

## 氧化苦参碱通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路诱导结肠癌 HCT116 细胞凋亡和焦亡作用研究

张景正<sup>1</sup>, 钟 嫻<sup>1</sup>, 鲍真真<sup>1</sup>, 陈 娴<sup>2\*</sup>

1. 江苏卫生健康职业学院, 江苏 南京 210031

2. 江苏省老年病医院, 江苏 南京 210031

**摘要:** 目的 探究氧化苦参碱诱导结肠癌 HCT116 细胞死亡的作用机制。方法 将结肠癌 HCT116 细胞随机分为对照组和氧化苦参碱 (2、4、8、12、16、20、30、40 mmol·L<sup>-1</sup>) 组, 通过 CCK-8 法检测各浓度氧化苦参碱作用 24、48 h 对结肠癌细胞存活率的影响; 光学显微镜下观察氧化苦参碱 (15、20、25 mmol·L<sup>-1</sup>) 对 HCT116 细胞形态的影响; 通过 Hoechst 染色法和 Annexin V/PI 双染流式细胞术法观察氧化苦参碱对 HCT116 细胞凋亡的影响; JC-1 染色观察细胞线粒体膜电位的变化; Western blotting 法检测各组细胞成熟体半胱氨酸蛋白酶-3 (cleaved Caspase-3)、B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2)、BCL2 关联 X 蛋白 (Bax)、细胞色素 C (Cyt-C)、消化道皮肤素 E (GSDME)、细胞周期蛋白 1 (cyclin-D1)、骨髓细胞瘤病毒癌基因 (c-Myc)、聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 (PARP)、 $\beta$ -连环素 ( $\beta$ -catenin)、生存素 (survivin) 的蛋白表达情况。结果 与对照组比较, 氧化苦参碱可以明显降低 HCT116 细胞的存活率, 且存在剂量及时间相关性, 作用 24、48 h 的半数抑制浓度 (IC<sub>50</sub>) 分别为 18.80、10.75 mmol·L<sup>-1</sup>; 氧化苦参碱组形状正常的 HCT116 细胞明显减少, 均出现部分类圆球形的细胞, 并且折光率明显降低; 经 Hoechst 染色后氧化苦参碱组 HCT116 细胞的蓝色荧光明显加深, 且相对集中, 流式细胞术结果显示细胞凋亡率显著增加 ( $P < 0.05, 0.01$ ); JC-1 染色结果表明氧化苦参碱可以降低 HCT116 细胞线粒体膜电位; 氧化苦参碱组 Bcl-2、 $\beta$ -catenin、c-Myc、cyclin D1 和 survivin 蛋白表达水平显著下降 ( $P < 0.05, 0.01$ ), Bax、cleaved Caspase-3、cleaved PARP、Cyt-C、GSDME 蛋白表达水平及 Bax/Bcl-2 显著上升 ( $P < 0.05, 0.01$ )。结论 氧化苦参碱可能通过下调 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路, 促进线粒体依赖的细胞内源性凋亡和细胞焦亡发挥抗结肠癌作用。

**关键词:** 氧化苦参碱; 结肠癌; 凋亡; 焦亡; Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路; 线粒体膜电位

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2022) 10-2017-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.10.011

## Oxymatrine induces apoptosis and pyroptosis in colon cancer cells via Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway

ZHANG Jingzheng<sup>1</sup>, ZHONG Yuan<sup>1</sup>, BAO Zhenzhen<sup>1</sup>, CHEN Xian<sup>2</sup>

1. Jiangsu Health Vocational College, Nanjing 210031, China

2. Jiangsu Geriatric Hospital, Nanjing 210031, China

**Abstract: Objective** To explore the mechanism of oxymatrine inducing colon cancer HCT116 cell death. **Methods** Colon cancer cells were randomly divided into control group, oxymatrine (2, 4, 8, 12, 16, 20, 30, and 40 mmol·L<sup>-1</sup>) group. The CCK-8 method was used to detect the effect of different concentrations of oxymatrine on colon cancer cells survival after 24 and 48 h. The effects of oxymatrine (15, 20, 25 mmol·L<sup>-1</sup>) on the morphological changes of HCT116 cells were observed by observation under optical microscope. Hoechst staining and Annexin V/PI double staining flow cytometry were used to observe the effect of oxymatrine on apoptosis of HCT116 cells. JC-1 staining was used to observe the changes of mitochondrial membrane potential. Western blotting method was used to detect the effect of oxymatrine on expressions of cleaved Caspase-3, B lymphocytoma-2 (Bcl-2), BCL2-associated X protein (Bax), cytochrome C (Cyt-C), gastrointestinal dermatin E (GSDME), Cyclin 1 (cyclin-D1), myeloma virus oncogene (c-Myc), polyadenosine diphosphate-ribose polymerase (PARP),  $\beta$ -catenin, survivin in colon cancer cells. **Results** Compared with control group, oxymatrine could significantly reduce the survival rate of HCT116 cells, and there was a dose and

