

薏苡仁提取物对结肠癌细胞增殖、侵袭、化疗敏感性及Shh/Gli1通路的影响

陈晓燕 季秀海* 郁晓瑜 卢敏洁 王学中

(南京中医药大学太仓附属医院/太仓市中医医院肿瘤内科, 苏州 215400)

摘要 该研究将基于音猬因子(Shh)/Gli家族锌指蛋白1(Gli1)通路探讨薏苡仁提取物(CSE)对结肠癌细胞HCT116增殖、侵袭、化疗敏感性的影响。体外培养HCT116细胞,用细胞活力检测试剂盒(CCK-8)检测不同浓度CSE对HCT116细胞的增殖活性。随机将HCT116细胞分为对照组(C组)、奥沙利铂组(Oxa组)、CSE组、CSE+Oxa组、CSE+Oxa+嘌呤莫啡胺(PUR)组。采用平板克隆实验检测细胞增殖能力;划痕愈合实验检测细胞迁移能力;Transwell小室法检测细胞侵袭能力;一步法TUNEL原位凋亡检测试剂盒检测细胞凋亡率;免疫印迹法检测半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)、B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)、Shh、Gli1蛋白表达情况。构建裸鼠移植瘤模型,以观察肿瘤生长情况。体外实验表明, Oxa组和CSE组相较于C组, CSE+Oxa组相较于Oxa或CSE组, HCT116细胞克隆形成数、划痕愈合率、细胞侵袭数以及Bcl-2、Shh、Gli1蛋白表达水平明显降低($P<0.05$), 细胞凋亡率、Caspase-3、Bax水平明显升高($P<0.05$);与CSE+Oxa组比, CSE+Oxa+PUR组HCT116细胞克隆形成数、划痕愈合率、细胞侵袭数以及Bcl-2、Shh、Gli1蛋白表达水平明显升高($P<0.05$), 细胞凋亡率、Caspase-3、Bax水平明显降低($P<0.05$)。体内实验表明, Oxa组和CSE组相较于C组, 小鼠瘤质量、瘤体积等水平降低($P<0.05$), 生长抑制率升高且呈剂量依赖性; CSE+Oxa组较Oxa组或CSE组小鼠瘤质量、瘤体积等水平降低($P<0.05$), 生长抑制率进一步升高($P<0.05$)。CSE可以抑制HCT116细胞的增殖、迁移、侵袭, 增强化疗敏感性, 作用机制可能与抑制Shh/Gli1信号通路有关。

关键词 薏苡仁提取物; 结肠癌细胞; Shh/Gli1信号通路; 增殖; 侵袭; 化疗敏感性

The Effects of Coix Seed Extract on the Proliferation, Invasion, Chemotherapy Sensitivity, and Shh/Gli1 Pathway of Colon Cancer Cells

CHEN Xiaoyan, JI Xiuhai*, YU Xiaoyu, LU Minjie, WANG Xuezhong

(Department of Oncology, Nanjing University of Chinese Medicine Taicang Affiliated Hospital/Taicang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Suzhou 215400, China)

Abstract This study aims to investigate the effects of CSE (Coix seed extract) on the proliferation, invasion, chemotherapy sensitivity, and prognosis of colon cancer cells HCT116 based on the Shh/Gli1 pathway. HCT116 cells were cultured *in vitro*, and the CCK-8 (cell counting kit-8) was used to detect the proliferative activity of different concentrations of CSE on HCT116 cells. HCT116 cells were stochastically grouped into a control group (C group), an oxaliplatin group (Oxa group), a CSE group, a CSE+Oxa group, and a CSE+Oxa+PUR (pur-

收稿日期: 2025-08-14

接受日期: 2025-09-12

太仓市医疗卫生关键技术攻关项目(批准号: TC2022JCYL22)资助的课题

*通信作者。Tel: 18051238017, E-mail: 18051238017@163.com

Received: August 14, 2025

Accepted: September 12, 2025

This work was supported by the Key Technology Research Project for Medical and Health Care in Taicang City (Grant No.TC2022JCYL22)

*Corresponding author. Tel: +86-18051238017, E-mail: 18051238017@163.com

morphamine) group. The plate cloning experiment was performed to detect cell proliferation ability. The scratch healing experiment was performed to measure cell migration ability. Transwell method was used to measure cell invasion ability. The one-step TUNEL *in situ* apoptosis detection kit was performed to measure cell apoptosis rate. Immunoblotting was used to measure the levels of Caspase-3, Bcl-2 (B-cell lymphoma-2), Bax (BCL2-associated X), Shh, and Gli1 proteins. This article established nude mouse xenograft tumor models to observe tumor growth. *In vitro* experiments showed that compared with the C group, the Oxa group and CSE group exhibited significantly decreased colony formation number, wound healing rate, cell invasion number, and protein expression levels of Bcl-2, Shh, and Gli1 ($P<0.05$), with significantly increased apoptosis rate and levels of Caspase-3 and Bax ($P<0.05$). Compared with the Oxa group or CSE group, the CSE+Oxa group showed remarkably reduced colony formation number, wound healing rate, cell invasion number, and protein expression levels of Bcl-2, Shh, and Gli1 ($P<0.05$), while the apoptosis rate and levels of Caspase-3 and Bax were significantly elevated ($P<0.05$). Additionally, compared with the CSE+Oxa group, the CSE+Oxa+PUR group displayed significantly increased colony formation number, wound healing rate, cell invasion number, and protein expression levels of Bcl-2, Shh, and Gli1 ($P<0.05$), with notably decreased apoptosis rate and levels of Caspase-3 and Bax ($P<0.05$). *In vivo* experiments demonstrated that compared with the C group, the Oxa group and CSE group had significantly reduced tumor weight, tumor volume ($P<0.05$), along with increased growth inhibition rate in a dose-dependent manner. Compared with the Oxa group or CSE group, the CSE+Oxa group exhibited further decreased tumor weight, tumor volume ($P<0.05$), and the growth inhibition rate was significantly enhanced ($P<0.05$). Collectively, CSE can inhibit the proliferation, migration, and invasion of HCT116 cells and enhance their chemosensitivity, whose mechanism may be associated with the inhibition of the Shh/Gli1 signaling pathway.

Keywords Coix seed extract; colon cancer cells; Shh/Gli1 signaling pathway; proliferation; invasion; chemotherapy sensitivity

结肠癌(colon cancer, CC)作为全球范围内高发的一种消化道恶性肿瘤,近年来发病率和死亡率呈持续攀升的态势^[1]。目前治疗结肠癌的方法主要有手术治疗、化疗、放疗及其联合治疗等,但是CC转移性较高,手术切除不彻底;患者长期化疗、放疗容易产生耐受性,导致总体预后差,严重影响患者的心理和身体健康^[2]。因此,积极探索CC进展机制并寻找新的治疗CC的药物以及提高放化疗敏感性,对于CC的治疗十分重要。在肿瘤的发生和转移进程中,刺猬(hedgehog, Hh)信号通路起关键作用,音猬因子(sonic hedgehog, Shh)作为Hh代表性的配体,可与相应的受体结合,进而激活Hh信号通路和促进Gli家族锌指蛋白1(Gli family zinc fingerprotein 1, Gli1)的表达,参与肿瘤发生^[3]。DENG等^[4]发现,伊曲康唑可以通过抑制Shh信号通路的激活,抑制CC细胞的增殖,并促进凋亡。由此推测Shh/Gli1通路可能是一种潜在的治疗CC的重要靶点,值得进一步研究。薏苡仁(Coix seed, CS)又称为薏米,是禾本科植物薏苡的干燥种子。现代药理学研究表明,CS不仅含有丰

