

# 甘薯提取物对结直肠癌荷瘤鼠粪便炎症相关指标的影响

张晓鹏, 杨 春, 陈思嘉, 陈博文, 李鹏高\*

(首都医科大学公共卫生学院, 环境毒理学北京市重点实验室, 北京 100069)

**摘要: 目的** 探索甘薯提取物对结直肠癌荷瘤裸鼠粪便中钙卫蛋白(calprotectin, CP)、乳铁蛋白(lactoferrin, LTF)、二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)及氨基酸含量的影响, 分析其可能的作用机理。**方法** 将 12 只雄性裸鼠随机分为 4 组: 空白对照组(CG1)、甘薯提取物组(CG2)、移植瘤模型组(TCG)、移植瘤模型 + 甘薯提取物组(TTG)。每组 3 只小鼠, 分别干预 1 个月, 在第 23、30 d 收集粪便检测 CP、LTF、DAO 和氨基酸含量。**结果** 实验第 23 d TCG 组 CP、LTF 和 DAO 含量即均显著高于 CG1 组( $P < 0.05$ ), TTG 组 LTF 和 DAO 含量比 TCG 组显著降低( $P < 0.05$ ); 到第 30 d 时, TTG 组 CP 和 LTF 含量显著低于 TCG 组( $P < 0.05$ ), 但 DAO 显著升高( $P < 0.05$ )。此外, CG2 组动物粪便中 16 种氨基酸含量比 CG1 组均升高( $P < 0.05$ ); TTG 组除缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、酪氨酸和组氨酸外其余氨基酸含量比 TCG 组均升高( $P < 0.05$ )。**结论** 经口摄入甘薯提取物有助于改善荷瘤鼠体内的氨基酸代谢失衡状况, 显著降低肠道炎症介质 CP 和 LTF 的水平, 并提高 DAO 含量, 有助于保护肠粘膜的完整性和抑制肿瘤。

**关键词:** 甘薯提取物; 结直肠癌; 粪便; 炎症; 氨基酸; 钙卫蛋白; 乳铁蛋白; 二胺氧化酶

## Effects of sweet potato extract on the inflammation-related fecal indexes in mice transplanted with colorectal cancer

ZHANG Xiao-Peng, YANG Chun, CHEN Si-Jia, CHEN Bo-Wen, LI Peng-Gao\*

(Beijing Key Laboratory of Environmental Toxicology, School of Public Health, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

**ABSTRACT: Objective** To explore the effect of sweet potato extract on calprotectin (CP), lactoferrin (LTF), diamine oxidase (DAO) and amino acid content in the stool of colorectal cancer-bearing nude mice, and analyze its possible mechanism. **Methods** Twelve male nude mice were randomly divided into four groups: blank control group (CG1), sweet potato extract group (CG2), transplanted tumor model group (TCG), transplanted tumor model + sweet potato extract group (TTG). Three mice in each group were intervened for one month, and feces were collected on days 23 and 30 to detect CP, LTF, DAO and amino acid content. **Results** The contents of CP, LTF and DAO in the TCG group on the 23rd day of the experiment were significantly higher than those in the CG1 group ( $P < 0.05$ ), and the contents of LTF and DAO in the TTG group were significantly lower than those in the TCG group ( $P < 0.05$ );

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81573128, 81703216)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (81573128, 81703216)

\*通讯作者: 李鹏高, 博士, 副教授, 主要研究方向为营养与食品卫生。E-mail: penggao@ccmu.edu.cn

\*Corresponding author: LI Peng-Gao, Ph.D, Associate Professor, School of Public Health, Capital Medical University, Beijing 100069, China. E-mail: penggao@ccmu.edu.cn

on the 30th day, the contents of CP and LTF in TTG group were significantly lower than those in TCG group ( $P < 0.05$ ), but DAO was significantly increased ( $P < 0.05$ ). In addition, the content of 16 amino acids in animal feces of the CG2 group was higher than that of the CG1 group ( $P < 0.05$ ); the amino acid content of the TTG group except valine, methionine, isoleucine, tyrosine and histidine was higher than that of TCG groups ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Oral intake of sweet potato extract can improve the imbalance of amino acid metabolism in tumor-bearing mice, significantly reduce the levels of intestinal inflammatory mediators CP and LTF, and increase the content of DAO, which can help to protect the integrity of intestinal mucosa and inhibit tumor.

**KEY WORDS:** sweet potato extract; colorectal cancer; feces; inflammation; amino acid; calprotectin; lactoferrin; diamine oxidase

## 1 引言

国际癌症研究中心(international agency for research on cancer, IARC)发布的 2018 年全球癌症报告显示, 结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是全球肿瘤发病率和死亡率排名的第 3 位和第 2 位, 新发病例数约 180 万, 新增死亡病例数超 88 万<sup>[1]</sup>。我国 CRC 发病率自上世纪 70 年代以来上升趋势明显, 2014 年全国新发病例达 79180 例, 是恶性肿瘤发病排名的第 3 位<sup>[2,3]</sup>。目前, CRC 的治疗效果不佳, 许多国家五年生存率达不到 30%, 并存在放化疗药物耐药及复发率高等问题<sup>[4,5]</sup>。

研究表明, 长期炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)对 CRC 的发生发展有促进作用<sup>[6]</sup>。IBD 患者中粪便钙卫蛋白(calprotectin, CP)、乳铁蛋白(lactoferrin, LTF)等炎症介质浓度升高, 而具有解毒作用的二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)浓度最终往往降低<sup>[7-9]</sup>。CP 和 LTF 主要来源于中性粒细胞, 部分来源于巨噬细胞和单核细胞, 具有免疫调节和抗炎症等作用。Sipponen 等<sup>[10]</sup>通过抗-TNF- $\alpha$  治疗克罗恩病(Crohn's disease, CD)发现, 与治疗前相比, 治疗后粪便 CP 和 LTF 浓度明显降低。这些炎症因子可作为粘膜愈合的有用替代标记物, 对预后评价具有重要意义。DAO 是骨髓、肠粘膜等分裂旺盛组织中分泌的催化组胺、尸胺、腐胺等有毒生物胺降解的细胞内酶<sup>[11]</sup>。肠内 DAO 主要由成熟的肠粘膜上皮细胞分泌, 对肠粘膜有修复和保护作用。Honzawa 等<sup>[12]</sup>发现缓解期的 UC 和 CD 患者血清 DAO 活性均降低。

