

盐酸羟考酮通过AKT/GSK3 β /EMT轴抑制直肠癌SW1463细胞的恶性生物学行为

王逸云 田霞*

(武汉市第三医院消化内科, 武汉 430000)

摘要 该研究探讨盐酸羟考酮(OXY)是否可通过调控AKT/GSK3 β /EMT轴来抑制直肠癌细胞恶性生物学行为。该研究将直肠癌细胞SW1463分为Control组、SC79组(8 μ g/mL SC79)、OXY低剂量(OXY-L)组(5 mmol/L OXY)、OXY高剂量(OXY-H)组(10 mmol/L OXY)、OXY-H+SC79(AKT激活剂)组(10 mmol/L OXY和8 μ g/mL SC79); 采用MTT法、Edu染色检测细胞增殖情况; 细胞划痕实验检测细胞迁移情况; Transwell检测细胞侵袭情况; 流式细胞仪检测细胞凋亡情况; ELISA检测细胞上清中CXCL-2、CXCL-8含量; Western blot检测相关蛋白表达水平; 构建裸鼠移植瘤模型, 观察OXY对移植瘤生长的影响。SC79可提高SW1463细胞 D_{490} (24 h、48 h)值、增殖率、划痕愈合率、侵袭数量、CXCL-2含量、CXCL-8含量以及PCNA、MMP-9、p-AKT/AKT、p-GSK3 β /GSK3 β 、N-cadherin和vimentin蛋白表达水平, 降低细胞凋亡率以及cleaved caspase-3和E-cadherin蛋白表达水平($P<0.05$); OXY可降低SW1463细胞 D_{490} (24 h、48 h)值、增殖率、划痕愈合率、侵袭数量、CXCL-2含量、CXCL-8含量以及PCNA、MMP-9、p-AKT/AKT、p-GSK3 β /GSK3 β 、N-cadherin和vimentin蛋白表达水平, 提高细胞凋亡率以及cleaved caspase-3和E-cadherin蛋白表达水平($P<0.05$); SC79可减轻OXY对直肠癌细胞恶性生物学的抑制作用($P<0.05$); OXY可抑制裸鼠肿瘤生长, 减小肿瘤质量和体积, 提高肿瘤细胞凋亡率, 降低肿瘤组织p-AKT/AKT、p-GSK3 β /GSK3 β 、N-cadherin和vimentin蛋白表达水平, 提高E-cadherin蛋白表达水平和凋亡率($P<0.05$)。OXY可通过抑制AKT/GSK3 β /EMT轴来抑制直肠癌细胞恶性生物学行为。

关键词 盐酸羟考酮; AKT/GSK3 β /EMT轴; 直肠癌细胞; 增殖; 迁移; 侵袭

Oxycodone Hydrochloride Inhibits the Malignant Biological Behavior of Rectal Cancer Cells through the AKT/GSK3 β /EMT Axis

WANG Yiyun, TIAN Xia*

(Department of Gastroenterology, Wuhan Third Hospital, Wuhan 430000, China)

Abstract This study investigates whether OXY (oxycodone hydrochloride) can inhibit the malignant biological behavior of rectal cancer cells by regulating the AKT/GSK3 β /EMT axis. Rectal cancer cells SW1463 were assigned into Control group, SC79 group (8 μ g/mL SC79), OXY-L group (5 mmol/L OXY), OXY-H group (10 mmol/L OXY), and OXY-H+SC79 (AKT activator) group (10 mmol/L OXY and 8 μ g/mL SC79). MTT assay and Edu staining were applied to detect cell proliferation. The cell scratch assay was applied to detect cell migration. Transwell method was applied to detect cell invasion. Flow cytometry was used to detect cell apopto-

收稿日期: 2025-03-27

接受日期: 2025-07-07

湖北省自然科学基金(批准号: 2024AFC064)资助的课题

*通信作者。Tel: 027-68894864, E-mail: y5t2shq@163.com

Received: March 27, 2025

Accepted: July 7, 2025

This work was supported by the Hubei Provincial Natural Science Foundation (Grant No.2024AFC064)

*Corresponding author. Tel: +86-27-68894864, E-mail: y5t2shq@163.com

sis. ELISA was used to detect the content of CXCL-2 and CXCL-8 in cell supernatant. Western blot was used to detect the expression levels of related proteins. A nude mouse tumor transplantation model was established to observe the effect of OXY on the growth of the transplanted tumors. SC79 could increase D_{490} (24 h, 48 h) value, proliferation rate, scratch healing rate, invasion number, CXCL-2 content, CXCL-8 content, and the expression levels of PCNA, MMP-9, p-AKT/AKT, p-GSK3 β /GSK3, N-cadherin and vimentin in SW1463 cells; while the apoptosis rate, cleaved caspase-3 and E-cadherin expression levels were decreased ($P<0.05$). OXY decreased D_{490} (24h, 48h) values, proliferation rate, scratch healing rate, invasion number, CXCL-2 content, CXCL-8 content, and the expression levels of PCNA, MMP-9, p-AKT/AKT, p-GSK3 β /GSK3, N-cadherin and vimentin in SW1463 cells, while increased apoptosis rate, cleaved caspase-3 and E-cadherin protein expression levels ($P<0.05$). SC79 could reduce the inhibitory effect of OXY on the malignant biology of rectal cancer cells ($P<0.05$). OXY could inhibit the growth of tumors, reduce tumor mass and volume, and increase the apoptosis rate of tumor cells in nude mice, meanwhile it could decrease the expression levels of p-AKT/AKT, p-GSK3 β /GSK3 β , N-cadherin and vimentin proteins in tumor tissues, and increase the expression level of E-cadherin protein and the apoptosis rate ($P<0.05$). OXY could inhibit the malignant biological behaviors of rectal cancer cells by suppressing the AKT/GSK3 β /EMT axis.

