

网络出版时间: 2019-7-15 18:06 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20190715.0922.016.html>

乳酸脱氢酶抑制剂 Galloflavin 对肺腺癌 A549 细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响

朱 宁¹ 束 军¹ 张 梅¹ 沈继龙²

摘要 目的 探讨不同浓度乳酸脱氢酶抑制剂 Galloflavin (GF) 对肺腺癌 A549 细胞增殖、迁移、侵袭能力的影响。方法 体外培养肺腺癌 A549 细胞,实验分为对照组(无 GF 处理组)和实验组(GF 处理组,浓度分别为 12.5、25、50、100 $\mu\text{mol/L}$),分别使用 CCK-8、划痕实验、Transwell 法检测不同浓度 GF 在不同作用时间条件下对 A549 细胞增殖、迁移、侵袭能力的影响;分别使用乳酸脱氢酶活性检测试剂盒、乳酸定量试剂盒检测不同浓度 GF 对乳酸脱氢酶活性、乳酸生成量的影响。结果 CCK-8 结果表明,GF 对 A549 细胞具有增殖抑制作用,并且在一定浓度和时间范围内呈现出依赖性($P < 0.05$)。划痕实验结果表明,实验组细胞迁移率小于对照组($P < 0.05$),随着 GF 浓度的增加,迁移率逐渐降低($P < 0.05$)。Transwell 结果表明,实验组细胞侵袭细胞数小于对照组($P < 0.05$),随着 GF 浓度的增加,侵袭细胞数逐渐减少($P < 0.05$)。乳酸脱氢酶活性检测结果表明,实验组乳酸脱氢酶活性较对照组显著降低($P < 0.05$),随着 GF 浓度的增加,乳酸脱氢酶活性逐渐降低($P < 0.05$)。乳酸检测结果表明,实验组乳酸生成量较对照组显著减少($P < 0.05$),随着 GF 浓度的增加,乳酸生成量逐渐减少($P < 0.05$)。结论 GF 在体外能够抑制 A549 细胞的增殖、迁移及侵袭,其机

制可能是通过抑制乳酸脱氢酶活性从而抑制肺癌细胞糖酵解。

关键词 Galloflavin; 肺腺癌; 增殖; 迁移; 侵袭

中图分类号 R 734.2

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2019)08-1247-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.08.016

能量代谢失衡是恶性肿瘤细胞的重要特征之一,许多肿瘤细胞在氧供应充足条件下,仍然优先选择糖酵解而不是氧化磷酸化,即有氧糖酵解^[1],这就是著名的瓦博格效应(Warburg effect)。肿瘤的发生、发展及转移与肿瘤的糖酵解关系密切,研究^[2-4]表明,抑制异常糖酵解可以抑制多种肿瘤细胞的生长、迁移、侵袭。乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)是糖酵解途径中最后一个酶,其同工酶乳酸脱氢酶 A(lactic dehydrogenase A, LDHA)在包括非小细胞癌在内的多种肿瘤组织中高表达^[4-5]。Galloflavin(GF)是特异性 LDH 抑制剂。近年来一些研究^[6-7]表明,GF 可抑制多种肿瘤细胞的增殖,然而 GF 与肺腺癌细胞的研究鲜有报道,该研究旨在观察不同浓度 GF 对肺腺癌 A549 细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器 人肺腺癌 A549 细胞由安徽医科大学公共卫生学院惠赠;GF、二甲基亚砷(DMSO)购自美国 Sigma 公司;CCK-8 试剂盒、胰酶、胎牛血清购自上海碧云天生物技术有限公司;

2019-04-04 接收

基金项目:安徽高校自然科学研究项目(编号: KJ2018A0204);安徽省自然科学基金(编号: 1308085MH141)

作者单位:¹安徽医科大学第四附属医院呼吸内科,合肥 230022

²安徽病原生物学省级实验室和人兽共患病安徽重点实验室(安徽医科大学基础医学院病原生物学教研室),合肥 230022

作者简介:朱 宁,男,硕士研究生;

