

环泊酚调节Hedgehog/Gli1信号通路对结直肠癌细胞迁移和侵袭的影响

叶丹丽¹ 陈小龙¹ 林慧雯¹ 林斌伟² 齐鹏亮^{1*}

(¹成都市第六人民医院, 麻醉科, 成都 610051; ²绵阳市中心医院, 肿瘤科, 绵阳 621099)

摘要 该文探讨环泊酚通过调节Hedgehog/Gli1信号通路对结直肠癌细胞迁移和侵袭的影响。将SW480细胞分为对照组、环泊酚低浓度组(50 $\mu\text{mol/L}$ 的环泊酚)、环泊酚中浓度组(100 $\mu\text{mol/L}$ 的环泊酚)、环泊酚高浓度组(150 $\mu\text{mol/L}$ 的环泊酚)、环泊酚高浓度+SAG组(150 $\mu\text{mol/L}$ 的环泊酚+200 nmol/L的Hedgehog通路激活剂SAG)。CCK-8法检测各组细胞增殖能力; 平板克隆实验检测各组细胞克隆能力; 划痕愈合实验检测各组细胞迁移能力; Transwell实验检测各组细胞侵袭能力; 流式细胞术观察各组细胞凋亡情况; Western blot法检测各组细胞Bcl-2、Bax、cleaved-Caspase-3、SMO、Gli1、SHH、MMP-2、MMP-9、E-cadherin蛋白表达量。结果显示, 与对照组比, 环泊酚低、中、高浓度组细胞 D_{450} 值、克隆形成率、细胞划痕愈合率、侵袭细胞数以及Bcl-2、SMO、Gli1、SHH、MMP-2、MMP-9蛋白表达水平降低, 而细胞凋亡率以及Bax、cleaved-Caspase-3、E-cadherin蛋白表达水平增加($P<0.05$), 且随着环泊酚浓度的增加, 细胞 D_{450} 值、克隆形成率、细胞划痕愈合率、侵袭细胞数以及Bcl-2、SMO、Gli1、SHH、MMP-2、MMP-9蛋白表达水平逐渐降低, 而细胞凋亡率以及Bax、cleaved-Caspase-3蛋白表达水平逐渐增加($P<0.05$); 与环泊酚高浓度组比, 环泊酚高浓度+SAG组细胞 D_{450} 值、克隆形成率、细胞划痕愈合率、侵袭细胞数以及Bcl-2、SMO、Gli1、SHH、MMP-2、MMP-9蛋白表达水平增加, 而细胞凋亡率以及Bax、cleaved-Caspase-3、E-cadherin蛋白表达水平下降($P<0.05$)。总之, 环泊酚可能通过抑制Hedgehog/Gli1信号通路抑制结直肠癌细胞迁移和侵袭。

关键词 环泊酚; Hedgehog/Gli1信号通路; 结直肠癌; 迁移; 侵袭

Effect of Ciprofol on Migration and Invasion of Colorectal Cancer Cells by Regulating Hedgehog/Gli1 Signaling Pathway

YE Danli¹, CHEN Xiaolong¹, LIN Huiwen¹, LIN Binwei², QI Pengliang^{1*}

(¹Department of Anesthesiology, Sixth People's Hospital of Chengdu, Chengdu 610051, China;

²Department of Oncology, Mianyang Central Hospital, Mianyang 621099, China)

Abstract This article explores the effect of ciprofol on migration and invasion of colorectal cancer cells by regulating Hedgehog/Gli1 signaling pathway. SW480 cells were assigned into control group, low concentration ciprofol group (50 $\mu\text{mol/L}$ ciprofol), medium concentration ciprofol group (100 $\mu\text{mol/L}$ ciprofol), high concentration ciprofol group (150 $\mu\text{mol/L}$ ciprofol), and high concentration ciprofol+SAG group (150 $\mu\text{mol/L}$ ciprofol+200 nmol/L Hedgehog

收稿日期: 2025-07-14

接受日期: 2025-09-02

北京康盟慈善基金会医学与健康事业研究发展基金项目临床与基础研究专项(批准号: S185)资助的课题

*通信作者。Tel: 15928144475, E-mail: je4oa1@163.com

Received: July 14, 2025

Accepted: September 2, 2025

This work was supported by the Clinical and Basic Research Special Program, Medical and Health Research and Development Fund, Beijing Kangmeng Charity Foundation (Grant No.S185)

*Corresponding author. Tel: +86-15928144475, E-mail: je4oa1@163.com

pathway activator SAG). CCK-8 method was used to detect the proliferation ability of cells. Plate cloning experiment was used to detect the cloning ability of cells. Scratch healing experiment was used to detect the migration ability of cells. Transwell experiment was used to detect the invasion ability of cells. Flow cytometry was used to observe the apoptosis of cells in each group. Moreover, Western blot method was used to detect the expression levels of Bcl-2, Bax, cleaved-Caspase-3, SMO, Gli1, and SHH proteins of cells in each group. The results showed that compared with the control group, the low, medium, and high concentration ciprofol groups showed a decrease in cell D_{450} value, colony formation rate, cell scratch healing rate, invasive cell number, Bcl-2, SMO, Gli1, SHH, MMP-2 and MMP-9 protein expression levels, and an increase in apoptosis rate, Bax, cleaved-Caspase-3, and E-cadherin protein expression levels ($P<0.05$). And with the increase of ciprofol concentration, the cell D_{450} value, colony formation rate, cell scratch healing rate, invasive cell number, Bcl-2, SMO, Gli1, SHH, MMP-2 and MMP-9 protein expression levels gradually declined, while the cell apoptosis rate, Bax, cleaved-Caspase-3 and E-cadherin protein expression levels gradually raised ($P<0.05$). Compared with the high concentration ciprofol group, the high concentration ciprofol+SAG group showed an increase in cell D_{450} value, colony formation rate, cell scratch healing rate, invasive cell number, Bcl-2, SMO, Gli1, SHH, MMP-2 and MMP-9 protein expression levels, and a decrease in apoptosis rate, Bax, cleaved-Caspase-3, and E-cadherin protein expression levels ($P<0.05$). In conclusion, ciprofol may inhibit migration and invasion of colorectal cancer cells by suppressing Hedgehog/Gli1 signaling pathway.

