

异常黑胆质成熟剂对移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型小鼠血清的代谢组学研究

祖克热古丽·吾买尔尼亚孜, 哈木拉提·吾甫尔, 买吾拉尼江·依孜布拉, 祖丽菲亚·吾斯曼, 杨涛, 单莲莲, 艾尼娃尔·艾克木^{*} (新疆医科大学, 乌鲁木齐 830011)

摘要: 目的 建立移植性宫颈癌(U27)肿瘤小鼠模型并探讨异常黑胆质成熟剂(*Abnormal Savda Munziq*, ASMq)对移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型小鼠血清代谢的影响。方法 采用核磁共振氢谱(¹H-NMR)技术结合模式识别和正交偏最小二乘判别法(OPLS-DA)进行分析, 寻求不同剂量的 ASMq 以及环磷酰胺(*Cyclophosphamide*, CY)给药干预后移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型小鼠血清中代谢产物的变化以及发生改变的代谢网络途径。结果 与正常对照组比较, 移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型组小鼠血清中异亮氨酸、缬氨酸、丙氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸等氨基酸及乳酸、柠檬酸、肌酸和 1-甲基组氨酸等代谢物含量明显降低, 而低密度脂蛋白(*low density lipoprotein*, LDL)含量升高, 差异有统计学意义($P<0.05$)。与移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型组比较, 环磷酰胺组中亮氨酸、丙氨酸等代谢物含量升高, 差异有统计学意义($P<0.05$)。与移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型组比较, 灌胃不同剂量 ASMq 之后小鼠血清中异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、丙氨酸、谷氨酰胺等氨基酸含量升高及糖蛋白、柠檬酸、肌酸等代谢物含量也有升高趋势, 差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 ASMq 对移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型小鼠有一定的抗肿瘤作用, 其作用机制可能是不仅调节移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型小鼠体内发生紊乱的氨基酸、能量代谢, 也可以提高免疫功能, 从而实现其预防与治疗肿瘤的作用。

关键词: 异常黑胆质成熟剂; 代谢组学; 核磁共振; 移植性宫颈癌(U27)肿瘤

中图分类号: R965

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2015)08-0905-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.08.001

Effect of Abnormal Savda Munziq on Mice Serum Metabonomic Analysis of the Portability Cervical Cancer(U27) Tumor Model

OMARNIYAZ Zuhragul, UPUR Halmurat, HIZBULLA Mawlanjan, OSMAN Zulpiya, YANG Tao, SHAN Lianlian, AIKEMU Ainiwaer^{*} (*Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the portability cervical cancer (U27) tumor mice model and to study the influence of Abnormal Savda Munziq (ASMq) on serum metabolism of cervical cancer (U27) tumor model mice. **METHODS** Using Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (¹H-NMR) technology combined with pattern recognition and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) method analyze to seeking for the variability of serum metabolites and metabolic network pathways of cervical cancer (U27) tumor mice's after oral administration of low, medium, high dose of ASMq and cyclophosphamide drug intervention. **RESULTS** Compared with normal control group, the concentration level of some metabolites were reduced in the cervical cancer (U27) tumor model group mice's serum, including isoleucine, valine, alanine, glutamine, glycine, amino acid and lactic acid, citric acid, creatine and 1-methyl histidine; while low density lipoprotein level was increased($P<0.05$). Compared with the cervical cancer (U27) tumor model group, leucine and alanine levels was increased in the cyclophosphamide control group($P<0.05$); after oral administration the different doses of ASMq, the serum in the cervical cancer (U27) tumor model group mice's, the amino acids that isoleucine, leucine, valine, alanine, glutamine content was increased and glycoprotein, citric acid, creatine content also had a rising trend($P<0.05$). **CONCLUSION** ASMq has some antitumor effects on cervical cancer (U27) tumor mice model, and it's mechanism of prevention and treatment of tumor may be achieved not only by adjusting the disordered amino acid metabolism and energy metabolism, but also improving the immune function of cervical cancer (U27) tumor model mice.