束 军,男,副教授,硕士生导师,责任作者,E-mail: J. Shu @ 126.com

used to detect the cell viability of gastric cancer cells BGC-823. The PI3K/Akt/mTOR signaling pathway protein expression was detected by Western blot. **Results** Compared with SGC-7901 cells, BGC-823 was not sensitive to paclitaxel. After treatment with 0.3 $\mu\text{mol/L}$ paclitaxel combined with 0.5 $\mu\text{mol/L}$ mefloquine for 24 hours, the apoptotic rate was $[(33.00 \pm 2.83) \% \text{ vs } (15.75 \pm 0.64) \%]$ and the proliferation rate was $[(44.00 \pm 0.07) \% \text{ vs } (72.00 \pm 0.09) \%]$ ($P < 0.05$). Western blot analysis showed that the expression of phosphorylated protein of PI3K/Akt/mTOR pathway was decreased markedly after treatments of paclitaxel combined with mefloquine. **Conclusion** Mefloquine can inhibit the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway phosphorylated protein expression and induce BGC-823 cells apoptosis, significantly increased the sensitivity of BGC-823 cells to paclitaxel.

Key words mefloquine; gastric cancer; paclitaxel; PI3K/Akt/mTOR

RPMI-1640 培养基购自 HyClone 公司(美国); TRIzol 购自美国 Invitrogen 公司; Transwell 小室购自美国 Corning 公司, 乳酸脱氢酶试剂盒、乳酸试剂盒购自南京建成生物工程研究所; 酶标仪购自美国 Biotek 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 在 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中, 用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基常规培养人肺腺癌 A549 细胞, 细胞在培养瓶中贴壁生长, 每 2~3 d 传代 1 次。

1.2.2 CCK-8 法检测不同浓度的 GF 对人肺腺癌 A549 细胞增殖能力的影响 取生长状态良好的对数生长期细胞, 以 5×10^4 个/ml 铺 96 孔培养板, 每孔加 100 μ l 细胞悬液, 放在 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中过夜。细胞贴壁后, 实验组各孔加入不同浓度的 GF(12.5、25、50、100 μ mol/L), 对照组加入等体积的培养基, 每组设 5 个复孔。作用 24、48 h 后, 各孔加入 CCK-8 试剂 10 μ l, 置于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中继续培养, 490 nm 波长处检测吸光度(optical density, OD) 值。计算不同浓度的 GF 对 A549 细胞的增殖抑制率, 抑制率(%) = $[1 - \text{实验组 OD 值}] / \text{对照组 OD 值} \times 100\%$, 实验重复 3 次。

1.2.3 不同浓度的 GF 对 A549 细胞体外迁移能力的影响 取生长状态良好的对数期 A549 细胞接种于 6 孔板, 接种前先用 marker 笔在 6 孔板背面, 用直尺比着, 均匀划横线, 大约每隔 0.5~1 cm 一道横线, 横穿过孔, 每孔至少穿过 5 条线。待细胞贴壁长满时用 200 μ l 无菌枪头垂直于 6 孔板背面的横线划痕。弃原培养基, 用 PBS 清洗 3 次, 去除划下的细胞, 加无血清的培养基, 使用显微镜拍照, 为 0 h 的划痕宽度。弃原培养基, 实验组分别加入含不同浓度 GF(25、50、100 μ mol/L) 的培养基, 对照组加入等体积的培养基, 24 h 后使用倒置显微镜在相同位置观察拍照, 随后用 Image-pro plus 6.0 软件计算迁移距离, 迁移距离 = 0 h 距离 - 24 h 距离。

1.2.4 Transwell 法检测 GF 对 A549 细胞体外侵袭能力的影响 Matrigel 胶 4 °C 过夜融化后, 用 4 °C 预冷的无血清 1640 培养基将 Matrigel 胶按 1:8 比例稀释。在 Transwell 上室底部均匀加入 50 μ l 稀释后的 Matrigel 胶, 铺满小室底部, 置于 37 °C 细胞培养箱干燥 30 min, 待 Matrigel 胶凝固后, 小心弃去上层析出的液态培养基, 每个小室再加入 50 μ l 无血清 1640 培养基, 放于 37 °C 细胞培养箱 30 min 水化基底膜。取生长状态良好的对数期 A549 细胞, 实验