CRC 患者常存在营养不良现象, 补充蛋白质和氨基酸不仅可改善营养状况, 还能减轻炎症水平, 提高生存质量<sup>[13-15]</sup>。此外, 某些氨基酸, 如甘氨酸、谷氨酸、精氨酸还具有减轻炎症反应<sup>[16-18]</sup>、提高免疫功能作用<sup>[19,20]</sup>。Tsune 等<sup>[16]</sup>发现甘氨酸可以通过抑制炎症细胞因子和趋化因子的诱导来预防化学性结肠炎, 在炎症性肠病的治疗中具有重要价值; Kang 等<sup>[19]</sup>的 meta 分析显示, 与对照组相比, 精氨酸组 CD<sup>4+</sup> T 细胞的增殖显著增加, 感染并发症的发生率显著降低, 认为 L-精氨酸通过影响机体免疫应答和炎症

反应在免疫调节中发挥重要作用。

甘薯(sweet potato)蛋白的氨基酸种类齐全, 含量丰富, 还具有抗氧化<sup>[21]</sup>、抗癌<sup>[22]</sup>等多种生物活性, 在体外对结肠癌、胰腺癌、乳腺癌、肝癌等多种癌细胞具有显著抑制活性<sup>[22-24]</sup>。但目前并不清楚经口摄入甘薯蛋白后对消化道氨基酸吸收、利用的影响及其与肠道炎症反应及肿瘤发展之间的关系。因此, 本实验观察了经口摄入富含氨基酸的甘薯提取物对 CRC 荷瘤鼠粪便中各种氨基酸水平的影响及随时间变化规律, 并观察了其 CP、LTF 及 DAO 含量等肠粘膜炎症和屏障功能相关指标的改善作用, 以期为更全面的认识甘薯提取物的抗癌作用机制提供实验证据。

## 2 材料与方法

### 2.1 材料

人结肠癌(*LoVo*)细胞(中国医学科学院肿瘤细胞库); Balb/c 裸鼠(4~6 周龄, 雄性, 北京维通利华公司); 动物饲料(批号: 1030SH11040157C, 斯贝福(北京)生物技术有限公司); 甘薯提取物[河南兰考大象现代农业公司(郑州)提供, 其营养成分和氨基酸组成经北京市营养源研究所国家认证实验室检测]; 浓盐酸(优级纯)、苯酚(分析纯)(北京化学试剂公司); 混合氨基酸标准液(日本 Wako 公司); CP、LTF、DAO 酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(上海生工生物工程有限公司); L-8900 氨基酸分析仪(日本日立公司)。

### 2.2 动物分组及处理

本实验方案经首都医科大学动物实验伦理委员会批准(编号: AEEI-2016-018)。将 12 只动物饲养于首都医科大学动物中心 SPF 级动物房。适应一周后按体重随机分为 4 组: ①空白对照组(CG1): 正常饮食、饮水, 不接种癌细胞; ②甘薯提取物组(CG2): 正常饮食, 不接种癌细胞, 从实验第 1 d 经饮水给予 1 g/kg BW 的甘薯提取物(上午连续 3 小时), 连续给予 1 个月; ③移植瘤模型组(TCG): 于实验第 1 d 腹腔接种  $2.5 \times 10^7$  个/mL 的 *LoVo* 细胞混悬液 0.2 mL, 后正常饮食、饮水; ④移植瘤模型 + 甘薯提取物组(TTG): 于实

验第 1 d 接种癌细胞同时经饮水给予甘薯提取物干预 1 个月, 方式同 CG2 组。

### 2.3 粪便样品采集

在动物分组后采用无菌操作手法收集所有动物的基线(第 0 d)粪便样品, 存放在 1.5 mL 无菌离心管中( $\geq 3$  粒/管, 3 管/只), 分别于实验第 23、30 d 再收集一次粪便,  $-80^{\circ}\text{C}$  保存备检。

### 2.4 样品检测

#### 2.4.1 营养成分和氨基酸组成分析

将 300 mL 甘薯提取物样品送到北京市营养源研究所国家认证实验室根据 GB/Z 21922-2008《食品营养成分基本术语》<sup>[25]</sup>检测能量、碳水化合物; GB 5009, 3-2016《食品安全国家标准 食品中水分的测定》<sup>[26]</sup>(第一法)检测水分; GB 5009, 4-2016《食品安全国家标准 食品中灰分的测定》<sup>[27]</sup>(第一法)检测灰分; GB 5009, 5-2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》<sup>[28]</sup>(第一法)检测蛋白质; GB 5009, 6-2016《食品安全国家标准 食品中脂肪的测定》<sup>[29]</sup>(第二法)检测脂肪; GB 5009. 88-2014《食品安全国家标准 食品中膳食纤维的测定》<sup>[30]</sup>(第一法)检测总膳食纤维; 根据 GB/T 5009.124-2016《食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定》<sup>[31]</sup>检测氨基酸含量(包括粪便样品)。

#### 2.4.2 粪便炎症因子检测

(1)CP: 采用双抗体一步夹心法 ELISA 检测试剂盒。往预先包被 CP 抗体的包被微孔中, 依次加入标本、标准品、辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的检测抗体, 经过温育并彻底洗涤。用底物四甲基联苯胺(tetralilylethylbenzidine, TMB)显色, TMB 在过氧化物酶的催化下转化成蓝色, 并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的 CP 呈正相关。用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度(optical density, OD 值), 计算样品浓度。

(2)LTF: 往预先包被 LTF 抗体的包被微孔中, 依次加入标本、标准品、HRP 标记的检测抗体, 经过温育并彻底洗涤。用底物 TMB 显色, TMB 在过氧化物酶的催化下转化成蓝色, 并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的 LTF 呈正相关。在 450 nm 波长下测定 OD 值, 计算样品浓度。