Keywords oxycodone hydrochloride; AKT/GSK3 β /EMT axis; rectal cancer cells; proliferation; migration; invasion

直肠癌是一种发生于直肠部位的恶性消化道肿瘤,具有较高的发病率和死亡率^[1]。目前针对直肠癌的治疗主要是手术、辅助放疗和化疗,虽然在一定程度上可改善患者病情,但对减少远距离复发或提高整体生存率帮助不大,且患者还会遭受化疗药物毒性损害和化疗耐药^[2]。基于此,探究新的药物对治疗直肠癌具有重要意义。盐酸羟考酮(oxycodone hydrochloride, OXY)是一种阿片类镇痛药,具有缓解中度和重度癌症疼痛的作用。研究显示, OXY可抑制乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭,促进细胞凋亡,还可增强紫杉醇对乳腺癌细胞的抑制作用^[3]。还有研究显示, OXY可诱导线粒体介导的氧化应激,从而促进乳腺癌和结直肠癌细胞凋亡^[4]。OXY对癌细胞具有一定的抑制作用,但其具体作用机制尚不明确。AKT/GSK3 β /EMT通路与结直肠癌发生发展密切相关,激活AKT/GSK3 β /EMT轴可促进结直肠癌细胞恶性生物学行为,并促进移植瘤生长^[5]。抑制AKT/GSK3 β 通路可降低结直肠癌细胞增殖、迁移和侵袭能力^[6]。基于此,本研究探究OXY是否可通过调控AKT/GSK3 β /EMT轴来抑制直肠癌细胞恶性生物学行为。

1 材料与方法

1.1 实验细胞、动物、试剂与仪器

直肠癌SW1463细胞购自广州吉妮欧生物科

技有限公司; BALB/c裸鼠, 20只, SPF级, 体质量(20 $\pm$ 2) g, 购自湖北贝恩生物科技有限公司, 生产许可证号: SCXK(鄂)2021-0027。该研究获得湖北贝恩生物科技有限公司动物伦理委员会批准(BNT-2025030107)。OXY(货号: N-033)购自美国Sigma公司; AKT激活剂SC79(货号: HY-18749)购自美国MCE公司; CXCL-2 ELISA试剂盒、CXCL-8 ELISA试剂盒、Transwell小室、蛋白定量检测试剂盒、MTT、Edu试剂盒、细胞凋亡试剂盒(货号: SJH-0157826、SJH-0349218、SJH-0022612、SJH-0174627、SJH-088046、SJH-081572、SJH-017458)购自青岛捷世康生物科技有限公司; E-cadherin、PCNA、N-cadherin、cleaved caspase-3、vimentin、MMP-9、p-GSK3 β 、GSK3 β 、p-AKT、AKT和 β -actin一抗及二抗IgG(货号: ab238099、ab92552、ab98952、ab214430、ab92547、ab137867、ab75745、ab226877、ab283852、ab8805、ab179467、ab302644)均购自英国Abcam公司。

1.2 细胞分组

将SW1463细胞接种到RPMI 1640培养基, 于培养箱中37 °C培养, 至对数期时分为Control组(正常培养)、SC79组(8 μ g/mL的SC79处理)^[7]、OXY低剂量(OXY-L)组(5 mmol/L的OXY处理)、OXY高剂量(OXY-H)组(10 mmol/L的OXY处理)^[8]、OXY-H+SC79组(8 μ g/mL的SC79和10 mmol/L的OXY共同

处理), 添加药物培养48 h后进行后续实验, 每组重复6次。

1.3 细胞增殖检测

MTT法检测细胞活性: 将细胞接种于96孔板, 分别培养24 h和48 h后, 每孔加入20 μ L MTT溶液于37 $^{\circ}$ C继续孵育4 h, 随后加入150 μ L DMSO, 于490 nm波长处测定吸光度值。Edu染色检测细胞增殖: 细胞接种于24孔板培养后, 按Edu-555试剂盒说明书步骤进行Edu与DAPI染色, 荧光显微镜下观察并采集图像, 使用ImageJ软件对增殖细胞进行定量分析。

1.4 细胞迁移检测

将各组SW1463细胞重悬为 1×10^5 /mL的单细胞悬液, 每孔接种0.5 mL于24孔板内培养。待细胞生长至完全融合时, 使用无菌枪头在细胞层中划出一道划痕, 记录初始划痕宽度。清洗去除脱落细胞, 更换为无血清培养基继续培养24 h, 随后再次测定划痕宽度, 并计算细胞迁移率。

1.5 细胞侵袭检测

采用无血清培养基将Matrigel基质胶按1:8的比例进行稀释, 均匀涂布于Transwell上室底部, 并于37 $^{\circ}$ C条件下孵育2 h使其聚合固化。随后, 在上室中加入200 μ L细胞悬液, 下室加入600 μ L含趋化因子的完全培养基, 常规培养24 h。取出Transwell小室, 经4%多聚甲醛室温固定20 min和结晶紫室温染色25 min后, 于显微镜下观察并计数穿膜细胞。

1.6 细胞凋亡检测

将细胞培养液于4 $^{\circ}$ C离心机中1 000 $\times$ g离心5 min, 收集沉淀SW1463细胞并重悬, 加入5 mL的Annexin V-FITC室温避光孵育15 min, 再加入5 mL的PI试剂室温避光孵育5 min。随后, 30 min内用流式细胞仪检测并定量分析细胞凋亡。

1.7 CXCL-2、CXCL-8含量检测

将细胞培养液于4 $^{\circ}$ C离心机中1 000 $\times$ g离心5 min, 取100 μ L上清液加入酶标管37 $^{\circ}$ C孵育30 min, 然后再加入ELISA试剂盒中的加入生物素标记的检测抗体(1:500) 37 $^{\circ}$ C孵育60 min, TMB显色试剂37 $^{\circ}$ C孵育15 min, 显色结束后加入硫酸溶液终止反应, 酶标仪(波长为450 nm)测定吸光度值, 计算CXCL-2和CXCL-8含量。

1.8 蛋白表达水平检测

将细胞培养液于4 $^{\circ}$ C离心机中1 000 $\times$ g离心

5 min, 收集沉淀SW1463细胞, 试剂盒提取细胞总蛋白并进行定量, 将蛋白样本置于沸水浴变性后, 取15 mL进行电泳, 转印至PVDF膜, 室温封闭2 h, 加入(PCNA、p-AKT、AKT和 β -actin等一抗)兔抗(1:4 000) 4 $^{\circ}$ C过夜处理, 再加入HRP标记二抗(1:1 500)室温孵育2 h, 用ECL化学发光试剂室温显色5 min, Image-Pro Plus 6.0软件对蛋白条带灰度值进行半定量分析。