组分别加入含不同浓度 GF(25、50、100 μ mol/L) 的培养基, 对照组加入等体积的培养基, 作用 24 h。常规消化, 用 PBS 和无血清 1640 培养基先后洗涤 1 次, 用无血清的 1640 培养基调整各组 A549 细胞浓度为 2×10^5 个/ml, 在下室加入含 10% 胎牛血清 1640 完全培养基 600 μ l, 上室加入 100 μ l 细胞悬液, 每组 3 个复孔, 继续在孵箱中培养 24 h。弃去上室内培养基, PBS 洗 2 次, 4% 多聚甲醛固定 30 min, 风干后用 1% 结晶紫染色液染色约 30 min, 用湿棉棒小心擦去上室底部膜上表面上的细胞。运用光学显微镜($\times 100$) 观察拍照, 200 倍高倍镜下细胞计数, 随机选取 6 个高倍镜视野计数, 即侵袭细胞数, 取平均值, 实验重复 3 次。

1.2.5 乳酸脱氢酶活性检测试剂盒检测 GF 对乳酸脱氢酶活性的影响 取生长状态良好的对数期 A549 细胞接种于 6 孔板(2×10^5 个/ml), 细胞贴壁融合 60%~70% 后, 以不同浓度的 GF(0、25、50、100 μ mol/L) 干预细胞 24 h 后收集细胞裂解液提取蛋白, 按照 BCA 蛋白浓度测定试剂盒说明加样, 酶标仪 562 nm 处测吸光度, 绘制标准曲线, 计算各样本蛋白浓度。按酶活性试剂盒说明操作, 测定 LDH 活性。

1.2.6 乳酸定量试剂盒检测 GF 对乳酸生成量的影响 取生长状态良好的对数期 A549 细胞, 按照每孔 4 000 个接种于 96 孔板, 以不同浓度的 GF(0、25、50、100 μ mol/L) 干预细胞 24 h 后, 按照试剂盒说明操作, 测定乳酸生成量。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行分析, 所得数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组均数比较采用单因素方差分析, 两组均数比较采用 SNK-q 法, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

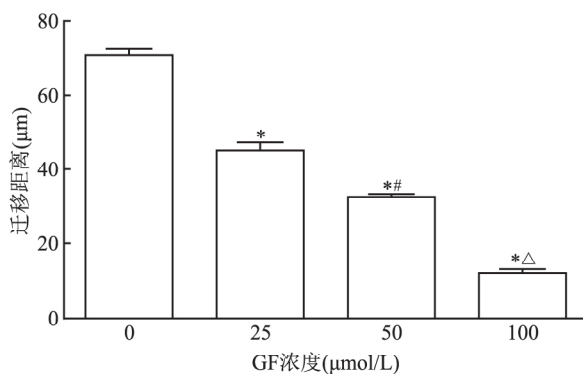
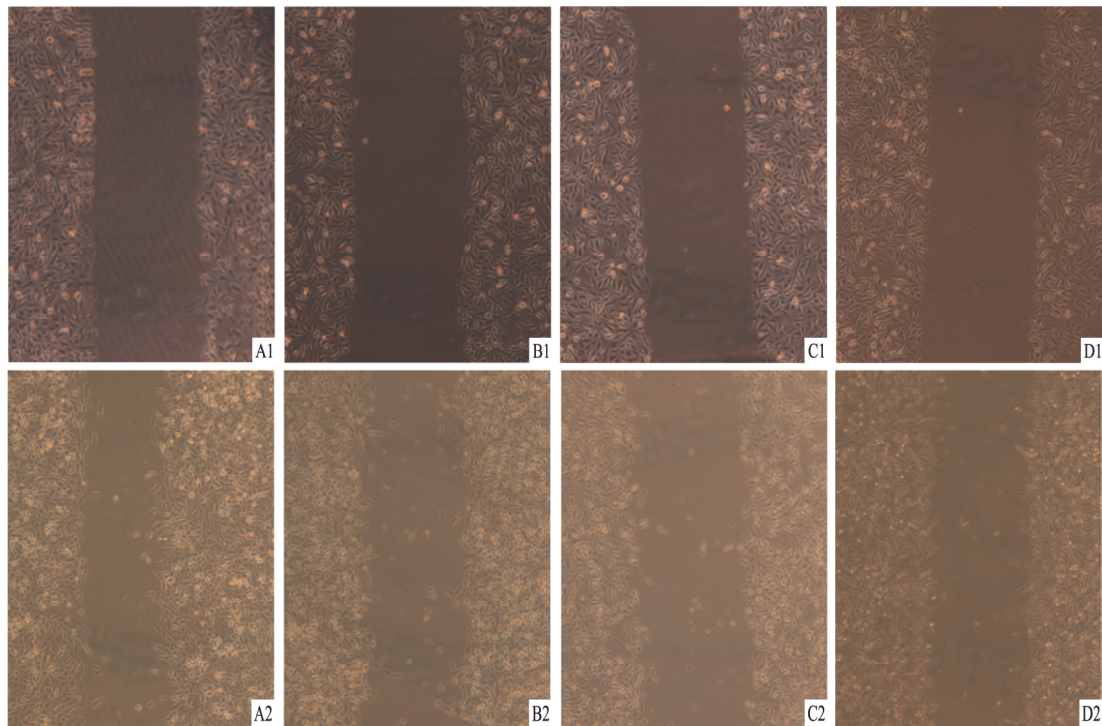
2 结果

