>[10]</sup>。

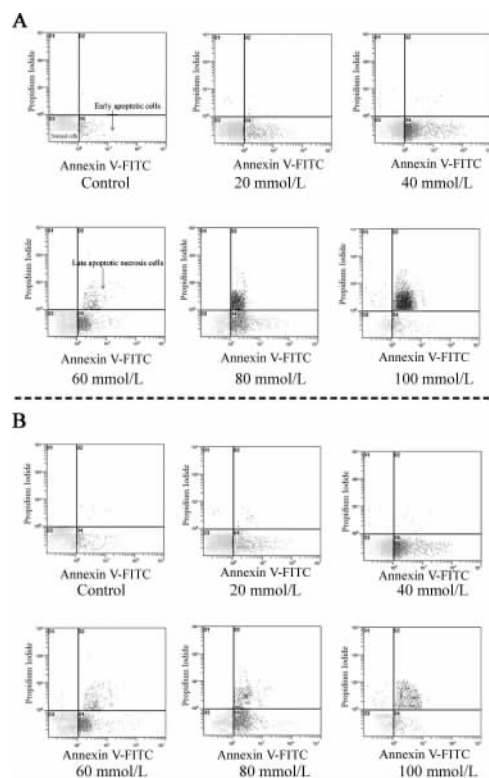


图4 FCM双染法检测DCA诱导胃癌细胞发生早期凋亡

Fig. 4 Early apoptosis of gastric cancer cells induced by DCA in double-staining FCM assay

A: Scatter diagram of early apoptosis SGC-7901 cells;

B: Scatter diagram of early apoptosis BGC-823 cells

DCA以PDK为靶标,通过多种机制发挥抗肿瘤效应。一般认为,DCA使癌细胞的需氧量增加,氧气供需矛盾变得突出,导致癌细胞发生依赖线粒体的凋亡<sup>[11-14]</sup>。DCA也可促使肿瘤细胞的线粒体增加ROS的生成,抑制热应激蛋白HSP70和HIF- $\alpha$ 的表达<sup>[15-16]</sup>。DCA还可抑制癌细胞的mTOR通路,诱导癌细胞发生自噬<sup>[17-18]</sup>。DCA也可增加癌细胞对化疗药物的敏感性<sup>[16]</sup>。在如肺癌<sup>[19]</sup>、乳腺癌<sup>[20]</sup>、前列腺癌<sup>[21]</sup>、以及子宫内膜癌<sup>[22]</sup>等细胞系中,DCA可诱导癌细胞凋亡,抑制癌细胞增殖。DCA的安全性良好,仅表现为轻微的外周神经毒性<sup>[23]</sup>。有关DCA抑制胃癌细胞增殖、侵袭和诱导凋亡作用的确切分子机制还有待进一步研究;本课题组拟建立恶性肿瘤的裸鼠移植瘤模型,以探索DCA在动物水平的抗肿瘤效应。