收稿日期: 2022-06-27

基金项目: 江苏卫生健康职业学院院级重点课题 (JKB202005); 江苏省大学生创新创业训练计划项目 (202014255002Y); 江苏卫生健康职业学院院级重点课题 (JKB2021005); 江苏卫生健康职业学院重大项 (JKA202004)

第一作者: 张景正, 男, 讲师, 研究方向为天然化合物的抗肿瘤活性研究。E-mail: zjingzlove@163.com

\*通信作者: 陈 娴 E-mail: 836031675@qq.com

time correlation. The half inhibition concentration ( $IC_{50}$ ) of 24 and 48 h after treatment was 18.80 and 10.75  $mmol \cdot L^{-1}$ , respectively. In oxymatrine group, HCT116 cells with normal shape were significantly reduced, with some spherical like cells, and the refractive index was significantly reduced. After Hoechst staining, the blue fluorescence of HCT116 cells in oxymatrine group was significantly deepened and concentrated. Flow cytometry showed that the apoptosis rate was significantly increased ( $P < 0.05, 0.01$ ). JC-1 staining showed that oxymatrine could reduce the mitochondrial membrane potential of HCT116 cells. In oxymatrine group, the expression levels of Bcl-2,  $\beta$ -catenin, c-Myc, cyclin D1 and survivin protein decreased significantly ( $P < 0.05, 0.01$ ), while the expression levels of Bax, cleaved caspase-3, cleaved PARP, Cyt-C, GSDME protein and Bax/Bcl-2 protein increased significantly ( $P < 0.05, 0.01$ ). **Conclusion** Oxymatrine may play an anti-tumor effect by downregulating the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway and promoting mitochondria-dependent endogenous apoptosis and pyroptosis.

**Key words:** oxymatrine; colon cancer; apoptosis; pyroptosis; Wnt/ $\beta$ -Catenin signal pathway; mitochondrial membrane potential

结肠癌是一种常见于消化道的恶性肿瘤,其发病率和死亡率均位于各类肿瘤的前列,严重影响着患者的生活质量。目前,手术切除、放疗化疗及药物联合治疗仍然是临床治疗晚期结直肠癌的常用方法<sup>[1-2]</sup>,但是毒素蓄积和耐药性成为此类治疗方法的主要弊端。随着中医药发展正式列为国家战略目标之一,越来越多的中药有效成分被发现并应用于各类疾病当中,从中药成分中寻找高效低毒的抗肿瘤活性物质已成为新型抗结肠癌药物研究的热点。

氧化苦参碱来源于中药苦参,已有研究发现<sup>[3-6]</sup>,氧化苦参碱对于多种肿瘤细胞具有明显的抑制作用。近年来研究发现,氧化苦参碱对于结肠癌细胞也具有较好的抑制作用,有研究证明<sup>[7]</sup>氧化苦参碱可以通过上调 miR-520e 抑制星状细胞上调基因 1(AEG-1)表达,降低结肠癌细胞增殖、侵袭和迁移能力;另有研究发现<sup>[8-9]</sup>氧化苦参碱可以通过诱导细胞周期阻滞或者诱导细胞凋亡发挥抗肿瘤作用。Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路是高度保守的信号通路之一,其可以通过激活下游增殖信号参与肿瘤的恶化,并且在胚胎发育、肿瘤进展中发挥着重要作用。本研究通过观察氧化苦参碱对人结肠癌细胞的致凋亡作用,并基于 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路对其可能的作用机制进行探讨,以期对氧化苦参碱类抗肿瘤药物的研制提供参考。

## 1 材料

### 1.1 细胞

结肠癌细胞(HCT116)购自中国科学院上海细胞库。

### 1.2 主要试剂

氧化苦参碱(质量分数 98%,成都植化纯生物技术有限公司,批号 20200211);胎牛血清购自南京平海生物发展有限公司;AnnexinV-FITC(PI)染色试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司;成熟体半胱氨酸蛋白酶-3(cleaved Caspase-3)、B 淋巴

细胞瘤-2(Bcl-2)、BCL2 关联 X 蛋白(Bax)、细胞色素 C(Cyt-C)、消化道皮肤素 E(GSDME)、细胞周期蛋白 1(cyclin-D1)、骨髓细胞瘤病毒癌基因(c-Myc)、聚腺苷二磷酸核糖聚合酶(PARP)、 $\beta$ -连环素( $\beta$ -catenin)、生存素(survivin)抗体和 JC-1 试剂盒购自 Abcam 中国公司;Hoechst 染色试剂盒(批号 C1115)购自上海碧云天生物技术有限公司;BCA 蛋白定量试剂盒、PVDF 膜(批号 LC2002)购自迈博瑞生物膜技术有限公司。

### 1.3 主要仪器

伯乐电泳仪(美国 Bio-Rad 公司);YXJ-2 型高速离心机(湖南湘仪实验室仪器有限公司);H22822 脱色摇床(湖南湘仪实验室仪器有限公司);DLJ-1000 型凝胶成像分析系统(广州飞迪生物科技有限公司);流式细胞仪(美国 Beckman Coulter 公司)。