1.9 裸鼠移植瘤模型建立

将SW1463细胞调整至 5×10^6 /mL浓度, 取100 μ L悬液注射于BALB/c裸鼠皮下构建移植瘤模型。待肿瘤生长至约100 mm³后^[9], 将荷瘤裸鼠随机分为NC组和OXY组($n=10$)。OXY组每日腹腔注射40 μ L 10 mg/kg的OXY, NC组给予等量生理盐水, 干预持续21天后处死, 剥离肿瘤并测定体积和质量。

1.10 TUNEL染色

肿瘤组织经4%的多聚甲醛4 $^{\circ}$ C固定24 h、常规酒精梯度脱水、石蜡包埋后制成4 μ m切片, 脱蜡复水(常规)后用蛋白酶K于37 $^{\circ}$ C条件下预处理30 min, 室温滴加TUNEL反应混合液染色后用DAPI复染细胞核, 抗荧光淬灭剂封片后, 在荧光显微镜下观察并定量分析细胞凋亡情况。

1.11 蛋白表达分析

提取肿瘤组织总蛋白, 沸水浴变性后进行电泳, 后续操作同1.8。

1.12 统计学分析

使用GraphPad Prism 8.0.1进行统计学分析。所有定量数据均符合正态分布, 以均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间比较采用单One-Way ANOVA, 组间两两比较采用SNK- q 检验。检验水准设定为 $\alpha=0.05$ 。

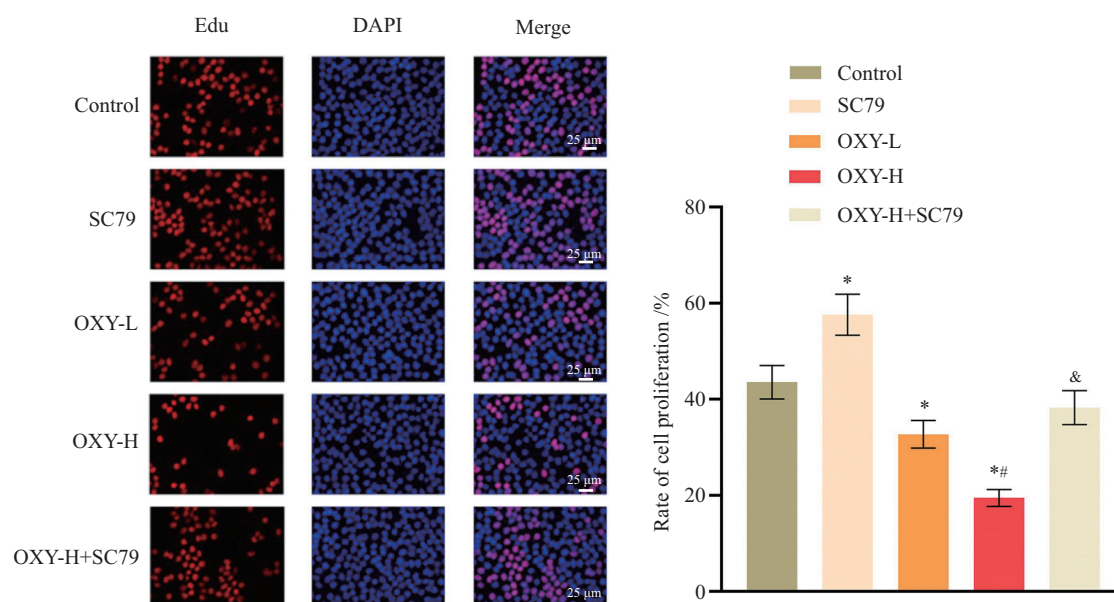
2 结果

2.1 各组SW1463细胞增殖能力比较

与Control组相比, SC79组SW1463细胞 D_{490} (24 h、48h)值和细胞增殖率升高($P<0.05$), OXY-L组和OXY-H组SW1463细胞 D_{490} (24 h、48 h)值和细胞增殖率降低($P<0.05$); OXY-H+SC79组SW1463细胞 D_{490} (24 h、48 h)值和细胞增殖率高于OXY-H组($P<0.05$), 表明OXY可抑制SW1463细胞增殖; 见图1和图2。

2.2 各组SW1463细胞迁移和侵袭能力比较

SC79组划痕愈合率和细胞侵袭数量比Control

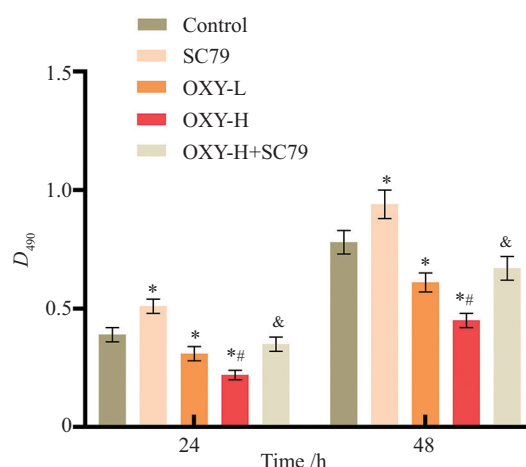


Edu阳性呈红色; * $P<0.05$, 与Control组比较; # $P<0.05$, 与OXY-L组相比; & $P<0.05$, 与OXY-H组相比。 $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。

Red indicates Edu-positive cells; * $P<0.05$ vs Control group; # $P<0.05$ vs OXY-L group; & $P<0.05$ vs OXY-H group. $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。

图1 Edu染色检测各组SW1463细胞增殖

Fig.1 Edu staining was used to detect cell proliferation



* $P<0.05$, 与Control组比较; # $P<0.05$, 与OXY-L组相比; & $P<0.05$, 与OXY-H组相比。 $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。