KEY WORDS: abnormal savda munziq; metabonomics; nuclear magnetic resonance spectroscopy; cervical cancer (U27) tumor

基金项目: 国家自然科学基金项目(81360668)

作者简介: 祖克热古丽·吾买尔尼亚孜, 女, 硕士生 Tel: 13039443568 E-mail: zohra22@163.com *通信作者: 艾尼娃尔·艾克木, 男, 博士, 副教授 Tel: (0991)4366432 E-mail: ainiwa@sina.com

维吾尔医药学是作为我国民族传统医学宝库的重要组成部分之一,具有长久的临床实践、丰富及独特的理论内涵,特别是对糖尿病、支气管哮喘、肿瘤等复杂、难治性疾病而言有其独特的理论体系及有效疗法,其中有不少可以用于治疗癌症的有效制剂及处方,异常黑胆质成熟剂(abnormal savda munziq, ASMq)是典型的代表。ASMq是由薰衣草、破布木果、红枣、牛舌草、蜜蜂花、铁线蕨、小茴香、地锦草、甘草根、刺糖等十几种草药组成的,它是含有生物碱、酚、有机酸和氨基酸、皂苷黄酮、糖、香豆素或内酯等多种有效化学成分的维吾尔医常用复方制剂^[1]。先前的体外研究证实^[2],ASMq对淋巴瘤、人乳腺癌BCAP细胞株和人宫颈癌Hela细胞株等均有一定的抑制作用;体内研究证实^[3],ASMq对小鼠艾氏腹水瘤细胞(EAC)和S180这2种移植性肿瘤有良好的治疗效果。目前研究者依托核磁共振氢谱(¹H-NMR)代谢组学方法也证实了该复方制剂在异常黑胆质型哮喘^[4]、糖尿病^[5]及肝癌^[6]等复杂疾病的治疗研究方面有明显的药效。本研究采用代谢组学¹H-NMR技术,在建立移植性宫颈癌(U27)肿瘤小鼠模型的基础上,寻求不同剂量的ASMq与环磷酰胺(cyclophosphamide, CY)给药干预后移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型小鼠血清中的差异性代谢产物,分析ASMq对移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型小鼠血清代谢谱改变的作用机理。这有助于认识维吾尔药ASMq对移植性宫颈癌(U27)肿瘤的影响及在肿瘤治疗的科学评价中重要的现实意义。

1 材料与方法

1.1 动物及细胞株

健康昆明小鼠60只,♀♂各半,体质量(20±2)g。动物由新疆医科大学动物实验中心提供,许可证号:SCXK(新)2011-0004。移植性宫颈癌(U27)细胞株购买于武汉大学。

1.2 仪器与试剂

AL 204分析天平与PL 602 S电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];低温超速离心机(美国Beckman公司);INOVA 600核磁共振波谱仪(美国Varian公司);Topspin 2.0软件(德国Bruker公司),SIMCA-P+11软件(瑞典Umetrics公司);-80℃超低温冰箱(中国海尔公司)。ASMq(新疆齐康哈博维药有限公司);环磷酰胺(江苏恒瑞医药有限公

司,批号:13122625,阳性对照药);生理盐水(国药集团新疆制药有限公司,批号:1311161)。重水(D₂O, USA sigma aldrich)。氯化钠(NaCl)、磷酸氢二钾(K₂HPO₄)、磷酸二氢钠(NaH₂PO₄)及5 mm核磁管均购于天津市光复精细化工研究所。

1.3 动物分组

按完全随机分组法,将60只健康昆明小鼠分为6组,正常对照组、移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型组、环磷酰胺组、ASMq高、中、低剂量组,每组10只,♀♂各半。