富的脂肪、糖类、氨基酸、维生素等营养物质,还具有抗肿瘤、抗炎、抗氧化、提高免疫力的效果^[5]。因此CS不仅可以作为食物,还具有一定的药用价值。薏苡仁提取物(Coix seed extract, CSE)的主要成分是薏苡仁甘油酯,以其为主要成分的中药康莱特注射液已应用于临床治疗,对治疗结肠癌具有良好的功效^[6]。樊玲等^[7]发现,不同浓度的CSE可以抑制口腔鳞状癌细胞的增殖、迁移、侵袭,且CSE浓度越高,抗肿瘤细胞效果越明显。然而,目前较多研究报告主要聚焦于其药理活性,对机制研究尚不够深入。为进一步丰富基础研究机制,并为CC治疗提供更多可靠靶点依据,本研究展开了相关探讨,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 细胞、动物、药物和主要试剂

裸鼠(4周龄BALB/c)[许可证号:SCXK(苏)2024-0004]购自南通菁骐生物技术有限公司。将裸鼠饲养于标准环境中1周后用于实验研究。本研究

已通过太仓市中医医院伦理审查委员会批准, 批准号: (2022)第(019)号。

人结肠癌细胞(HCT116; CL-0096)购自武汉普诺赛生命科技有限公司; CSE(MF-000401)购自沐凡生物科技有限公司; Shh特异性激活剂嘌呤胺(purmorphamine, PUR; 10009634)、奥沙利铂(Oxaliplatin, Oxa; 13106)购自Cayman公司; 增强型细胞活力检测试剂盒(cell counting kit-8, CCK-8; E-CK-A362)、一步法TUNEL原位凋亡检测试剂盒(E-CK-A320)购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司; Transwell小室(3422)购自Corning公司; 兔单克隆抗体Shh(ab308225, 稀释比1:1 000)、兔多克隆抗体Gli1(ab273018, 稀释比1:1 000)、兔单克隆抗体半胱氨酸蛋白酶-3(cysteiny aspartate-specific proteinase-3, Caspase-3; ab184787, 稀释比1:2 000)、兔单克隆抗体B细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2; ab182858, 稀释比1:2 000)、兔单克隆抗体Bcl-2相关X蛋白(BCL2-associated X, Bax; ab182734, 稀释比1:1 000)一抗和辣根过氧化物酶标记的兔抗(ab6728, 稀释比1:10 000)、鼠抗(ab6721, 稀释比1:10 000)均购自Abcam公司。

1.2 细胞培养

将冻存的HCT116细胞置于37 °C水浴快速复苏后, 接种于高糖DMEM培养基中(10%胎牛血清, 100 µg/mL的青/链霉素双抗), 在37 °C、5% CO₂、饱和湿度的CO₂培养箱中培养。待细胞融合度达到80%~90%时, 37 °C下用0.25%胰酶消化细胞(5 min), 以1:3的比例进行传代培养。实验中选用对数生长期细胞。

1.3 CCK-8法筛选CSE作用浓度

取对数生长期的HCT116细胞, 按照一定密度(5 000/孔)接种到96孔板, 待细胞融合度达80%以上时, 用浓度为0、2.5、5、10、20、40 µmol/L的CSE处理细胞, 以0 µmol/L的CSE为对照, 每组6个复孔, 48 h后每孔加入CCK-8工作液10 µL^[8], 37 °C孵育4 h。在酶标仪450 nm波长处检测各孔吸光度值, 计算细胞存活率。

1.4 细胞分组

将对数生长期的HCT116细胞随机分为对照组(C组)、Oxa组、CSE组、CSE+Oxa组、CSE+Oxa+Shh特异性激活剂(CSE+Oxa+PUR组)。其中Oxa组用15 µg/µL的Oxa^[9]处理; CSE组用浓度为10 µmol/L的

CSE处理; CSE+Oxa组细胞先用15 µg/µL的Oxa处理, 再用10 µmol/L的CSE处理; CSE+Oxa+PUR组细胞先用15 µg/µL的Oxa处理, 再用10 µmol/L的CSE和1 µmol/L的PUR^[10]共同处理; C组加入等量的培养基。

1.5 平板克隆形成实验检测细胞增殖情况

37 °C下用0.25%胰酶消化对数生长期各组HCT116细胞(5 min), 重悬后, 按照一定密度(1 000/孔)接种到6孔板, 连续培养14天, 每两天换液一次。37 °C下, 磷酸盐缓冲液(PBS)清洗, 4%多聚甲醛固定30 min, PBS清洗, 1%结晶紫染色15 min, ImageJ软件进行克隆计数。

1.6 划痕愈合实验检测细胞迁移情况

37 °C下用0.25%胰酶消化对数生长期各组HCT116细胞(5 min), 重悬后, 按照一定密度(1×10^6 /孔)接种于6孔板。按照“1.2”分组处理, 待细胞融合度大于80%时, 用高压灭菌的200 µL枪头垂直于孔底, 由左向右划线, 产生一条无细胞区域, PBS冲洗表面细胞。于划线0 h和48 h观察、测量划痕宽度, 计算各组划痕愈合率。

1.7 Transwell小室法检测细胞侵袭情况

4 °C冰箱取出的基质胶用无血清培养基稀释10倍, 均匀平铺于小室上室中, 37 °C、30 min使其聚合成凝胶。37 °C下, 将各组对数生长期细胞用不含血清的培养基消化重悬(密度为 2×10^5 /mL), 并以每孔100 µL接种到24孔板上室中, 下室中加入600 µL含10%血清的DMEM培养基。48 h后, 37 °C下, 4%多聚甲醛固定20 min, 结晶紫染色10 min。最后显微镜下随机选取5个不相邻的视野进行细胞穿膜数的计算。

1.8 TUNEL染色检测细胞凋亡情况

37 °C下用0.25%胰酶消化对数生长期各组HCT116细胞(5 min), 重悬后, 按照一定密度(1×10^4 /孔)接种于96孔板。37 °C下, 4%多聚甲醛固定20 min、0.2% Triton X-100透化细胞, 与TUNEL染色液避光孵育1 h, 再用DAPI复染。荧光显微镜下观察(凋亡细胞的细胞核在镜下呈绿色, 每个样本随机取5个视野观察记录), 并计算各组细胞凋亡情况。细胞凋亡率(%)=(TUNEL阳性细胞数/DAPI染色细胞总数)×100%。

1.9 Western blot法检测蛋白表达情况

收集各组细胞, 强裂解液提取各组总蛋白, 用二

喹啉甲酸法测定总蛋白浓度, 加入上样缓冲液(95 °C 金属浴 5 min)使蛋白变性。SDS-PAGE法分离蛋白条带, 转移至PVDF膜, 室温封闭 1 h, 与对应一抗 Shh(1:1 000)、Gli1(1:1 000)、Caspase-3(1:2 000)、Bax(1:1 000)、Bcl-2(1:2 000)过夜孵育(4 °C)。次日, 洗去一抗, 添加对应二抗(1:1 000), 室温孵育 2 h。结束后, 使用超敏发光液曝光蛋白条带, 再使用ImageJ 软件分析条带灰度值。

1.10 动物实验

建立HCT116细胞裸鼠皮下注射成瘤模型。收集对数生长期培养的HCT116细胞, 细胞计数后用PBS按 $5 \times 10^7/\text{mL}$ 的细胞密度重悬细胞, 即平均每 0.1 mL 5×10^6 个细胞。于雄性BALB/c裸鼠右侧背部皮下接种 0.1 mL $5 \times 10^7/\text{mL}$ 的HCT116细胞悬液, 即每只裸鼠接种 5×10^6 个HCT116细胞, 注射完成旋转后退针, 棉棒按压针孔至无液体流出, 完成细胞皮下接种。