* $P<0.05$ vs Control group; # $P<0.05$ vs OXY-L group; & $P<0.05$ vs OXY-H group. $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。

图2 各组SW1463细胞增殖活性比较

Fig.2 Comparison of proliferation activity of SW1463 cells in each group

组高 ($P<0.05$), OXY-L组和OXY-H组上述指标水平低于Control组 ($P<0.05$); OXY-H+SC79组上述指标水平比OXY-H组高 ($P<0.05$); 见图3。

2.3 OXY对各组SW1463细胞凋亡的影响

SC79组凋亡率低于Control组 ($P<0.05$), OXY-L组和OXY-H组凋亡率高于Control组 ($P<0.05$); OXY-H+SC79组凋亡率比OXY-H组低 ($P<0.05$); 见图4。

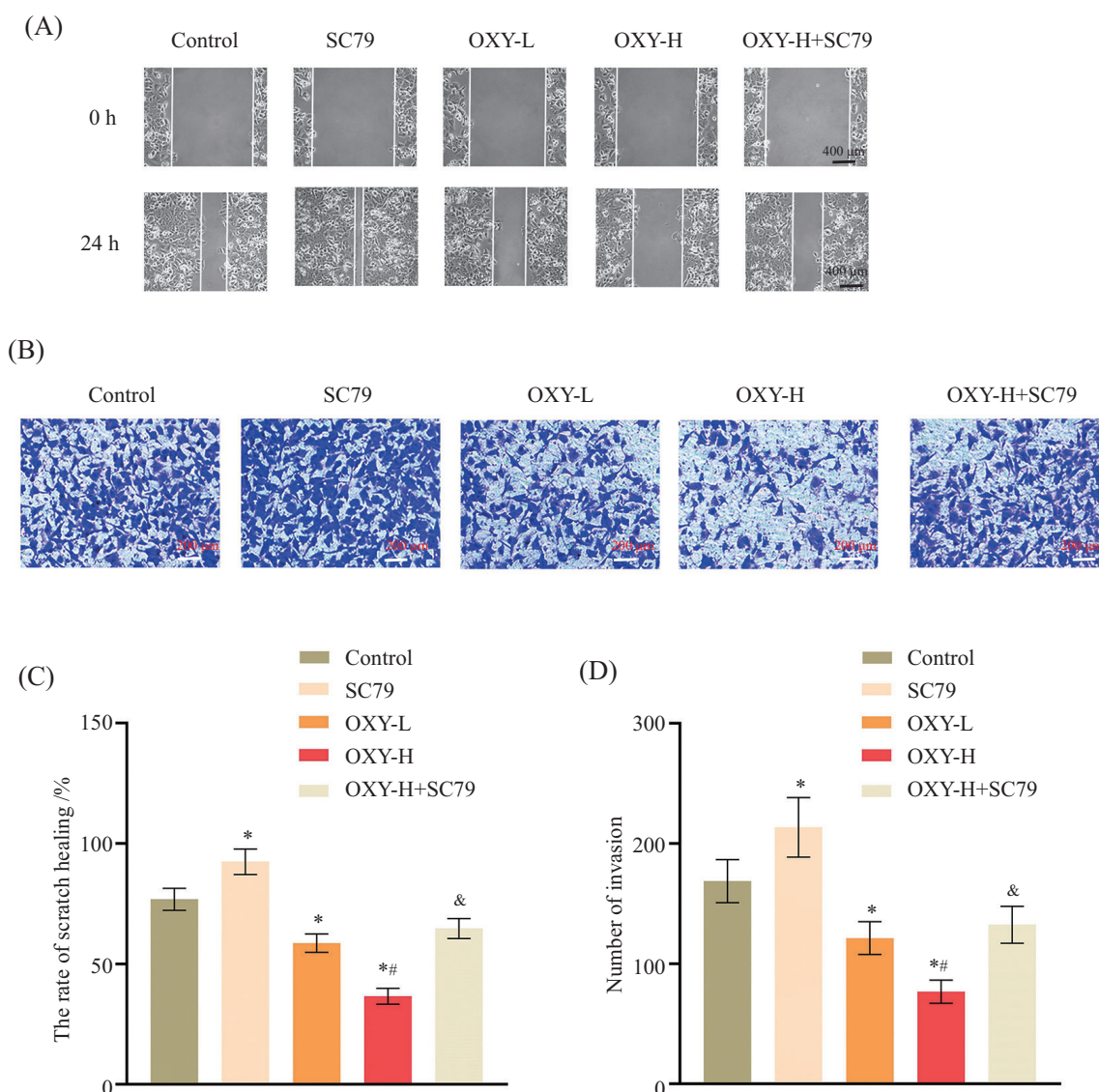
2.4 各组SW1463细胞CXCL-2、CXCL-8含量比较

与Control组相比, SC79组SW1463细胞CXCL-2

和CXCL-8含量升高 ($P<0.05$), OXY-L组和OXY-H组SW1463细胞CXCL-2和CXCL-8含量降低 ($P<0.05$); OXY-H+SC79组SW1463细胞CXCL-2和CXCL-8含量高于OXY-H组 ($P<0.05$); 见图5。

2.5 各组SW1463细胞增殖、凋亡和迁移蛋白表达水平比较

PCNA、MMP-9蛋白表达水平比较: SC79组高于Control组, 而OXY-L组和OXY-H组低于Control组, OXY-H+SC79组高于OXY-H组 ($P<0.05$);



A: 划痕实验图; B: 细胞侵袭结果图; C: 划痕实验量化图; D: 侵袭实验量化图。* $P < 0.05$, 与Control组比较; # $P < 0.05$, 与OXY-L组相比; & $P < 0.05$, 与OXY-H组相比。蓝色表示迁移的细胞。 $\bar{x} \pm s$, $n = 6$ 。

A: scratch test image; B: cell invasion result image; C: quantification of scratch test; D: quantification of invasion test. * $P < 0.05$ vs Control group; # $P < 0.05$ vs OXY-L group; & $P < 0.05$ vs OXY-H group. The blue color represents the migrating cell. $\bar{x} \pm s$, $n = 6$.