(3)DAO: 往预先包被 DAO 抗体的包被微孔中, 依次加入标本、标准品、HRP 标记的检测抗体, 经过温育并彻底洗涤。用底物 TMB 显色, TMB 在过氧化物酶的催化下转化成蓝色, 并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的 DAO 呈正相关。在 450 nm 波长下测定 OD 值, 计算样品浓度。

### 2.5 统计方法

采用 SPSS 20.0 统计分析软件进行统计分析, 数据以  $(\bar{x} \pm s)$  表示, 多组之间的比较使用单因素方差分析, 两两

比较采用 SNK 法<sup>[32]</sup>, 以  $P < 0.05$  为有统计学显著性意义。

## 3 结果与分析

### 3.1 动物体重、成瘤情况和一般状况观察以及甘薯提取物摄入量

实验期间全部动物饮食、饮水正常。无腹泻、便血等情况。实验期间动物的体重增长曲线(图 1)与饮水量(甘薯提取物)变化曲线(图 2)相一致。TCG 与 TTG 2 组均成瘤, 建模成功, 成瘤情况见图 3。在实验期间的各时间点, 虽然各组体重的差异均没有统计学意义, 但可以看出从第 20 d 开始, TTG 组的体重均超过 TCG 组, 一直持续到第 30 d, 说明补充提取物有助于减轻荷瘤引起的体重下降。

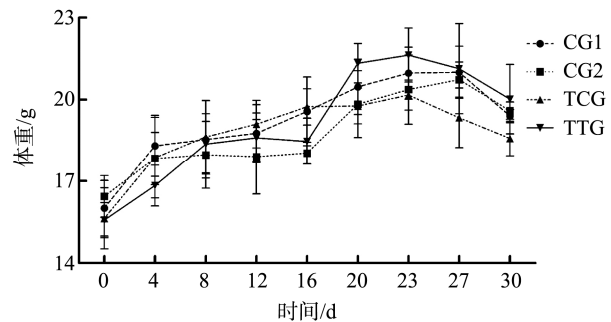


图 1 小鼠体重变化

Fig.1 Body weight of the mice

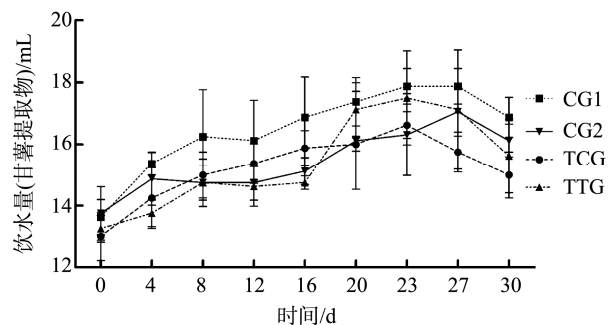
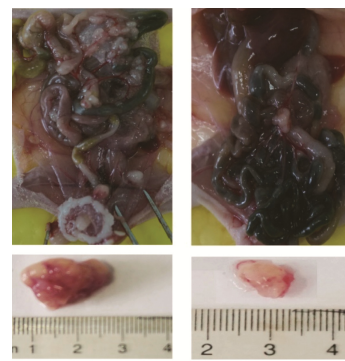


图 2 甘薯提取物摄入量(饮水量)

Fig.2 Intake of the sweet potato extract(water consumption)



TCG TTG

图 3 小鼠成瘤情况

Fig.3 Tumor burden

### 3.2 甘薯提取物的营养成分和氨基酸组成

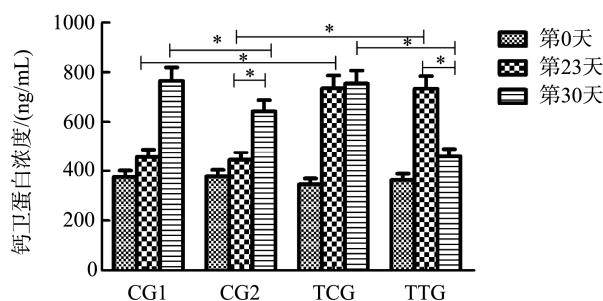
本实验所用甘薯提取物总能量含量为 1062 J/100 g, 碳水化合物含量为 54 g/100 g, 蛋白质为 6.30 g/100 g, 灰分为 6.50 g/100 g, 总膳食纤维为 4.17 g/100 g, 脂肪为 0.10 g/100g, 水分 28.90 g/100 g。若将提取物中的水分和碳水化合物(甘薯淀粉)视作辅料, 其主要成分为蛋白质和氨基酸。表 1 显示其 16 种氨基酸含量(g/100g), 其中含量最高的是天冬氨酸(0.930 g/100 g)和谷氨酸(0.480 g/100 g), 含量最少的是赖氨酸(0.044 g/100 g)。

### 3.3 粪便炎症介质

#### 3.3.1 钙卫蛋白

如图 4 显示, 实验第 23 d 时, 与 CG1 组相比, TCG 组 CP 含量明显升高( $P < 0.05$ ), 表明荷瘤导致肠道炎症反应水平升高。第 30 d 时, CG2 组 CP 含量比 CG1 组明显降低( $P < 0.05$ ), 表明甘薯提取物对降低健康动物肠道炎症反应水平也有作用。

实验第 23 d, 与 TCG 组相比, TTG 组 CP 含量降低不明显( $P > 0.05$ ), 但到了第 30 d, 则明显降低( $P < 0.05$ )。与第 23 d 的 TTG 组相比也明显降低( $P < 0.05$ ), 表明补充甘薯提取物降低荷瘤引起肠道炎症反应水平的作用比较强。



注: \*代表两组相比有统计学差异( $P < 0.05$ )。

图 4 粪便 CP 浓度

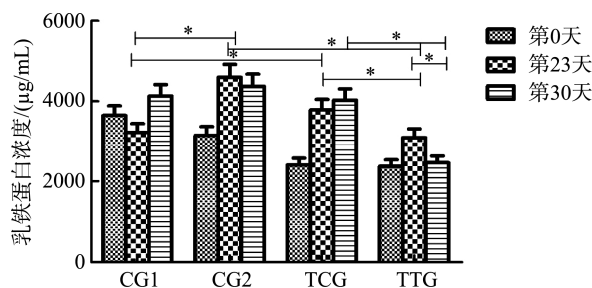
Fig.4 Fecal CP concentration.