Keywords ciprofol; Hedgehog/Gli1 signaling pathway; colorectal cancer; migration; invasion

结直肠癌是较为常见的恶性肿瘤之一, 其中, 90%的患者因发生远处侵袭和转移而死亡^[1]。相关资料显示, 结直肠癌是导致与癌症相关死亡的第四大原因, 其发病率的增加与存在长期炎症性肠病及缺乏运动、吸烟、饮酒等多种生活方式有关^[2]。早期筛查可以降低结直肠癌发病率和死亡率, 但25%患者被发现时已处于晚期, 虽然进行肿瘤切除术和系统治疗可以提高生存期, 但转移性结直肠癌患者预后效果较差, 因此, 需要开发新的治疗策略改善预后^[3]。环泊酚(ciprofol)是近几年研发的一种麻醉剂, 具有耐受性好、镇静效果优、不良反应发生率低等优势, 其临床麻醉效果较稳定, 也可有效减少术后并发症的发生^[4]。有研究发现, 环泊酚可对人胰腺癌细胞的增殖、侵袭以及迁移产生抑制作用^[5]。但其是否可以对结直肠癌细胞发挥作用尚未见有关报道。Hedgehog信号通路在胚胎发育过程中可参与调控器官发育, 在正常成人中该通路是静止状态的, 其被激活与癌症的发生发展有密切联系, Hedgehog信号通路是通过核转录因子Gli1上调下游靶基因表达而发挥作用的^[6]。以往研究发现, Hedgehog/Gli1信号通路过度激活可能与结直肠癌干细胞的转移和化疗耐药性有一定关系^[7]。因此, 本研究旨在基于Hedgehog/Gli1信号通路探索环泊酚对结直肠癌细胞的影

响及其作用机制, 以期治疗结直肠癌药物的研发提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 细胞

人结直肠癌细胞系SW480购自上海优利科生命科学有限公司。

1.2 主要试剂与仪器

环泊酚(批号: 国药准字H20210007)购自辽宁海思科制药有限公司; Hedgehog通路激活剂SAG、Hoechst33258荧光染料、ECL化学发光显色试剂盒(货号: 53599ES03、40729ES、36208ES)购自翌圣生物科技(上海)股份有限公司; CCK-8试剂盒、吉萨姆染色液、Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒、细胞侵袭实验染色试剂盒(货号: R32254、R24054、R32121、R33021)购自上海源叶生物科技有限公司; Bcl-2、Bax、cleaved-Caspase-3、SMO、SHH、Gli1、GAPDH抗体及山羊抗鼠IgG二抗(货号: ab182858、ab32503、ab32042、ab236465、ab53281、ab134906、ab8245、ab150113)购自英国Abcam公司; 酶标仪(型号: HBS-1096A)购自南京德铁生物科技有限公司; 流式细胞仪(型号: cytoflex)购自江苏捷诺生物科技有限公司; 荧光显微镜(型号:

BX53)购自北京谛知科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 将SW480细胞放入含有10%胎牛血清的RPMI 1640培养基中,然后置于培养箱进行培养,培养箱设置温度37 °C、5% CO₂,定期更换培养液,观察细胞生长情况,细胞融合至80%时,用0.25%胰酶消化(37 °C、1 min)、传代,选对数生长期细胞用于后续实验。

1.3.2 细胞分组 将SW480细胞分为对照组、环泊酚低浓度组、环泊酚中浓度组、环泊酚高浓度组、环泊酚高浓度+Hedgehog通路激活剂SAG组(环泊酚高浓度+SAG组),其中环泊酚低浓度组、中浓度组、高浓度组分别使用50、100、150 μmol/L的环泊酚^[8]处理细胞24 h,环泊酚高浓度+SAG组使用150 μmol/L的环泊酚和200 nmol/L的Hedgehog通路激活剂SAG^[9]处理细胞24 h,对照组使用等量的生理盐水处理细胞。

1.3.3 各组细胞增殖能力检测 CCK-8法对SW480细胞增殖能力进行检测:收集各组SW480细胞,使用0.25%胰蛋白酶消化(37 °C、1 min)并将其接种(1×10^5 /孔)在96孔板中,然后加入CCK-8溶液,放入37 °C、5% CO₂的细胞培养箱中进行48 h培养,使用酶标仪检测各组细胞在450 nm波长处的吸光度(*D*)值。