图3 各组SW1463细胞迁移和侵袭能力比较

Fig.3 Comparison of migration and invasion ability of SW1463 cells in each group

cleaved caspase-3蛋白表达水平比较: SC79组低于Control组, OXY-L组和OXY-H组高于Control组, OXY-H+SC79组低于OXY-H组($P < 0.05$); 见图6。

2.6 OXY对各组SW1463细胞p-AKT/AKT、p-GSK3 β /GSK3 β 、E-cadherin、N-cadherin和vimentin蛋白表达的影响

p-AKT/AKT、p-GSK3 β /GSK3 β 、N-cadherin和vimentin蛋白表达水平比较: SC79组高于Control组, OXY-L组和OXY-H组低于Control组, OXY-H+SC79组高于OXY-H组($P < 0.05$); E-cadherin蛋白表达水

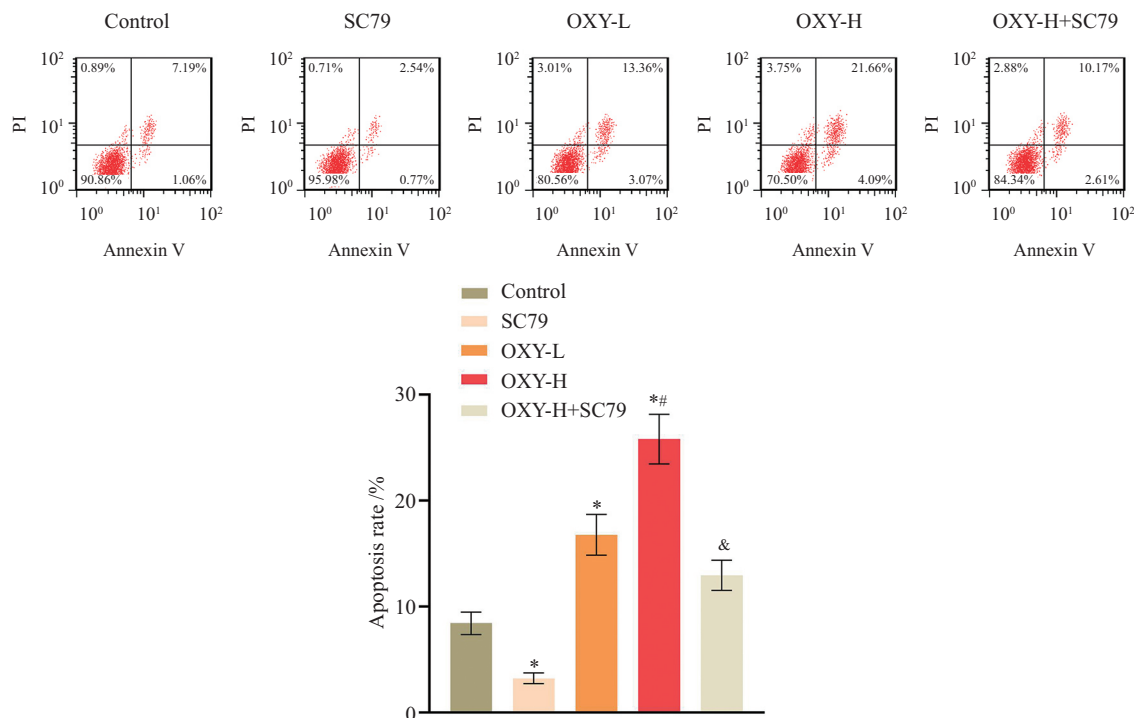
平比较: SC79组低于Control组, OXY-L组和OXY-H组高于Control组, OXY-H+SC79组低于OXY-H组($P < 0.05$); 见图7。

2.7 OXY对裸鼠肿瘤生长的影响

与NC组比较, OXY组肿瘤体积减小且质量减少($P < 0.05$), 凋亡率升高($P < 0.05$), 见图8、图9和表1。

2.8 OXY对裸鼠肿瘤p-AKT/AKT、E-cadherin、p-GSK3 β /GSK3 β 、N-cadherin和vimentin蛋白表达的影响

与NC组相比, OXY组肿瘤组织中p-AKT/AKT、

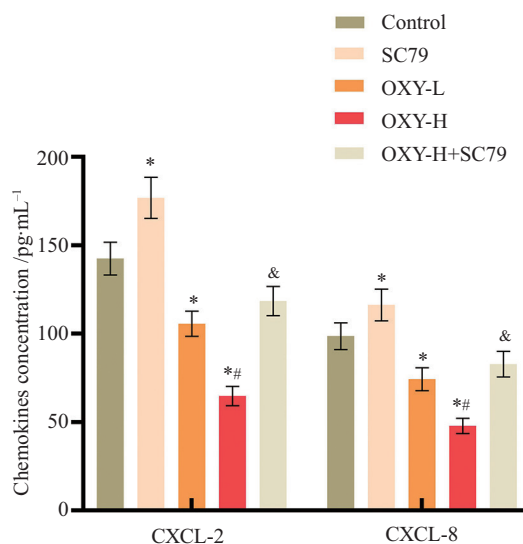


A: 细胞凋亡的流式图; B: 细胞凋亡率的定量分析。* $P < 0.05$, 与Control组比较; # $P < 0.05$, 与OXY-L组相比; & $P < 0.05$, 与OXY-H组相比。 $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。

A: flow cytometry graph of cell apoptosis; B: quantitative graph of cell apoptosis rate. * $P < 0.05$ vs Control group; # $P < 0.05$ vs OXY-L group; & $P < 0.05$ vs OXY-H group. $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。

图4 各组SW1463细胞凋亡率比较

Fig.4 Comparison of apoptosis rate of SW1463 cells in each group



* $P < 0.05$, 与Control组比较; # $P < 0.05$, 与OXY-L组相比; & $P < 0.05$, 与OXY-H组相比。 $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。

* $P < 0.05$ vs Control group; # $P < 0.05$ vs OXY-L group; & $P < 0.05$ vs OXY-H group. $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。