1.4 小鼠宫颈癌模型的构建及取材

正常对照组以外其他5组共50只小鼠进行移植性宫颈癌(U27)肿瘤造模。方法如下^[3]:于无菌条件下抽取接种(以 1×10^7 cfu·mL⁻¹的细胞量腹腔注射0.2 mL每只)7 d的U27昆明小鼠的腹水(颜色为乳白色),用高压灭菌的生理盐水稀释成 1×10^7 cfu·mL⁻¹的U27腹腔积液混悬液,每只小鼠左前肢腋窝皮下接种0.2 mL,整个操作过程无菌并在30 min内完成。24 h后,根据小鼠体质量进行药物干预:ASMq高、中、低剂量组分别灌胃ASMq 8, 4, 2 g·kg⁻¹·d⁻¹,隔日1次腹腔注射0.4 mL生理盐水;环磷酰胺组,隔日1次腹腔注射CY 30 mg·kg⁻¹,每日1次灌胃0.4 mL生理盐水;移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型组,每日1次灌胃等量的生理盐水,隔日1次腹腔注射0.4 mL生理盐水;正常对照组,未接种肿瘤,灌胃等量生理盐水,隔日1次腹腔注射0.4 mL生理盐水。各实验组小鼠随机摄食饮水,每天称体质量,实验期为10 d。末次给药第2天处死小鼠之前,摘除眼球取全血装入2 mL的离心管,室温下放置30 min,3 000 r·min⁻¹离心15 min,取上层血清置于-80℃低温冰箱中保存待测。

1.5 ¹H-NMR的测试和数据处理与分析

1.5.1 待测样品的制备 在4℃下将血清样品解冻,每个血清样本各取200 μL,再加入400 μL重水配制的磷酸缓冲液(血清缓冲溶液的配制:以100 mL为例,D₂O为20 mL,蒸馏水80 mL,K₂HPO₄为0.827 g,NaH₂PO₄为0.141 g,NaCl为0.9 g)室温放置10 min,以10 000 r·min⁻¹的速度离心10 min。用移液枪吸取上清液550 μL放入5 mm的核磁管中,配好的样品放置于4℃冰箱待测,测试前15 min拿出样品置于室温下,每次上样前用纸巾擦好核磁管外壁。

1.5.2 血清的 ^1H -NMR 测试 按文献[7]在测试温度 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 的条件下,使用 INOVA 600 型核磁共振波谱仪调用 NOESYPRESAT-1D(RD- 90° -t1- 90° -tm- 90° -ACQ)脉冲序列进行氢谱测定。谱宽设定为 $10\ 000\ \text{Hz}$,累积扫描次数为 64 次,采样数据点 32 768,采取预饱和方法来压制水峰,饱和时间为 2 s,每次扫描时间均为 1.64 s。所有的 ^1H -NMR 谱可以在同一谱仪上获得。以便于解谱及鉴定代谢组分为目的,对图谱质量较好的部分血清样品进行 ^1H - ^1H 同核相关谱(COSY 谱)和质子全相关谱(NOESY 谱)等核磁共振的二维谱测试。

1.5.3 数据处理与分析 测完样品之后的数据导入到 Topspin 2.0 软件,对血清 ^1H -NMR 谱进行基线及相位调整,以 α -葡萄糖化学位移 $5.233\ \text{ppm}$ 的质子信号为标准进行定标,在 $9.0\sim 0.5\ \text{ppm}$ 的区域内,积分区间设定为 $0.003\ \text{ppm}$ 即进行自动积分。将积分数据导入到 Excel 表格内并去除掉水峰区域分值 $5.20\sim 4.66\ \text{ppm}$ (为了避免饮水量对代谢物浓度的影响),就进行归一化处理。剩余的数据导入 SMICA-P+11 软件,进行最小方差判别分析法(PLS-DA)进行统计分析和正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)。PLS-DA 主要用于观察各组样本是否有差异性,而 OPLS-DA 则用于 2 组中具有差异性的积分段的判断。通过 OPLS-DA 获得的每一个积分段所代表的代谢物相关系数(r)来确定不同组的小鼠血清的差异性代谢组分,检验标准为 $P=0.05$ 。在本研究中,根据皮尔森相关系数显著性差异检测确定 $|r|>0.576$ (样品数 $n=10$ 时)所代表的代谢物在统计学上有显著性差异($P<0.05$),即 $|r|$ 值越大表示差异性越大,反之越小。