当成瘤体积达到 $80 \text{ mm}^3 \sim 100 \text{ mm}^3$ 时, 将裸鼠随机分成4组, 每组6只, 并分别给予等量生理盐水、30 mg/kg的Oxa^[11]、0.16 g/mL的CSE^[12]、30 mg/kg的Oxa+0.16 g/mL的CSE。每2天用游标卡尺测量1次肿瘤大小, 肿瘤体积(V)=(肿瘤长度×肿瘤宽度²)/2。给药2周, 结束后处死小鼠(兽用七氟烷对小鼠进行麻醉后, 颈椎脱臼法处死), 剥离瘤块并称重。

1.11 统计学方法

用SPSS 25.0软件进行统计学分析。计量资料

符合正态分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析, 两两比较采用SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CSE对HCT116细胞存活率的影响

与 0 $\mu\text{mol/L}$ 的CSE相比, 2.5、5、10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 的CSE组HCT116细胞存活率显著降低, 且呈浓度依赖性($P < 0.05$); HCT116细胞的 IC_{50} 值是 17.91 $\mu\text{mol/L}$ 。为保证细胞存活并维持显著干预效应, 选择浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 的CSE进行实验。见图1。

2.2 CSE对HCT116细胞增殖的影响

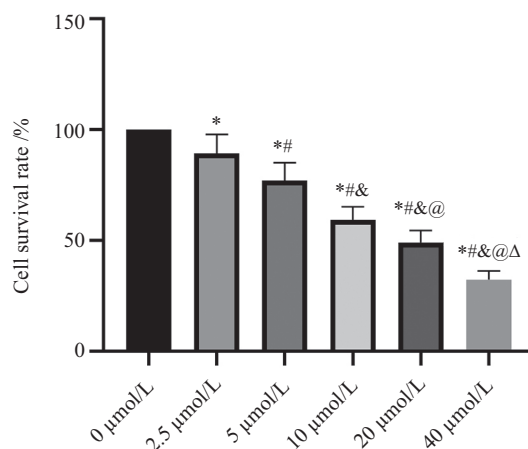
与C组相比, Oxa组和CSE组HCT116细胞克隆形成数显著降低($P < 0.05$); 与Oxa组和CSE组相比, CSE+Oxa组细胞克隆形成数显著降低($P < 0.05$); 与CSE+Oxa组比, CSE+Oxa+PUR组细胞克隆形成数显著升高($P < 0.05$)。见图2。

2.3 CSE对HCT116细胞迁移的影响

与C组相比, Oxa组和CSE组HCT116细胞划痕愈合率显著降低($P < 0.05$); 与Oxa组和CSE组相比, CSE+Oxa组细胞划痕愈合率显著降低($P < 0.05$); 与CSE+Oxa组相比, CSE+Oxa+PUR组细胞划痕愈合率显著升高($P < 0.05$)。见图3。

2.4 CSE对HCT116细胞侵袭的影响

图4显示: 与C组相比, Oxa组和CSE组HCT116



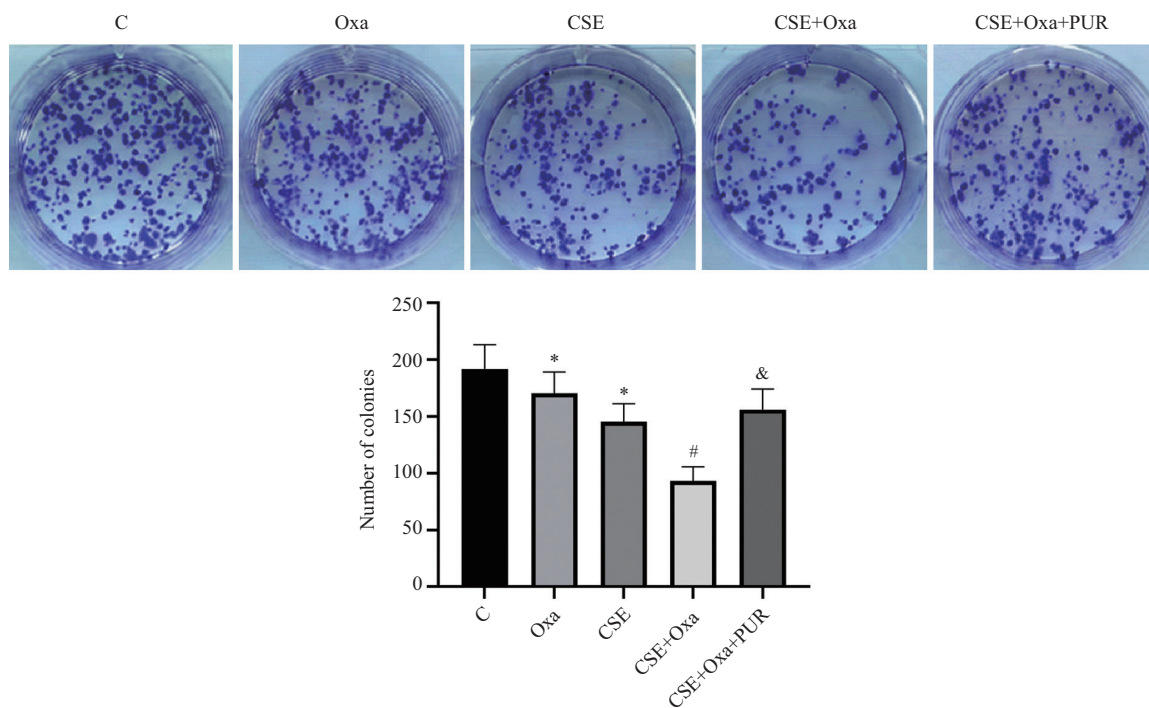
* $P < 0.05$, 与 0 $\mu\text{mol/L}$ 比较; # $P < 0.05$, 与 2.5 $\mu\text{mol/L}$ 比较; & $P < 0.05$, 与 5 $\mu\text{mol/L}$ 比较; @ $P < 0.05$, 与 10 $\mu\text{mol/L}$ 比较; Δ $P < 0.05$, 与 20 $\mu\text{mol/L}$ 比较。 $n=6$, $\bar{x} \pm s$ 。

* $P < 0.05$ compared with 0 $\mu\text{mol/L}$; # $P < 0.05$ compared with 2.5 $\mu\text{mol/L}$; & $P < 0.05$ compared with 5 $\mu\text{mol/L}$; @ $P < 0.05$ compared with 10 $\mu\text{mol/L}$;