#### 3.3.2 乳铁蛋白

如图 5 显示, 实验第 23 d, 相比 CG1 组, TCG 组 LTF 含量明显升高( $P < 0.05$ ), 提示荷瘤导致肠道炎症反应水平升高。

实验第 30 d, TTG 组 LTF 含量比 TCG 组显著降低

( $P < 0.05$ ), 且与实验第 23 d 的 TTG 组相比也明显降低( $P < 0.05$ ), 表明补充甘薯提取物可显著降低由于移植瘤诱发肠道炎症反应水平。



注: \*代表两组相比有统计学差异( $P < 0.05$ )。

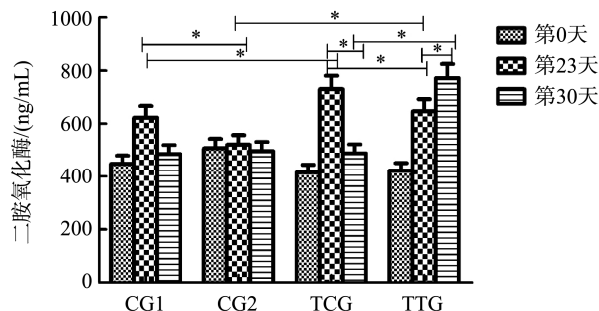
图 5 粪便 LTF 浓度

Fig.5 Fecal LTF concentration.

#### 3.3.3 二胺氧化酶

如图 6 所示, 实验第 23 d 时 CG2 组 DAO 含量比 CG1 组明显降低; 实验第 30 d 时 CG2 组比 CG1 组也没有显著差异( $P > 0.05$ ); TCG 组比 CG1 组在第 23 d DAO 含量明显升高( $P < 0.05$ ), 说明荷瘤导致对粪便中二胺类物质的分解代谢需求增加;

在实验第 30 d, TTG 组 DAO 含量比第 23 d 的 TTG 组以及同天 TCG 组均明显升高( $P < 0.05$ ); 表明补充甘薯提取物有利于降低荷瘤引起的肠粘膜损伤和通透性升高, 增强对二胺类毒物的解毒作用。



注: \*代表两组相比有统计学差异( $P < 0.05$ )。

图 6 粪便 DAO 浓度

Fig.6 Fecal DAO concentration.

表 1 甘薯提取物的氨基酸组成(g/100 g)

Table 1 Amino acid composition of the sweet potato extract(g/100 g)

氨基酸	含量	氨基酸	含量	氨基酸	含量	氨基酸	含量
天门冬氨酸	0.930	甘氨酸	0.110	异亮氨酸	0.140	赖氨酸	0.044
苏氨酸	0.150	丙氨酸	0.220	亮氨酸	0.200	组氨酸	0.048
丝氨酸	0.160	缬氨酸	0.220	酪氨酸	0.064	精氨酸	0.055
谷氨酸	0.480	蛋氨酸	0.045	苯丙氨酸	0.250	脯氨酸	0.081

### 3.4 粪便氨基酸

小鼠粪便氨基酸的检测结果如表 2 所示:

#### 3.4.1 实验第 23 d

与 CG1 组相比, CG2 组 16 种氨基酸含量均升高 ( $P<0.05$ ); TCG 组有 14 种氨基酸含量的升高不显著 ( $P>0.05$ ), 但天冬氨酸和谷氨酸含量仍然明显升高 ( $P<0.05$ )。

与 TCG 组相比, TTG 组谷氨酸、缬氨酸、蛋氨酸和组氨酸升高不明显 ( $P>0.05$ ), 提示虽然荷瘤导致这些氨基酸的需求增加, 但补充甘薯提取物可满足机体的需要。天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、甘氨酸、丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、精氨酸和脯氨酸含量均明显升高 ( $P<0.05$ ), 提示荷瘤没有导致动物对这些氨基酸的需求显著升高。

#### 3.4.2 实验第 30 d

与 CG1 组相比, CG2 组 16 种氨基酸含量均明显升高 ( $P<0.05$ ), 但 TCG 组天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、甘氨酸、丙氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、组氨酸含量明显下降 ( $P<0.05$ ), 提示荷瘤导致动物对这 6 种氨基酸的消耗显著增加; 谷氨

酸、苯丙氨酸和精氨酸含量下降不明显 ( $P>0.05$ )。而缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸和脯氨酸含量明显升高 ( $P<0.05$ )。

与 TCG 组相比, TTG 组缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、组氨酸和脯氨酸升高不明显 ( $P>0.05$ ), 表明虽然荷瘤导致动物对这些氨基酸的需求增加, 但补充甘薯提取物可满足机体的需要。天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸和精氨酸含量均明显升高 ( $P<0.05$ ), 表明移植瘤没有导致动物对这些氨基酸的需求升高。

以上结果表明, 荷瘤导致动物机体对天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、组氨酸、精氨酸和脯氨酸需求明显增加, 而缬氨酸、异亮氨酸和赖氨酸没有增加, 甘薯提取物对谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸的补充效果最好。充分补充了天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、精氨酸和脯氨酸, 但对蛋氨酸的消耗补充不足。

表 2 小鼠粪便氨基酸含量(g/100 g) ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Mouse feces amino acid content