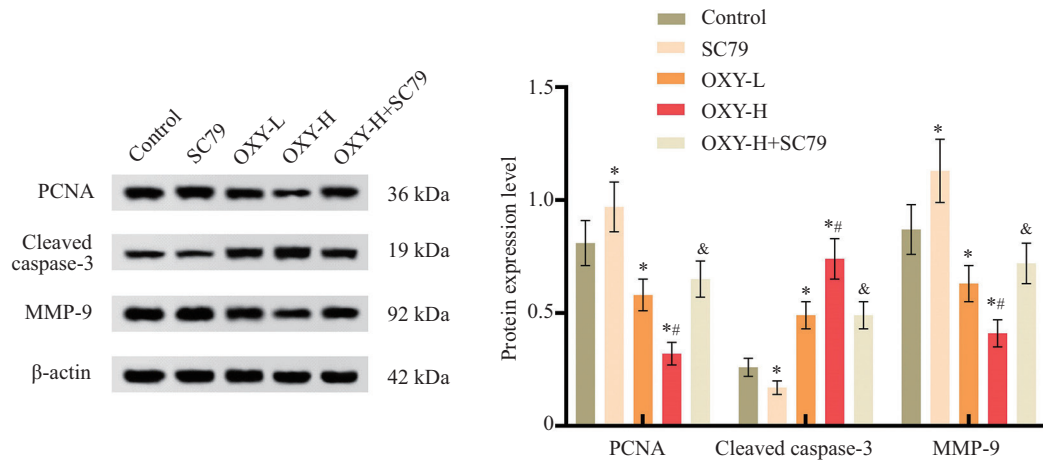
图5 各组SW1463细胞CXCL-2、CXCL-8水平比较

Fig.5 Comparison of CXCL-2 and CXCL-8 content in SW1463 cells in each group

p-GSK3 β /GSK3 β 、N-cadherin和vimentin蛋白表达水平降低, E-cadherin蛋白表达水平升高($P < 0.05$), 见图10和表2。

3 讨论

直肠癌是消化道常见的高度恶性病变, 在全球范围内发病与致死人数均持续处于较高水平, 目前

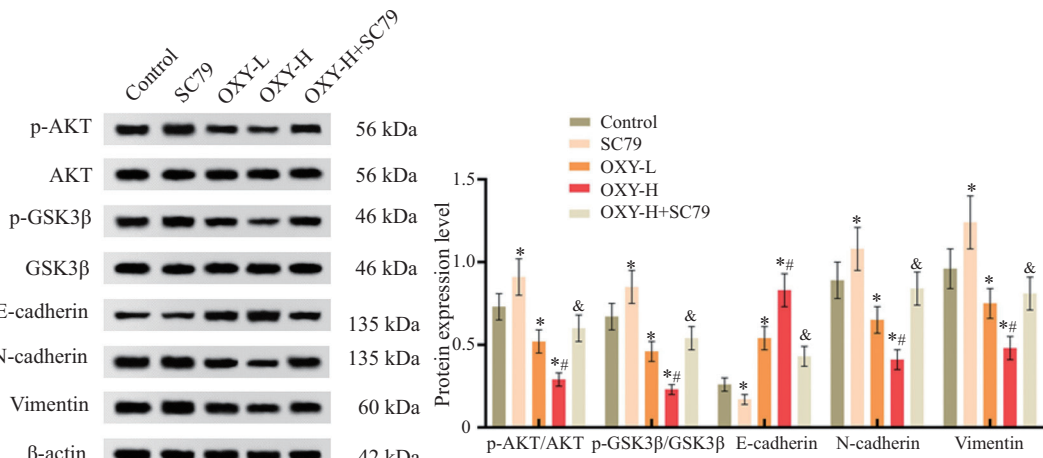


* $P < 0.05$, 与Control组比较; # $P < 0.05$, 与OXY-L组相比; & $P < 0.05$, 与OXY-H组相比。 $\bar{x} \pm s$, $n = 6$ 。

* $P < 0.05$ vs Control group; # $P < 0.05$ vs OXY-L group; & $P < 0.05$ vs OXY-H group. $\bar{x} \pm s$, $n = 6$ 。

图6 各组SW1463细胞中PCNA、cleaved caspase-3和MMP-9蛋白表达水平比较

Fig.6 Comparison of PCNA, cleaved caspase-3, and MMP-9 expression of SW1463 cells in each group

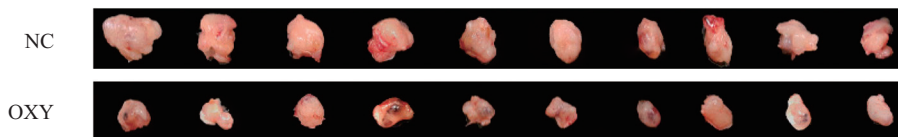


* $P < 0.05$, 与Control组比较; # $P < 0.05$, 与OXY-L组相比; & $P < 0.05$, 与OXY-H组相比。 $\bar{x} \pm s$, $n = 6$ 。

* $P < 0.05$ vs Control group; # $P < 0.05$ vs OXY-L group; & $P < 0.05$ vs OXY-H group. $\bar{x} \pm s$, $n = 6$ 。

图7 各组SW1463细胞中p-AKT/AKT、p-GSK3 β /GSK3 β 、E-cadherin、N-cadherin和vimentin蛋白表达水平比较

Fig.7 Comparative analysis of p-AKT/AKT, p-GSK3 β /GSK3 β , E-cadherin, N-cadherin, and vimentin protein expression levels of SW1463 cells in each group