## 2 方法

### 2.1 细胞存活率检测(CCK-8 法)

将 HCT116 细胞以  $5 \times 10^4 \cdot mL^{-1}$ 、每孔 100  $\mu L$  接种于 96 孔板中培养 24 h,对照组加入不含氧化苦参碱的培养基(0.1% DMSO),氧化苦参碱组分别加入含浓度为 2、4、8、12、16、20、30、40  $mmol \cdot L^{-1}$  氧化苦参碱的培养基,每个浓度接种 2 组,每组 5 个复孔;分别培养 24、48 h 后,弃上清,将 20  $\mu L$  CCK-8 溶液分别加入到每个检测孔中,37  $^{\circ}C$  孵育 2 h 后测定吸光度(A)值。计算细胞存活率,并利用 Prism 8.0.1 软件分析半数抑制浓度( $IC_{50}$ )值。

$$\text{细胞存活率} = A_{\text{氧化苦参碱}} / A_{\text{对照}}$$

### 2.2 细胞形态变化

取 HCT116 细胞以  $8 \times 10^4 \cdot mL^{-1}$ 、每孔 500  $\mu L$  接种于 24 孔板中培养 24 h,对照组加入不含氧化苦参碱的培养基(0.1% DMSO),氧化苦参碱组分别加入含浓度为 15、20、25  $mmol \cdot L^{-1}$  氧化苦参碱的培养基,培养 24 h 后,置于光学显微镜下拍摄细胞形态。

### 2.3 Hoechst 染色法检测细胞凋亡

细胞接种、分组及给药同“2.2”项,24 h 后,弃去

培养基,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤细胞2次并采用多聚甲醛溶液固定<sup>[10]</sup>,弃上清液,PBS洗涤细胞3次,分别将300  $\mu\text{L}$ 工作液加入到测样孔中,常温避光孵育10 min,弃液,PBS洗涤细胞3次,最后每孔加入300  $\mu\text{L}$  PBS,光学显微镜下观察细胞凋亡情况<sup>[8]</sup>。

#### 2.4 流式细胞仪检测细胞凋亡率

将HCT116细胞以每孔 $4 \times 10^5$ 接种于6孔板中培养24 h,分组及给药同“2.2”项,培养24 h后,收集各组细胞,1 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min,PBS洗涤细胞2次,加入工作液重悬细胞,随后加入5  $\mu\text{L}$  Annexin V/FITC混匀,最后加入PI染液,混匀,遮光反应20 min,进行细胞凋亡率检测。

#### 2.5 JC-1染色观察HCT116细胞线粒体膜电位

细胞接种、分组及给药同“2.2”项,24 h后,弃去培养基,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤细胞2次并采用多聚甲醛溶液固定,弃上清液,PBS洗涤细胞3次,应用JC-1试剂盒进行染色,显微镜下观察并拍照。

#### 2.6 Western blotting法检测Bax、Bcl-2、cleaved Caspase-3、Cyt-C、cleaved PARP、GSDME、 $\beta$ -catenin、cyclin D1、Myc和survivin的蛋白表达

将HCT116细胞以每孔 $4 \times 10^5$ 接种于6孔板中,培养24 h,分组及给药同“2.2”项,24 h后,弃去培养基,收集细胞,提取总蛋白,BCA法定量。每孔取20  $\mu\text{g}$ 蛋白量进行电泳。电泳2 h后进行转膜30 min,随后用封闭液封闭2 h后,一抗孵育(稀释比1:500)4  $^{\circ}\text{C}$ 过夜,第2天进行洗膜;二抗孵育2 h(稀释比例1:1 000),加入ECL显色液显影拍照。GAPDH作为内参,Image J软件分析灰度值与蛋白相对表达量。

#### 2.7 数据统计分析

采用SPSS 16.0进行数据处理,所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组样本之间进行比较采用 $t$ 检验,多均数间采用单因素方差分析。

### 3 结果

#### 3.1 氧化苦参碱对HCT116细胞存活率的影响

如图1所示,氧化苦参碱可以明显降低HCT116细胞的存活率,且存在剂量及时间相关性;作用24、48 h的 $\text{IC}_{50}$ 分别为18.80、10.75  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。根据计算所得 $\text{IC}_{50}$ 值,确定氧化苦参碱后续给药低、中、高浓度为15、20、25  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

#### 3.2 氧化苦参碱对HCT116细胞形态学的影响

如图2所示,对照组HCT116细胞形态正常,氧化苦参碱15、20、25  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组形状正常的HCT116细胞明显减少,均出现部分类圆球形的细