1.3.4 各组细胞克隆能力检测 用0.25%胰酶对各组SW480细胞进行消化(37 °C、1 min),并将细胞悬浮在RPMI 1640培养基中,轻轻摇晃使细胞均匀分散后,将细胞放入37 °C、5% CO₂的培养箱中进行2周时间的培养,其间观察细胞生长情况并更换培养基,当观察到细胞发生克隆时即停止培养,弃去培养基,用预冷的PBS轻柔清洗细胞2次;随后加入4%多聚甲醛,在室温下固定15 min。弃去固定液,再用PBS清洗1~2次以去除残留固定剂。加入吉萨姆染色液进行30 min染色,然后用PBS清洗数次以去除浮色,室温下干燥,在显微镜下观察,并记录克隆形成情况。

1.3.5 各组细胞迁移能力检测 划痕愈合实验对SW480细胞迁移能力进行检测:将各组细胞接种在6孔板中,细胞密度为 5×10^4 /孔,当观察到细胞贴壁时弃去培养基,用枪头在孔中间位置划一条直线,使用PBS将划去的细胞清洗干净,然后加入培养基继续培养(时间为24 h)。之后再置于显微镜下进行观察,使用ImageJ软件对细胞划痕愈合率进行计算。

1.3.6 各组细胞侵袭能力检测 Transwell实验对SW480细胞侵袭能力进行检测:将各组细胞放入培

养基进行重悬处理,细胞密度为 1×10^5 /mL,取各组细胞接种在Matrigel包埋的Transwell小室中,加入培养基37 °C孵育24 h,之后使用4%多聚甲醛室温固定15 min后,用0.5%结晶紫进行染色10 min。最后使用显微镜进行观察,并对侵袭细胞数量进行计算。

1.3.7 各组细胞凋亡情况检测 流式细胞术观察SW480细胞凋亡情况:取各组细胞制成悬液,并接种在6孔板中,细胞密度 1×10^6 /孔,培养24 h后,加入0.25%胰酶进行消化(37 °C、1 min),然后对细胞进行收集并重悬,并加入Annexin V-FITC染液室温下染色15 min,然后加入PI染液在室温下染色10 min。使用流式细胞仪观察细胞凋亡情况。

1.3.8 各组细胞凋亡相关蛋白和Hedgehog/Gli1信号通路相关蛋白表达检测 使用Western blot法对各组SW480细胞蛋白表达量进行检测。取各组细胞加入裂解液提取总蛋白并测定其浓度,之后利用凝胶电泳对蛋白进行分离,然后转膜、封闭,加入Bcl-2(1:1 000)、Bax(1:1 000)、cleaved-Caspase-3(1:1 000)、SMO(1:800)、Gli1(1:800)、SHH(1:800)及GAPDH(1:5 000)一抗4 °C孵育过夜,然后加入二抗(1:5 000)室温孵育2 h,使用ECL发光液进行显影,使用ImageJ软件对蛋白条带灰度值进行分析。

1.4 统计学方法

本实验用SPSS 25.0软件处理分析数据,数据以 $\bar{x} \pm s$ 形式展示,对多组数据进行差异分析用单因素方差分析法,对多组中两两组之间进行数据差异分析用SNK-*q*法。结果显示 $P < 0.05$ 则表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 环泊酚对SW480细胞增殖的影响

与对照组相比,环泊酚低浓度组、环泊酚中浓度组和环泊酚高浓度组细胞 D_{450} 值、克隆形成率降低($P < 0.05$),且随着环泊酚浓度的升高,细胞 D_{450} 值、克隆形成率逐渐降低($P < 0.05$);与环泊酚高浓度组相比,环泊酚高浓度+SAG组细胞 D_{450} 值、克隆形成率升高,差异显著($P < 0.05$)。见图1和表1。

2.2 环泊酚对SW480细胞迁移和侵袭的影响

与对照组相比,环泊酚低浓度组、环泊酚中浓度组和环泊酚高浓度组细胞划痕愈合率、侵袭细胞数减少($P < 0.05$),且随着环泊酚浓度的升高,细胞划痕愈合率、侵袭细胞数逐渐下降($P < 0.05$);与环泊酚高浓度组相比,环泊酚高浓度+SAG组细胞划痕愈合率、侵

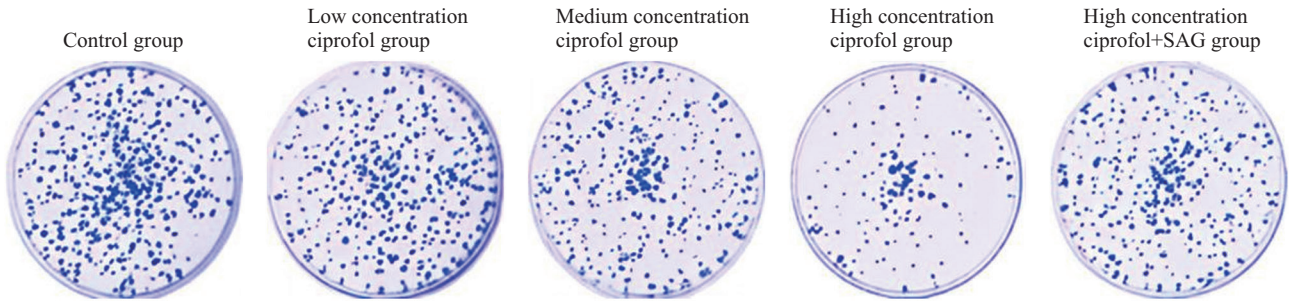


图1 各组SW480细胞克隆形成能力
Fig.1 Clonogenic ability of SW480 cells in each group

表1 各组SW480细胞 D_{450} 值和克隆形成率对比
Table 1 Comparison of D_{450} values and colony formation rates of SW480 cells in each group