Δ $P < 0.05$ compared with 20 $\mu\text{mol/L}$. $n=6$, $\bar{x} \pm s$ 。

图1 CSE对HCT116细胞存活率的影响

Fig.1 Effects of CSE on the viability of HCT116 cells

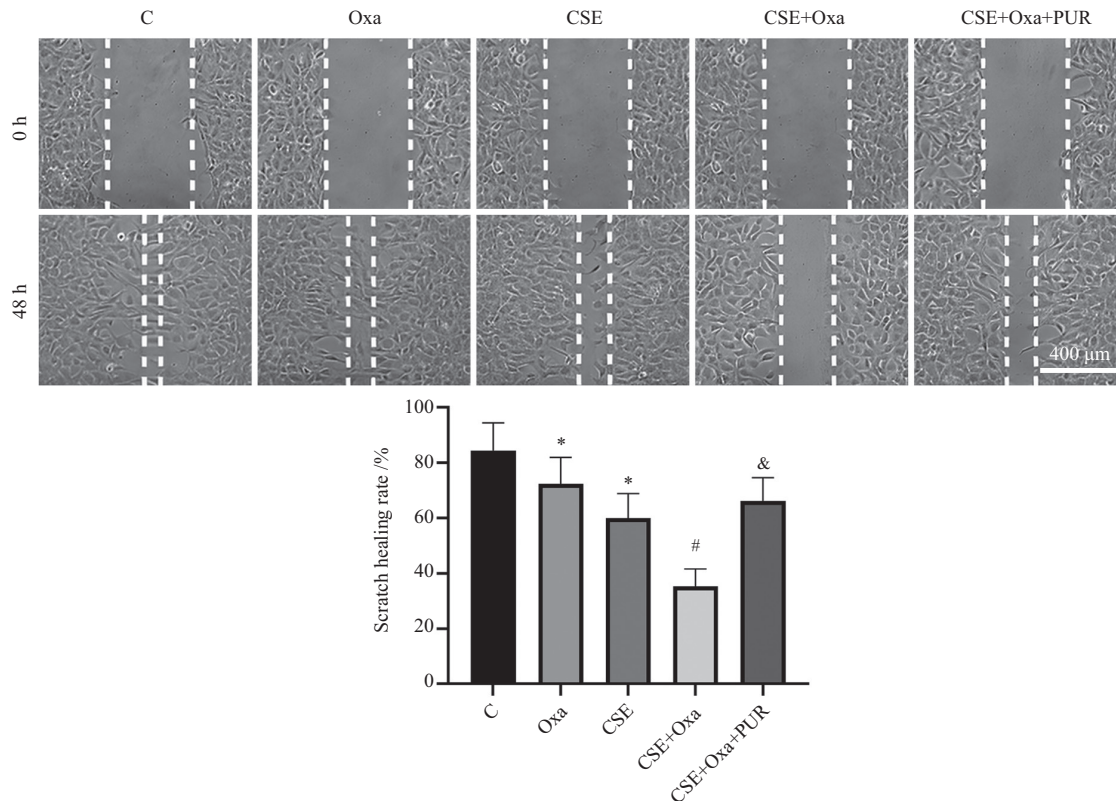


* $P < 0.05$, 与C组比较; # $P < 0.05$, 与CSE或Oxa组比较; & $P < 0.05$, 与CSE+Oxa组比较。 $n = 6$, $\bar{x} \pm s$ 。

* $P < 0.05$ compared with group C; # $P < 0.05$ compared with CSE or Oxa group; & $P < 0.05$ compared with CSE+Oxa group. $n = 6$, $\bar{x} \pm s$.

图2 各组HCT116细胞克隆形成情况

Fig.2 Clonal formation of HCT116 cells in each group



* $P < 0.05$, 与C组比较; # $P < 0.05$, 与CSE或Oxa组比较; & $P < 0.05$, 与CSE+Oxa组比较。 $n = 6$, $\bar{x} \pm s$ 。

* $P < 0.05$ compared with group C; # $P < 0.05$ compared with CSE or Oxa group; & $P < 0.05$ compared with CSE+Oxa group. $n = 6$, $\bar{x} \pm s$.

图3 各组HCT116细胞迁移情况

Fig.3 Migration of HCT116 cells in each group

细胞侵袭数显著降低 ($P<0.05$); 与Oxa组和CSE组相比, CSE+Oxa组细胞侵袭数显著降低 ($P<0.05$); 与CSE+Oxa组相比, CSE+Oxa+PUR组细胞侵袭数显著升高 ($P<0.05$)。

2.5 CSE对HCT116细胞凋亡的影响

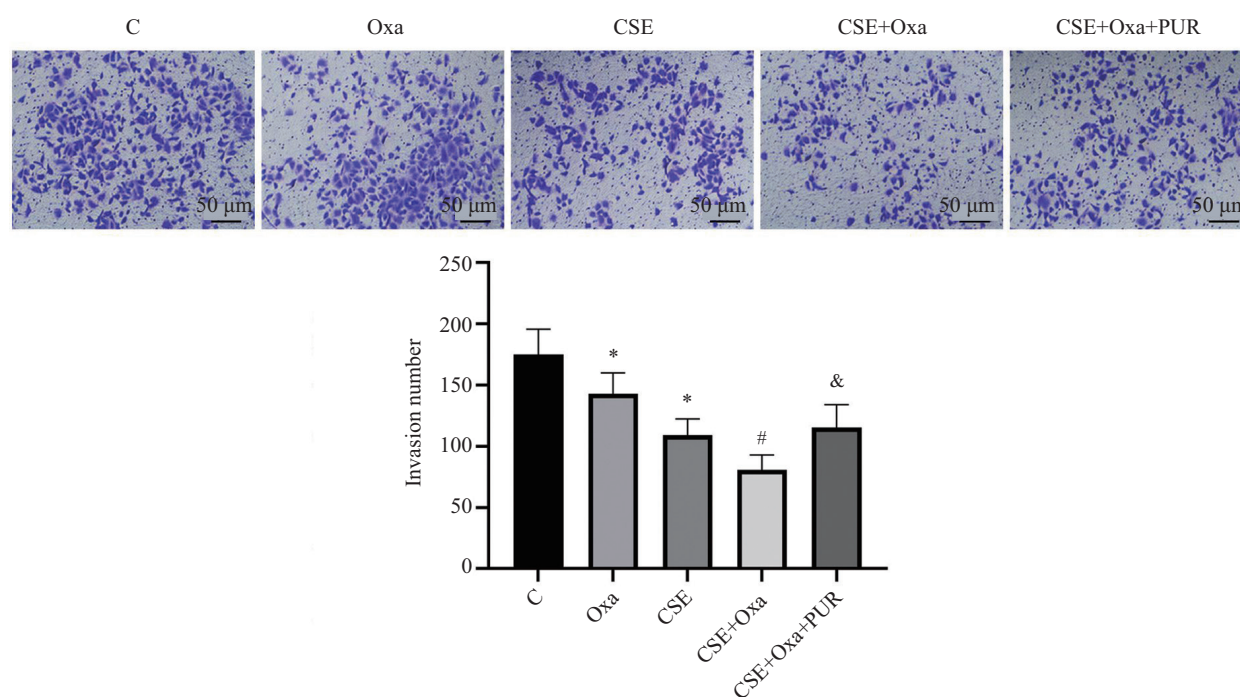
图5~图7显示: Oxa组和CSE组相较于C组, CSE+Oxa组相较于Oxa组或CSE组, HCT116细胞凋亡率、Caspase-3水平、Bax水平显著升高, Bcl-2蛋白水平显著降低 ($P<0.05$); 与CSE+Oxa组相比, CSE+Oxa+PUR组细胞凋亡率、Caspase-3水平、Bax水平显著降低, Bcl-2蛋白水平显著升高 ($P<0.05$)。

2.6 CSE对Shh/Gli1通路蛋白表达的影响

与C组相比, Oxa组和CSE组HCT116细胞Shh、Gli1蛋白表达水平显著降低 ($P<0.05$); 与Oxa组和CSE组相比, CSE+Oxa组细胞Shh、Gli1蛋白表达水平显著降低 ($P<0.05$); 与CSE+Oxa组相比, CSE+Oxa+PUR组细胞Shh、Gli1蛋白表达水平显著升高 ($P<0.05$)。见图8。