2 结果

2.1 各组血清 ^1H -NMR 谱结果分析

本研究以 ^1H -NMR 技术作为其研究测定手段,对移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型小鼠血清样本进行了代谢组学研究。正常对照组和移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型组以及环磷酰胺组和 ASMq 低、中、高剂量组小鼠血清的 ^1H -NMR 谱图见图 1。对各实验组小鼠血清数据进行归一化处理后的积分值进行 PLS-DA 分析,可得到 3D 空间分布图见图 2,该分析中, $R^2X=0.76$, $R^2Y=0.2$, $Q^2=0.18$ 。从分布图可以看到,各组小鼠血清代谢产物含量有明显差异存在,分布区域可以相互区分,有统计学意义,这种差异可能与体内多种代谢途径的变化有

关。实验各组小鼠多种血清代谢物有明显的差异。

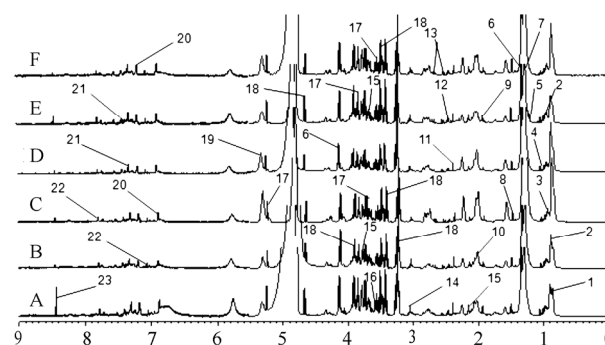


图 1 各组小鼠血清 ^1H -NMR 差异性代谢物谱

A-正常对照组; B-移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型组; C-环磷酰胺组; D-ASMq 低剂量组; E-ASMq 中剂量组; F-ASMq 高剂量组; 对应的代谢物见表 1 与表 2。

Fig. 1 Typical ^1H -NMR Spectra of serum obtained from experimental group

A-normal control group; B-cervical cancer U27 tumor model group; C-cyclophosphamide group; D-low dose of abnormal savda munziq group; E-medium dose of abnormal savda munziq group; F-high dose of abnormal savda munziq group; The corresponding metabolites are shown in table 1 and table 2.

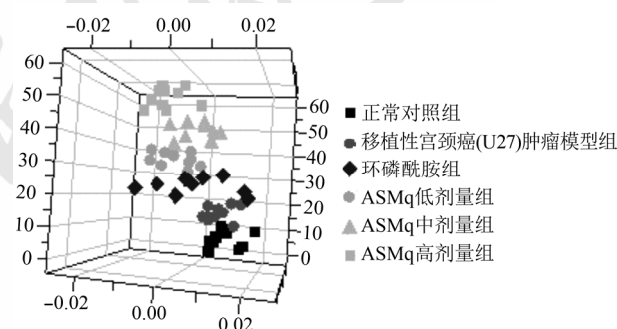


图 2 血清样本 ^1H -NMR 谱 PLS-DA 分析 3D 空间分布图

Fig. 2 PLS-DA three-dimensional score plots from ^1H -NMR spectra of serum samples

2.2 各组血清代谢差异性代谢物比较

各 2 组之间进行比较,有差异性的代谢物中,相关系数为正值,代谢物在其后一组小鼠血清中含量升高,相关系数为负值,代谢物在该组小鼠血清中含量下降。与正常对照组比较,移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型组小鼠血清中异亮氨酸、缬氨酸、丙氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸等氨基酸及乳酸、柠檬酸、肌酸和 1-甲基组氨酸等代谢物含量明显降低,而低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)含量升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。与移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型组比较,环磷酰胺组中亮氨酸、丙氨酸等代谢物含量升高,不饱和脂类及 1-甲基组氨酸等代谢物含量降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。给予低、中、高剂量 ASMq 之后

小鼠血清中异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、丙氨酸、谷氨酰胺等氨基酸含量升高及糖蛋白、柠檬酸、肌酸等代谢物含量也有升高趋势，而小鼠血清中苯丙氨酸、1-甲基组氨酸、乳酸、络氨酸、甲酸含量降低，与移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。其中与 ASMq 低剂量给药组比较，ASMq 中剂量给药组中异亮氨酸、 β -羟丁酸、乳酸、乙酸、肉碱、肌酸、谷氨酰胺、甘氨酸、 α -葡萄糖、 β -葡萄糖、苯丙氨酸含量升高，差异有统计学意义($P<0.05$)。有关差异性代谢物的化学位移及其归属见表 1 与表 2。