分组 Group	D_{450} 值 D_{450} value	克隆形成率/% Colony formation rate /%
Control group	1.14±0.17	89.24±4.83
Low concentration ciprofol group	0.83±0.12*	72.47±4.21*
Medium concentration ciprofol group	0.56±0.08* [#]	57.65±3.48* [#]
High concentration ciprofol group	0.27±0.05* ^{#△}	22.06±3.32* ^{#△}
High concentration ciprofol+SAG group	0.71±0.10 ^{&}	63.34±3.95 ^{&}

$\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。* $P<0.05$, 与对照组相比; [#] $P<0.05$, 与环泊酚低浓度组相比; Δ $P<0.05$, 与环泊酚中浓度组相比; [&] $P<0.05$, 与环泊酚高浓度组相比。
 $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。* $P<0.05$ compared with the control group; [#] $P<0.05$ compared with the low concentration ciprofol group; Δ $P<0.05$ compared with the medium concentration ciprofol group; [&] $P<0.05$ compared with the high concentration ciprofol group.

衰细胞数增加, 差异显著($P<0.05$)。见图2、图3和表2。

2.3 环泊酚对SW480细胞凋亡的影响

与对照组相比, 环泊酚低浓度组、环泊酚中浓度组和环泊酚高浓度组细胞凋亡率增加($P<0.05$), 且随着环泊酚浓度的升高, 细胞凋亡率逐渐增加($P<0.05$); 与环泊酚高浓度组相比, 环泊酚高浓度+SAG组细胞凋亡率下降, 差异显著($P<0.05$)。见图4和表3。

2.4 环泊酚对SW480细胞凋亡相关蛋白表达的影响

与对照组相比, 环泊酚低浓度组、环泊酚中浓度组和环泊酚高浓度组细胞中Bax、cleaved-Caspase-3蛋白表达量增加, 而Bcl-2蛋白表达量下降($P<0.05$), 且随着环泊酚浓度的升高, Bax、cleaved-Caspase-3蛋白表达量逐渐增加, Bcl-2蛋白表达量逐渐减少($P<0.05$); 与环泊酚高浓度组相比, 环泊酚高浓度+SAG组细胞中Bax、cleaved-Caspase-3蛋白表达量下降, 但Bcl-2蛋白表达量增加, 且差异显著($P<0.05$)。见图5和表4。

2.5 环泊酚对SW480细胞Hedgehog/Gli1信号通路及MMP-2、MMP-9、E-cadherin蛋白表达的影响

环泊酚低浓度组、环泊酚中浓度组和环泊酚

高浓度组SMO、Gli1、SHH、MMP-2、MMP-9蛋白表达量较对照组下降, E-cadherin蛋白表达量较对照组增加($P<0.05$); 环泊酚高浓度+SAG组SMO、Gli1、SHH、MMP-2、MMP-9蛋白表达量较环泊酚高浓度组增加, E-cadherin蛋白表达量较环泊酚高浓度组降低($P<0.05$)。见图6和表5。

3 讨论

结直肠癌在全球最常见的癌症中排名第三, 且随着生活方式的改变, 其发病率呈现逐渐上升趋势^[10]。据相关文献资料显示, 在所有癌症患者中, 结直肠癌患者占比达到10%, 在癌症所导致的死亡中, 其占比达到9%左右, 对患者的生命安全构成极大威胁^[11]。目前, 结直肠癌的治疗方案主要有化疗、免疫疗法及手术治疗等, 但大多数患者在治疗后出现复发和转移的风险较高, 这也是导致患者死亡和预后效果不理想的主要原因^[12]。因此, 寻找可抑制结直肠癌增殖和迁移的有效药物, 可改善患者预后, 提高患者生存时间。

