

- Immunity, and ALS, Part II: Immune-modulating therapies [J]. Muscle Nerve, 2018.
- [20] Meucci N, Nobile-Orazio E, Scarlato G. Intravenous immunoglobulin therapy in amyotrophic lateral sclerosis [J]. J Neurol, 1996, 243 (2): 117-120.
- [21] Fiala M, Mizwicki MT, Weitzman R, et al. Tocilizumab infusion therapy normalizes inflammation in sporadic ALS patients [J]. Am J Neurodegener Dis, 2013, 2 (2): 129-139.
- [22] Scott S, Kranz JE, Cole J, et al. Design, power, and interpretation of studies in the standard murine model of ALS [J]. Amyotroph Lateral Scler, 2008, 9 (1): 4-15.
- [23] Potenza RL, De Simone R, Armida M, et al. Fingolimod: A Disease-Modifier Drug in a Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis [J]. Neurotherapeutics, 2016, 13 (4): 918-927.
- [24] Lee MS, Kim YJ. Signaling pathways downstream of pattern-recognition receptors and their cross talk [J]. Annu Rev Biochem, 2007, 76: 447-480.
- [25] De Paola M, Mariani A, Bigini P, et al. Neuroprotective effects of toll-like receptor 4 antagonism in spinal cord cultures and in a mouse model of motor neuron degeneration [J]. Mol Med, 2012, 18: 971-981.
- [26] Fellner A, Barhum Y, Angel A, et al. Toll-Like Receptor-4 Inhibitor TAK-242 Attenuates Motor Dysfunction and Spinal Cord Pathology in an Amyotrophic Lateral Sclerosis Mouse Model [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18 (8).
- [27] Trias E, Ibarburu S, Barreto-Nunez R, et al. Post-paralysis tyrosine kinase inhibition with masitinib abrogates neuroinflammation and slows disease progression in inherited amyotrophic lateral sclerosis [J]. J Neuroinflammation, 2016, 13 (1): 177.

生酮饮食抗胶质瘤的作用机制研究

廖泉¹, 邓杰¹, 廖凌骁², 刘小飞¹, 廖勇仕^{1*}

1. 南华大学附属第二医院神经外科, 湖南 衡阳 421001

2. 南华大学药学与生物科学院, 湖南 衡阳 421001

摘要:生酮饮食具有抗胶质瘤作用, 近年来受到学者们广泛关注。本文阐述了生酮饮食通过产生大量酮体替代葡萄糖为机体供能, 改变了肿瘤患者体内的能量代谢方式, 利用肿瘤细胞高度依赖葡萄糖、线粒体缺乏酮体代谢相关酶等特征, 可能通过限制葡萄糖供应、降低胰岛素和胰岛素样生长因子水平、提高抗氧化应激能力、抑制炎症反应及增强抗肿瘤免疫等多种途径发挥抗肿瘤作用, 这些机制为生酮饮食治疗胶质瘤提供了理论依据。

关键词:生酮饮食; 胶质瘤; 作用机制

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.2018.06.026

胶质瘤是最常见、最难治的原发性中枢神经系统肿瘤^[1], 具有恶性程度高、侵袭性强等特点。传统的治疗胶质瘤方法, 包括外科手术、化疗、放射治疗等, 受到适应症、禁忌症、副作用及其他因素的限制, 总体疗效差, 患者预后不佳, 据报导, 胶质瘤的中位生存期仅 1.5 年, 5 年生存率不足 5%^[2], 正是由于胶质瘤生存率低, 积极探索胶质瘤的发病机制与寻找治疗胶质瘤的新措施刻不容缓。生酮饮食 (ketogenic diets, KD) 最早用于治疗儿童

难治性癫痫, 距今已将近百年历史了, 已充分证实了生酮饮食的有效性及其安全性。Warburg 效应的发现, 使得肿瘤代谢问题受到研究者广泛关注, 目前已有大量的研究证实生酮饮食具有抗胶质瘤作用。

1 生酮饮食的概述

生酮饮食 (ketogenic diet KD) 是限制碳水化合物、提高脂肪摄入和适量蛋白质摄入的饮食方式, 通过改变食物结构而升高血清酮体水平, 即提高乙酰乙酸 (acetoacetate)、3-羟基丁酸 (3-hydroxybu-

基金项目:湖南省自然科学基金面上项目 (2018JJ2353)