$n = 10$ 。

图8 各组裸鼠肿瘤大小情况

Fig.8 The tumor sizes of the mice in each group

针对中晚期患者尚无较好的治疗措施^[10]。因此,开发针对直肠癌预防和治疗的新药物是目前医学工作者研究的重点。OXY是一种临床常用镇痛药品,

在多类型癌症患者的临床治疗中均具有应用,具有镇痛效果好、作用平稳、不良反应少等特点,对多种肿瘤细胞具有一定抑制作用。TAN等^[8]研究表明

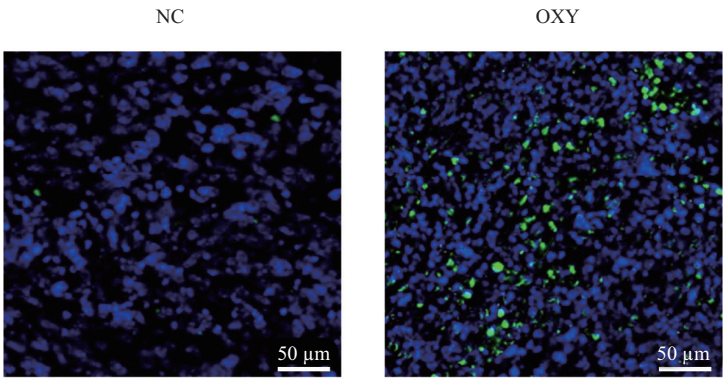


图9 TUNEL染色观察肿瘤组织细胞凋亡

Fig.9 TUNEL staining was used to observe apoptosis in tumor tissue cells

表1 OXY对裸鼠肿瘤体积、质量及凋亡率的影响

Table 1 The effects of OXY on the tumor volume, mass and apoptosis rate of nude mice

组别 Group	肿瘤体积/mm ³ Tumor volume /mm ³	质量/g Mass /g	凋亡率/% Apoptosis rate /%
NC	1 326.84±251.73	1.19±0.18	2.43±0.29
OXY	634.56±72.81*	0.58±0.09*	31.28±3.46*

**P*<0.05, 与NC组比较。 $\bar{x}\pm s$, *n*=10。

**P*<0.05 vs NC group. $\bar{x}\pm s$, *n*=10.

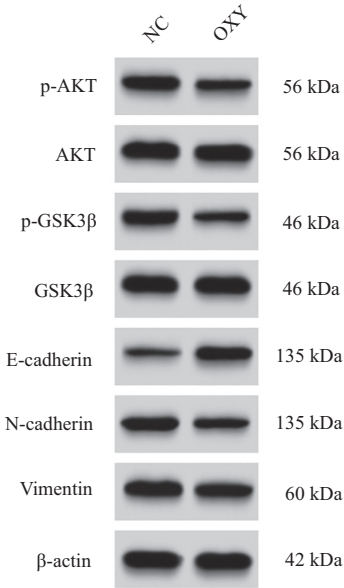


图10 肿瘤组织中p-AKT/AKT、p-GSK3β/GSK3β、E-cadherin、N-cadherin、vimentin蛋白的表达情况

Fig.10 Expression of p-AKT/AKT, p-GSK3β/GSK3β, E-cadherin, N-cadherin and vimentin proteins in tumor tissues

表2 各组肿瘤组织相关蛋白表达水平比较

Table 2 Comparison of protein expression in tumor tissues of each group

组别 Group	p-AKT/AKT	p-GSK3β/GSK3β	E-cadherin	N-cadherin	Vimentin
NC	0.79±0.10	0.72±0.09	0.21±0.04	0.86±0.11	0.94±0.12
OXY	0.32±0.04*	0.26±0.04*	0.65±0.08*	0.37±0.05*	0.43±0.06*

**P*<0.05, 与NC组比较。 $\bar{x}\pm s$, *n*=10。

**P*<0.05 vs NC Group. $\bar{x}\pm s$, *n*=10.

OXY可抑制肝癌细胞生长,并诱导细胞凋亡。WAN等^[11]研究表明OXY可减少直肠癌手术疼痛,改善患者免疫功能。这可以推测OXY具有抑制癌症进展的功能。

直肠癌细胞的较高增殖、迁移、侵袭能力和低凋亡率的特点,使癌细胞在体内扩散转移。对晚期患者进行的手术往往不能彻底清除患者的癌细胞,导致其远处复发风险较高,从而危及患者生命。PCNA在DNA合成中起关键作用并可诱导细胞进入增殖周期,其在多种正常分裂细胞及肿瘤细胞中均有广泛分布,常被用作评价细胞增殖活性的指标蛋白^[5]。MMP-9通过分解基底膜结构和减弱细胞连接,为肿瘤细胞侵入周围组织创造条件,对恶性细胞的迁移与侵袭具有重要推动作用。Cleaved caspase-3是凋亡信号通路中的核心效应蛋白,能够触发级联磷酸化反应,上调促凋亡因子表达,从而精密调控程序性细胞死亡过程^[12]。本研究中,OXY干预可调控上述蛋白表达,抑制SW1463增殖、迁移和侵袭,促进细胞凋亡。CXCL-2和CXCL-8在肿瘤微环境中不仅可刺激癌细胞的增殖与存活,还能够干扰免疫细胞对肿瘤的识别功能,从而抑制机体抗肿瘤免疫应答的有效激活,陈莉洁等^[13]研究表明降低CXCL-2和CXCL-8水平可抑制前列腺癌细胞免疫逃逸。本研究中,与Control组比较,OXY干预可降低CXCL-2和CXCL-8含量,OXY对SW1463细胞免疫逃逸也具有一定抑制作用。裸鼠移植瘤表明,OXY干预可抑制肿瘤生长,降低肿瘤组织p-AKT/AKT、p-GSK3 β /GSK3 β 、N-cadherin和vimentin蛋白表达水平,提高E-cadherin蛋白表达水平和凋亡率。这提示OXY可抑制SW1463细胞恶性生物学行为。

研究显示,AKT通路与EMT的发生密切相关,参与癌细胞血管生成、浸润和转移等。GSK3 β 是AKT的经典下游通路,AKT被激活后发生磷酸化,促进其下游GSK3 β 的磷酸化,磷酸化的GSK3 β 进一步调控其下游相关靶基因表达,发挥生物学作用,从而触发细胞迁移和EMT过程^[6]。LIANG等^[14]研究表明激活AKT/GSK3 β 通路可促进胆管癌细胞EMT过程,抑制AKT/GSK3 β 通路可抑制胆管癌细胞EMT过程。XU等^[15]研究显示抑制AKT/GSK3 β 通路可降低宫颈癌细胞活性。SC79为AKT特异性激活剂,可特异性结合AKT的PH结构域,稳定其与磷脂酰肌醇三磷酸的结合能力,从而促进AKT向细胞膜转位,并增