氨基酸	第 23 d				第 30 d			
	CG1	CG2	TCG	TTG	CG1	CG2	TCG	TTG
Asp(天冬氨酸)	0.563±0.030 <sup>a</sup>	1.026±0.054 <sup>b,c</sup>	0.744±0.039 <sup>b,c</sup>	0.937±0.050 <sup>c,f,o</sup>	0.594±0.031 <sup>a,h,j</sup>	0.638±0.034 <sup>d,i,k</sup>	0.526±0.028 <sup>f,i,l</sup>	0.693±0.037 <sup>g,l,p</sup>
Thr(苏氨酸)	0.305±0.010 <sup>a</sup>	0.485±0.016 <sup>b,c</sup>	0.314±0.011 <sup>a,c</sup>	0.405±0.014 <sup>d,f,o</sup>	0.346±0.012 <sup>b,h,j</sup>	0.277±0.009 <sup>d,i,k</sup>	0.277±0.009 <sup>f,i,l</sup>	0.316±0.011 <sup>k,m,p</sup>
Ser(丝氨酸)	0.312±0.013 <sup>a</sup>	0.473±0.020 <sup>b,c</sup>	0.327±0.014 <sup>a,c</sup>	0.427±0.018 <sup>d,f,o</sup>	0.363±0.015 <sup>b,h,j</sup>	0.276±0.012 <sup>d,i,k</sup>	0.284±0.012 <sup>f,i,l</sup>	0.334±0.014 <sup>k,m,p</sup>
Glu(谷氨酸)	0.618±0.064 <sup>a</sup>	1.203±0.125 <sup>b,c</sup>	0.906±0.094 <sup>b,c</sup>	1.047±0.109 <sup>c,e,o</sup>	0.623±0.064 <sup>a,h,j</sup>	0.795±0.082 <sup>d,i,k</sup>	0.597±0.062 <sup>f,i,l</sup>	0.819±0.085 <sup>g,l,p</sup>
Gly(甘氨酸)	0.363±0.029 <sup>a</sup>	0.578±0.046 <sup>b,c</sup>	0.415±0.033 <sup>a,c</sup>	0.572±0.045 <sup>b,f,o</sup>	0.424±0.033 <sup>a,h,j</sup>	0.352±0.028 <sup>d,i,k</sup>	0.343±0.027 <sup>f,i,l</sup>	0.428±0.034 <sup>k,m,p</sup>
Ala(丙氨酸)	0.471±0.022 <sup>a</sup>	0.664±0.031 <sup>b,c</sup>	0.427±0.020 <sup>a,c</sup>	0.588±0.027 <sup>d,f,o</sup>	0.571±0.026 <sup>b,h,j</sup>	0.381±0.018 <sup>d,i,k</sup>	0.401±0.018 <sup>e,i,l</sup>	0.479±0.022 <sup>k,m,p</sup>
Val(缬氨酸)	0.346±0.050 <sup>a</sup>	0.564±0.082 <sup>b,c</sup>	0.382±0.055 <sup>a,c</sup>	0.492±0.071 <sup>c,e,o</sup>	0.095±0.014 <sup>b,h,j</sup>	0.358±0.052 <sup>d,i,k</sup>	0.317±0.046 <sup>e,i,l</sup>	0.381±0.055 <sup>g,l,o</sup>
Met(蛋氨酸)	0.095±0.011 <sup>a</sup>	0.171±0.021 <sup>b,c</sup>	0.108±0.013 <sup>a,c</sup>	0.129±0.015 <sup>d,e,o</sup>	0.401±0.048 <sup>b,h,j</sup>	0.098±0.012 <sup>d,i,k</sup>	0.098±0.012 <sup>e,i,l</sup>	0.105±0.013 <sup>g,l,o</sup>
Ile(异亮氨酸)	0.245±0.026 <sup>a</sup>	0.433±0.047 <sup>b,c</sup>	0.271±0.029 <sup>a,c</sup>	0.360±0.039 <sup>c,f,o</sup>	0.119±0.013 <sup>b,h,j</sup>	0.264±0.029 <sup>d,i,k</sup>	0.244±0.026 <sup>e,i,l</sup>	0.292±0.032 <sup>g,l,o</sup>
Leu(亮氨酸)	0.484±0.019 <sup>a</sup>	0.770±0.031 <sup>b,c</sup>	0.529±0.021 <sup>a,c</sup>	0.661±0.026 <sup>d,f,o</sup>	0.287±0.011 <sup>b,h,j</sup>	0.483±0.019 <sup>d,i,k</sup>	0.448±0.018 <sup>f,i,l</sup>	0.531±0.021 <sup>k,m,p</sup>
Tyr(酪氨酸)	0.172±0.014 <sup>a</sup>	0.297±0.025 <sup>b,c</sup>	0.163±0.014 <sup>a,c</sup>	0.221±0.019 <sup>d,f,o</sup>	0.536±0.045 <sup>b,h,j</sup>	0.176±0.015 <sup>d,i,k</sup>	0.155±0.013 <sup>e,i,l</sup>	0.189±0.016 <sup>g,l,o</sup>
Phe(苯丙氨酸)	0.270±0.010 <sup>a</sup>	0.396±0.014 <sup>b,c</sup>	0.275±0.010 <sup>a,c</sup>	0.313±0.011 <sup>d,f,o</sup>	0.210±0.008 <sup>b,h,j</sup>	0.237±0.009 <sup>d,i,k</sup>	0.22±0.008 <sup>f,i,l</sup>	0.281±0.010 <sup>k,m,p</sup>
Lys(赖氨酸)	0.325±0.023 <sup>a</sup>	0.576±0.040 <sup>b,c</sup>	0.341±0.024 <sup>a,c</sup>	0.448±0.031 <sup>d,f,o</sup>	0.264±0.018 <sup>b,h,j</sup>	0.365±0.026 <sup>d,i,k</sup>	0.323±0.023 <sup>e,i,l</sup>	0.376±0.026 <sup>g,l,p</sup>
His(组氨酸)	0.118±0.013 <sup>a</sup>	0.183±0.021 <sup>b,c</sup>	0.121±0.014 <sup>a,c</sup>	0.145±0.017 <sup>c,e,o</sup>	0.387±0.044 <sup>b,h,j</sup>	0.117±0.013 <sup>d,i,k</sup>	0.111±0.013 <sup>e,i,l</sup>	0.125±0.014 <sup>g,l,o</sup>
Arg(精氨酸)	0.180±0.013 <sup>a</sup>	0.304±0.022 <sup>b,c</sup>	0.204±0.015 <sup>a,c</sup>	0.272±0.020 <sup>c,f,o</sup>	0.141±0.010 <sup>b,h,j</sup>	0.197±0.014 <sup>d,i,k</sup>	0.146±0.011 <sup>f,i,l</sup>	0.196±0.014 <sup>g,l,p</sup>
Pro(脯氨酸)	0.287±0.021 <sup>a</sup>	0.420±0.030 <sup>b,c</sup>	0.324±0.023 <sup>a,c</sup>	0.376±0.027 <sup>c,f,o</sup>	0.203±0.015 <sup>b,h,j</sup>	0.238±0.017 <sup>d,i,k</sup>	0.246±0.018 <sup>f,i,l</sup>	0.268±0.019 <sup>g,l,p</sup>