收稿日期:2018-09-25; **修回日期:**2018-12-03

作者简介:廖泉 (1991-), 男, 本科, 在读硕士, 主要从事脑肿瘤方面研究。

通信作者:廖勇仕 (1963-), 男, 本科, 主任医师, 主要从事脑外伤、脑出血、脑血管病及脑肿瘤方面研究。

tyrate) 和丙酮 (acetone) 水平,降低血清葡萄糖水平;当机体葡萄糖供应不足时,脂酸经 β -氧化分解供能,其最终产物主要是乙酰辅酶 A (acetyl-CoA),乙酰辅酶 A 在肝细胞的线粒体中转化为乙酰乙酸和 3-羟基丁酸;丙酮则是由乙酸乙酯自发脱羧而生成,量少且易经肺挥发,意义不大;酮体以乙酰辅酶 A 的形式通过柠檬酸循环和氧化磷酸化产生能量。因此,糖供应不足时,酮体可代替葡萄糖成为机体的主要能源。

目前实验应用的生酮饮食有经典生酮饮食 (classic ketogenic diet, CKD)、中链三酰甘油饮食 (medium-chain triglyceride diet, MCTD)、低血糖生成指数饮食 (low glycemic index treatment, LGIT) 和改良 Atkins 饮食 (modified Atkins diet, MAD) 等四种类型^[3]。不同类型的生酮饮食三大营养素的组成比例各不相同,但临床疗效相似。

生酮饮食应用于恶性肿瘤的治疗,基于 1956 年德国科学家 Otto Warburg 最先提出肿瘤细胞代谢理论:即使有氧气存在,肿瘤细胞也会将葡萄糖发酵成乳酸,这种所谓的有氧糖酵解是肿瘤细胞区别于正常细胞的最显著代谢特征,这种现象称为“Warburg 效应”^[4],它可以由肿瘤细胞基因突变和线粒体异常引起^[5]。肿瘤细胞除糖代谢异常外,目前还发现了肿瘤细胞脂质代谢和氨基酸代谢的异常改变^[6]。因此,很多学者认为肿瘤可以是一种代谢性疾病,肿瘤代谢的异常可以成为肿瘤治疗的新靶点,为生酮饮食应用于肿瘤的治疗提供了理论依据。

2 生酮饮食抗胶质瘤的作用机制

最初认为,生酮饮食是通过降低葡萄糖的利用率来发挥抗肿瘤的作用。随着研究的深入,发现生酮饮食可能通过多种不同的机制发挥作用,根据目前国际研究所取得的成果,其可能机制可概括为以下几个方面。

2.1 葡萄糖供应影响肿瘤的生长

限制碳水化合物的供应,可以使得葡萄糖代谢向脂代谢转化,从而阻断了 Warburg 效应。而胶质瘤细胞酮体代谢存在障碍^[7,8],使得脂代谢为主导的能量供应无法满足肿瘤的能量需求,从而选择性切断肿瘤细胞的能量供应,抑制肿瘤细胞的生长;Seyfried 等^[9]证实了肿瘤生长速度与血糖的水平密切相关,血糖水平越高,肿瘤生长越快,且高血糖与预后不良密切相关;Champ 等^[10]回顾性分析表明,在治疗多形性胶质母细胞瘤 (GBM) 期间,低血

糖水平可以改善患者预后。

葡萄糖的摄取是葡萄糖代谢的一个限速步骤,由葡萄糖转运蛋白 (glucose transporter GLUT) 介导。GLUT 在多种肿瘤中表达显著升高,这与肿瘤细胞获取葡萄糖并快速增殖密切相关^[11,12];在已知的 14 种 GLUT 亚型中, GLUT1 和 GLUT3 的高表达与胶质瘤发生、发展有关,与临床不良预后有相关性^[12,13];葡萄糖的过量利用为糖酵解提供了底物,为 Warburg 效应提供了燃料。此外, Jansen 等^[14]研究发现, KD 可以抑制转酮醇酶样蛋白 - 1 (transketolase-like, TKTL-1) 的表达, TKTL-1 已被证实是一种独立的促肿瘤标志物,可提高肿瘤细胞糖代谢水平,并与肿瘤增殖及转移密切相关。因此,人们认为 KD 在很大程度上是通过降低肿瘤细胞的糖酵解来发挥抗肿瘤作用的。