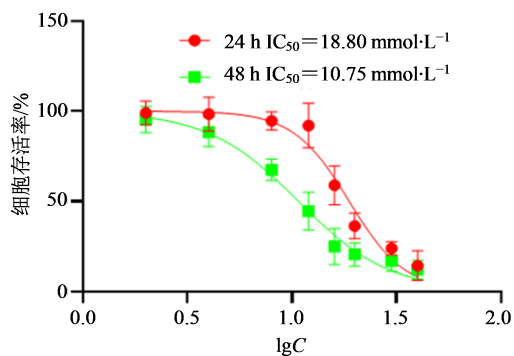


图1 氧化苦参碱对HCT116细胞活力的影响( $\bar{x} \pm s, n=5$ )  
Fig. 1 Effects of OM on cell viability of HCT116 cells ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

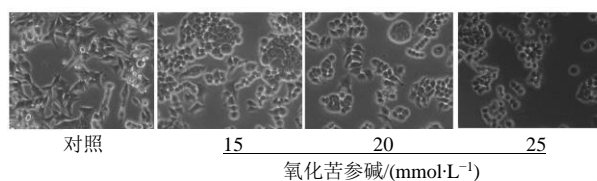


图2 氧化苦参碱对HCT116细胞形态学的影响  
Fig. 2 Effects of OM on cell morphology of HCT116 cells

胞,并且折光率明显降低。

#### 3.3 氧化苦参碱对HCT116细胞凋亡的影响

如图3所示,对照组中HCT116细胞形态正常,被染为蓝色的细胞核呈现均匀分布,而在氧化苦参碱15、20、25  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组中,HCT116细胞的蓝色荧光明显加深,且相对集中,呈剂量相关性,表明氧化苦参碱可以促进HCT116细胞凋亡。

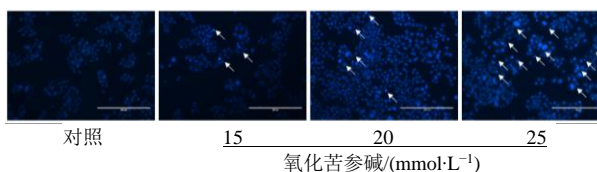


图3 Hoechst染色法检测细胞凋亡  
Fig. 3 Results of cell apoptosis by Hoechst staining

如图4所示,与对照组相比,氧化苦参碱15、20、25  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组HCT116细胞的凋亡率显著增加( $P < 0.05, 0.01$ ),且呈剂量相关性,表明氧化苦参碱可促进HCT116细胞的凋亡。

#### 3.4 氧化苦参碱对HCT116细胞线粒体膜电位的影响

如图5所示,与对照组相比,各给药组HCT116细胞红色荧光(JC-1 red)明显减弱,绿色荧光(JC-1 green)显著增强,结果表明氧化苦参碱可以降低HCT116细胞线粒体膜电位,且呈现剂量相关性。

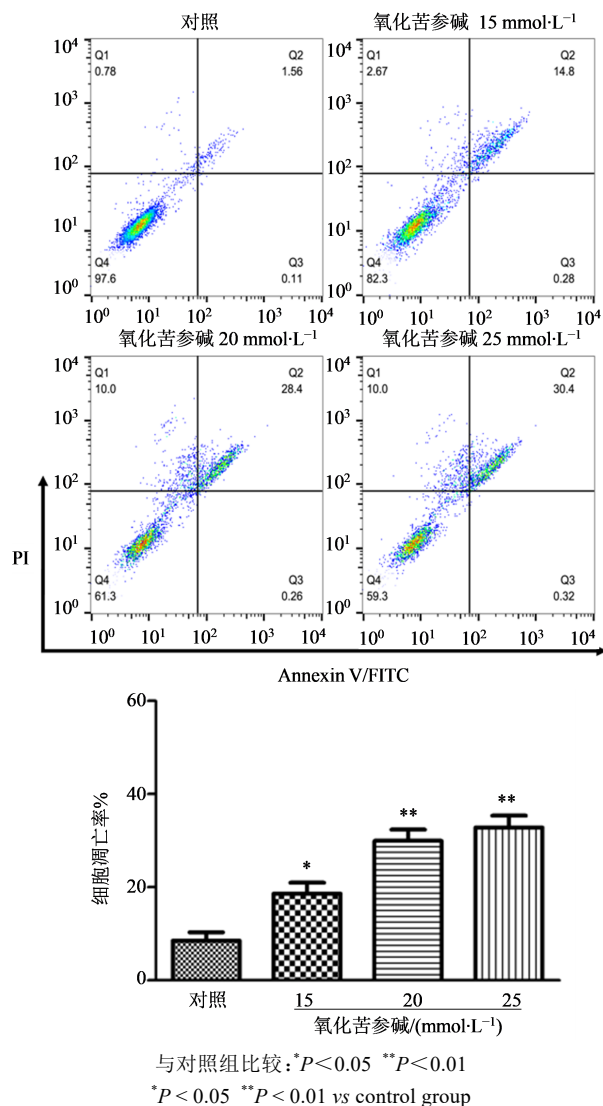


图 4 氧化苦参碱对 HCT116 细胞凋亡的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 4 Effect of OM on apoptosis of HCT116 cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