已有研究证明, 麻醉剂可对癌细胞产生一定影响, 比如丙泊酚, 因其不具有免疫抑制作用, 且其所

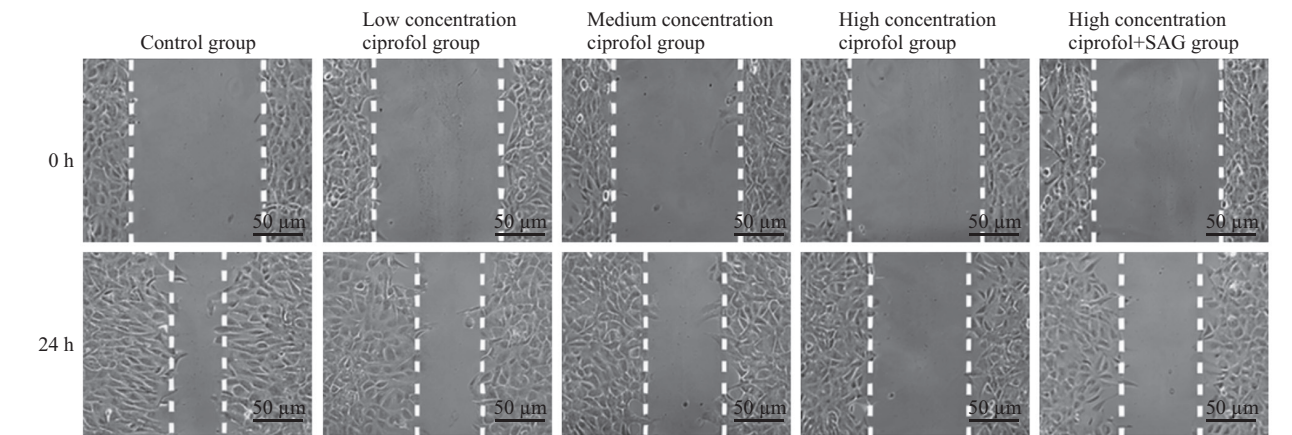


图2 SW480细胞迁移能力的划痕实验结果

Fig.2 Results of the scratch assay for the migration ability of SW480 cells

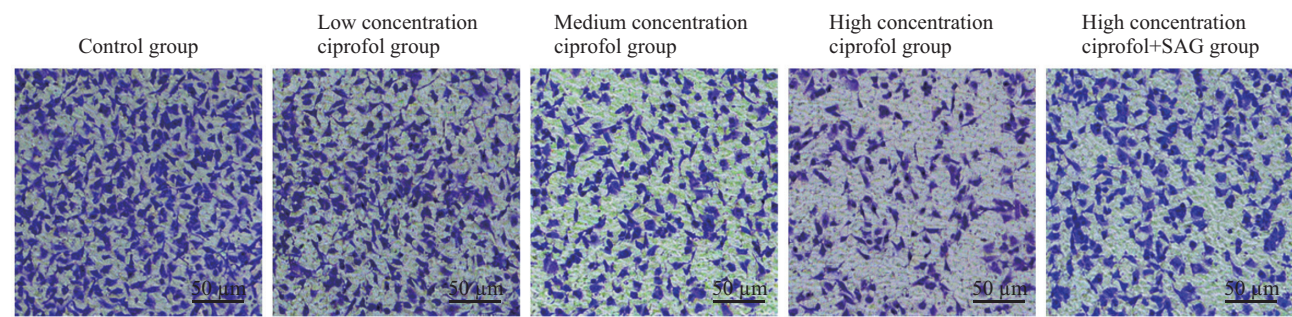


图3 SW480细胞侵袭能力的Transwell检测结果

Fig.3 Results of Transwell assay for the invasion ability of SW480 cells

表2 各组SW480细胞划痕愈合率和侵袭细胞数对比		
Table 2 Comparison of scratch healing rate and invasive cell count of SW480 cells in each group		
分组 Group	划痕愈合率/% Scratch healing rate /%	侵袭细胞数 Number of invasive cells
Control group	63.04±5.16	225.67±15.38
Low concentration ciprofol group	50.46±5.58*	181.50±11.09*
Medium concentration ciprofol group	36.83±4.27* [#]	136.17±11.64* [#]
High concentration ciprofol group	25.62±3.03* ^{#△}	74.33±7.87* ^{#△}
High concentration ciprofol+SAG group	42.25±4.14 ^{&}	152.67±10.43 ^{&}

$\bar{x}\pm s, n=6$. * $P<0.05$, 与对照组相比; [#] $P<0.05$, 与环泊酚低浓度组相比; $\Delta P<0.05$, 与环泊酚中浓度组相比; [&] $P<0.05$, 与环泊酚高浓度组相比。
 $\bar{x}\pm s, n=6$. * $P<0.05$ compared with the control group; [#] $P<0.05$ compared with the low concentration ciprofol group; $\Delta P<0.05$ compared with the medium concentration ciprofol group; [&] $P<0.05$ compared with the high concentration ciprofol group.

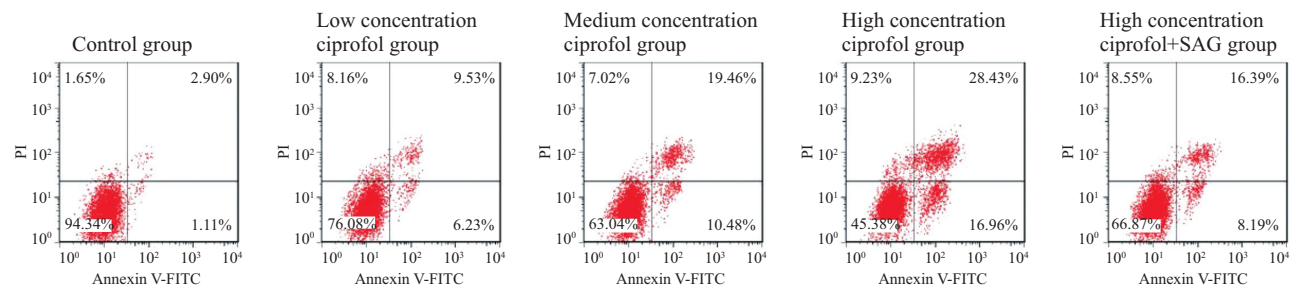


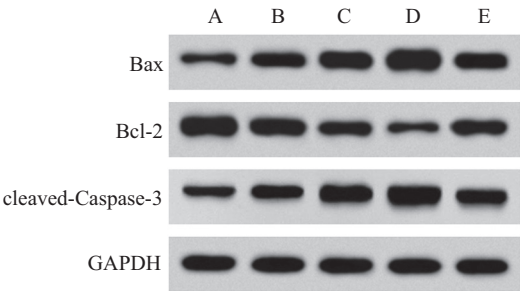
图4 SW480细胞凋亡的流式细胞仪检测结果

Fig.4 Flow cytometry detection results of apoptosis in SW480 cells

表3 各组SW480细胞凋亡率对比
Table 3 Comparison of apoptosis rates of SW480 cells in each group