注: 上标字母相同表示 2 组没有差异 ( $P>0.05$ ), 字母不同表示有显著差异 ( $P<0.05$ ); a, b: 与第 23 d CG1 组比较; c, d: 与第 23 d CG2 组比较; e, f: 与第 23 d TCG 组比较; o, p: 与第 23 d TTG 组比较; h, i: 与第 30 d CG1 组比较; j, k: 与第 30 d CG2 组比较; l, m: 与第 30 d TCG 组比较。

## 4 讨论与结论

### 4.1 讨论

#### 4.1.1 甘薯提取物对 CP 与 LTF 的影响

本研究在实验第 23 d 时, 移植瘤模型(TCG)组 CP 和 LTF 含量比健康对照组 CG1 明显升高。但在第 30 d, 接受甘薯提取物干预的 TTG 组 CP 和 LTF 含量比 TCG 组均显著降低, 其中 LTF 在第 23 d 就显著下降, 表明甘薯提取物能降低荷瘤鼠肠道内炎症细胞的浸润, 降低炎症反应水平, 与 Mosli、Lehmann、Sipponen 等人的研究结果一致<sup>[8-10]</sup>。

#### 4.1.2 甘薯提取物对 DAO 的影响

本研究对粪便中 DAO 含量变化的测定结果提示: 首先, 通过甘薯提取物增加多种氨基酸的摄入并不会显著提高健康鼠肠道内对二胺类物质的分解代谢需求。其次, 与健康鼠相比, 荷瘤鼠对粪便中二胺类物质的分解代谢需求增加, 这可能主要是由于肿瘤生长造成的。可能是肿瘤组织分泌的一些物质导致肠粘膜的通透性增加, 屏障功能下降, 血液和肠绒毛膜上皮中的 DAO 进入肠道。已有研究发现, 当肠道有炎症或癌症等引发肠粘膜损伤时, 肠粘膜肥大细胞胞质颗粒内炎性介质组胺等释放, 肠粘膜上皮细胞分泌的 DAO 进入肠腔, 分解代谢组胺等, 防止组胺过量累积及进入血液循环<sup>[33-35]</sup>。此外, 荷瘤鼠肠道 DAO 升高也有可能是因为其肠道对蛋白质和氨基酸等含氮营养物质的代谢障碍所致, 总之, 不论其原因如何, 经口补充甘薯提取物之后可提高肠道内的 DAO 水平, 从而可以提升对各种有毒生物胺的解毒作用, 进而保护肠粘膜, 降低肠粘膜通透性, 减轻粘膜损伤。这种作用与 Nakao 等<sup>[36]</sup>发现的补充膳食纤维可以增加腹泻病人的血清 DAO 活性, 减轻腹泻等症状的结果一致。且 Chen、Namikawa 等<sup>[11, 37]</sup>均研究发现药物治疗后可显著改变胃肠道癌症患者血清 DAO 浓度, 改善胃肠蠕动。

#### 4.1.3 甘薯提取物对动物体内氨基酸代谢的影响

本研究还观察了经口补充甘薯提取物对动物体内氨基酸代谢的影响。结果显示: 甘薯提取物可以提高结肠癌腹腔荷瘤小鼠(大部分明显升高)和正常小鼠粪便中的氨基酸含量(全部明显升高)。其中, 升高最明显的是谷氨酸、甘氨酸和精氨酸。以往研究发现 CRC 组织中谷氨酸、甘氨酸、精氨酸含量比正常组织高, 表明其对这 3 种氨基酸的需求升高<sup>[38-40]</sup>。肿瘤组织对这 3 种氨基酸的高需求、高消耗有可能导致正常组织对这 3 种氨基酸的需求得不到满足, 进而导致机体缺乏这 3 种氨基酸。在本实验中, CRC 荷瘤裸鼠粪便中这 3 种氨基酸含量明显下降, 补充甘薯提取物后, 含量明显升高, 表明本实验所用剂量基本能满足荷瘤鼠整体对氨基酸营养的需求, 改善氨基酸营养缺乏状态, 有助于扶本固元, 增强对肿瘤的耐受性。同时, 也没有额外刺激肿瘤组织的生长。但更大量补充这 3 种氨基酸的效

果未知, 还需要更多的研究探索。此外, 值得注意的是, 谷氨酸是中枢神经系统内含量最高, 作用最广泛的兴奋性氨基酸, 可以形成谷氨酰胺, 后者在胃肠道中有多种作用, 可以刺激肠道隐窝细胞增殖, 并作为营养因子和肠粘膜保护因子<sup>[41, 42]</sup>。Viana Veloso 等<sup>[43]</sup>的前瞻性队列研究发现, 较高的膳食谷氨酸基线摄入可能与较低 CRC 风险相关。Lee 等<sup>[44]</sup>发现精氨酸对 CRC 患者的免疫功能有调节作用, 使用精氨酸结合白蛋白微球可以抑制肺癌细胞的增殖和转移<sup>[45, 46]</sup>。本实验结果与上述研究结果相一致, 均提示补充氨基酸有助于纠正荷瘤鼠体内的氨基酸失衡状态, 降低肠道炎症反应水平, 保护肠粘膜, 但具体的分子作用机制还有待于进一步研究。