2.1 GF 抑制人肺腺癌 A549 细胞的增殖 CCK-8 法检测结果显示, 不同浓度的 GF 分别干预 A549 细胞 24、48 h, 其 OD 值及抑制率见表 1。各浓度实验组与对照组抑制率比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。在相同作用时间情况下, GF 对 A549 细胞的增殖抑制率随着 GF 浓度的增加而增大, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 并且在相同浓度 GF 作用下, A549 细胞在 48 h 的增殖抑制率明显高于 24 h 的增殖抑制率, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。24 h 时 $F = 144.0$, $P < 0.05$; 48 h 时 $F = 363.9$, $P < 0.05$ 。综上, GF 对 A549 细胞的增殖抑制作用具有

表1 不同浓度的 GF 分别干预细胞 24、48 h 对其增殖的影响($n = 3 \bar{x} \pm s$)

组别	OD ₄₉₀ 值		抑制率(%)	
	24 h	48 h	24 h	48 h
对照(0 $\mu\text{mol/L}$)	0.968 \pm 0.419	0.962 \pm 0.017	3.475 \pm 1.941	4.025 \pm 1.850
实验($\mu\text{mol/L}$)				
12.5	0.894 \pm 0.020	0.846 \pm 0.013	10.300 \pm 3.025 [*]	16.050 \pm 1.558 [*]
25	0.722 \pm 0.022	0.659 \pm 0.014	27.275 \pm 3.340 ^{* #}	34.925 \pm 2.678 ^{* #}
50	0.631 \pm 0.024	0.565 \pm 0.013	38.050 \pm 2.859 ^{* ▽}	45.275 \pm 1.705 ^{* ▽}
100	0.543 \pm 0.013	0.469 \pm 0.010	47.125 \pm 1.660 ^{* △}	55.225 \pm 1.747 ^{* △}

与对照组比较: ^{*} $P < 0.05$; 与 12.5 $\mu\text{mol/L}$ 实验组比较: [#] $P < 0.05$; 与 25 $\mu\text{mol/L}$ 实验组比较: [▽] $P < 0.05$; 与 50 $\mu\text{mol/L}$ 实验组比较: [△] $P < 0.05$; 与 24 h 比较: $P < 0.05$

图1 GF 对肺腺癌 A549 细胞迁移能力的影响 $\times 100$

A: 对照组; B ~ D: GF 25、50、100 $\mu\text{mol/L}$; 1: 0 h; 2: 24 h;
与对照组比较: ^{*} $P < 0.05$; 与 25 $\mu\text{mol/L}$ GF 实验组比较: [#] $P < 0.05$; 与 50 $\mu\text{mol/L}$ GF 实验组比较: [△] $P < 0.05$

一定的浓度和时间依赖性。

2.2 GF 抑制人肺腺癌 A549 细胞的迁移 对照组细胞迁移距离为(70.79 \pm 2.89) μm , 实验组(25、50、100 $\mu\text{mol/L}$) 迁移距离分别为(45.24 \pm 3.46)、(32.64 \pm 0.96)、(21.75 \pm 1.90) μm ; 与对照组比较, 不同浓度梯度的 GF 干预组迁移距离均明显减