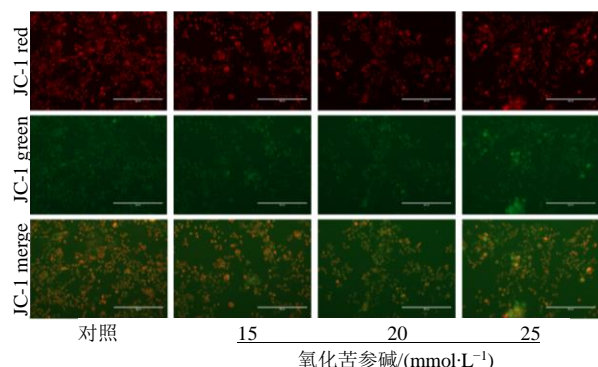


图 5 氧化苦参碱对 HCT116 细胞线粒体膜电位的影响  
Fig. 5 Effect of OM on mitochondrial membrane potential of HCT116 cells

### 3.5 氧化苦参碱对 HCT116 细胞线粒体凋亡通路蛋白 Bcl-2、Bax、cleaved Caspase-3、Cyt-C、cleaved PARP 及焦亡关键蛋白 GSDME 表达的影响

如图 6 和表 1、2 所示,与对照组相比,各给药组

HCT116 细胞 Bcl-2 蛋白表达水平显著下降 ( $P < 0.05, 0.01$ ), Bax、cleaved Caspase-3、cleaved PARP、Cyt-C、GSDME 蛋白表达水平及 Bax/Bcl-2 显著上升 ( $P < 0.05, 0.01$ )。结果表明氧化苦参碱可以下调 Bcl-2 蛋白表达,上调 Bax、cleaved Caspase-3、cleaved PARP、Cyt-C 和 GSDME 蛋白表达,通过内源性细胞凋亡通路诱导细胞凋亡。

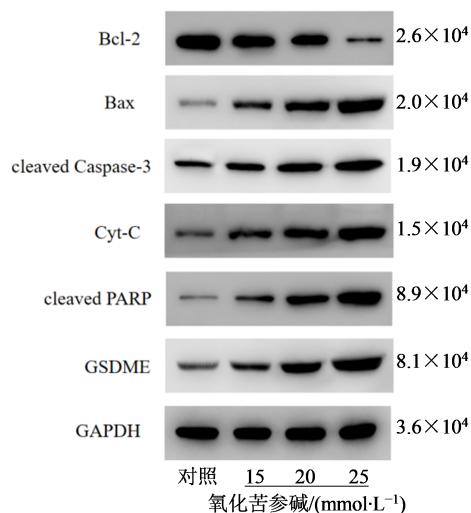


图 6 氧化苦参碱对 HCT116 细胞 Bcl-2、Bax、cleaved Caspase-3、Cyt-C、cleaved PARP 和 GSDME 蛋白表达的影响  
Fig. 6 Effect of OM on expressions of Bcl-2、Bax、cleaved Caspase-3、Cyt-C、cleaved PARP and GSDME

### 3.6 氧化苦参碱对 HCT116 细胞 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路蛋白 $\beta$ -catenin、c-Myc、cyclin D1 和 survivin 蛋白表达的影响

如图 7 和表 3 所示,与对照组相比,各给药组 HCT116 细胞  $\beta$ -catenin、c-Myc、cyclin D1 和 survivin 蛋白表达显著降低 ( $P < 0.05, 0.01$ ),且各蛋白表达下降趋势存在剂量相关性。

## 4 讨论

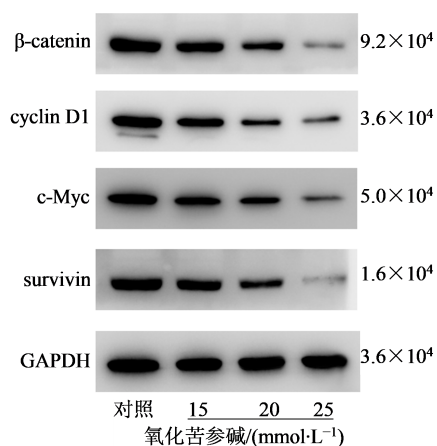
结肠癌是一种常见的恶性肿瘤<sup>[11]</sup>,虽然目前治疗结肠癌的相关技术和理论已经有所突破,但是每年死于该病的人数仍高达 70 余万,且患者在长期化疗过程中易出现严重的毒素蓄积和耐药性,5 年生存率仅为 31%<sup>[12-14]</sup>。因此,寻求高效低毒的新型抗肿瘤药物迫在眉睫。细胞凋亡是一种由基因主动调控的程序性死亡过程,是人体器官防御机制的一种表现形式,也是化疗药物清除肿瘤细胞的重要机制<sup>[15]</sup>。近年来大量研究表明,中药活性成分可以促进肿瘤细胞凋亡,进而发挥抗肿瘤作用<sup>[16]</sup>。Bcl-2 和 Bax 均属于凋亡蛋白家族成员,Bcl-2 属于原癌基因可抑制细胞凋亡,Bax 为促凋亡基因可促进细胞凋亡,凋亡蛋白的异常表达常为肿瘤发生发展的重要