2.2 线粒体缺乏酮体代谢酶

酮体是 KD 过程中的一种重要能量来源,癌细胞能否有效的利用酮体,对细胞增殖至关重要。研究发现酮体代谢需要四种酶,包括:琥珀酰辅酶 A、3-氧酸辅酶 A 转移酶 1/2 (3-oxoacid-CoA transferase 1/2 OXCT1/2)、3-羟基丁酸脱氢酶 1 和 2 (3-hydroxybutyrate dehydrogenase 1/2 BDH 1/2); Maurer GD^[7]在大鼠海马神经元和 5 个胶质瘤细胞系中研究了主酮体 3-羟基丁酸的体外效应,证实胶质瘤细胞系在体外代谢酮体方面存在缺陷,可能与肿瘤细胞缺乏酮体代谢相关酶有关; Chang 等^[8]检测了 22 例恶性胶质瘤患者糖酵解及酮体代谢相关酶的表达,结果发现 17 例恶性胶质瘤线粒体中 BDH1 和 OXCT1 的表达显著降低。两者研究表明: KD 具有抗肿瘤作用,与肿瘤细胞线粒体中缺乏酮体代谢酶密切相关。

2.3 降低胰岛素和胰岛素样生长因子水平

研究发现,高血糖水平会刺激胰腺细胞分泌胰岛素,循环血中高浓度的胰岛素水平会增加恶性肿瘤发生的风险^[15]。血清中的高浓度的胰岛素样生长因子 - 1 (insulin-like growth factor IGF-1),与胶质瘤发病有关^[16]; IGF-1 与其受体结合后可激活 RAS/MAPK 通路和 PI3K-Akt-mTOR 信号通路,参与肿瘤细胞的增殖、血管生成和迁移^[17];胰岛素还能诱导血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor VEGF) 的表达^[18],血管生成是肿瘤细胞的生长所必须的,在肿瘤细胞增殖与迁移过程中起重要作用,生酮饮食通过限制葡萄糖的摄入而降低血清中胰岛素水平,血液中的低血糖水平也可抑制

IGF-1 和其他一些促进肿瘤生长的因子的生成,并抑制相关信号通路的激活,达到抑制肿瘤的生长^[9,19]。KD 可能通过降低胰岛素和 IGF-1 水平,抑制胰岛素相关信号通路来发挥抗癌作用。

2.4 增加肿瘤细胞的氧化应激

肿瘤细胞几乎均存在细胞内氧化-还原体系失衡,这可能与肿瘤细胞线粒体损伤密切相关,导致活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)产生增加^[20]。在正常组织中, KD 造成的酮血症可通过降低 ROS 的产生,同时增强内源性抗氧化能力来保护机体,减少氧化应激损伤^[21]。研究表明,酮体代谢促进了辅酶 Q 在电子传递链中的氧化,从而减少了过氧化物阴离子的产生,而这些都是许多活性氧产生的重要前体^[22]。酮体代谢还可导致线粒体中的 NAD 和细胞质中的 NADP 偶联减少,增加还原型谷胱甘肽的生成(Glutathione GSH),发挥抗氧化作用^[23]。肿瘤细胞由于线粒体损伤,氧化磷酸化时可能导致更多电子漏出,使超氧阴离子容易获得电子而产生过多的 ROS,引起肿瘤细胞自身的氧化损伤^[24]。因此, KD 可以保护正常组织,免受氧化应激损伤,而使肿瘤细胞中 ROS 产生增加,发挥抗肿瘤作用。

2.5 抑制炎症反应

胶质瘤微环境中存在着大量聚集在肿瘤细胞周围的免疫细胞,通过分泌促炎性因子,产生炎症状态,促进肿瘤的生长和迁移^[25]。脑胶质瘤炎症过程中的主要参与者是 NLRP3 炎性小体,它是一种蛋白复合体,在固有免疫中发挥重要作用,可诱导促炎因子释放,引起炎症反应;研究发现, NLRP3 炎性小体激活有助于胶质瘤生长和放疗耐受,而 NLRP3 抑制则减慢肿瘤生长,延长生存期^[26]。主酮体 3-羟基丁酸可直接抑制 NLRP3 炎性小体的产生,减少 NLRP3 介导的炎症反应^[27]。此外,核因子 κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B) 是参与免疫、炎症和应激反应的主要调节因子。NF- κ B 在胶质瘤的发生、发展过程具有重要作用^[28]。NF- κ B 被激活后可以活化肿瘤坏死因子- α 、白介素-1 β 、白介素-6、白介素-8 和基质金属蛋白酶-9 等炎症因子水平,而 KD 可抑制 NF- κ B 的表达,进而减少炎症介质和促炎因子的释放,发挥抗炎、抗肿瘤作用^[29]。