小, 且随着 GF 浓度的增加, 迁移距离逐渐减少, 各干预组间差异有统计学意义($F = 221.4$, $P < 0.05$), 见图 1。

2.3 GF 抑制人肺腺癌 A549 细胞的侵袭 对照组侵袭细胞数为(196.67 \pm 3.06) 个, 实验组(25、50、100 $\mu\text{mol/L}$) 侵袭细胞数分别为(151.33 \pm 4.16)、

(116.33 ± 5.69)、(75.33 ± 5.03) 个,与对照组比较不同浓度梯度的 GF 干预组细胞侵袭数均明显减少,且随着 GF 浓度的增加,侵袭细胞数逐渐减少,各干预组间差异有统计学意义($F = 378.4$, $P < 0.05$),见图 2。

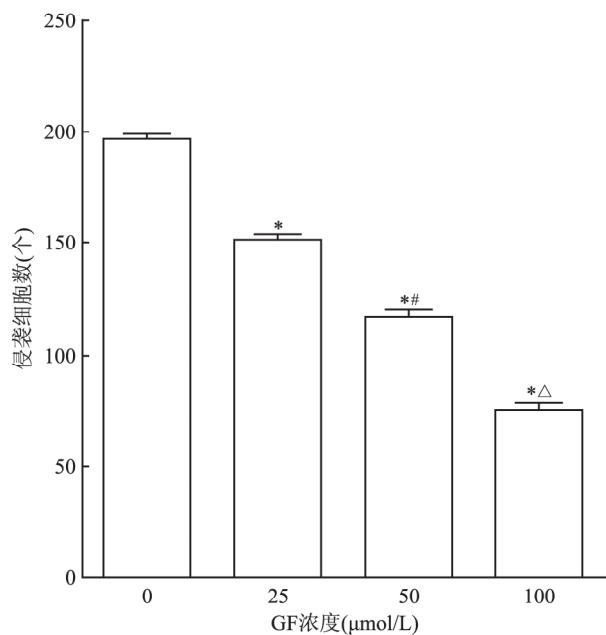
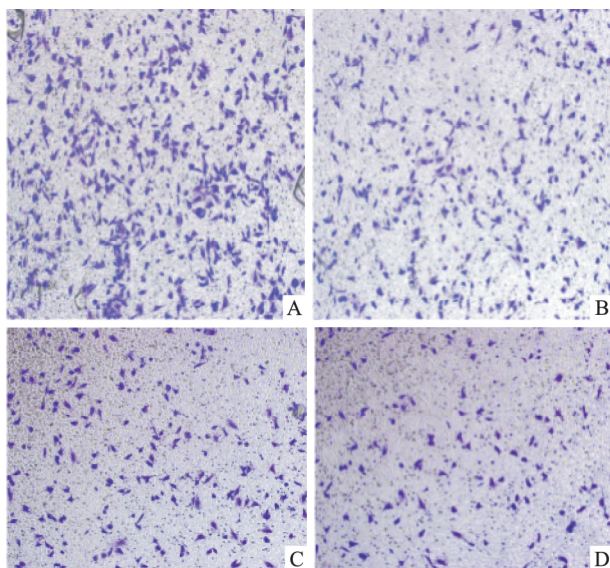


图2 GF对肺腺癌A549细胞侵袭能力的影响 ×100

A: 对照组; B~D: GF 25、50、100 μmol/L; 与对照组比较: * $P < 0.05$; 与 25 μmol/LGF 实验组比较: # $P < 0.05$; 与 50 μmol/LGF 实验组比较: △ $P < 0.05$

2.4 GF 抑制 LDH 活性 不同浓度梯度的 GF(0、25、50、100 μmol/L) 干预细胞 24 h 后,随着 GF 浓度的增高,LDH 活性逐渐降低,不同浓度梯度的实验组与对照组相比,差异有统计学意义($F = 119.9$, P

