

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.04.002

贝母素乙通过诱导 G0/G1 期阻滞抑制结肠癌细胞的增殖

孙丽丽¹, 白冰², 杨霞¹, 李玥², 李一权², 韩继成², 房金波², 李霄³, 尚超³, 朱羿龙², 金宁一¹(1. 延边大学医学院病理学与病理生理学教研室, 吉林 延吉 136200; 2. 长春中医药大学 院士工作室, 吉林 长春 130117; 3. 中国农业科学院 长春兽医研究所, 吉林 长春 130122)

[摘要] **目的:** 探讨贝母素乙对结肠癌 HCT116 细胞增殖的抑制作用及其分子机制。**方法:** 利用不同浓度的贝母素乙处理人结肠癌细胞 HCT116 和正常结肠上皮细胞 CCD841 CON, 通过 CCK-8 法和结晶紫染色法检测贝母素乙对 HCT116 和 CCD841 CON 细胞增殖活力的影响, 流式细胞术和 WB 法检测贝母素乙对 HCT116 细胞周期及其细胞周期相关蛋白表达的影响。构建 HCT116 移植瘤裸鼠模型和 AOM/DSS 结肠癌小鼠模型, 观察贝母素乙对小鼠模型肿瘤生长和 OS 的影响, 免疫组化法和 WB 法检测对移植瘤或肿瘤组织中细胞周期相关蛋白 CDK4、CDK6 和 cyclin D1 表达的影响。**结果:** 贝母素乙可显著抑制结肠癌 HCT116 细胞的增殖能力 ($P < 0.01$), 诱导 HCT116 细胞周期 G0/G1 期阻滞 ($P < 0.01$), 降低 CDK4、CDK6 和 cyclin D1 的蛋白表达水平 (均 $P < 0.01$)。荷瘤小鼠实验结果显示, 贝母素乙 (0.75 mg/kg) 显著抑制 HCT116 细胞移植瘤的生长并延长荷瘤裸鼠的 OS ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 降低 AOM/DSS 模型小鼠的体质量、延长 OS、减少癌变肠组织的肿瘤个数和肿瘤体积, 下调肿瘤组织中 CDK4、CDK6 和 cyclin D1 的蛋白表达 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。**结论:** 贝母素乙通过下调 CDK4、CDK6 和 cyclin D1 的表达水平, 引起细胞周期 G0/G1 期阻滞, 从而抑制结肠癌 HCT116 细胞的增殖。

[关键词] 贝母素乙; 结肠癌; HCT116 细胞; G0/G1 期阻滞; 增殖

[中图分类号] R735.3⁵; R730.2; R730.52 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2024)04-0326-07

Peiminine inhibits the proliferation of colon cancer cells by inducing G0/G1 phase arrest

SUN Lili¹, BAI Bing², YANG Xia¹, LI Yue², LI Yiquan², HAN Jicheng², FANG Jinbo², LI Xiao³, SHANG Chao³, ZHU Yilong², JIN Ningyi¹ (1. Department of Pathology and Pathophysiology, College of Medicine, Yanbian University, Yanji 136200, Jilin, China; 2. Academician Workstation of Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, Jilin, China; 3. Changchun Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130122, Jilin, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the inhibitory effects and molecular mechanism of peiminine on colon cancer HCT116 cells. **Methods:** Human colon cancer HCT116 cells and normal colon epithelial CCD841 CON cells were treated with various concentrations of peiminine. The effects of peiminine on the proliferative vitality of HCT116 and CCD841 CON cells were detected by CCK-8 method and crystal violet staining. The effects of peiminine on the cell cycle and the expression of cycle related proteins in HCT116 cells were detected by flow cytometry and Western blot. HCT116 nude mouse transplantation tumor model and the AOM/DSS-induced colon cancer mouse model were constructed to observe the effects of peiminine on tumor growth and overall survival in the mouse model. The effects of peiminine on the expressions of cell cycle related proteins CDK4, CDK6 and cyclin D1 in transplanted tumors or tumor tissues were detected by immunohistochemistry and Western blot. **Results:** Peiminine significantly inhibited the proliferation ability ($P < 0.01$), induced the G0/G1 phase arrest ($P < 0.01$), and reduced the expression levels of CDK4, CDK6, and cyclin D1 proteins in HCT116 cells (all $P < 0.01$). The results of tumor bearing nude mice showed that peiminine (0.75 mg/kg) significantly inhibited the growth of HCT116 cell transplanted tumors, increased the overall survival rate ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Peiminine also reduced the weight and prolonged the overall survival of AOM/DSS model mice, reduced the number and volume of tumors in cancerous colon tissues, and down-regulated the expressions of CDK4, CDK6 and cyclin D1 proteins in tumor tissues ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** Peiminine can cause cell cycle G0/G1 phase arrest, and thus suppress the proliferation of colon cancer HCT116 cells through downregulating the

[基金项目] 吉林省科技发展计划(No. 20220508075RC); 长春市科技发展计划项目创新平台与人才计划青年科技人才创新创业专项(No. 21QC01); 吉林省中医药科技项目(No. 2024255)

[作者简介] 孙丽丽(1979—), 女, 博士生, 副主任医师, 主要从事中药抗肿瘤相关研究。E-mail: injiaxiaoya@163.com

[通信作者] 金宁一, E-mail: ningyik@126.com; 朱羿龙, E-mail: zhuyilong66@163.com; 尚超, E-mail: shangchao1290@126.com

expression levels of CDK4, CDK6, and cyclin D1.