2.6 增强抗肿瘤免疫

肿瘤发生、发展及结局与机体的免疫状态密切相关。Lussier 等^[30]在胶质瘤小鼠模型研究中发现: KD 可以增强小鼠肿瘤反应、固有免疫和适应性免

疫反应,主要表现为细胞毒性 T 细胞(CD8 + T 细胞)抗肿瘤活性增强、免疫抑制降低以及促进 CD8 + T 细胞产生细胞因子、增强免疫细胞杀伤活性;同时发现 KD 可以显著减少胶质瘤细胞免疫抑制蛋白的表达:细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4(cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4, CTLA-4)和程序凋亡性凋亡蛋白(programmed death 1, PD-1)。因此, KD 可能通过增强机体的免疫反应,发挥抗肿瘤作用。

3 结语与展望

大量的临床前研究证据显示, KD 能够抑制肿瘤生长,延长患者生存期,提高患者生活质量,同时可增强放化疗敏感性^[3]。KD 联合外源性酮体、高压氧、能量限制、运动、维生素 D 或二甲双胍等治疗肿瘤可以取得更好的疗效^[31]。总之, KD 是一种很有应用前景的治疗方法,相比放化疗, KD 更具有简单性、成本低、副作用小及可选择性强等优点。但目前针对癌症患者群体的安全性、有效性的随机临床试验数据非常少,临床试验中的早期数据大多来自晚期肿瘤患者的非随机试验和短期干预,缺乏长期安全性证据和明确的疗效证据;需要进行大量严格设计的随机临床研究试验,来证实 KD 的有效性、安全性、可行性及治疗作用。

目前生酮饮食抗肿瘤作用的具体机制未完全阐明。另外有研究报导生酮饮食对于不同肿瘤治疗效果具有明显差异性^[32]。造成这种疗效差异性,可能与肿瘤细胞线粒体酮体代谢相关酶 BDH1 和 OXCT1 的表达相关^[33]。但其他敏感的指标是否也会影响生酮饮食对胶质瘤的治疗效果,须进一步筛查。造成生酮饮食疗效差异的原因需进一步阐明,并希望能够找到可以指导生酮饮食治疗胶质瘤的分子标志物及可以预测生酮饮食治疗胶质瘤敏感性的诊断方法,为肿瘤患者提供更精准的治疗。

参 考 文 献

- [1] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in china, 2015 [J]. CA: a cancer journal for clinicians, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] Carlsson SK, Brothers SP, Wahlestedt C. Emerging treatment strategies for glioblastoma multiforme [J]. EMBO Mol Med, 2014, 6(11): 1359-1370.
- [3] 石汉平. 肿瘤生酮疗法[J]. 肿瘤代谢与营养电子杂志, 2016, 3(2): 66-70.
- [4] Warburg O, Wind F, Negelein E. The metabolism of tumours in