2.7 CSE对裸鼠移植瘤生长的影响

与C组相比, Oxa组和CSE组小鼠瘤质量、瘤体积等水平均降低, 生长抑制率升高且呈剂量依赖性 ($P<0.05$); 与Oxa组和CSE组相比, CSE+Oxa组小鼠



* $P<0.05$, 与C组比较; # $P<0.05$, 与CSE或Oxa组比较; & $P<0.05$, 与CSE+Oxa组比较。 $n=6$, $\bar{x}\pm s$ 。

* $P<0.05$ compared with group C; # $P<0.05$ compared with CSE or Oxa group; & $P<0.05$ compared with CSE+Oxa group. $n=6$, $\bar{x}\pm s$ 。

图4 各组HCT116细胞侵袭情况

Fig.4 Invasion of HCT116 cells in each group

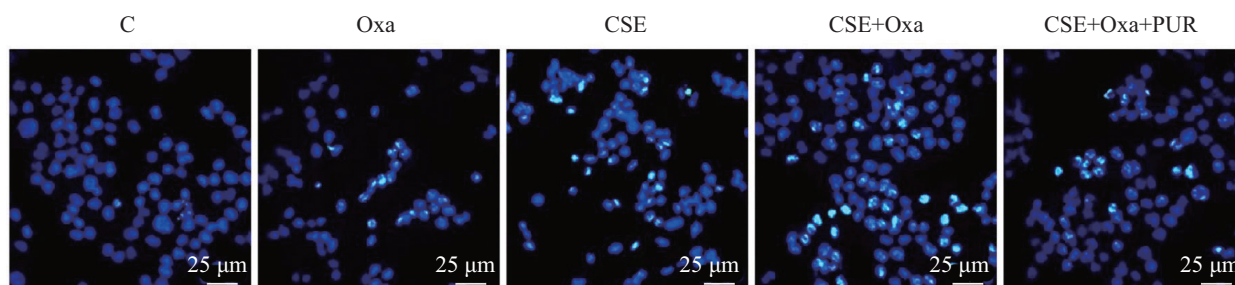
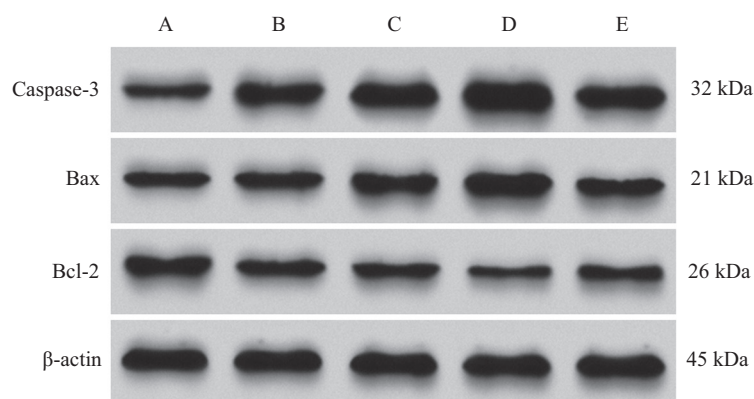


图5 各组HCT116细胞凋亡情况

Fig.5 Apoptosis of HCT116 cells in each group

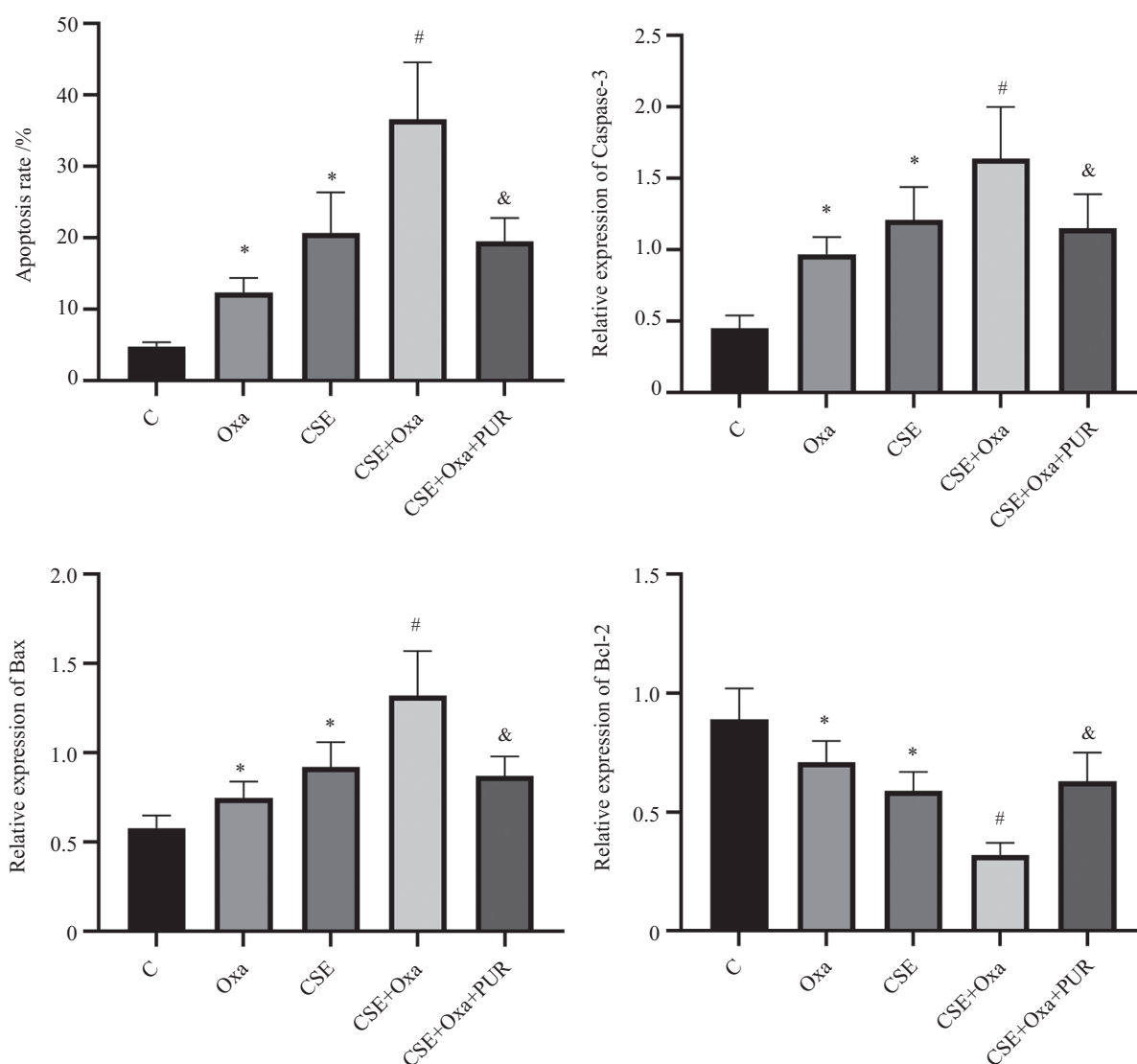


A为C组; B为Oxa组; C为CSE组; D为CSE+Oxa组; E为CSE+Oxa+PUR组。

A is the C group; B is the Oxa group; C is the CSE group; D is the CSE+Oxa group; E is the CSE+Oxa+PUR group.