[Key words] peiminine; colon cancer; HCT116 cell; G0/G1 phase arrest; proliferation

[Chin J Cancer Biother, 2024, 31(4): 326-332. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.04.002]

结肠癌是消化系统中常见的恶性肿瘤, 2020年中国结肠癌患者新发病例约55.5万, 死亡病例超28万, 其发病率居全国恶性肿瘤的第二位, 病死率居第五位, 严重危害人民的生命健康^[1]。目前, 结肠癌首选的治疗方式为手术治疗, 辅以放疗、化疗或靶向治疗等。但是, 患者术后常出现并发症及复发, 且放化疗会引起严重的不良反应。近年来, 随着中医药的快速发展和临床经验的大量积累, 其防治结肠癌术后不良反应的临床优势日益突出。研究结果^[2]表明, 中药治疗具有低毒性、多途径和多靶点的优势, 其可以与其他疗法联合治疗结肠癌。贝母素乙(peiminine)是一种生物碱类物质, 来源于平贝母、浙贝母和川贝母等贝母类中药材, 具有止咳、祛痰、平喘、抗炎和抗肿瘤等活性^[3]。贝母素乙能够抑制乳腺癌 MCF-7 细胞^[4]、肺癌 A549 细胞^[5]、胃癌 MKN45 和 SGC7901 细胞^[6-7]、肝癌 SMMC-7721 细胞^[8]的增殖, 具有广谱的抗肿瘤效果。研究^[9-10]发现, 贝母素乙可通过 COX-2/PGE2/EGFR 和 PI3K/AKT/mTOR 信号通路抑制结肠癌 HCT116 细胞增殖。本研究通过体外细胞实验、结肠癌 HCT116 细胞移植瘤裸鼠模型及氧化偶氮甲烷(azoxymethane, AOM)/葡聚糖硫酸钠(dextran sodium sulfate, DSS)小鼠模型, 基于细胞周期阻滞探讨贝母素乙抑制结肠癌 HCT116 细胞增殖的作用及其分子机制, 旨在扩展贝母素乙的抗肿瘤机制, 为后续抗结肠癌药物的联合应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞、实验动物和主要试剂

人结肠癌细胞 HCT116 和人正常结肠上皮细胞 CCD841 CON 均购自北纳生物公司。6 周龄雌性 BALB/c 裸鼠和 8 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠购自斯贝福实验动物科技有限公司[SCXK(京)2019-0010, No.110324210100127212, No.110324210105845456]。实验小鼠适应性饲养 1 周, 饲养温度(22±2)°C, 相对湿度(50±5)%, 光照为 12 h 光-暗循环。小鼠的笼具需严格清洗、高压, 使用⁶⁰Co 辐射灭菌维持饲料、⁶⁰Co 辐射灭菌玉米芯垫料和高压灭菌水饲养小鼠[SYXK(吉)2023-0015]。实验方案符合动物保护、动物福利和伦理原则, 以及国家实验动物福利伦理的相关规定(2023081)。

胎牛血清购自 Thermo Fisher Scientific 公司, DMEM 培养基购自 Hyclone 公司, CCK-8 试剂、结晶紫染色液、

细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒、BCA 蛋白浓度测定试剂盒和辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔 IgG (H+L)均购自碧云天公司, 抗 CDK4、CDK6 和 cyclin D1 抗体均购自 Abcam 公司, 贝母素乙(10 mmol/L×1 mL, DMSO 配制)购自 MCE 公司, AOM 和 DSS 均购自 MP Biomedicals 公司, Minute™ Total Protein Extraction Kit 购自 Invent Biotechnologies 公司。

1.2 CCK-8 法检测贝母素乙对 HCT116 和 CCD841 CON 细胞增殖的影响

将 HCT116 和 CCD841 CON 细胞分别接种于 96 孔板(5×10³个/孔)中, 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h。用 DMEM 培养基稀释贝母素乙, 使其分别以 0、50、100 和 200 μmol/L 的浓度处理细胞 48 h, 每组设 8 个复孔, 其中 0 μmol/L 孔为空白对照孔。每孔加入 10 μL CCK-8 溶液, 在 37 °C、5% CO₂ 培养箱中反应 90 min, 用酶标仪在 490 nm 波长处测量每孔的光密度(D)值, 按照公式“细胞增殖抑制率=(对照孔 D 值-处理孔 D 值)/对照孔 D 值×100%”计算细胞增殖抑制率。

1.3 结晶紫染色法检测贝母素乙对 HCT116 和 CCD841 CON 细胞增殖的影响

将 HCT116 和 CCD841 CON 细胞分别接种于 12 孔培养板(3×10⁵个/孔)中, 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h。用 100 μmol/L 的贝母素乙处理 HCT116 和 CCD841 CON 细胞 48 h, 加入 0.1% 结晶紫染色液, 室温下染色 8 min, 并用纯净水清洗 2 次, 在显微镜下拍照并使用 Image J 软件统计×200 视野中的所有细胞数。未给药的细胞作为对照组。