- the body [J]. *J Gen Physiol*, 1927, 8 (6) : 519-530.
- [5] Ju HQ, Zhan G, Huang A, et al. Mutation in FLT3 tyrosine kinase promotes Warbury effect and renderstherapeutic sensitivity to glycolytic inhibition. *Leukemia*, 2017, 31 (10) : 2143-2150.
 - [6] Strickland M, Stoll EA. Metabolic Reprogramming in Glioma. *Front Cell Dev Biol*, 2017, 5 : 43.
 - [7] Maurer GD, Brucker DP, Bähr O, et al. Differential utilization of ketone bodies by neurons and glioma cell lines : a rationale for ketogenic diet as experimental glioma therapy [J]. *BMC Cancer*, 2011, 11 : 315.
 - [8] Chang HT, Olson LK, Schwartz KA. Ketolytic and glycolytic enzymatic expression profiles in malignant gliomas : implication for ketogenic diet therapy. *Nutr Metab (Lond)*, 2013, 10 (1) : 47.
 - [9] Seyfried TN, Marsh J, Shelton LM, et al. Is the restricted ketogenic diet a viable alternativeto the standard of care for managing malignant brain cancer? *Epilepsy Res*, 2012, 100 (3) : 310-326.
 - [10] Champ CE, Palmer JD, Volek JS, et al. Targeting metabolism with a ketogenic diet during the treatment of glioblastoma multiforme. *J Neurooncol*, 2014, 117 (1) : 125-131.
 - [11] Chaudhari A, Haversen L, Mobini R, et al. ARAP2 promotes GLUT1-mediated basal glucose uptake through regulation of sphingolipid metabolism. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1861 (11) : 1643-1651.
 - [12] Szablewski L. Expression of glucose transporters in cancers. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1835 (2) : 164-169.
 - [13] Flavahan WA, Wu Q, Hitomi M, et al. Brain tumor initiating cells adapt to restricted nutrition through preferential glucose uptake. *Nat Neurosci*, 2013, 16 (10) : 1373-1382.
 - [14] Jansen N, Walach H. The development of tumours under a ketogenic diet in association with the novel tumour marker TK-TL1 : a case series in general practice. *Oncol Lett*, 2016, 11 (1) : 584-592.
 - [15] Belfiore A, Malaguarnera R. Insulin receptor and cancer. *Endocr Relat Cancer*, 2011, 18 (4) : 125-147.
 - [16] Rohrmann S, Linseisen J, Becker S, et al. Concentrations of IGF-I and IGFBP-3 and brain tumor risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2011, 20 (21) : 2174-2182.
 - [17] Bowers LW, Rossi EL, O' Flanagan CH, et al. The role of the insulin/IGF system in cancer : lessons learned from clinical trials and the energy balance-cancer link [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2015, 6 : 77.
 - [18] Miuma S, Ichikawa T, Arima K, et al. Branched-chain amino acid deficiency stabilizes insulin-induced vascular endothelial growth factor mRNA in hepatocellular carcinoma cells. *J Cell Biochem*, 2012, 113 (10) : 3113-3121.
 - [19] Branco AF, Ferreira A, Simões RF, et al. Ketogenic diets : from cancer to mitochondrial diseases and beyond. *Eur J Clin Invest*, 2016, 46 (3) : 285-298.
 - [20] Hamanaka RB, Chandel NS. Mitochondrial reactive oxygen species regulate cellular signaling and dictate biological outcomes. *Trends Biochem Sci*, 2010, 35 (9) : 505-513.
 - [21] Veech RL. The therapeutic implications of ketone bodies : the effects of ketone bodies in pathological conditions : ketosis, ketogenic diet, redox states, insulin resistance, and mitochondrial metabolism. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2004, 70 (3) : 309-319.
 - [22] Poff A, Kourtnik AP, Egan KM, et al. Targeting the warburg effect for cancer treatment : Ketogenic diets for Management of Glioma [J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2017, 12 : 011.
 - [23] Allen BG, Bhatia SK, Buatti JM, et al. Ketogenic diets enhance oxidative stress and radio-chemo-therapy responses in lung cancer xenografts. *Clin Cancer Res*, 2013, 19 (14) : 3905-3913.
 - [24] Schieber M, Chandel NS. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr Biol*, 2014, 24 (10) : 453-462.
 - [25] Sowers JL, Johnson KM, Conrad C, et al. The role of inflammation in brain cancer. *Adv Exp Med Biol*, 2014, 816 : 75-105.
 - [26] Li L, Liu Y. Aging-related gene signature regulated by NLRP3 predicts glioma progression. *Am J Cancer Res*, 2014, 5 (1) : 442-449.
 - [27] Youm YH, Nguyen KY, Grant RW, et al. The ketone metabolite beta-hydroxybutyrate blocks NLRP3 inflammasome-mediated inflammatory disease. *Nat Med*, 2015, 21 (3) : 263-269.
 - [28] Zanca C, Villa GR, Benitez JA, et al. Glioblastoma cellular cross-talk converges on NF- κ B to attenuate EGFR inhibitor sensitivity [J]. *Genes Dev*, 2017, 31 (12) : 1212-1227.
 - [29] Nandivada P, Fell GL, Pan AH, et al. Eucaloric ketogenic diet reduces hypoglycemia and inflammation inmice with endotoxemia. *Lipids*, 2016, 51 (6) : 703-714.
 - [30] Lussier DM, Woolf EC, Johnson JL, et al. Enhanced immunity in a mouse model of malignant glioma is mediated by a therapeutic ketogenic diet. *BMC Cancer*, 2016, 16 : 310.
 - [31] 王晓琳, 饶本强, 江波等. 生酮饮食联合疗法治疗恶性肿瘤研究进展 [J]. *肿瘤代谢与营养电子杂志*, 2016, 3 (4) : 255-260.
 - [32] Weber DD, Aminazdeh-Gohari S, Kofler B. Ketogenic diet in cancer? therapy [J]. *Aging (Albany NY)*, 2018, 10 (2) : 164-165.
 - [33] Zhang J, Jia PP, Liu QL, et al. Low ketolytic enzyme levels in tumors predict ketogenic diet responses in cancer cell lines in vitro and in vivo [J]. *J Lipid Res*, 2018, 59 (4) : 625-634.