表 1 各组小鼠血清主要差异性代谢物表

Tab. 1 Otherness metabolites of mice's serum in each group

序号	代谢物	化学位移	归属
1	脂类	0.85(m)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n$
2	异亮氨酸	0.93(t),1.00(d)	$\delta\text{-CH}_3,\beta\text{-CH}_3$
3	亮氨酸	0.97(d)	$\delta\text{-CH}_3$
4	缬氨酸	1.03(d)	$\alpha\text{-CH}_2$
5	β -羟丁酸	1.19(d)	$\gamma\text{-CH}_3$
6	乳酸	1.32(d),4.11(q)	CH_3,CH
7	LDL	1.26(m)	$\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_2)_n$
8	丙氨酸	1.46(d)	$\text{CH}_3,\alpha\text{-CH}$
9	乙酸	1.91(s)	CH_3
10	糖蛋白	2.03(s)	NHCO-CH_3
11	丙酮酸	2.36(s)	CH_3
12	肉碱	2.44(dd)	$\text{CH}_2(\text{COO})$
13	柠檬酸	2.52(d),2.66(d)	CH_2,CH_2
14	肌酸	3.03(s),3.93(s)	CH_3,CH_2
15	谷氨酰胺	2.13(m),3.76(m),3.69(t)	$\text{half}\beta\text{-CH}_2,\alpha\text{-CH}$
16	甘氨酸	3.56(s)	CH_2
17	α -葡萄糖	3.53(dd),3.72(d), 5.23(d),3.83(m)	$\text{C-H}_2,\text{halfCH}_2\text{-CH}_6,$ $\text{C-H}_1,\text{C-H}_6$
18	β -葡萄糖	3.23(dd),3.40(t), 3.47(ddd),4.64(d)	$\text{C-H}_4,\text{C-H}_5,\text{halfCH}_2\text{-}$ $\text{CH}_6,\text{C-H}_1,\text{C-H}_3$
19	不饱和脂类	5.28(m)	CHCH_2CH_2
20	酪氨酸	6.89(d),7.18(d),	$\alpha\text{-CH},\text{H}_3/\text{H}_5,\text{H}_2/\text{H}_6$
21	苯丙氨酸	7.32(m),7.42(m),	$\text{H}_2/\text{H}_6,\text{H}_4,\text{H}_3/\text{H}_5$
22	1-甲基组氨酸	7.06(s),7.78(s)	H_4,H_2
23	甲酸	8.44(s)	CH

注：s 为单峰，d 为双重峰，t 为三重峰，q 为四重峰，m 为多重峰，dd 为双重双重峰，ddd 为双重双重双重峰。
Note: s is singlet; d is doublet; t is triplet; q is quartet; m is multiplet; dd is doublet of doublets; ddd is doublet of doublets of doublets.

3 讨论

代谢组学^[8]是上世纪 90 年代中期发展起来的一门新兴学科，是通过对某一生物或细胞相对分子质量较低的代谢产物进行定性、定量分析检测，

反映研究对象对环境条件变化或者基因变化所产生的应答，从而揭示生物体整体性代谢变化情况。代谢组学与药物药效、安全性评价、作用机制研究及合理用药密切相关，也与维吾尔医学的基本理论概念相符^[9]，2 个都是从整体水平探索体液的平衡状态或代谢紊乱后疾病的产生机理在代谢组中的具体表现，所以代谢组学适于解决维药在整体效应上认识药物作用的物质基础问题。用核磁共振氢谱方法研究发现的生物化学变化可与传统手段的测定结果联系，并且容易评价药效作用及揭示药物作用的生物化学基础及作用机制。本研究正是利用代谢组学的 ¹H-NMR 技术，以移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型小鼠的血清为研究对象，按照维医多年的用药实践经验，选用 ASMq，建立移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型的药效评价模型，探讨 ASMq 对移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型小鼠代谢的调控及代谢标志物及代谢网路途径变化的影响，从而在代谢组学水平上解释维药与移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型小鼠代谢调控及代谢标志物、代谢通路变化的影响，从而阐明 ASMq 在移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型小鼠体内代谢变化过程。