表1 各组细胞凋亡相关蛋白的表达( $\bar{x}\pm s, n=3$ )Table 1 Expression of apoptosis-related proteins in each group ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量/(mmol·L <sup>-1</sup> )	Bax/GAPDH	Bcl-2/GAPDH	Bax/Bcl-2	Cyt-C/GAPDH
对照	—	0.22±0.01	0.96±0.04	0.26±0.10	0.33±0.05
氧化苦参碱	15	0.58±0.06*	0.82±0.04*	1.56±0.15*	0.71±0.09**
	20	0.89±0.09**	0.66±0.05**	2.25±0.51**	0.77±0.07**
	25	1.10±0.89**	0.24±0.03**	4.57±0.12**	0.94±0.06**

与对照组比较: \* $P<0.05$  \*\* $P<0.01$ \* $P<0.05$  \*\* $P<0.01$  vs control group表2 各组细胞焦亡通路相关蛋白的表达( $\bar{x}\pm s, n=3$ )Table 2 Expression of pyroptosis pathway-related proteins in each group ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量/(mmol·L <sup>-1</sup> )	cleaved PARP/GAPDH	cleaved Caspase-3/GAPDH	GSDME/GAPDH
对照	—	0.15±0.03	0.47±0.03	0.30±0.04
氧化	15	0.48±0.06*	0.67±0.04*	0.63±0.05*
苦参	20	0.71±0.05**	0.88±0.04**	0.82±0.05**
碱	25	0.93±0.08**	0.97±0.05**	1.16±0.09**

与对照组比较: \* $P<0.05$  \*\* $P<0.01$ \* $P<0.05$  \*\* $P<0.01$  vs control group图7 氧化苦参碱对HCT116细胞 $\beta$ -catenin、c-Myc、cyclin D1和survivin蛋白表达的影响Fig. 7 Effect of OM on expressions of  $\beta$ -catenin、c-Myc、cyclin D1 and survivin表3 各组细胞Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路蛋白的表达( $\bar{x}\pm s, n=3$ )Table 3 Expression of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway proteins in cells of each group ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量/(mmol·L <sup>-1</sup> )	$\beta$ -catenin/GAPDH	cyclin D1/GAPDH	c-Myc/GAPDH	survivin/GAPDH
对照	—	0.87±0.05	0.93±0.05	0.79±0.05	0.89±0.06
氧化苦参碱	15	0.65±0.04*	0.71±0.02*	0.51±0.06*	0.62±0.06*
	20	0.56±0.08**	0.33±0.05**	0.42±0.05**	0.44±0.03**
	25	0.25±0.04**	0.29±0.03**	0.27±0.04**	0.18±0.02**

与对照组比较: \* $P<0.05$  \*\* $P<0.01$ \* $P<0.05$  \*\* $P<0.01$  vs control group

标志之一。PARP在细胞增殖和生长过程起到至关重要的作用,如DNA修复、基因组稳定性和细胞程序性死亡。发生凋亡时,Caspase信号通路被激活,启动Caspase信号依赖的细胞内源性凋亡途径,而PARP的降解和Caspase 3的激活被认为是细胞发生凋亡的标志性事件<sup>[17-18]</sup>。此外,肿瘤和正常组织均可以不同程度的表达GSDME,而GSDME具有可诱导细胞焦亡的激活形式,这种形式是细胞死亡固有的炎症形式,对癌症的治疗和诊断有重要的意义,另有研究表明,当机体细胞高表达GSDME时,cleaved Caspase-3亦可诱导GSDME依赖的细胞焦亡<sup>[19-21]</sup>。本研究结果显示,氧化苦参碱可以显著降低HCT116细胞线粒体膜电位,促使线粒体内的Cyt-C释放,上调Bcl-2/Bax的相对表达水平,激活PARP的降解,升高cleaved PARP和cleaved Caspase蛋白水平的表达,并呈现剂量相关性,表明氧化苦参碱可通过激活PARP的降解,调节cleaved Caspase-3、cleaved Caspase-9及Bcl-2/Bax的表达,从而促进细胞凋亡。此外本研究还测定了细胞焦亡关键蛋白GSDME的表达,结果显示,氧化苦参碱可以显著升高GSDME蛋白的表达水平,且呈现剂量相关性,表明氧化苦参碱还可能通过上调cleaved Caspase-3蛋白表达促进细胞焦亡发挥抗肿瘤作用。

Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路是一种在生物进化过程中高度保守的信号系统,与组织的发育和器官形成等生物学过程密切相关,该通路的异常活化在肿瘤