强其被上游激酶(PDK1和mTORC2)磷酸化的效率。本研究单独用SC79干预细胞发现,SC79可提升p-AKT/AKT、p-GSK3 β /GSK3 β 蛋白表达水平,同时触发EMT过程,并促进相关蛋白N-cadherin和vimentin表达,抑制蛋白E-cadherin表达,最终促进直肠癌细胞恶性生物学行为的产生。OXY干预可降低p-AKT/AKT、p-GSK3 β /GSK3 β 蛋白表达水平,抑制EMT进展。本研究同时用OXY和SC79进行干预,结果显示SC79可促进AKT和GSK3 β 蛋白磷酸化,减弱OXY对直肠癌细胞恶性生物学的抑制作用。这提示,AKT/GSK3 β /EMT轴参与调控直肠癌细胞恶性生物学行为,OXY通过抑制AKT/GSK3 β /EMT轴来抑制直肠癌细胞恶性生物学行为。

综上所述,OXY可通过抑制AKT/GSK3 β /EMT轴来抑制直肠癌细胞恶性生物学行为。AKT/GSK3 β /EMT轴可能是治疗直肠癌的一个靶点,OXY是如何调控AKT/GSK3 β /EMT轴的,本研究未做进一步探讨,后续将进一步补充相关分子对接实验,探讨其调控机制。另外,MAPK通路可调控EMT过程,促进EMT,本研究未探究OXY是否可通过调控MAPK通路影响EMT过程,后续还需进一步探讨。

作者贡献

田霞负责科研设计、数据分析整理以及文章撰写、修改;王逸云负责实验实施、数据收集及协助文章审阅。

参考文献 (References)

- [1] YU Z, DENG P, CHEN Y, et al. Pharmacological modulation of rbl activity mitigates resistance to neoadjuvant chemotherapy in locally advanced rectal cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2024, 121(6): e2304619121-32.
- [2] 林家嘉, 张成. SIRT3通过促进肿瘤相关巨噬细胞M2极化协助结直肠癌HCT-116细胞转移[J]. *解剖科学进展* (LIN J J, ZHANG C. SIRT3 assists colorectal cancer HCT-116 cell metastasis by promoting the M2 polarization of tumor-associated macrophages [J]. *Advances in Anatomy Research*), 2023, 29(6): 655-58,66.
- [3] LIU F, YUAN H, XU C, et al. Oxycodone enhances antitumor effect of paclitaxel on human breast cancer SKBR3 cells *in vitro* [J]. *Clinics*, 2024, 79(3): 100458-68.
- [4] YU Y, LI D, DUAN J, et al. The pro- and anti-cancer effects of oxycodone are associated with epithelial growth factor receptor level in cancer cells [J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(2): BSR20193524-36.
- [5] MAO Z, WU Y, YAO P, et al. Golm1 facilitates human colorectal cancer progression and metastasis via activating the

- AKT/GSK3 β /EMT axis [J]. *Neoplasma*, 2023, 70(1): 136-44.
- [6] 何振涛, 吴昊, 代德福, 等. SPP1通过AKT/GSK3 β 信号通路调控结直肠癌细胞的增殖、迁移与侵袭能力[J]. *肿瘤(HE Z T, WU H, DAI D F, et al. Spp1 regulates the proliferation, migration and invasion abilities of colorectal cancer cells through the AKT/GSK3 β signaling pathway [J]. *Cancer*), 2024, 44(4): 358-68.*
- [7] ZHAO Y, CAI J, SHI K, et al. Germacrone induces lung cancer cell apoptosis and cell cycle arrest via the AKT/MDM2/P53 signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(6): 452-63.
- [8] TAN M, WANG H, GAO C, et al. Agonists specific for κ -opioid receptor induces apoptosis of hcc cells through enhanced endoplasmic reticulum stress [J]. *Front Oncol*, 2022, 12(4): 844214-26.
- [9] 田甜, 李刚, 张峰, 等. 栀子苷抑制PI3K/AKT/mTOR通路对宫颈癌细胞增殖、侵袭、自噬的影响[J]. *中国细胞生物学学报* (TIAN T, LI G, ZHANG F, et al. Jujube glycosides inhibit the PI3K/AKT/mTOR pathway and affect the proliferation, invasion and autophagy of cervical cancer cells [J]. *Chinese Journal of Cell Biology*), 2025, 47(4): 822-31.
- [10] KOUKOURAKIS I M, XANTHOPOULOU E, SGOURAS T I, et al. Preoperative chemoradiotherapy induces multiple pathways related to anti-tumour immunity in rectal cancer [J]. *Br J Cancer*, 2023, 129(11): 1852-62.
- [11] WAN Z, CHU C, ZHOU R, et al. Effects of oxycodone combined with flurbiprofen axetil on postoperative analgesia and immune function in patients undergoing radical resection of colorectal cancer [J]. *Clin Pharmacol Drug Dev*, 2021, 10(3): 251-9.
- [12] FENG L, LIU X, SUN K, et al. Ginsenoside RB1 inhibits the proliferation of lung cancer cells by inducing the mitochondrial-mediated apoptosis pathway [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2024, 24(12): 928-41.
- [13] 陈莉洁, 陈晨. 西格列汀调节CCL2-CCR2信号轴对前列腺癌细胞迁移、侵袭和免疫逃逸的影响[J]. *医学研究与战创伤救治* (CHEN L J, CHEN C. The influence of sitagliptin on the migration, invasion and immune escape of prostate cancer cells through regulating the CCL2-CCR2 signaling axis [J]. *Medical Research and Trauma Treatment*), 2025, 38(1): 22-7.
- [14] LIANG S, GUO H, MA K, et al. A PLCB1-PI3K-AKT signaling axis activates emt to promote cholangiocarcinoma progression [J]. *Cancer Res*, 2021, 81(23): 5889-03.
- [15] XU Z, HUANG L, ZHANG T, et al. Shikonin inhibits the proliferation of cervical cancer cells via FAK/AKT/GSK3 β signalling [J]. *Oncol Lett*, 2022, 24(3): 304-15.