维药 ASMq 对移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型小鼠血清代谢组学的初步研究发现，正常对照组与移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型小鼠血清代谢物存在差异，移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型组小鼠血清中异亮氨酸、缬氨酸、丙氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸等氨基酸及乳酸、柠檬酸、肌酸和 1-甲基组氨酸等代谢物含量明显降低，LDL 含量升高。上述物质的集合共同构成了移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型小鼠的代谢组学特征。移植性宫颈癌(U27)肿瘤小鼠模型组中降低的这些代谢物多数为与机体能量代谢有关的氨基酸(异亮氨酸、缬氨酸、丙氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸等)，这与文献[10-12]结果一致；其中异亮氨酸和缬氨酸具有维持机体氮平衡及供能作用；丙氨酸和谷氨酰胺等代谢物在维持机体正常免疫功能方面有很重要的作用，谷氨酰胺及肌酸是维持细胞正常结构的基本代谢物(如谷氨酰胺转化生成的谷胱甘肽和磷脂酰胆碱，有非常重要的抗氧化、抗损伤作用)；这些代谢物的变化反映了移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型小鼠体内氨基酸代谢和能量代谢紊乱、免疫功能减弱及抗损伤修复减退的病理机制，能进一步提示肿瘤在体内产生损害的严重性。

表 2 各组小鼠血清主要差异性代谢物相关系数比较

Tab. 2 Difference correlation coefficients of otherness metabolites in mice's serum

序号	代谢物	模型的 质量评 价指标	正常对照组与移 植性宫颈癌(U27) 肿瘤模型组比较	移植性宫颈癌 (U27)肿瘤模型 组与环磷酸胺 组比较	移植性宫颈癌 (U27)肿瘤模型 组与 ASMq 低 剂量组比较	移植性宫颈癌 (U27)肿瘤模型 组与 ASMq 中 剂量组比较	移植性宫颈癌 (U27)肿瘤模型 组与 ASMq 高 剂量组比较	ASMq 低剂 量组与中剂 量组比较
		R ² X	0.51	0.69	0.8	0.74	0.77	0.62
		Q ²	0.2	0.15	0.62	0.13	0.68	0.11
1	脂类					0.61↑		
2	异亮氨酸		-0.75↓			0.65↑	0.63↑	0.61↑
3	亮氨酸			0.73↑	0.63↑	0.6↑		
4	缬氨酸		-0.69↓			0.68↑		
5	β-羟丁酸							0.67↑
6	乳酸		-0.67↓			-0.76↓		0.69↑
7	LDL		0.7↑					-0.97↓
8	丙氨酸		-0.71↓	0.61↑	0.64↑	0.62↑	0.8↑	
9	乙酸							0.68↑
10	糖蛋白				0.68↑		0.68↑	
11	丙酮酸						-0.85↓	
12	肉碱							0.76↑
13	柠檬酸		-0.65↓		0.59↑			
14	肌酸		-0.68↓			0.61↑	0.69↑	0.76↑
15	谷氨酰胺		-0.76↓			0.59↑	0.69↑	0.66↑
16	甘氨酸		-0.6↓					0.75↑
17	α-葡萄糖							0.77↑
18	β-葡萄糖							0.59↑
19	不饱和脂类			0.61↑				
20	酪氨酸					-0.68↓		
21	苯丙氨酸				-0.76↓			0.75↑
22	1-甲基组氨酸		-0.8↓	-0.64↓	-0.59↓			
23	甲酸						-0.67↓	

注：差异性代谢物相关系数为正值，代谢物在后一组小鼠血清中含量升高；相关系数为负值，代谢物在后一组小鼠血清中含量下降。

Note: A positive value indicates a relatively higher metabolite concentration in the mice's serum sample of the later group; and a negative value indicates a relatively lower metabolite concentration in the mice's serum sample of the later group.