1.4 流式细胞术检测贝母素乙对 HCT116 细胞周期的影响

将 HCT116 细胞以 6×10⁵个/孔接种于 6 孔培养板中, 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h, 用 100 μmol/L 的贝母素乙处理 48 h 后胰酶消化细胞, PBS 洗涤离心, 加入 1 mL 冰浴预冷的 70% 乙醇溶液, 轻轻混匀、4 °C 固定过夜。离心、PBS 清洗后, 在 PI 染色液(1 mg/mL)中 37 °C 避光染色 30 min, 上 C6Plus 流式细胞仪进行检测并分析各期细胞的分布情况。

1.5 WB 法检测贝母素乙对 HCT116 细胞周期相关蛋白表达的影响

将 HCT116 细胞接种于 6 孔培养板(6×10⁵个/孔)中, 在 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h, 用 100 μmol/L 的贝母素乙处理 48 h 后收集细胞, 利用 Minute™ Total Protein Extraction Kit 提取细胞总蛋白, 通过 BCA 蛋白浓度测定试剂盒进行蛋白定量并制备蛋白

样品。进行10%SDS-PAGE,将蛋白质条带转移至NC膜上,在5%的脱脂乳粉溶液中封闭1.5 h,加入稀释比例为1:1 000的CDK4、CDK6和cyclin D1一抗处理过夜。清洗后,加入稀释比例为1:3 000的HRP标记的山羊抗兔IgG(H+L)二抗中反应1 h,用化学发光法显影、成像。使用Image J软件分析各组细胞蛋白质条带的灰度值。

1.6 HCT116细胞移植瘤裸鼠模型的构建并观察贝母素乙对移植瘤生长的影响

在每只裸鼠的右后肢近背部区域皮下注射 1×10^6 个HCT116细胞,14 d后待裸鼠右后肢近背部区域出现黄豆粒大小的肿瘤即视为造模成功,本研究造模成功率为100%。将荷瘤成功的裸鼠随机分成2组,即对照组和贝母素乙组(0.75 mg/kg),每组10只。贝母素乙组裸鼠每3 d瘤内注射给药1次,连续给药3周;对照组裸鼠给予等量的生理盐水。给药期间记录移植瘤的体积和裸鼠OS率。实验结束后,采用二氧化碳安乐死法处死裸鼠、分离移植瘤组织标本,拍照后通过固定、脱水、石蜡包埋、切片制片、抗原修复、组织封闭、一抗4 °C反应过夜、二抗室温处理、DAB显色、苏木素复染封片、镜检及拍照,使用Image J软件统计分析移植瘤组织中细胞周期相关蛋白(CDK4、CDK6和cyclin D1)的阳性表达率[细胞阳性表达率=阳性细胞数/总细胞数 $\times 100\%$]。

1.7 AOM/DSS小鼠模型检测贝母素乙对结肠癌体内生长的影响

将C57BL/6J小鼠随机分成2组,即AOM/DSS组和贝母素乙组,每组10只。两组小鼠均在第1天腹腔注射AOM(12 mg/kg),第3天时给予小鼠3%DSS饮水,连续饮用5 d,在第9天起给予小鼠正常饮水,连续饮用16 d,以此为一个循环,连续进行3个循环。

造模期间,贝母素乙组小鼠每5 d腹腔注射一次贝母素乙(0.75 mg/kg),AOM/DSS组小鼠腹腔注射等量的生理盐水,连续给药13次。实验结束后,采用二氧化碳安乐死法处死两组模型小鼠、分离结肠组织标本,测算癌变组织最大肿瘤体积并计数肿瘤数目及拍照。部分癌变组织标本经固定、石蜡包埋、切片脱蜡至水、H-E染色、脱水、封片、光镜下观察并拍照,分析AOM/DSS模型小鼠结肠组织的癌变情况;部分癌变组织标本用于免疫组化染色和WB法检测组织标本中细胞周期相关蛋白的阳性表达率和表达水平。

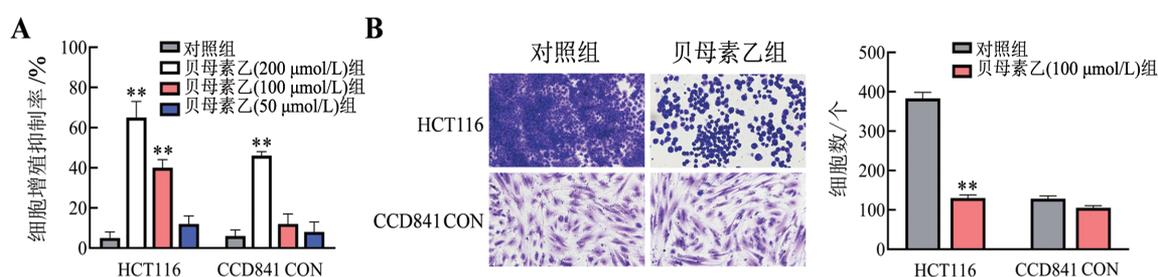
1.8 统计学处理

上述所有实验均独立重复3次。采用GraphPad Prism 5统计软件进行数据处理。符合正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间数据比较采用 t 检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 贝母素乙显著抑制结肠癌HCT116细胞增殖