< 0.05)。见图 3。

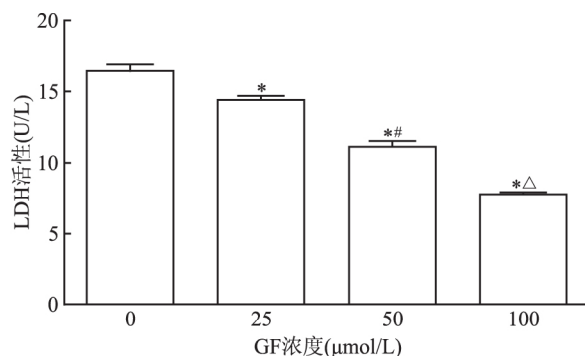


图3 不同浓度 GF 对 A549 细胞 LDH 活性的影响

与对照组(0 μmol/LGF)比较: * $P < 0.05$; 与 25 μmol/LGF 实验组比较: # $P < 0.05$; 与 50 μmol/LGF 实验组比较: △ $P < 0.05$

2.5 GF 抑制乳酸生成 不同浓度梯度 GF(0、25、50、100 μmol/L) 干预细胞 24 h 后,随着 GF 浓度的增加,乳酸生成量逐渐减少,不同浓度梯度的实验组与对照组相比,差异有统计学意义($F = 55.78$, $P < 0.05$)。见图 4。

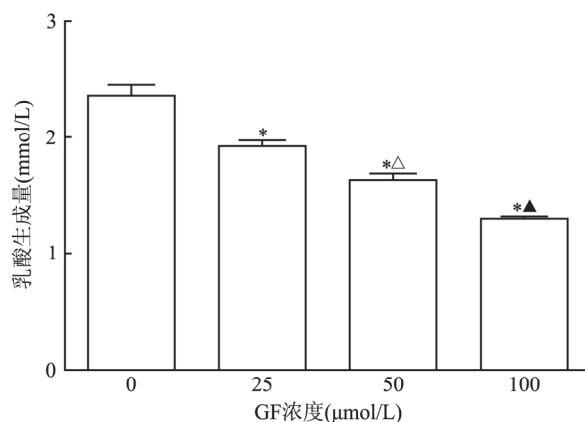


图4 不同浓度 GF 对 A549 细胞乳酸生成量的影响

与对照组(0 μmol/L)比较: * $P < 0.05$; 与 25 μmol/LGF 实验组比较: △ $P < 0.05$; 与 50 μmol/LGF 实验组比较: ▲ $P < 0.05$

3 讨论

目前肺癌在世界范围内已成发病率及死亡率均居前列的恶性肿瘤,5 年生存率只有 18%^[8]。非小细胞肺癌(non-small lung cancer, NSCLC) 约占肺癌总数的 85%,是肺癌最常见的病理类型。虽然手术、化疗、放疗等治疗手段不断进步,但其预后并未得到明显改善^[9]。近年来,NSCLC 的分子靶向治疗取得了巨大的突破,已成为 NSCLC 治疗的先进手

段,但靶向治疗也面临着细胞耐药等许多问题^[10]。因此,寻找新的靶向抗肺癌药物势在必行。

线粒体能量代谢异常是肿瘤细胞显著的生物学特征之一。LDH 是糖酵解途径中的最后一个标志酶,它催化丙酮酸还原为乳酸。在人类细胞中存在 5 种 LDH 亚型,其中 LDHA 与肿瘤关系密切,LDHA 在包括 NSCLC 在内的多种肿瘤中高表达,并且促进肿瘤迁移及侵袭^[4-5,11],高表达的 LDHA 与肿瘤患者的放化疗抵抗及不良预后呈相关性。Yang et al^[12] 研究表明,经典的 LDHA 抑制剂草氨酸盐(oxamate)可以抑制肺腺癌 A549 细胞的增殖,但只有在高浓度时才能发挥抑制作用。

GF 即没食子酸衍生物,为特异性 LDH 抑制剂,可以通过与游离的 LDH 结合发挥作用^[13]。研究发现低浓度的 GF 可通过阻断糖酵解途径抑制子宫内膜癌细胞^[6]、乳腺癌细胞^[7]的增殖,但 GF 应用于治疗肺癌尚未见相关研究。本研究旨在探索不同浓度的 GF 对人肺腺癌 A549 细胞增殖、迁移及侵袭作用的影响及可能机制。本研究结果表明,GF 可以抑制 A549 细胞的增殖、迁移及侵袭,并且随着 GF 浓度的增加,抑制作用越明显。