肿瘤细胞的恶性增殖是一种耗能的过程，氨基酸作为机体的生命活动中最基本的物质，也是机体代谢的物质基础，在肿瘤发生和发展的过程中，因肿瘤细胞动力学的改变而引起机体的氨基酸代谢状况发生明显的异常，也就是肿瘤细胞由某些特定氨基酸的参与及供能来实现自身的快速增长与发展，而引起这些氨基酸含量的减少，就导致机体的氨基酸代谢欠缺^[13]。体内必需氨基酸异亮氨酸、亮氨酸和缬氨酸是作为支链氨基酸(branched chain acids, BCAA)参与机体蛋白质的合成和分解过程，而且具有供能底物调节功能，维持机体氮平衡，且谷氨酰胺是机体储藏量最多的必需氨基酸，是各组织供给能量的重要氮源和能量来源^[14]，均提示着与能量代谢有关的氨基酸代谢紊乱的存在。而在 ASMq 灌胃给药组中，尤其是在 ASMq 中剂量组中的异亮氨酸、亮氨酸及缬

氨酸含量升高，与移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型组比较差异有统计学意义($P<0.05$)，ASMq 给药组的支链氨基酸的升高可以证明，其在调节氨基酸代谢紊乱和能量代谢紊乱，改善机体氨基酸的供给及减缓负氮平衡方面有一定的作用。

研究报道显示^[15]，丙氨酸和谷氨酰胺不仅对维持免疫功能起到很重要的作用，还具有改善机体代谢、增加淋巴细胞总数、改善机体免疫状态等效果，谷氨酰胺作为合成细胞内重要的抗氧化剂-谷胱甘肽(Glutathione, GSH)的重要成分，GSH 主要功能包括保护生物膜、核苷酸和多种蛋白质免受自由基损伤，移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型组小鼠血清中谷氨酰胺含量的明显降低，可能减少 GSH 的正常储备，使得机体抗氧化能力下降而过氧化损伤加重、免疫力下降、自由基伤害加深。肌酸也是保护细胞膜的代谢物之一^[16-17]，具有调

控细胞凋亡功能, 移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型组血清中的肌酸水平明显降低, 预示机体体内细胞膜的完整性降低、过氧化损伤加重。与正常对照组相比, 移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型组中与细胞膜保护和免疫功能有关的代谢物丙氨酸、谷氨酰胺、肌酸^[18]等含量的明显降低, 均提示移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型组小鼠的机体代谢紊乱, 细胞膜受损及自由基损伤较严重, 免疫力下降而引起肿瘤细胞的增殖与肿瘤生长速度的旺盛。ASMq灌胃治疗后, 丙氨酸含量在低、中、高剂量给药组中均升高, 且谷氨酰胺及肌酸含量在 ASMq 中、高剂量给药组也明显升高。由此推断, 这可能与 ASMq 减慢细胞膜破坏及过氧化损伤有关, 从而起到改善机体免疫功能并加强肿瘤防御作用。

总之, 移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型小鼠血清中除了氨基酸、能量代谢紊乱外还有免疫功能的降低, 阻碍机体多种代谢物的基础代谢, 使整个机体的状态显得不佳。本研究标明的代谢表征的改变不仅反映了移植性宫颈癌(U27)肿瘤小鼠模型体内发生的病理生理异常, 更在一定程度上反映了 ASMq 在移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型小鼠有一定的抗肿瘤作用, 其作用机制可能是不仅调节移植性宫颈癌(U27)肿瘤模型小鼠体内发生紊乱的氨基酸、能量代谢, 也可以提高免疫功能, 从而实现其预防与治疗肿瘤的作用, 其中 ASMq 中剂量组的作用较明显, 这种发现在充实传统维吾尔医学传统理论及指导难治性疾病治疗与预防方面具有重要意义。