CCK-8法检测结果(图1A)显示,与对照组相比,200 $\mu\text{mol/L}$ 和100 $\mu\text{mol/L}$ 的贝母素乙能够显著抑制HCT116细胞增殖(均 $P < 0.01$),但50 $\mu\text{mol/L}$ 的贝母素乙对HCT116细胞无显著抑制作用($P > 0.05$);同时,200 $\mu\text{mol/L}$ 的贝母素乙也能显著抑制正常结肠上皮细胞CCD841 CON细胞的增殖($P < 0.01$),但是50、100 $\mu\text{mol/L}$ 的贝母素乙对CCD841 CON细胞增殖均无显著抑制作用。结晶紫染色结果(图1B)显示,100 $\mu\text{mol/L}$ 的贝母素乙能显著抑制HCT116细胞的增殖($P < 0.01$),但对CCD841 CON细胞增殖无明显影响。结果表明,贝母素乙能够抑制结肠癌HCT116细胞的增殖能力,因此,后续选取100 $\mu\text{mol/L}$ 的贝母素乙作为细胞实验的使用浓度。



A: CCK-8法检测细胞的增殖抑制率;B:结晶紫染色法检测细胞的增殖能力($\times 200$)。与对照组比较,** $P < 0.01$ 。

图1 贝母素乙对结肠癌HCT116细胞和正常结肠上皮细胞CCD841 CON增殖的影响

2.2 贝母素乙诱导HCT116细胞周期G0/G1期阻滞

流式细胞术检测结果(图2A)显示,与对照组相比,100 $\mu\text{mol/L}$ 的贝母素乙处理后将HCT116细胞周期阻滞于G0/G1期,G0/G1期细胞的比例显著升高($P < 0.01$),

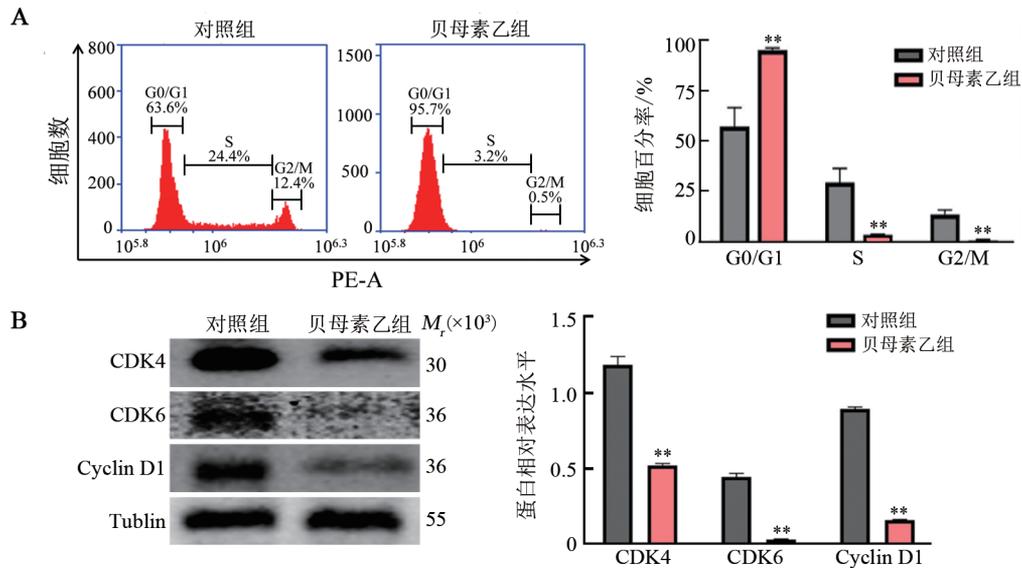
而S期、G2/M期细胞比例均显著降低($P < 0.01$)。WB法检测结果(图2B)显示,与对照组相比,100 $\mu\text{mol/L}$ 的贝母素乙处理后可显著降低HCT116细胞周期相关蛋白CDK4、CDK6和cyclin D1的表达水平(均 $P < 0.01$)。结

果表明, 贝母素乙通过下调 CDK4、CDK6 和 cyclin D1 的表达水平诱导细胞周期 G0/G1 期阻滞。

2.3 贝母素乙显著抑制荷瘤裸鼠模型移植瘤生长并延长裸鼠 OS

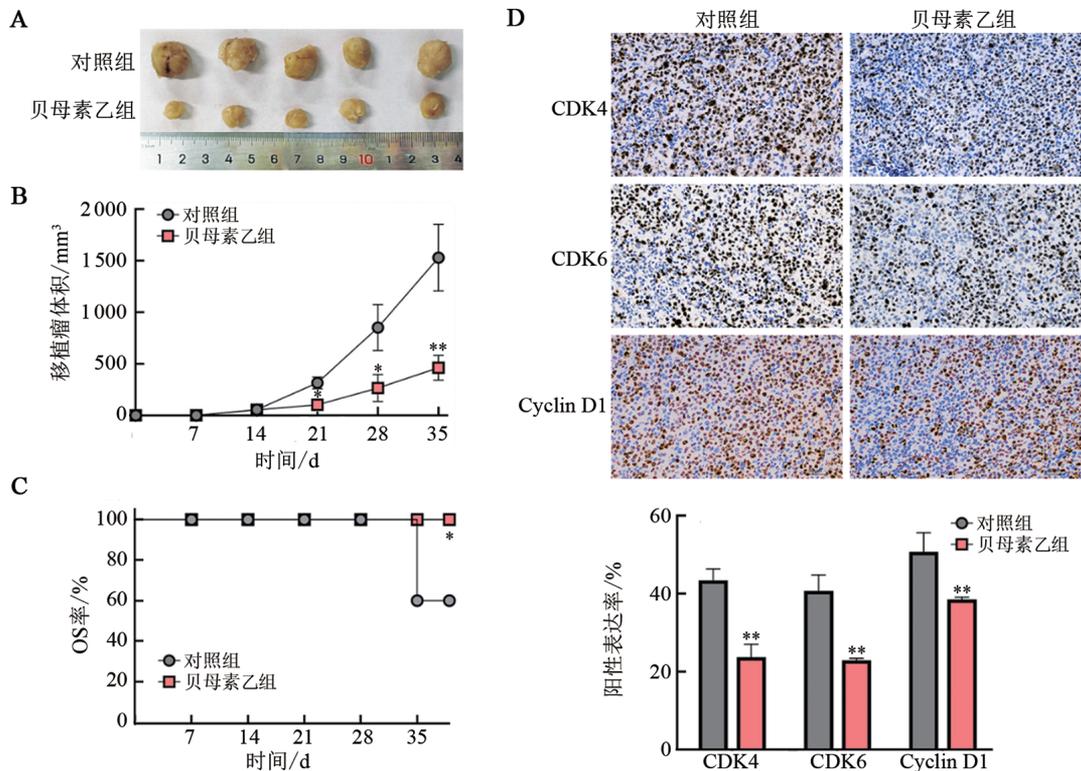
结肠癌 HCT116 细胞移植瘤裸鼠模型实验结果 (图 3) 显示, 与对照组相比, 贝母素乙组 (0.75 mg/kg) 裸鼠移植瘤的体积显著减小 ($P < 0.05, P < 0.01$; 图 3A、