及肿瘤干细胞的发生发展中起关键作用。大量研究发现肿瘤的进展与恶化常常伴随着Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的异常激活<sup>[14]</sup>, c-Myc和cyclin D1作为Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的下游效应分子,直接参与了肿瘤细胞周期、增殖调控、生长及恶化转化<sup>[22]</sup>。Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路激活后,促使 $\beta$ -catenin蛋白入核,进而促进下游靶基因c-Myc和cyclin D1的转录,最终影响细胞的增殖、凋亡和迁移<sup>[23-24]</sup>。survivin是一种凋亡抑制蛋白,具有明显的肿瘤特异性,而且表达部位相对固定,在肿瘤细胞的分化增殖及浸润转移过程中发挥着重要的作用<sup>[25-26]</sup>。本实验结果显示,氧化苦参碱可以明显抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路,降低cyclin D1蛋白和c-Myc蛋白的表达,此外,结果还显示氧化苦参碱可以明显降低survivin蛋白的表达,这些结果提示氧化苦参碱可能通过Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路,下调survivin蛋白的表达,进而影响HCT116细胞的凋亡和焦亡。

氧化苦参碱可能通过下调Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路,促进线粒体依赖的细胞内源性凋亡和细胞焦亡发挥抗肿瘤作用。但是,Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路是如何调控细胞焦亡的,还需要在未来的实验中进一步探索。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 张莹瑄,任建琳,吴杏黎,等. 散结抑癌方联合贝伐珠单抗对BALB/c裸鼠结肠癌肺转移的影响[J]. 国际消化病杂志, 2021, 41(3): 200-204, 229.  
Zhang Y X, Ren J L, Wu X L, et al. Effect of San-Jie-Yi-Ai Decoction combined with bevacizumab on lung metastasis of colon cancer in BALB/c nude mice [J]. Int J Dig Dis, 2021, 41(3): 200-204, 229.
- [2] 曾利娴,林泽龙,梁红光. 奥沙利铂联合卡培他滨术前同步放化疗治疗中晚期直肠癌的临床效果观察[J]. 中国实用医药, 2020, 15(21): 131-133.  
Zeng L X, Lin Z L, Liang H G. Clinical observation of oxaliplatin combined with capecitabine in the treatment of advanced rectal cancer [J]. China Pract Med, 2020, 15(21): 131-133.
- [3] 刘伟坤,虞荣昌,杨锐,等. 氧化苦参碱对骨肉瘤U<sub>2</sub>OS细胞增殖的抑制作用及其机制研究[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2020, 28(2): 5-10.  
Liu W K, Yu R C, Yang R, et al. Inhibitory effect of oxymatrine on the proliferation of osteosarcoma U<sub>2</sub>OS cell and its mechanism [J]. Chin J Tradit Med Traumatol Orthop, 2020, 28(2): 5-10.
- [4] 王金侠,张立,矫增金,等. 苦参碱及氧化苦参碱诱导肿瘤细胞自噬作用机制研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2021, 23(2): 155-159.  
Wang J X, Zhang L, Jiao Z J, et al. Advances in the mechanism by which matrine and oxymatrine induce autophagy in tumor cells [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med, 2021, 23(2): 155-159.
- [5] 曹建,魏润杰,邓茹芸,等. 苦参碱及氧化苦参碱抑制肿瘤作用机制研究进展及展望[J]. 中草药, 2019, 50(3): 753-760.  
Cao J, Wei R J, Deng R Y, et al. Research progress and prospect on antitumor mechanism of matrine and oxymatrine [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2019, 50(3): 753-760.
- [6] Jia F A, Sun M Y, Zhang X J, et al. Total alkaloids of *Sophora alopecuroides*-and matrine-induced reactive oxygen species impair biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis* and increase bacterial susceptibility to ciprofloxacin [J]. 2020, 12(4): 390-398.
- [7] 易默,吴友伟,张健,等. 氧化苦参碱靶向miR-520e调控AEG-1介导的结肠癌细胞的转移、侵袭活性[J]. 吉林中医药, 2022, 42(3): 328-333.  
Yi M, Wu Y W, Zhang J, et al. Effect of oxymatrine in targeting miR-520e to regulate the AEG-1-mediated metastasis and invasion of colon cancer cells [J]. Jilin J Chin Med, 2022, 42(3): 328-333.
- [8] 向永佳. 氧化苦参碱诱导人结肠癌SW620细胞周期阻滞的作用机制研究[J]. 中国药业, 2015, 24(1): 17-18.  
Xiang Y J. Study on the mechanism of oxymatrine on cell cycle arrest of human colon cancer SW620 cells [J]. China Pharm, 2015, 24(1): 17-18.
- [9] 张新星,张璐,顾清,等. 氧化苦参碱诱导人结肠癌SW480细胞凋亡的机制[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(15): 3618-3620.  
Zhang X X, Zhang L, Gu Q, et al. The apoptosis of colon cancer SW480 cells induced by oxymatrine [J]. Chin J Gerontol, 2016, 36(15): 3618-3620.
- [10] 严宝飞,刘嘉,刘圣金,等. 基于ROS/PI3K/Akt/mTOR信号通路探讨玫瑰花甲醇提取物对前列腺癌PC-3细胞凋亡的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(19): 1987-1992.  
Yan B F, Liu J, Liu S J, et al. Effects of apoptosis induced by methanolic extract of *Rosa rugosa* Thunb. in prostate cancer PC-3 cells based upon ROS/PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. Chin J Hosp Pharm, 2021, 41(19): 1987-1992.
- [11] 杜汉承,林文东,田力. 丹酚酸B对结肠癌大鼠的抗肿瘤作用及其机制[J]. 中国药物经济学, 2021, 16(6): 115-120.  
Du H C, Lin W D, Tian L. Anti-tumor effects of