为了进一步探讨其可能的作用机制,对 LDH 活性及乳酸生成量进行检测。结果显示,与对照组相比,随着 GF 浓度增加,LDH 活性及乳酸生成量均逐渐减少。说明 GF 可以通过阻断糖酵解途径从而抑制 A549 细胞增殖。近年的研究^[14-15]显示,乳酸可以促进肿瘤细胞侵袭转移,敲除糖酵解途径中的 LDH 可以抑制肿瘤细胞侵袭转移。本研究同样发现 GF 可以通过抑制 LDH 的活性来减少乳酸生成,进而抑制 A549 细胞的迁移和侵袭,且 LDH 活性越低,其迁移侵袭抑制作用越强。由于正常细胞主要利用氧化磷酸化获取能量,抑制 LDH 活性对正常细胞影响不大,Farabegoli et al^[7] 研究发现 GF 对于人类正常的淋巴细胞影响不明显,提示靶向针对糖酵解途径可以在不影响正常细胞的情况下抑制肿瘤细胞的增殖、迁移及侵袭。

综上所述,本研究表明 GF 作为 LDH 抑制剂,可能通过抑制糖酵解途径中 LDH 的活性抑制肺癌细胞增殖、迁移、侵袭。但是本实验只涉及离体的肺癌细胞系,GF 在体内抗肺癌作用及其稳定性和安全性仍需进一步研究。

参考文献

- [1] Warburg O, Wind F, Negelein E. The metabolism of tumors in the body [J]. J Gen Physiol, 1927, 8(6): 519-30.
- [2] Pavlides S, Vera I, Gandara R, et al. Warburg meets autophagy: cancer-associated fibroblasts accelerate tumor growth and metastasis via oxidative stress, mitophagy and aerobic glycolysis [J]. Antioxid Redox Signal, 2012, 16(11): 1264-84.
- [3] Xie H, Tong G, Zhang Y, et al. Pfkfb3 drives hepatocellular carcinoma metastasis by enhancing metabolic process [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18: 8.
- [4] Sheng S L, Liu J J, Dai Y H, et al. Knockdown of lactate dehydrogenase a suppresses tumor growth and metastasis of human hepatocellular carcinoma [J]. FEBS J, 2012, 279(20): 3898-910.
- [5] Kayser G, Kassem A, Sienel W, et al. Lactate dehydrogenase 5 is overexpressed in non-small cell lung cancer and correlates with the expression of the transketolase-like protein 1 [J]. Diagn Pathol, 2010, 5: 22.
- [6] Han X, Sheng X, Jones H M, et al. Evaluation of the anti-tumor effects of lactate dehydrogenase inhibitor galloflavin in endometrial cancer cells [J]. J Hematol Oncol, 2015, 8: 2.
- [7] Farabegoli F, Vettriano M, Manerba M, et al. Galloflavin, a new lactate dehydrogenase inhibitor, induces the death of human breast cancer cells with different glycolytic attitude by affecting distinct signaling pathways [J]. Eur J Pharm Sci, 2012, 47(4): 729-38.
- [8] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2018 [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(1): 7-30.
- [9] Fu Q F, Liu Y, Fan Y, et al. Alpha-enolase promotes cell glycolysis, growth, migration, and invasion in non-small cell lung cancer through fak-mediated pi3k/akt pathway [J]. J Hematol Oncol, 2015, 8: 22.
- [10] 韩宝惠. 提升肺癌的内科治疗水平做好精准医学的引领示范 [J]. 中华肿瘤杂志, 2017, 39(2): 81-5.
- [11] An J, Zhang Y, He J, et al. Lactate dehydrogenase a promotes the invasion and proliferation of pituitary adenoma [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 4734.
- [12] Yang Y, Su D, Zhao L, et al. Different effects of ldh-a inhibition by oxamate in non-small cell lung cancer cells [J]. Oncotarget, 2014, 5(23): 11886-96.
- [13] Manerba M, Vettriano M, Fiume L, et al. Galloflavin (cas 568-80-9): a novel inhibitor of lactate dehydrogenase [J]. Chem Med Chem, 2012, 7(2): 311-7.
- [14] Baumann F, Leukel P, Doerfelt A, et al. Lactate promotes glioma migration by TGF-beta2-dependent regulation of matrix metalloproteinase-2 [J]. Neuro Oncol, 2009, 11(4): 368-80.
- [15] Bonuccelli G, Tsigos A, Whitaker-Menezes D, et al. Ketones and lactate "fuel" tumor growth and metastasis: evidence that epithelial cancer cells use oxidative mitochondrial metabolism [J]. Cell Cycle, 2010, 9(17): 3506-14.