分组 Group	细胞凋亡率/% Apoptosis rate /%
Control group	4.01±0.04
Low concentration ciprofol group	15.76±1.73*
Medium concentration ciprofol group	29.94±3.52* [#]
High concentration ciprofol group	45.39±3.81* ^{#△}
High concentration ciprofol+SAG group	24.58±3.26 ^{&}

$\bar{x}\pm s$, $n=6$ 。* $P<0.05$, 与对照组相比; [#] $P<0.05$, 与环泊酚低浓度组相比; $\Delta P<0.05$, 与环泊酚中浓度组相比; [&] $P<0.05$, 与环泊酚高浓度组相比。
 $\bar{x}\pm s$, $n=6$ 。* $P<0.05$ compared with the control group; [#] $P<0.05$ compared with the low concentration ciprofol group; $\Delta P<0.05$ compared with the medium concentration ciprofol group; [&] $P<0.05$ compared with the high concentration ciprofol group.



A: 对照组; B: 环泊酚低浓度组; C: 环泊酚中浓度组; D: 环泊酚高浓度组; E: 环泊酚高浓度+SAG组。
A: control group; B: low concentration ciprofol group; C: medium concentration ciprofol group; D: high concentration ciprofol group; E: high concentration ciprofol+SAG group.

图5 各组SW480细胞Bax、Bcl-2和cleaved-Caspase-3蛋白表达条带
Fig.5 Protein expression bands of Bax, Bcl-2 and cleaved-Caspase-3 in each group of SW480 cells

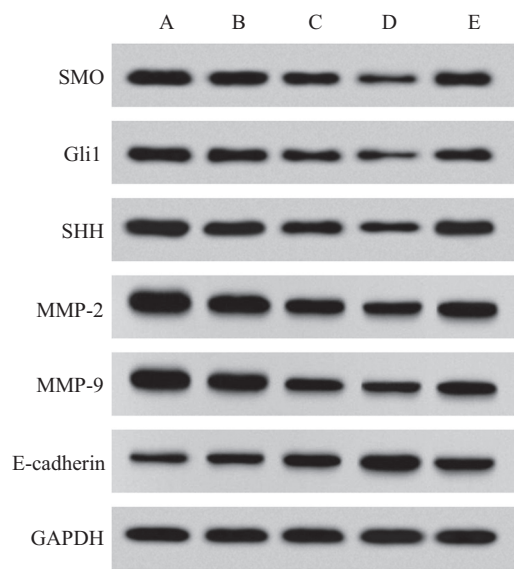
表4 各组SW480细胞Bax、Bcl-2和cleaved-Caspase-3蛋白表达量
Table 4 Expression levels of Bax, Bcl-2 and cleaved-Caspase-3 proteins in SW480 cells of each group

分组 Group	Bax	Bcl-2	cleaved-Caspase-3
Control group	0.52±0.06	1.66±0.27	0.45±0.06
Low concentration ciprofol group	0.87±0.08*	1.31±0.24*	0.79±0.12*
Medium concentration ciprofol group	1.29±0.13* [#]	0.94±0.13* [#]	1.12±0.27* [#]
High concentration ciprofol group	1.61±0.15* ^{#△}	0.56±0.06* ^{#△}	1.54±0.32* ^{#△}
High concentration ciprofol+SAG group	0.93±0.10* ^{△&}	1.15±0.18* ^{&}	0.92±0.13* ^{&}

$\bar{x}\pm s$, $n=6$ 。* $P<0.05$, 与对照组相比; [#] $P<0.05$, 与环泊酚低浓度组相比; $\Delta P<0.05$, 与环泊酚中浓度组相比; [&] $P<0.05$, 与环泊酚高浓度组相比。
 $\bar{x}\pm s$, $n=6$ 。* $P<0.05$ compared with the control group; [#] $P<0.05$ compared with the low concentration ciprofol group; $\Delta P<0.05$ compared with the medium concentration ciprofol group; [&] $P<0.05$ compared with the high concentration ciprofol group.

导致的炎症反应较轻,从而可发挥抗肿瘤作用^[13]。环泊酚是一种新型短效静脉麻醉剂,被称为 γ -氨基丁酸受体激动剂,其具有起效快、恢复快、体内存留少等优点,也可有效降低患者不良反应发生风险,可作为有效的镇静剂及麻醉剂使用^[14]。有研究发现,环泊酚可诱发氧化应激反应,从而导致结直肠癌细胞凋亡,其可能作为一种治疗结直肠癌的潜在策略^[8]。尹艳超等^[15]研究发现,环泊酚可促进上皮性卵巢癌细

胞凋亡,其是一种极具吸引力的临床候选药物,有望用于卵巢癌的治疗。HAN等^[5]研究表明,环泊酚通过下调基质金属蛋白酶MMP1表达,抑制胰腺癌细胞的侵袭和迁移。NAN等^[8]的研究发现,环泊酚可通过激活ATPIF1,诱导线粒体功能障碍,升高ROS,促进凋亡抑制结直肠癌细胞生长。以上研究结果表明,环泊酚具有抑制多种癌症进展的潜力,可抑制肿瘤细胞恶性生物学行为。本研究发现,使用环



A: 对照组; B: 环泊酚低浓度组; C: 环泊酚中浓度组; D: 环泊酚高浓度组; E: 环泊酚高浓度+SAG组。
A: control group; B: low concentration ciprofol group; C: medium concentration ciprofol group; D: high concentration ciprofol group; E: high concentration ciprofol+SAG group.