3B)、裸鼠的 OS 率显著升高 ($P < 0.05$, 图 3C)。免疫组化染色法检测结果 (图 3D) 显示, 贝母素乙组裸鼠移植瘤组织中 CDK4、CDK6 和 cyclin D1 的阳性表达率显著低于对照组 ($P < 0.01$)。结果表明, 贝母素乙通过下调 CDK4、CDK6 和 cyclin D1 的表达, 诱导细胞周期 G0/G1 期阻滞而抑制裸鼠 HCT116 细胞移植瘤的生长。



A: 流式细胞术检测细胞周期分布情况; B: WB 法检测细胞周期相关蛋白的表达水平。与对照组比较, $**P < 0.01$ 。

图 2 贝母素乙 (100 $\mu\text{mol/L}$) 对结肠癌 HCT116 细胞周期的影响



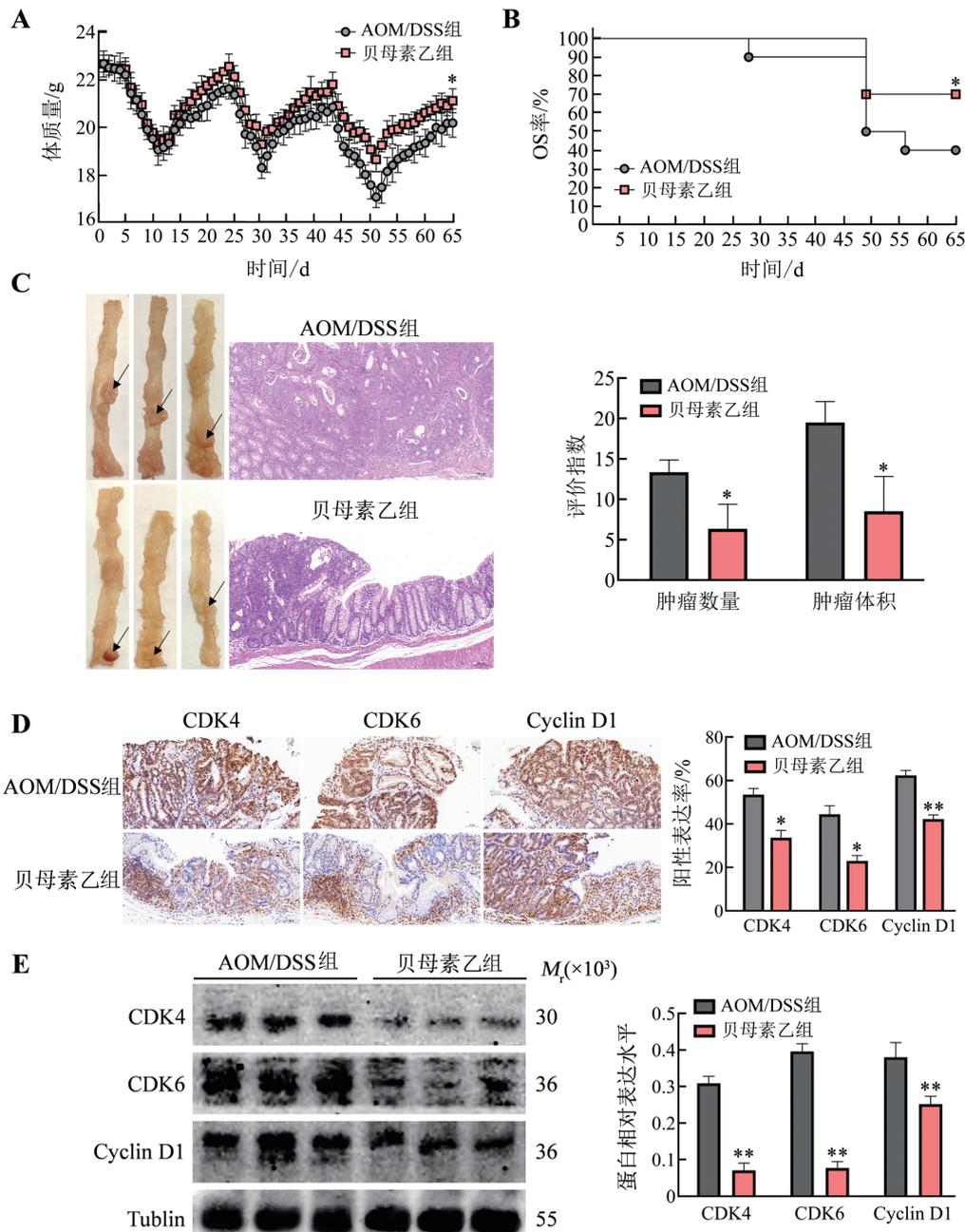
A: 两组裸鼠移植瘤的外形和大小比较; B: 两组裸鼠移植瘤的体积比较; C: 两组荷瘤裸鼠的 OS 率比较; D: 免疫组化染色法检测移植瘤组织中 CDK4、CDK6 和 cyclin D1 的阳性表达率 ($\times 200$)。与对照组比较, $*P < 0.05, **P < 0.01$ 。