- salvianolic acid B on colon cancer in rats and its mechanism [J]. *China J Pharm Econ*, 2021, 16(6): 115-120.
- [12] Otani K, Kawai K, Hata K, et al. Colon cancer with perforation [J]. *Surg Today*, 2019, 49(1): 15-20.
- [13] Angell H K, Bruni D, Barrett J C, et al. The immunoscore: Colon cancer and beyond [J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(2): 332-339.
- [14] 黄贤威, 李戈, 姚梦玮, 等. 辣椒碱通过TRPV1诱导结肠癌SW480细胞凋亡[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(17): 75-82.
- Huang X W, Li G, Yao M W, et al. Capsaicin induces apoptosis of colon cancer SW480 cells through TRPV1 [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2021, 27(17): 75-82.
- [15] Jan R, Chaudhry G E. Understanding apoptosis and apoptotic pathways targeted cancer therapeutics [J]. *Adv Pharm Bull*, 2019, 9(2): 205-218.
- [16] 周若宇, 孙曼婷, 刘静, 等. 中药有效成分在抗衰老与抗肿瘤作用机制中的研究进展[J]. *药学学报*, 2021, 56(7): 1856-1864.
- Zhou R Y, Sun M T, Liu J, et al. Research progress of effective components of traditional Chinese medicine in anti-aging and anti-tumor mechanism [J]. *Acta Pharm Sin*, 2021, 56(7): 1856-1864.
- [17] Wang W T, Zhu M Y, Xu Z X, et al. Ropivacaine promotes apoptosis of hepatocellular carcinoma cells through damaging mitochondria and activating caspase-3 activity [J]. *Biol Res*, 2019, 52(1): 36.
- [18] 张琳, 傅若秋, 段冬玉, 等. 黄杨碱诱导胶质母细胞瘤细胞T98G凋亡及其自噬的影响[J]. *中国药业*, 2021, 30(4): 25-29.
- Zhang L, Fu R Q, Duan D Y, et al. Apoptosis of T98G cells induced by cycloviobuxine D and its effect on autophagy [J]. *China Pharm*, 2021, 30(4): 25-29.
- [19] Wen S, Wang Z H, Zhang C X, et al. Caspase-3 promotes diabetic kidney disease through gasdermin E-mediated progression to secondary necrosis during apoptosis [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2020, 13: 313-323.
- [20] Wang Y B, Yin B, Li D N, et al. GSDME mediates caspase-3-dependent pyroptosis in gastric cancer [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495(1): 1418-1425.
- [21] Park S, Yoon J, Bae S, et al. Therapeutic use of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-responsive anti-oxidant polymer nanoparticles for doxorubicin-induced cardiomyopathy [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(22): 5944-5953.
- [22] 夏林, 梁毅. B细胞淋巴瘤患者Cyclin D1及Bcl-2流式细胞术检测的诊断价值[J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 26(1): 99-101.
- Xia L, Liang Y. Diagnosis of Cyclin D1 and Bcl-2 in patients with B cell lymphoma by flow cytometry [J]. *J Mod Oncol*, 2018, 26(1): 99-101.
- [23] 朱梦云, 崔双慧, 郝泽宇, 等. 姜黄素通过Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路诱导人晶状体上皮细胞的凋亡和细胞周期阻滞[J]. *南方医科大学学报*, 2021, 41(5): 722-728.
- Zhu M Y, Cui S H, Hao Z Y, et al. Curcumin induces human lens epithelial cell apoptosis and cell cycle arrest by inhibiting Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway [J]. *J South Med Univ*, 2021, 41(5): 722-728.
- [24] 张凤霞, 张建东, 单保恩, 等. Zebularine通过SFRP2/Dkk3去甲基化调控Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路诱导食管癌细胞凋亡[J]. *药学学报*, 2021, 56(5): 1384-1390.
- Zhang F X, Zhang J D, Shan B E, et al. Zebularine induces apoptosis of esophageal cancer cells via demethylation SFRP2/Dkk3 to regulate Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway [J]. *Acta Pharm Sin*, 2021, 56(5): 1384-1390.
- [25] Zhu R M, Xing F L, Zhang Q S, et al. Effects of miRNA-21 overexpression on apoptosis and expressions of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway related proteins in astrocytes from neonate rat [J]. *J Zhengzhou Univ: Med Sci*, 2018, 53(6): 73-76.
- [26] Guo Y Z, Xie X L, Fu J, et al. SOX9 regulated proliferation and apoptosis of human lung carcinoma cells by the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(15): 4898-4907.

[责任编辑 兰新新]