REFERENCES

- [1] KIZIBEK M, SHI H H, LIU B, et al. Preliminary investigation on the chemical constituents of abnormal savda munziq [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2010, 21(12): 3139-3141.
- [2] HU H H, SHENG L, UPUR H, et al. Anti-cancer effects of uighur medicine abnormal savda munziq and its influence on cell migration [J]. Sin Technol Rev(科技导报), 2011, 29(03): 62-65.
- [3] AIKEMU A, BERKE B, UPUR H, et al. The impact of the Uighur medicine abnormal savda munziq on antitumor and antioxidant activity in a S180 and Ehrlich ascites carcinoma mouse tumor mode [J]. Pharmacogn Mag, 2012, 8(30): 141-148.
- [4] KURBANTAY N, MAMTIMIN B, HIZBULLA M, et al. Effect of abnormal savda munziq on urine metabolites from abnormal savda syndrome carrying asthma rat model [J]. J

Xinjiang Med Univ(新疆医科大学学报), 2013, 36(4): 419-426.

- [5] HIZBULLA M, MAMTIMIN B, KURBANTAY N, et al. NMR metabonomic study of abnormal savda munziq's mechanism of effect to the abnormal savda syndrom type 2 diabets rats [J]. J Xinjiang Med Univ(新疆医科大学学报), 2013, 36(4): 411-418.
- [6] UPUR H, MIJIT M, ISKANDAR B, et al. Effect of abnormal savda rat with hepatocarci based on serum metabonomic analysis [J]. Sin Technol Rev(科技导报), 2015, 33(2): 1-5.
- [7] ABUDULA M, NUERMAIMAITI A, MOSHA G, et al. NMR metabonomics of serum in a rat model of abnormal savda deasease carrying ulcerative colitis [J]. World Chin J Digestol(世界华人消化杂志), 2014, 22(35): 5414-5421.
- [8] NICOLSON J K, LINDON J C, HOLMES E. Metabonomics: understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data [J]. Xenobiotica(The fate of foreign compounds in biological systems), 1999, 29(11): 1181-1189.
- [9] ZHANG C C, SUN L X. Research progress on intracellular metabolites based on metabolomics [J]. Acta Pharm Sin(药理学学报), 2012, 47(8): 978-985.
- [10] FAN J, HONG J, HU J D, et al. Ion chromatography based urine amino acid profiling applied for diagnosis of gastric cancer [J]. Gastroneterol Res Pract, 2012, doi:10.1155/2012/474907.
- [11] HASIM A, SAIMAITI A, KUERBAN S, et al. Analysis of the blood amino acid metabonomics of cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer by High-performance Liquid Chromatography [J]. Sin Technol Rev(科技导报), 2014, 32(6): 80-84.
- [12] MA J Q, HASIMU A, MAMTIMIN B, et al. 1H-NMR-based metabonomics analysis of plasma samples with cervical intraepithelial neoplasia [J]. Sin Technol Rev(科技导报), 2010, 28(10): 36-40.
- [13] MAMPASSI D M, 顾月清. 与肿瘤有关的氨基酸代谢缺陷及其相关药物的应用[J]. 药物生物技术, 2012, 19(4): 373-376.
- [14] FLARING U B, ROOYACKERS O E, WERNERMA J, et al. Glutamine attenuates post-traumatic glutathione depletion in human muscle [J]. Clin Sin, 2003, 104(3): 275-282.
- [15] TURAHUN A, UPUR H, HAO F H, et al. Metabonomic studies on abnormal savda syndrome patients with neoplasm using NMR Spectroscop [J]. Sin Technol Rev(科技导报), 2009, 27(13): 27-31.
- [16] XUE Q, NIE X L, LUO R, et al. 1H-NMR-based metabonomics research on plasma from patients with hyperlipidemia with OPLS-DA [J]. J Pract Med(实用医学杂志), 2010, 26(21): 3874-3877.
- [17] MAMTIMIN B, UPUR H. Plasma metabonomics analysis of tumor patients of phlegm-states syndrome [J]. Chin J Integrat Tradit West Med(中国中西医结合杂志), 2011, 31(4): 492-495.
- [18] YAN X H, MAMTIMIN B, LI C Y, et al. Plasma metabonomics study on the asthma diagnosed as Shenxutanyu syndrome in traditional Chinese medicine with NMR [J]. J Xinjiang Med Univ(新疆医科大学学报), 2010, 33(3): 228-233.

收稿日期: 2015-03-18