图 3 贝母素乙 (0.75 mg/kg) 对 HCT116 细胞移植瘤裸鼠模型生长和 OS 的影响

2.4 贝母素乙抑制 AOM/DSS 模型小鼠肿瘤的生长并延长 OS

AOM/DSS 小鼠模型的检测结果(图4)显示,与 AOM/DSS 组相比,贝母素乙组小鼠的体质量显著升高($P<0.05$,图4A)、OS 率显著升高($P<0.05$,图4B),结肠肿瘤数目和最大肿瘤体积均显著下降(均 $P<0.05$,图4C)。免疫组化染色结果(图4D)显示,与 AOM/DSS 组相比,贝母素乙组小鼠肿瘤组织中 CDK4、CDK6

和 cyclin D1 的阳性表达率均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。WB 法检测结果(图4E)显示,与 AOM/DSS 组相比,贝母素乙组小鼠肿瘤组织中 CDK4、CDK6 和 cyclin D1 的表达水平均显著降低(均 $P<0.01$)。实验结果表明,贝母素乙可能通过下调 CDK4、CDK6 和 cyclin D1 表达诱导细胞周期 G0/G1 期阻滞,从而抑制 AOM/DSS 模型小鼠肿瘤的生长并延长小鼠的 OS。



A: 两组模型小鼠体质量比较; B: 两组模型小鼠 OS 率比较; C: 两组模型小鼠结肠癌变程度比较[左图为结肠及结肠癌大体标本, 箭头示癌变部位, 中图为结肠癌组织 H-E 染色结果($\times 100$), 右图为癌变程度数据分析结果]; D: 免疫组化染色法检测两组模型小鼠肿瘤组织中细胞周期相关蛋白的阳性表达率($\times 200$); E: WB 法检测两组模型小鼠结肠癌组织中细胞周期相关蛋白表达水平。与 AOM/DSS 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

图4 贝母素乙对 AOM/DSS 模型小鼠体质量、OS、结肠癌变程度和细胞周期相关蛋白表达的影响

3 讨论

天然药物是筛选抗肿瘤药物的巨大宝库,甾醇类、苷类、黄酮类、生物碱类、萜类、苯丙素类、聚酮类等构成了其复杂的活性成分;一些天然药物的衍生物,包括长春新碱、长春碱、伊立替康、拓扑替康、依托泊苷、鬼臼毒素和紫杉醇等^[1],为抗肿瘤药物的筛选提供了充足的基础保障。在细胞周期阻滞方面,提取自山附子的高乌头碱能通过 MAPK 信号通路诱导肝癌细胞周期 S 期阻滞^[2],提取自青蒿的青蒿素能通过诱导细胞周期 G2/M 期阻滞影响耐药乳腺癌细胞增殖^[3],提取自酒藤的白藜芦醇能通过诱导细胞周期阻滞抑制骨肉瘤和乳腺癌细胞增殖^[4-5],提取自菠菜的山柰酚能通过诱导细胞周期阻滞等抑制乳腺癌细胞增殖^[6],提取自掌叶大黄的大黄素能通过抑制 HAS2-HACD44/RHAMM 信号通路调节非小细胞肺癌细胞的细胞周期^[7]等。本研究发现,提取自贝母类药材的贝母素乙可通过诱导细胞周期 G0/G1 期阻滞而抑制结肠癌 HCT116 细胞增殖,这为基于细胞周期阻滞抗肿瘤药物的筛选提供了新的选择。

目前,临床上治疗结直肠癌一线化疗药物主要包括氟脲嘧啶、卡培他滨和奥沙利铂等。氟脲嘧啶是一种抗代谢药物,能够抑制胸腺嘧啶核苷酸合成酶,干扰 DNA 合成的作用^[8]。卡培他滨是一种新型氟尿嘧啶类口服抗癌药,可作用细胞周期 S 期,对肿瘤细胞具有很强的靶向性^[9]。奥沙利铂是第三代铂类抗癌药物,可与 DNA 靶向结合形成交叉联结,拮抗 DNA 复制与转录^[20],但这些药物可引起栓塞性静脉炎、骨髓抑制和消化道不良反应等^[21],而肿瘤细胞耐药性的产生会严重影响药物的疗效^[22-23]。研究发现,贝母素乙能够显著提高对胃癌耐药细胞 SGC7901/VCR 对化疗药(长春新碱、多柔比星、顺铂和氟脲嘧啶)的敏感性及细胞内多柔比星浓度^[24],且贝母素乙可能通过减少药物外排和诱导细胞凋亡,增强胃癌耐药细胞 SGC7901/VCR 对多柔比星的敏感性^[25]。贝母素乙具备逆转肿瘤细胞耐药性的潜力,这为后续抗肿瘤药物的联合应用奠定了基础。