图6 各组SW480细胞SMO、Gli1、SHH、MMP-2、MMP-9、E-cadherin蛋白表达条带
Fig.6 Protein expression bands of SMO, Gli1, SHH, MMP-2, MMP-9, and E-cadherin in each group of SW480 cells

表5 各组SW480细胞SMO、Gli1、SHH、MMP-2、MMP-9、E-cadherin蛋白表达量
Table 5 Protein expression levels of SMO, Gli1, SHH, MMP-2, MMP-9, and E-cadherin in SW480 cells

分组 Group	SMO	Gli1	SHH	MMP-2	MMP-9	E-cadherin
Control group	1.12±0.13	0.95±0.12	1.33±0.14	1.56±0.34	1.42±0.31	0.32±0.05
Low concentration ciprofol group	0.93±0.11*	0.74±0.08*	1.06±0.12*	1.23±0.26*	1.15±0.23*	0.67±0.08*
Medium concentration ciprofol group	0.69±0.08*#	0.51±0.06*#	0.78±0.07*#	0.94±0.13*#	0.86±0.11*#	0.91±0.12*#
High concentration ciprofol group	0.41±0.06*#△	0.35±0.03*#△	0.43±0.06*#△	0.57±0.08*#△	0.47±0.06*#△	1.24±0.28*#△
High concentration ciprofol+SAG group	0.89±0.11*△&	0.68±0.08*△&	0.95±0.12*△&	1.15±0.21*△&	1.04±0.21*△&	0.78±0.09*△&

$\bar{x} \pm s, n=6$. * $P<0.05$, 与对照组相比; # $P<0.05$, 与环泊酚低浓度组相比; △ $P<0.05$, 与环泊酚中浓度组相比; & $P<0.05$, 与环泊酚高浓度组相比。
 $\bar{x} \pm s, n=6$. * $P<0.05$ compared with the control group; # $P<0.05$ compared with the low concentration ciprofol group; △ $P<0.05$ compared with the medium concentration ciprofol group; & $P<0.05$ compared with the high concentration ciprofol group.

泊酚处理SW480细胞后, SW480细胞增殖、迁移和侵袭能力降低, 细胞凋亡率增加, 促凋亡蛋白Bax和cleaved-Caspase-3蛋白表达量增加, 而抑凋亡蛋白Bcl-2蛋白表达量降低, 表明环泊酚对结直肠癌细胞增殖、迁移和侵袭可发挥抑制作用, 并且对细胞凋亡有促进作用。

Gli1是GLI家族成员之一, 其在恶性肿瘤中被发现表达水平异常升高, 参与到恶性肿瘤的发生发展中, 同时其异常激活也是Hedgehog信号通路发挥作用的关键^[16]。Hedgehog信号通路已被证实与肿瘤发生有密切关系, 同时, 其可参与调控造血功能等, 这种双重作用是导致癌症复发的重要原因^[17]。多项研究发现, Hedgehog/Gli1信号通路的激活与前列腺癌、

乳腺癌等多种癌症的发生发展联系紧密。有研究发现, Gli1过表达以及Hedgehog信号通路激活可促进前列腺癌细胞转移^[18]。抑制Hedgehog/Gli1信号通路对乳腺癌细胞的增殖和转移具有抑制作用^[19]。SUN等^[20]研究结果表明, 阻断Hedgehog/Gli1信号通路可对结直肠癌细胞的迁移和入侵发挥抑制作用。本研究结果显示, SW480细胞经过环泊酚干预后, SMO、Gli1和SHH蛋白表达量降低, 而进一步使用Hedgehog通路激活剂SAG和环泊酚共同处理SW480细胞后发现, Hedgehog通路激活剂SAG可逆转环泊酚对SMO、Gli1和SHH蛋白的下调作用, 同时SW480细胞增殖、迁移以及侵袭能力增强, 细胞凋亡被抑制。这表明环泊酚可能通过下调Hedgehog/Gli1信号通路抑制结

直肠癌细胞增殖、迁移和侵袭,并加快其凋亡。结直肠癌的迁移侵袭受Wnt/ β -catenin、PI3K/Akt、NF- κ B等多通路调控,LI等^[21]研究发现,环泊酚可通过上调APC蛋白表达,显著降低癌细胞糖酵解速率,并进一步抑制Wnt/ β -catenin信号通路,降低 β -catenin蛋白表达水平,促进GSK-3 β 磷酸化,下调MMP2、MMP9和N-钙黏蛋白,上调E-钙黏蛋白表达,从而延缓上皮-间质转化进程,推测环泊酚可通过多通路调节发挥抑制结直肠癌细胞恶性生物学行为作用,然而,不同细胞系对环泊酚的敏感性还有待进一步验证。

综上所述,环泊酚可能通过抑制Hedgehog/Gli1信号通路抑制结直肠癌细胞增殖、迁移和侵袭。本研究结果可为临床治疗结直肠癌提供新的思路。然而,本研究未检测核心分子(如 β -catenin、p-Akt),无法排除环泊酚是否通过多通路协同作用;且本研究仅采用24 h药物处理,未检测不同时间点(如6 h、12 h、48 h)的效应,暂无法明确环泊酚作用的时间依赖性,因此后续会优化实验方案,检测多通路核心分子表达,同时纳入动态时间点检测,增加动物实验探究环泊酚的抗结直肠癌作用,并进一步验证药物动力学,以期为临床提供更加详实的参考依据。