综上,本实验在体外研究中显示DCA对胃癌具有治疗干预作用。PDK调节肿瘤细胞糖代谢的方式,是有重要潜力的治疗新靶标。DCA通过独特的

分子机制发挥抗肿瘤效应,具有较为广阔的研究前景,值得进一步深入探究。

### [ 参考文献 ]

- [ 1 ] 季加孚, 陕飞. 胃癌综合治疗的研究进展与评价 [ J ]. 中华外科杂志, 2011, 49( 3 ): 193-197. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0529-5815. 2011. 03. 001.
- [ 2 ] 杨子鑫, 刘巍. 晚期胃癌内科治疗的研究进展 [ J ]. 中华肿瘤防治杂志, 2012, 18( 19 ): 1572-1576. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-1959. 2015. 08. 485.
- [ 3 ] CHAN D A, GIACCICA A J. Harnessing synthetic lethal interactions in anticancer drug discovery [ J ]. Nat Rev Drug Discov, 2011, 10( 5 ): 351-364. DOI: 10. 1038/nrd3374.
- [ 4 ] XUAN Y, HUR H, HAM I H, et al. Dichloroacetate attenuates hypoxia-induced resistance to 5-fluorouracil in gastric cancer through the regulation of glucose metabolism [ J ]. Exp Cell Res, 2014, 321( 2 ): 219-230. DOI: 10. 1016/j. yexcr. 2013. 12. 009.
- [ 5 ] PAPANDREOU I, GOLIASOVA T, DENKO N C. Anticancer drugs that target metabolism: is dichloroacetate the new paradigm? [ J ]. Int J Cancer, 2011, 128( 5 ): 1001-1008. DOI: 10. 1002/ijc. 25728.
- [ 6 ] CHOI Y W, LIM I K. Sensitization of metformin-cytotoxicity by dichloroacetate via reprogramming glucose metabolism in cancer cells [ J ]. Cancer Lett, 2014, 346( 2 ): 300-308. DOI: 10. 1016/j. canlet. 2014. 01. 015.
- [ 7 ] CHOU T C. Drug combination studies and their synergy quantification using the Chou-Talalay method [ J ]. Cancer Res, 2010, 70( 2 ): 440-446. DOI: 10. 1158/0008-5472. CAN-14-3763.
- [ 8 ] 刘小军, 陈兆峰, 周永宁. 癌细胞能量代谢的研究进展 [ J ]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2012, 18( 6 ): 678-681. DOI: 10. 3872/j. issn. 1007-385X. 2011. 06. 017.
- [ 9 ] LIU X J, YANG Z X, CHEN Z F, et al. Effects of the suppression of lactate dehydrogenase A on the growth and invasion of human gastric cancer cells [ J ]. Oncol Rep, 2015, 33( 1 ): 157-162. DOI: 10. 3892/or. 2014. 3600.
- [ 10 ] SANCHEZ W, MCGEE S, CONNOR T, et al. Dichloroacetate inhibits aerobic glycolysis in multiple myeloma cells and increases sensitivity to bortezomib [ J ]. Brit J Cancer, 2013, 108( 8 ): 1624-1633. DOI: 10. 1038/bjc. 2013. 120.
- [ 11 ] MADHOK B, YELURI S, PERRY S, et al. Dichloroacetate induces apoptosis and cell-cycle arrest in colorectal cancer cells [ J ]. Brit J Cancer, 2010, 102( 12 ): 1746-1752. DOI: 10. 1038/sj. bjc. 6605701.
- [ 12 ] HAUGRUD A B, ZHUANG Y, COPPOCK J D, et al. Dichloroacetate enhances apoptotic cell death via oxidative damage and attenuates lactate production in metformin-treated breast cancer cells [ J ]. Breast Cancer Res Tr, 2014, 147( 3 ): 539-550. DOI: 10. 1007/s10549-014-3128-y.
- [ 13 ] SAED G M, FLETCHER N M, JIANG Z L, et al. Dichloroacetate induces apoptosis of epithelial ovarian cancer cells through a mechanism involving modulation of oxidative stress [ J ]. Reprod Sci, 2011, 18( 12 ): 1253-1261. DOI: 10. 1177/1933719111411731.
- [ 14 ] SHAHRZED S, LACOMBE K, ADAMCIC U, et al. Sodium dichloroacetate ( DCA ) reduces apoptosis in colorectal tumor hypoxia [ J ]. Cancer Lett, 2010, 297( 1 ): 75-83. DOI: 10. 1016/j. canlet. 2010. 04. 027.
- [ 15 ] KUMAR A, KANT S, SINGH S M. Novel molecular mechanisms of antitumor action of dichloroacetate against T cell lymphoma: implication of altered glucose metabolism, pH homeostasis and cell survival regulation [ J ]. Chem Biol Interact, 2012, 199( 1 ): 29-37. DOI: 10. 1016/j. cbi. 2012. 06. 005.
- [ 16 ] KUMAR A, KANT S, SINGH S M. Antitumor and chemosensitizing action of dichloroacetate implicates modulation of tumor microenvironment: a role of reorganized glucose metabolism, cell survival regulation and macrophage differentiation [ J ]. Toxicology Appl Pharm, 2013, 273( 1 ): 196-208. DOI: 10. 1016/j. taap. 2013. 09. 005.
- [ 17 ] GONG F, PENG X, SANG Y, et al. Dichloroacetate induces protective autophagy in LoVo cells: involvement of cathepsin D/thioredoxin-like protein 1 and Akt-mTOR-mediated signaling [ J ]. Cell Death Dis, 2013, 4( 11 ): e913 [ 2015-08-26 ]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3847316/>. DOI: 10. 1038/cddis. 2013. 438.
- [ 18 ] OHASHI T, AKAZAWA T, AOKI M, et al. Dichloroacetate improves immune dysfunction caused by tumor-secreted lactic acid and increases antitumor immunoreactivity [ J ]. Int J Cancer, 2013, 133( 5 ): 1107-1118. DOI: 10. 1002/ijc. 28114.
- [ 19 ] XIAO L, LI X, NIU N, et al. Dichloroacetate ( DCA ) enhances tumor cell death in combination with oncolytic adenovirus armed with MDA-7/IL-24 [ J ]. Mol Cell Biochem, 2010, 340( 1/2 ): 31-40. DOI: 10. 1007/s11010-010-0397-6.
- [ 20 ] SUN R C, FADIA M, DAHISTROM J E, et al. Reversal of the glycolytic phenotype by dichloroacetate inhibits metastatic breast cancer cell growth in vitro and in vivo [ J ]. Breast Cancer Res Tr, 2010, 120( 1 ): 253-260. DOI: 10. 1007/s10549-009-0435-9.
- [ 21 ] CAO W, YACCOUB S, SHIVERICK K T, et al. Dichloroacetate ( DCA ) sensitizes both wild-type and over expressing Bcl-2 prostate cancer cells in vitro to radiation [ J ]. Prostate, 2008, 68( 11 ): 1223-1231. DOI: 10. 1002/pros. 20788.
- [ 22 ] WONG J Y, HUGGINS G S, DEBIDDA M, et al. Dichloroacetate induces apoptosis in endometrial cancer cells [ J ]. Gynecol Oncology, 2008, 109( 3 ): 394-402. DOI: 10. 1016/j. ygyo. 2008. 01. 038.
- [ 23 ] KAUFMANN P, ENGELSTAD K, WEI Y, et al. Dichloroacetate causes toxic neuropathy in MELAS: a randomized, controlled clinical trial [ J ]. Neurology, 2006, 66( 3 ): 324-330. DOI: 10. 1212/01. wnl. 0000196641. 05913. 27

[ 收稿日期 ] 2015 - 09 - 06

[ 修回日期 ] 2015 - 11 - 04

[ 本文编辑 ] 阮芳铭