### 4.2 结论

本研究首次发现经口摄入甘薯提取物有助于改善 CRC 荷瘤鼠体内氨基酸代谢失衡, 显著降低肠道 CP、LTF 等炎症介质的水平, 并提高 DAO 的含量, 进而发挥抑制肠道炎症反应保护肠粘膜作用。本研究探索了通过摄入甘薯提取物补充多种氨基酸对 CRC 荷瘤鼠肠道健康和肿瘤负担的影响, 为全面揭示其抗癌作用机理提供了更多的实验数据支持, 但还需要通过更多的研究才能充分阐明其深层次的作用机制。

### 参考文献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 21492.
- [2] Chen WQ, Sun KX, Zheng RS, *et al.* Report of Cancer Incidence and Mortality in Different Areas of China, 2014 [J]. *China Cancer*, 2018, 27(1): 1-14.
- [3] Wang XS. Epidemiological characteristics and prevention and control strategies of colorectal cancer in China and American [J]. *Chin J Colorec Dis (Elect Ed)*, 2017, 6(6): 447-453.
- [4] Allemani C, Weir HK, Carreira H. Global surveillance of cancer survival 1995-2009: analysis of individual data for 25, 676, 887 patients from 279 population-based registries in 67 countries (CONCORD-2) [J]. *Lancet*, 2015, 385(9972): 977-1010.
- [5] Lauby-Secretan B, Vilahur N, Bianchini F, *et al.* IARC perspective on colorectal cancer screening [J]. *New Engl J Med*, 2018, (378): 1734-1740.
- [6] Bopanna S, Ananthkrishnan AN, Kedia S, *et al.* Risk of colorectal cancer in Asian patients with ulcerative colitis: a systematic review and meta-analysis [J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2017, 2(4): 269-276.
- [7] Foell D, Wittkowski H, Roth J. Monitoring disease activity by stool analyses: from occult blood to molecular markers of intestinal inflammation and damage [J]. *Gut*, 2009, 58(6): 859-868.
- [8] Mosli MH, Zou G, Garg SK, *et al.* C-reactive protein, fecal calprotectin, and stool lactoferrin for detection of endoscopic activity in symptomatic inflammatory bowel disease patients: A systematic review and meta-analysis [J]. *Am J Gastroenterol*, 2015, 110(6): 802-819.
- [9] Lehmann FS, Trapani F, Fueglistaler I, *et al.* Clinical and histopathological

- correlations of fecal calprotectin release in colorectal carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(17): 4994.
- [10] Sipponen T, Savilahti E, Kärkkäinen P, *et al*. Fecal calprotectin, lactoferrin, and endoscopic disease activity in monitoring anti-TNF-alpha therapy for Crohn's disease [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2008, 14(10): 1392-1398.
- [11] Namikawa T. Plasma diamine oxidase activity is a useful biomarker for evaluating gastrointestinal tract toxicities during chemotherapy with oral fluorouracil anti-cancer drugs in patients with gastric cancer [J]. *Oncology*, 2012, 82(3): 147-152.
- [12] Honzawa Y, Nakase H, Matsuura M, *et al*. Clinical significance of serum diamine oxidase activity in inflammatory bowel disease: Importance of evaluation of small intestinal permeability [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2011, 17(2): 23-25.
- [13] Guadagni M, Biolo G. Effects of inflammation and/or inactivity on the need for dietary protein [J]. *Curr Opin Clin Nutri*, 2009, 12(6): 617-622.
- [14] Kim MK, Kim JH, Nam SJ, *et al*. Dietary intake of soy protein and tofu in association with breast cancer risk based on a case-control study [J]. *Nutr Cancer*, 2008, 60(5): 568-576.
- [15] Zahn KL, Wong G, Bedrick EJ, *et al*. Relationship of protein and calorie intake to the severity of oral mucositis in patients with head and neck cancer receiving radiation therapy [J]. *Head Neck*, 2012, 34(5): 655-662.
- [16] Tsune I, Ikejima K, Hirose M, *et al*. Dietary glycine prevents chemical-induced experimental colitis in the rat [J]. *Gastroenterology*, 2003, 125(3): 775-785.
- [17] 翟华珍, 程毅东. 复方谷氨酰胺联合双歧杆菌治疗炎症性肠病菌群失调疗效观察[J]. *华夏医学*, 2016, (2): 42-44.
- Zhai HZ, Cheng YD. Curative effect observation of compound glutamic acid combined bifidobacterium in treatment of dysbacteriosis of inflammatory bowel disease [J]. *Acta Med Sin*, 2016, (2): 42-44.
- [18] Pagire SH, Lee E, Pagire HS, *et al*. Design, synthesis and biological evaluation of glutamic acid derivatives as anti-oxidant and anti-inflammatory agents [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2018, 28(3): 529-532.
- [19] Kang K, Shu XL, Zhong JX, *et al*. Effect of L-arginine on immune function: A meta-analysis [J]. *Asia Pac J Clin Nutr*, 2014, 23(3): 351-359.
- [20] Jiang WD, Deng YP, Liu Y, *et al*. Dietary leucine regulates the intestinal immune status, immune-related signalling molecules and tight junction transcript abundance in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Aquaculture*, 2015, (444): 134-142.
- [21] 木泰华, 张苗. 甘薯蛋白及其酶解肽的营养代谢与生物活性[M]. 北京: 科学出版社, 2014.
- Mu TH, Zhang M. Nutritional metabolism and biological activity of sweet potato protein and its hydrolytic peptide [M]. Beijing: Science Press, 2014.
- [22] 李鹏高. 甘薯 sporamin 蛋白对结直肠癌的抑制作用研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(10): 3895-3900.
- Li PG. Research progress on the inhibition of colorectal cancer by sweet potato protein sporamin [J]. *J Food Saf Qual*, 2015, 6(10): 3895-3900.
- [23] 陈依依, 曾菊萍, 陈晓英, 等. Sporamin 对人胰腺癌细胞增殖、迁移和侵袭以及 Notch4 蛋白表达的影响[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2016, (6): 779-782.
- Chen YY, Zeng JP, Chen XY, *et al*. Effect of sporamin on expression of Notch4 protein in human pancreatic cancer cells and proliferation, migration, invasion of the tumor cells [J]. *Chin J Cancer Biother*, 2016, (6): 779-782.
- [24] 张燕燕, 木泰华, 张苗. 改性甘薯果胶对癌细胞增殖的影响[J]. *中国农业科学*, 2012, (9): 140-148.
- Zhang YY, Mu TH, Zhang M. Effects of modified sweet potato pectins on the proliferation of cancer cells [J]. *Sci Agric Sin*, 2012, (9): 140-148.
- [25] GB/Z 21922-2008 食品营养成分基本术语[S].
- GB/Z 21922-2008 Fundamental terminology and definition of nutritional component in foods [S].
- [26] GB 5009.3-2016 食品安全国家标准 食品中水分的测定[S].
- GB 5009.3-2016 National food safety standard-Determination of moisture in foods [S].
- [27] GB 5009.4-2016 食品安全国家标准 食品中灰分的测定[S].
- GB 5009.4-2016 National food safety standard-Determination of ash in foods [S].
- [28] GB 5009.5-2016 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定[S].
- GB 5009.5-2016 National food safety standard-Determination of protein in foods [S].
- [29] GB 5009.6-2016 食品安全国家标准 食品中脂肪的测定[S].
- GB 5009.6-2016 National food safety standard-Determination of fat in foods [S].
- [30] GB 5009.88-2014 食品安全国家标准 食品中膳食纤维的测定[S].
- GB 5009.88-2014 National food safety standard-Determination of dietary fiber in foods [S].
- [31] GB 5009.124-2016 食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定[S].
- GB 5009.124-2016 National food safety standard-Determination of amino acids in foods [S].
- [32] 钱俊, 陈平雁. 实验组与对照组比较的样本率多重比较方法的模拟研究[J]. *中国卫生统计*, 2008, (5): 54-57.
- Qian J, Chen PY. The experimental group compared with control group the sample rate of multiple comparison method of the simulation study [J]. *Chin Health Stat*, 2008, (5): 54-57.
- [33] Moriyama K, Kouchi Y, Morinaga H, *et al*. Diamine oxidase, a plasma biomarker in rats to GI tract toxicity of oral fluorouracil anti-cancer drugs [J]. *Toxicology*, 2006, 217(2-3): 233-239.
- [34] Hershko AY, Dranitzki Z, Ulmanski R, *et al*. Constitutive hyperhistaminaemia: A possible mechanism for recurrent anaphylaxis [J]. *Scand J Clin Lab Inv*, 2001, 61(6): 449-452.
- [35] Manzotti G, Breda D, Di GM, *et al*. Serum diamine oxidase activity in patients with histamine intolerance [J]. *Int J Immunopath Pharm*, 2016, 29(1): 105.
- [36] Nakao M, Ogura Y, Satake S, *et al*. Usefulness of soluble dietary fiber for the treatment of diarrhea during enteral nutrition in elderly patients [J]. *Nutrition*, 2002, 18(1): 35-39.
- [37] Chen C, Huang P, Lai L, *et al*. Dexmedetomidine improves gastrointestinal motility after laparoscopic resection of colorectal cancer [J]. *Medicine*, 2016, 95(29): e4295.
- [38] 蒋志雄. 精氨酸增强的肠外营养对晚期大肠癌化疗患者免疫功能及肠黏膜免疫屏障的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2015, (10): 2717-2719.
- Jiang ZX. Effect of arginine-enhanced parenteral nutrition on immune function and intestinal mucosal immune barrier in patients with advanced colorectal cancer chemotherapy [J]. *Chin J Gerontol*, 2015, (10): 2717-2719.
- [39] Chang HJ. Metabotropic glutamate receptor 4 expression in colorectal