图6 各组HCT116细胞Caspase-3、Bax、Bcl-2蛋白表达条带

Fig.6 Protein expression bands of Caspase-3, Bax, and Bcl-2 of HCT116 cells in each group

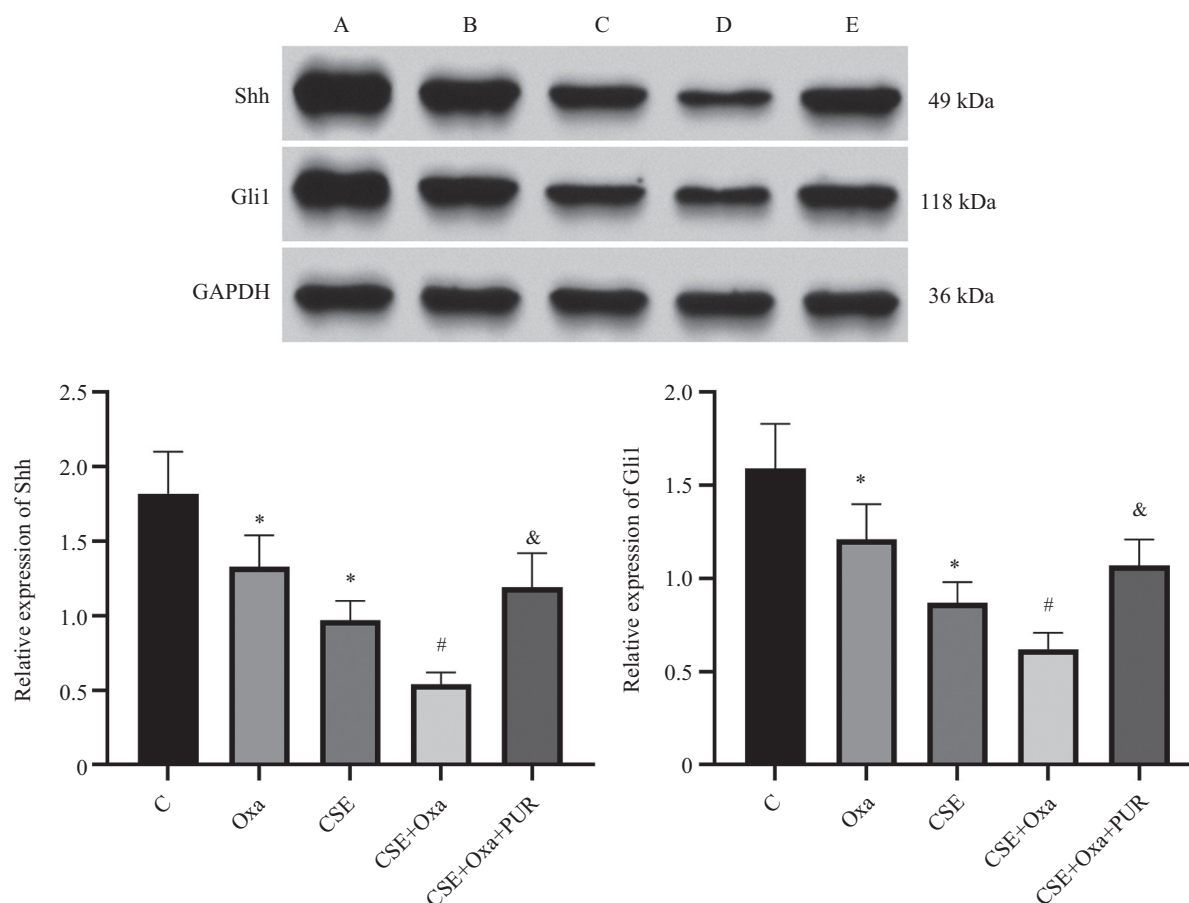


* $P < 0.05$, 与C组比较; # $P < 0.05$, 与CSE或Oxa组比较; & $P < 0.05$, 与CSE+Oxa组比较。 $n = 6$, $\bar{x} \pm s$ 。

* $P < 0.05$ compared with group C; # $P < 0.05$ compared with CSE or Oxa group; & $P < 0.05$ compared with CSE+Oxa group. $n = 6$, $\bar{x} \pm s$.

图7 CSE对各组HCT116细胞凋亡情况的影响

Fig.7 Effects of CSE on apoptosis of HCT116 cells in each group



A为C组; B为Oxa组; C为CSE组; D为CSE+Oxa组; E为CSE+Oxa+PUR组。* $P<0.05$, 与C组比较; # $P<0.05$, 与CSE或Oxa组比较; & $P<0.05$, 与CSE+Oxa组比较。 $n=6$, $\bar{x}\pm s$ 。

A is the C group; B is the Oxa group; C is the CSE group; D is the CSE+Oxa group; E is the CSE+Oxa+PUR group. * $P<0.05$ compared with group C; # $P<0.05$ compared with CSE or Oxa group; & $P<0.05$ compared with CSE+Oxa group. $n=6$, $\bar{x}\pm s$ 。

图8 CSE对各组HCT116细胞Shh、Gli1蛋白表达的影响

Fig.8 Effects of CSE on Shh and Gli1 protein expression of HCT116 cells in each group