(下转第 1257 页)

Effect of N-stearoylserine on learning , memory and exercise capacity of APP/PS1 mice

Liu Sha¹ , Zhou Yi² , Zheng Qixue¹ , et al

(¹Dept of Pharmacy , Chengdu Medical College , Chengdu 610500;

²Chengdu Rongsheng Pharmaceuticals Co. Ltd. , Chengdu 610041)

Abstract Objective To study whether N-stearoyl serine (NSS) could improve behavioral abnormalities in APP/PS1 transgenic mice through CB₂ receptor. **Methods** The APP/PS1 transgenic mouse was used to study the animal behavior through open field test , rotarod experiment and Morris water maze , The levels of β -amyloid (A β)₄₂ and A β ₄₀ were determined by ELISA , and the expression level of CB₂ protein was determined by Western blot. **Results**

NSS (2 mg/kg and 5 mg/kg) could increase the coordinative movement and the ability of learning and memory , decrease the level of A β ₄₂ and A β ₄₀ and increase the expressions of CB₂. The CB₂ receptor antagonist AM630 could reverse the above phenomenon. **Conclusion** NSS could improve spatial learning and memory impairments and motor dysfunction in APP/PS1 transgenic mice and decrease the levels of A β ₄₂ and A β ₄₀ in the hippocampus , and the mechanism may be achieved by regulating the CB₂ receptor signaling pathway.

Key words N-stearoyl-serine; APP/PS1 transgenic mouse; animal behavior; CB₂ receptor

(上接第 1251 页)

Effects of lactate dehydrogenase inhibitor Galloflavin on the proliferation , migration and invasion of the A549 of the human lung adenocarcinoma

Zhu Ning , Shu Jun , Zhang Mei , et al

(Dept of Respiratory Medicine , The Fourth Affiliated Hospital of Anhui Medical University , Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the effects of different concentrations of lactate dehydrogenase inhibitor Galloflavin(GF) on proliferation , migration and invasion of the A549 of the human lung adenocarcinoma. **Methods** Lung adenocarcinoma A549 cells were cultured *in vitro* and divided into control group(no GF treatment group) and experimental group(GF treatment group , concentrations were 12.5 , 25 , 50 , 100 μ mol/L , respectively) . CCK-8 , wound healing assay and Transwell method were used to detect the effects of different concentrations of GF on the proliferation , migration and invasion of A549 cells under different time. Lactate dehydrogenase activity assay kit and lactate quantitative kit were used to detect the effects of different concentrations of GF on lactate dehydrogenase activity and the amount of lactic acid production. **Results** CCK-8 results revealed that GF had a concentration-dependent and time-dependent cell proliferation inhibition effect on A549 cells($P < 0.05$) . The results of wound healing assay showed that the cell migration rate of the experimental group was lower than that of the control group ($P < 0.05$) . With the increase of GF concentration , the mobility decreased gradually($P < 0.05$) . Transwell results showed that the numbers of invasive cells in the experimental group were significantly lower than that in the control group($P < 0.05$) . With the increase of GF concentration , the number of invasive cells decreased gradually ($P < 0.05$) . The detection of lactate dehydrogenase activity showed that the activity of lactate dehydrogenase in the experimental group was significantly lower than that in the control group($P < 0.05$) . With the increase of GF concentration , the activity of lactate dehydrogenase decreased gradually($P < 0.05$) . The results of lactic acid test showed that the amount of lactic acid in the experimental group was significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$) . With the increase of GF concentration , the amount of lactic acid was gradually decreased($P < 0.05$) . **Conclusion** GF can inhibit the proliferation , migration and invasion of A549 cells *in vitro*. The mechanism may be related with inhibiting the glycolysis of lung cancer cells by inhibiting the activity of lactate dehydrogenase.

Key words Galloflavin; lung adenocarcinoma; proliferation; migration; invasion