- carcinoma and its prognostic significance [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(9): 3288–3295.
- [40] Jain M, Nilsson R, Sharma S, *et al*. Metabolite profiling identifies a key role for glycine in rapid cancer cell proliferation [J]. *Science*, 2012, 336(6084): 1040–1044.
- [41] Deberardinis RJ, Cheng T. Q's next: The diverse functions of glutamine in metabolism, cell biology and cancer [J]. *Oncogene*, 2010, 29(3): 313.
- [42] Turowski GA, Rashid Z, Hong F, *et al*. Glutamine modulates phenotype and stimulates proliferation in human colon cancer cell lines [J]. *Cancer Res*, 1994, 54(22): 5974–5980.
- [43] Viana VGG, Franco OH, Ruiter R, *et al*. Baseline dietary glutamic acid intake and the risk of colorectal cancer: The Rotterdam study [J]. *Cancer*, 2016, 122(6): 899–907.
- [44] Lee HY, Mohammed KA, Goldberg EP, *et al*. Arginine-conjugated albumin microspheres inhibits proliferation and migration in lung cancer cells [J]. *Am J Cancer Res*, 2013, 3(3): 266–277.
- [45] 李竟长, 倪秉强, 蒋志雄, 等. 精氨酸增强的肠外营养对晚期大肠癌化疗患者免疫功能及肠黏膜免疫屏障的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2015, (10): 2717–2719.
- Li JC, Ni BQ, Jiang ZX, *et al*. Effect of arginine enhanced parenteral nutrition on immune function and intestinal mucosal immune barrier in patients with advanced colorectal cancer undergoing chemotherapy [J]. *Chin J Gerontol*, 2015, (10): 2717–2719.
- [46] 黄娟妮, 林绪涛, 梁丽英, 等. 炎症微环境下代谢基因 ARG1 对结直肠癌细胞增殖的影响研究[J]. *消化肿瘤杂志(电子版)*, 2015, 7(1): 33–37
- Huang JN, Lin XT, Liang LL, *et al*. Effect of metabolism gene ARG1 on proliferation of colorectal cancer cell lines under inflammatory microenvironment [J]. *J Digest Oncol(Elect Ver)*, 2015, 7(1): 33–37.

(责任编辑: 李磅礴)

## 作者简介



张晓鹏, 硕士, 主要研究方向为营养与食品卫生。

E-mail: zxp18800116359@163.com



李鹏高, 博士, 副教授, 主要研究方向为营养与食品卫生。

E-mail: penggao@ccmu.edu.cn