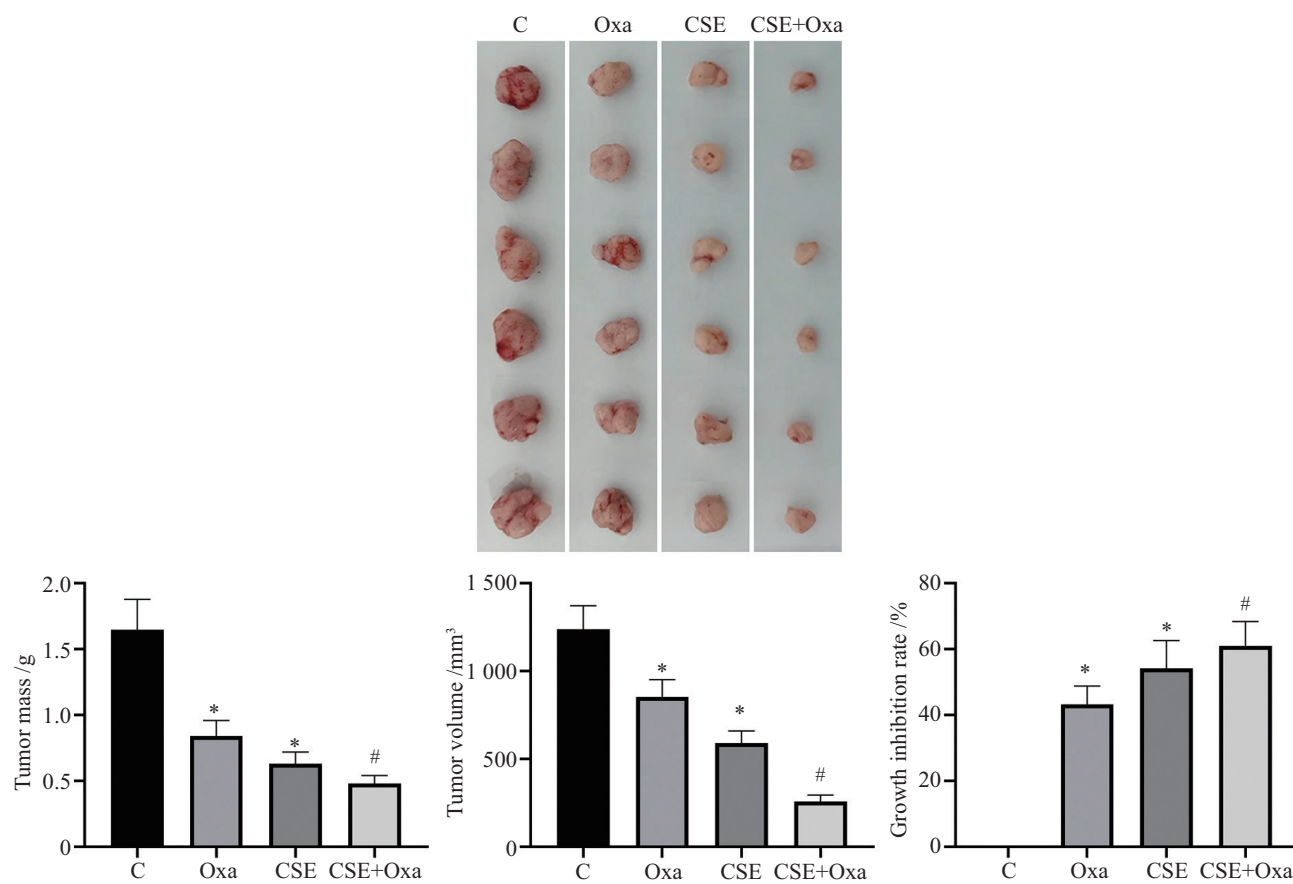
瘤质量、瘤体积等水平均降低,生长抑制率进一步升高($P<0.05$)。见图9。

3 讨论

CC是全球发病率较高的恶性肿瘤之一。世界卫生组织数据显示,CC发病率位于世界第三,病死率位于第二。由于CC发病早期临床症状不明显,患者一经确诊,病情已是中晚期,且CC具有高转移性和复发率的特点,导致患者5年生存率不高^[13-14]。Oxa作为第3代铂类药物,在CC的治疗中得到广泛的应用,然而,随之而来的耐药性极大地限制了其在临床上的进一步应用^[15]。因此,研究CC发病机制以及寻找治疗药物是目前的研究热点。

由CSE的主要成分薏苡仁提取物制成的康莱特注射液,在临床上已被证明可用于非小细胞肺

癌、胰腺癌、肝癌等多种癌症的辅助治疗,具有促进癌细胞凋亡,抑制其增殖、恶性转移以及增强化疗敏感性的作用^[16]。有学者发现,薏苡仁提取物可以通过调节PI3K/AKT信号通路,诱导结肠癌细胞HT-29细胞周期停滞,抑制细胞增殖,并促进细胞凋亡,发挥抗结肠癌的效应^[17]。另外,有研究报道,CSE可以促进肺腺癌、结直肠癌等癌细胞的凋亡,并抑制细胞活性和减弱免疫逃逸能力,以此发挥有效的抗癌作用^[18-19]。Bax和Bcl-2基因隶属于Bcl-2基因家族,在细胞凋亡过程中扮演着关键的角色。Bax表达上调可以促进细胞凋亡,而Bcl-2表达上调则抑制细胞凋亡^[20]。Caspase-3作为caspase家族关键蛋白之一,在细胞凋亡过程中扮演着终末端剪切酶的角色,进一步推动细胞凋亡^[21]。基于此,本研究以人HCT116细胞系(非Oxa耐药细



* $P < 0.05$, 与C组比较; # $P < 0.05$, 与CSE或Oxa组比较; * $P < 0.05$, 与CSE+Oxa组比较。 $n = 6$, $\bar{x} \pm s$ 。

* $P < 0.05$ compared with group C; # $P < 0.05$ compared with CSE or Oxa group; * $P < 0.05$, compared with CSE+Oxa. $n = 6$, $\bar{x} \pm s$.

图9 各组小鼠瘤体直观图, 瘤质量、瘤体积及生长抑制率比较

Fig.9 Comparison of visual tumor images in mice, tumor mass, tumor volume, and growth inhibition rate among groups

胞系)为研究对象展开相关探讨。结果发现, CC化疗药 Oxa 和 CSE 分别单独处理 HCT116 细胞后, 其增殖、恶性转移和侵袭能力明显降低, 同时促凋亡蛋白 Bax 和 Caspase-3 的表达量增加, 抑凋亡因子 Bcl-2 的表达水平降低, 细胞凋亡率升高。这表明 CSE 和 Oxa 均能够抑制细胞增殖和迁移, 然而, 当在 Oxa 治疗基础上给予 CSE 后, HCT116 细胞的增殖、迁移、侵袭抑制作用进一步增强, 表明 CSE 可以增强 HCT116 细胞对 Oxa 的敏感性。本研究通过构建裸鼠移植瘤模型发现, CSE 可明显抑制肿瘤生长, 表明其在体内也具有较好的抗肿瘤作用。然而, 其具体作用机制还有待进一步验证。

Gli1/Shh 通路在肿瘤发生、发展过程中发挥重要作用, 能够通过调控细胞增殖、分化过程, 影响肿瘤生长与迁移^[22-23]。寇牧笛等^[24]研究表明, 蓝萼甲素可通过下调 Shh/Gli1 通路蛋白表达而降低胃癌细胞化疗耐药性。杜超等^[25]发现, 布美他尼可通过阻

滞 Shh/Gli1 信号通路, 抑制卵巢癌细胞上皮-间质转化和血管生成。以上研究结果提示, Gli1/Shh 通路与多种癌症化疗耐药直接关联, 可通过参与肿瘤血管生成、促进 Gli1 核转位增强肿瘤细胞 DNA 修复等促进肿瘤细胞恶性生物学行为, 因此抑制该通路可能有助于改善 CC 治疗结局, 降低肿瘤复发风险^[26]。根据本研究结果可知, CSE 和 Oxa 单独使用可以降低 HCT116 细胞中 Shh 和 Gli1 蛋白的表达水平; 当 Oxa 联合 CSE 处理细胞后, Shh 和 Gli1 蛋白水平较 CSE 组和 Oxa 组进一步下降; 这表明 CSE 对 HCT116 细胞的增殖、迁移、凋亡及化疗敏感性的作用可能与 Shh/Gli1 通路有关。为了进一步验证上述结论, 本研究采用 Shh 特异性激活剂 PUR 进行回复实验, 结果发现, PUR 可以逆转 CSE 和 Oxa 联合使用对 HCT116 细胞恶性生物学行为的抑制作用, 提示 CSE 可通过阻滞 Shh/Gli1 途径, 抑制 HCT116 细胞的增殖、迁移、侵袭以及减弱化疗耐药性, 在体内具有较好的抗肿

瘤生长效果。然而, CSE是否通过促进Gli1核转位增强肿瘤细胞DNA修复能力, 从而发挥通路靶向增效效应, 还需进一步探究。此外, 由于肿瘤具有高度异质性, 单一细胞系的研究结果可能难以代表所有结肠癌的情况, 因此后续还有待在CC多种细胞系及耐药细胞系中加以验证, 以更加明确CSE在CC中的抗癌活性及应用前景。

综上所述, CSE能够显著抑制HCT116细胞的增殖、迁移、侵袭, 增强该细胞对化疗药物的敏感性, 并可有效抑制裸鼠移植瘤生长。经研究推测, 其发挥上述作用的具体机制, 可能与CSE抑制了Shh/Gli1信号通路的激活密切相关。这提示CSE对结肠癌耐药细胞表现出良好的抗肿瘤活性, 是治疗CC的潜在药物, 也是提高癌细胞对Oxa敏感性的潜在药物。然而, Shh/Gli1通路上游或下游的靶点改变如何, 除Shh/Gli1通路外, CSE是否还通过PI3K/AKT通路等联合发挥协同作用, 尚不清楚。因此, 后续会优化实验方案, 构建HCT116-Oxa耐药株, 对机制部分展开更为细致、深入的探讨, 并纳入动物实验, 验证其体内效果及毒性, 进一步明确CSE在CC中的应用价值。

参考文献 (References)