本研究通过 CCK-8 法和结晶紫染色法检测发现,100 $\mu\text{mol/L}$ 的贝母素乙可以显著抑制人结肠癌 HCT116 细胞增殖,但对人正常结肠上皮细胞 CCD841 CON 无显著性影响,初步确定了贝母素乙在细胞实验上的安全有效的使用浓度。在细胞周期的相关检测中,贝母素乙处理的 HCT116 细胞在 G0/G1 期所占的百分比要显著性高于对照组细胞,且 S 期和 G2 期所在的百分比显著低于对照组细胞;同时贝母素乙处理的 HCT116 细胞中 CDK4、CDK6 和

cyclin D1 的蛋白表达水平显著低于对照组细胞。CDK4 和 CDK6 与 cyclin D1 相结合,且靶向成视网膜细胞瘤蛋白使其磷酸化失活,进而允许细胞从 G1 期进入 S 期^[26]。上述研究结果表明,贝母素乙可通过抑制 CDK4、CDK6 和 cyclin D1 的表达水平,诱导细胞周期 G0/G1 期阻滞而抑制 HCT116 细胞的增殖。通过 HCT116 移植瘤裸鼠模型确定了贝母素乙在体内抑瘤效果及其分子机制,贝母素乙可通过抑制肿瘤组织中 CDK4、CDK6 和 cyclin D1 的表达水平,诱导肿瘤组织细胞 G0/G1 期阻滞,从而抑制荷瘤裸鼠移植瘤的体内生长并延长 OS。

AOM/DSS 小鼠模型是结直肠癌常见实验肿瘤模型,是研究结直肠癌发生和发展潜在机制的重要工具,且诱发的肿瘤均位于结直肠,远端密度增加,与人结直肠癌相似^[27]。本研究造模所使用的 C57BL/6J 小鼠具备完整的免疫系统,能够更加真实地体现贝母素乙在体内的抗肿瘤效果。研究发现,贝母素乙能够显著抑制 AOM/DSS 模型小鼠肿瘤的生长(减少癌变结肠组织最大肿瘤体积及肿瘤数量)并延长小鼠的 OS 等。这些结果表明,贝母素乙可能具备体内抑制结直肠癌细胞增殖的潜力,但是贝母素乙与结直肠癌发生发展与宿主免疫应答之间的具体关联还有待于进一步研究证实。

综上所述,贝母素乙可以通过诱导细胞周期 G0/G1 期阻滞而抑制结肠癌 HCT116 细胞增殖,为结肠癌治疗提供了新的思路和方向,为后续抗结肠癌相关新药的研发与联合应用奠定了基础。

[参考文献]

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249. DOI: 10.3322/caac.21660.
- [2] 李变丽, 陈华国, 赵超, 等. 中药抗结直肠癌的作用机制研究进展[J]. *天然产物研究与开发*, 2020, 32(12): 2132-2141. DOI: 10.16333/j.1001-6880.2020.12.019.
- [3] 赵婉, 姜海, 王知斌, 等. 贝母属植物的药理作用概述[J]. *上海中医药杂志*, 2018, 52(11): 97-100. DOI: 10.16305/j.1007-1334.2018.11.024.
- [4] 易念, 王莉, 王松, 等. 贝母素乙通过调控 PI3K/Akt 信号通路诱导乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡[J]. *现代肿瘤医学*, 2023, 31(12): 2180-2185. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2023.12.002.
- [5] CHEN Z K, ZHAO D, FENG S X, *et al.* Pharmacodynamics and cellular uptake of peimine and peiminine in inflammatory model non-small-cell lung cancer epithelial cells (A549) [J/OL]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 2946201[2023-10-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/>