参考文献 (References)

- [1] TANG Q, CHEN J, DI Z, et al. TM4SF1 promotes EMT and cancer stemness via the Wnt/ β -catenin/SOX2 pathway in colorectal cancer [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1): 232.
- [2] LI J, MA X, CHAKRAVARTI D, et al. Genetic and biological hallmarks of colorectal cancer [J]. *Genes Dev*, 2021, 35(11/12): 787-820.
- [3] FAN A, WANG B, WANG X, et al. Immunotherapy in colorectal cancer: current achievements and future perspective [J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(14): 3837-49.
- [4] LU M, LIU J, WU X, et al. Ciprofol: a novel alternative to propofol in clinical intravenous anesthesia [J]? *Biomed Res Int*, 2023, 2023(1): 7443226.
- [5] HAN F, DONG S, CHEN Z, et al. Ciprofol suppresses proliferation, invasion and migration of human pancreatic cancer cells [J]. *Pak J Pharm Sci*, 2024, 37(2): 327-36.
- [6] DAI W, WU X, LI J, et al. Hedgehog-Gli1-derived exosomal circ-0011536 mediates peripheral neural remodeling in pancreatic cancer by modulating the miR-451a/VGF axis [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2023, 42(1): 329.
- [7] ZHOU Y, QIU S, KIM J T, et al. Garcinone C suppresses tumor-sphere formation and invasiveness by Hedgehog/Gli1 signaling in colorectal cancer stem-like cells [J]. *J Agric Food Chem*, 2022, 70(26): 7941-52.
- [8] NAN K, ZHONG Z, YUE Y, et al. HSK3486 inhibits colorectal cancer growth by promoting oxidative stress and ATPase inhibitory factor 1 activation [J]. *Dig Dis Sci*, 2024, 69(4): 1214-27.
- [9] 陈云云, 徐保芹. 丹参酮IIA通过调控Hedgehog/Gli1信号通路对乳腺癌细胞迁移, 侵袭的机制研究[J]. *中国药物应用与监测*(CHEN Y Y, XU B Q. Mechanisms of tanshinone IIA promoting migration and invasion of breast cancer cells by regulating Hedgehog/Gli1 signaling pathway [J]. *Chin J Drug Appl Monit*), 2024, 21(3): 291-4.
- [10] AHMAD R, SINGH J K, WUNNAVA A, et al. Emerging trends in colorectal cancer: dysregulated signaling pathways (Review) [J]. *Int J Mol Med*, 2021, 47(3): 14.
- [11] YUAN J, SUN W, ZHANG Z, et al. 5-fluorouracil/curcumin loaded silk fibroin hydrogel for the adjuvant therapy in colorectal cancer [J]. *Biomater Adv*, 2025, 168(1): 214108.
- [12] BORZACCHIELLO L, VEGLIA TRANCHESE R, GRILLO R, et al. S-adenosylmethionine inhibits colorectal cancer cell migration through mirna-mediated targeting of notch signaling pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(14): 7673.
- [13] SANTANDER BALLESTÍN S, LANUZA BARDAJI A, MARCO CONTINENTE C, et al. Antitumor anesthetic strategy in the perioperative period of the oncological patient: a review [J]. *Front Med*, 2022, 9(1): 799355.
- [14] HUANG X, SANDEEP B, FU Q. Current status and prospects of ciprofol in clinical anesthesia: a bibliometric analysis [J]. *Asian J Surg*, 2024, 9584(24): 2501-6.
- [15] 尹艳超, 李江伟, 李蕊, 等. 环泊酚上调microRNA LIT-7i的表达诱导机制应用上皮性卵巢癌细胞凋亡的影响研究[J]. *医药卫生*(YIN Y C, LI J W, LI R, et al. Study on the mechanism of rocuronium bromide upregulating the expression of microRNA LIT-7i and its effect on inducing apoptosis of epithelial ovarian cancer cells [J]. *Medicine and Hygiene*), 2022, 1(5): 41-3.
- [16] WU Q, LIU R, YANG Y, et al. USP5 promotes tumorigenesis by activating Hedgehog/Gli1 signaling pathway in osteosarcoma [J]. *Am J Cancer Res*, 2024, 14(3): 1204-16.
- [17] HAN Y, LI C, LIU S, et al. Combined targeting of Hedgehog/GLI1 and Wnt/ β -catenin pathways in mantle cell lymphoma [J]. *Hematol Oncol*, 2024, 42(5): e3305.
- [18] WANG M, HUANG W. FOXS1 promotes prostate cancer progression through the Hedgehog/Gli1 pathway [J]. *Biochem Pharmacol*, 2023, 218(1): 115893.
- [19] LI M, GUO T, LIN J, et al. Curcumin inhibits the invasion and metastasis of triple negative breast cancer via Hedgehog/Gli1 signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 283(1): 114689.
- [20] SUN X, XU X, SONG L. TKP, a serine protease extracted from *Trichosanthes kirilowii*, inhibits the migration and invasion of colorectal adenocarcinoma cells by targeting Wnt/ β -catenin and Hedgehog/Gli1 signalings [J]. *Phytother Res*, 2020, 34(4): 867-78.
- [21] WU H, GAO J, WANG Y, et al. Ciprofol suppresses glycolysis and EMT in colorectal cancer cells by activating APC to modulate the Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 26354.