- [1] DEY A, MITRA A, PATHAK S, et al. Recent advancements, limitations, and future perspectives of the use of personalized medicine in treatment of colon cancer [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2023, 22(1): 8403-09.
- [2] GUO Z, WANG A, GAO Y, et al. Dynamic assessments of coronary flow reserve after myocardial ischemia reperfusion in mice [J]. *J Vis Exp*, 2023, 198(1): 1-3.
- [3] VECCHIOTTI D, VERZELLA D, DI VITO NOLFI M, et al. Elevated NF- κ B/SHh/GLI1 signature denotes a worse prognosis and represent a novel potential therapeutic target in advanced prostate cancer [J]. *Cells*, 2022, 11(13): 2118-22.
- [4] DENG H, HUANG L, LIAO Z, et al. Itraconazole inhibits the Hedgehog signaling pathway thereby inducing autophagy-mediated apoptosis of colon cancer cells [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(7): 539-43.
- [5] 吴静雨, 陈晓凡, 徐万爱, 等. 薏苡仁活性成分研究进展[J]. *中国中药杂志*(WU J Y, CHEN X F, XU W A, et al. *Advances in research on active constituents of coix lacryma-jobi* [J]. *J Chin Med J*), 2024, 49(6): 1474-84.
- [6] 吴文群. XELOX方案联合康莱特治疗晚期结肠癌46例疗效观察[J]. *中国肛肠病杂志*(WU W Q. *XELOX schema combined with Kanglete injection in the treatment of late colonic cancer: effect observation on 46 cases* [J]. *J Chin Anal Colorectal Dis*), 2022, 42(7): 9-11.
- [7] 樊玲, 赵景杰. 不同浓度薏苡仁提取物对口腔鳞状细胞癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响及作用机制[J]. *临床误诊误治* (FAN L, ZHAO J J. *Effects and mechanisms of different concentrations of Coix lacryma-jobi extract on proliferation, migration, and invasion of oral squamous cell carcinoma cells* [J]. *Clin Misdiagnosis Treat*), 2022, 35(4): 108-12.
- [8] 朱雨, 姜京植, 金雪梅, 等. 银莲花素A对结肠癌HCT116细胞增殖和凋亡的影响[J]. *中国临床药理学杂志*(ZHU Y, JIANG J Z, JIN X M, et al. *Effects of raddeanin A on the proliferation and apoptosis of colon cancer HCT116 cells* [J]. *Chin J Clin Pharmacol*), 2024, 40(6): 830-3.
- [9] 周婷婷, 沈卫星, 陈桐庆, 等. 预知子提取物增敏奥沙利铂诱导结肠癌HCT116细胞凋亡的研究[J]. *南京中医药大学学报* (ZHOU T T, SHEN W X, CHEN T Q, et al. *Study on *Fructus Akebiae* extraction inducing apoptosis sensitization of colon cancer HCT116 cells to oxaliplatin* [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med*), 2022, 38(3): 8-9.
- [10] 王颖雪, 王倩, 宋永刚. 利多卡因调节Shh/Gli1信号通路对子宫内膜癌细胞活性和血管生成拟态的影响[J]. *中国优生与遗传杂志*(WANG Y X, WANG Q, SONG Y G. *Lidocaine modulates Shh/Gli1 pathway to affect activity and angiogenic mimicry in endometrial cancer cells* [J]. *Chin J Obstet Genet*), 2024, 32(10): 2026-31.
- [11] 王小波, 周璐瑶, 周少朋. 艾瑞昔布联合奥沙利铂对裸鼠人结肠癌LOVO细胞移植瘤模型的细胞凋亡作用机制研究[J]. *中国临床药理学杂志*(WANG X B, ZHOU L Y, ZHOU S P. *Effect and mechanism of imrecoxib combined with oxaliplatin on apoptosis of human colon cancer LOVO cells transplanted in nude mice model* [J]. *Chin J Clin Pharmacol*), 2020, 36(16): 4-5.
- [12] 陈萍, 胡伟结, 游赣花, 等. 薏苡仁提取物对裸鼠肝癌移植瘤生长的影响及机制[J]. *山东医药*(CHEN P, HU W J, YOU G H, et al. *Effects and mechanisms of Coix lacryma-jobi extract on growth of hepatic cancer xenografts in nude mice* [J]. *Shandong Med J*), 2017, 57(26): 3-4.
- [13] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL RL, 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): 209-49.
- [14] RIBELLES N, PASCUAL J, GALVEZ-CARVAJAL L, et al. Increasing annual cancer incidence in patients age 20-49 years: a real-data study [J]. *JCO Glob Oncol*, 2024, 10(1): e2300363-7.
- [15] YU Y, WU T, ZHANG X, et al. Regorafenib activates oxidative stress by inhibiting SELENOS and potentiates oxaliplatin-induced cell death in colon cancer cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2023, 957(1): 175986-9.
- [16] LU C, WU S, KE L, et al. Kanglaite (Coix seed extract) as adjunctive therapy in cancer: evidence mapping overview based on systematic reviews with meta-analyses [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13(1): 901875-88.
- [17] NI C, LI B, DING Y, et al. Anti-cancer properties of coix seed oil against HT-29 colon cells through regulation of the PI3K/AKT signaling pathway [J]. *Foods*, 2021, 10(11): 2833-5.
- [18] ZHANG Y X, WAN H, SHAN G Y, et al. Pharmacological role of *Herba patriniae* and Coix seed in colorectal cancer [J]. *World J Gastrointest Oncol*, 2025, 17(3): 99673-82.
- [19] JIANG J, LI X, ZHANG C, et al. Anti-cancer effects of Coix seed extract through KCTD9-mediated ubiquitination of TO-

- P2A in lung adenocarcinoma [J]. *Cell Div*, 2024, 19(1): 6-7.
- [20] ZHANG Z, HOU L, LIU D, et al. Directly targeting BAX for drug discovery: therapeutic opportunities and challenges [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2024, 14(6): 2378-401.
- [21] BHAT A A, THAPA R, AFZAL O, et al. The pyroptotic role of Caspase-3/GSDME signalling pathway among various cancer: a review [J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 242(Pt 2): 832-3.
- [22] LEI X, ZHONG Y, HUANG L, et al. Identification of a novel tumor angiogenesis inhibitor targeting Shh/Gli1 signaling pathway in non-small cell lung cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(4): 232-3.
- [23] WU J, WANG R, KAN X, et al. A Sonic Hedgehog-Gli-Bmi1 signaling pathway plays a critical role in p27 deficiency induced bone anabolism [J]. *Int J Biol Sci*, 2022, 18(3): 956-69.
- [24] 寇牧笛, 焦倩, 周晓敏, 等. 蓝萼甲素调节Shh/Gli1信号通路对胃癌细胞活性和化疗耐药性的影响[J]. *中国老年学杂志(KOU M D, JIAO Q, ZHOU X M, et al. Matrine regulates Shh/Gli1 pathway to affect gastric cancer cell viability and chemoresistance [J]. Chin J Geriatr*, 2025, 45(14): 3545-50.
- [25] 杜超, 王稳, 韩珊珊. 布美他尼调节Shh/Gli1信号通路对卵巢癌细胞上皮-间质转化和血管生成的影响[J]. *中国老年学杂志(DU C, WANG W, HAN S S. Bumetanide modulates Shh/Gli1 pathway to influence epithelial-mesenchymal transition and angiogenesis in ovarian cancer cells [J]. Chin J Geriatr*, 2025, 45(14): 3551-5.
- [26] KATO M. Genomic testing, tumor microenvironment and targeted therapy of Hedgehog-related human cancers [J]. *Clin Sci*, 2019, 133(8): 953-70.