- articles/PMC8843782/. DOI: 10.1155/2022/2946201.
- [6] 张静, 王云飞, 毛艳, 等. 贝母素乙联合奥沙利铂对胃癌 MKN45 细胞增殖和凋亡作用研究[J]. 新疆医科大学学报, 2020, 43(7): 866-869, 875. DOI: 10.3969/j.issn.1009-5551.2020.07.006.
- [7] TANG Q Q, WANG Y F, MA L J, *et al.* Peiminine serves as an adriamycin chemosensitizer in gastric cancer by modulating the EGFR/FAK pathway[J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(3): 1299-1305. DOI: 10.3892/or.2018.6184.
- [8] 晁旭, 李宏, 王国全, 等. 贝母素乙诱导人肝癌 SMMC-7721 细胞凋亡的分子机制研究[J]. 西部中医药, 2020, 33(3): 26-29. DOI: 10.12174/j.issn.1004-6852.2020.03.07.
- [9] 饶军, 熊爱华, 张康梅, 等. Peiminine 通过调控 COX-2/PGE2/EGFR 信号通路促进人结肠癌 HCT-116 细胞凋亡的分子机制[J]. 实用癌症杂志, 2021, 36(6): 871-874. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5930.2021.06.001.
- [10] ZHENG Z, XU L T, ZHANG S F, *et al.* Peiminine inhibits colorectal cancer cell proliferation by inducing apoptosis and autophagy and modulating key metabolic pathways[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(29): 47619-47631[2023-10-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5564592/>. DOI: 10.18632/oncotarget.17411.
- [11] ASMA S T, ACAROZ U, IMRE K, *et al.* Natural products/bioactive compounds as a source of anticancer drugs[J/OL]. *Cancers*, 2022, 14(24): 6203[2023-10-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36551687/>. DOI: 10.3390/cancers14246203.
- [12] MA J Y, HUI L, SONG N, *et al.* Lappaconitine hydrochloride induces apoptosis and S phase cell cycle arrest through MAPK signaling pathway in human liver cancer HepG2 cells[J/OL]. *Phcog Mag*, 2021, 17(74): 334[2023-10-15]. https://doi.org/10.4103/pm.pm_251_20. DOI: 10.4103/pm.pm_251_20.
- [13] GUAN X, GUAN Y. Artemisinin induces selective and potent anticancer effects in drug resistant breast cancer cells by inducing cellular apoptosis and autophagy and G2/M cell cycle arrest[J]. *J BUON*, 2020, 25(3): 1330-1336.
- [14] WU H, CHEN L, ZHU F F, *et al.* The cytotoxicity effect of resveratrol: cell cycle arrest and induced apoptosis of breast cancer 4T1 cells[J/OL]. *Toxins*, 2019, 11(12): 731[2023-10-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31847250/>. DOI: 10.3390/toxins11120731.
- [15] PENG L H, JIANG D M. Resveratrol eliminates cancer stem cells of osteosarcoma by STAT3 pathway inhibition[J/OL]. *PLoS One*, 2018, 13(10): e0205918[2023-10-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30356255/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0205918.
- [16] ZHU L, XUE L J. Kaempferol suppresses proliferation and induces cell cycle arrest, apoptosis, and DNA damage in breast cancer cells[J]. *Oncol Res*, 2019, 27(6): 629-634. DOI: 10.3727/096504018X15228018559434.
- [17] LI M Z, JIN S B, CAO Y, *et al.* Emodin regulates cell cycle of non-small lung cancer (NSCLC) cells through hyaluronan synthase 2 (HA2) -HA-CD44/receptor for hyaluronic acid-mediated motility (RHAMM) interaction-dependent signaling pathway[J/OL]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(1): 19[2023-10-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7789699/>. DOI: 10.1186/s12935-020-01711-z.
- [18] PRATAP A, QUALMAN A, GARRETT H, *et al.* Targeting glypican-1 reverses resistance to 5-fluorouracil in esophageal adenocarcinoma cells[J]. *Anticancer Res*, 2023, 43(8): 3411-3418. DOI: 10.21873/anticancer.16516.
- [19] JONES E, DUAN Z G, NGUYEN T T, *et al.* Adjuvant 5-fluorouracil/leucovorin, capecitabine, and oxaliplatin-related regimens for stage II/III colon cancer patients 66 years or older [J]. *Cancer Med*, 2023, 12(3): 2389-2406. DOI: 10.1002/cam4.5078.
- [20] WANG X W, ZHENG Y Y, CHAI Z B, *et al.* Dihydroartemisinin synergistically enhances the cytotoxic effects of oxaliplatin in colon cancer by targeting the PHB2-RCHY1 mediated signaling pathway[J]. *Mol Carcinog*, 2023, 62(3): 293-302. DOI: 10.1002/mc.23486.
- [21] 陈娴. 老年结肠癌患者抗肿瘤药物用药进展研究[J]. 中国药物与临床, 2023, 23(5): 336-340. DOI: 10.11655/zgywylc2023.05.013.
- [22] 郑钰, 尹焕才, 殷建. 肿瘤多药耐药机制及其应对策略的研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2023, 30(9): 824-829. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.09.012.
- [23] 刘久莲, 刘童, 高善语. microRNA 在结肠直肠癌耐药及治疗中作用的研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2023, 30(5): 438-444. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.05.010.
- [24] 张裴, 顾政一, 孙玉华, 等. 贝母素乙逆转 SGC7901/VCR 细胞株多药耐药的初步研究[J]. 新疆医科大学学报, 2012, 35(4): 452-456. DOI: 10.3969/j.issn.1009-5551.2012.04.011.
- [25] 王云飞, 顾政一, 聂勇战, 等. 贝母素乙增强阿霉素对胃癌多药耐药裸鼠移植瘤的抑制作用及其机制研究[J]. 中草药, 2014, 45(5): 686-690. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.05.017.
- [26] LUKAS J, BARTKOVA J, BARTEK J. Convergence of mitogenic signalling cascades from diverse classes of receptors at the cyclin D-cyclin-dependent kinase-pRb-controlled G1 checkpoint[J/OL]. *Mol Cell Biol*, 1996, 16(12): 6917-6925[2023-10-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC231695/>. DOI: 10.1128/MCB.16.12.6917.
- [27] DE ROBERTIS M, SIGNORI E. Azoxymethane/dextran sodium sulfate (AOM/DSS) model of colorectal cancer[J]. *Methods Mol Biol*, 2024, 2773: 51-58. DOI: 10.1007/978-1-0716-3714-2_5.

[收稿日期] 2023-10-17

[修回日期] 2024-02-27

[本文编辑] 党瑞山