

黄芪多糖调控 TGF- β /Smad 信号通路及上皮间充质转化抑制结直肠癌肝转移

王炎炎^{1,3}, 杨世发¹, 孙维义², 张楠², 席作武^{3*}

1. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046

2. 河南中医药大学第一附属医院, 河南 郑州 450000

3. 河南省中医院 (河南中医药大学第二附属医院), 河南 郑州 450002

摘要: 目的 基于转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) /Smad 信号通路和上皮间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 探讨黄芪多糖 (*Astragalus polysaccharides*, APS) 抑制结直肠癌肝转移的作用及机制。方法 小鼠脾脏注射结直肠癌 MC-38 细胞建立结直肠癌肝转移模型, 造模成功后随机模型组、5-氟尿嘧啶 (5-fluorouracil, 5-FU) 组和黄芪多糖低、中、高剂量组。连续给药 21 d 后, 通过活体成像仪评估肝转移情况; 收集小鼠血清和肝脏组织, 采用苏木素-伊红 (HE) 染色考察肝脏组织病理变化, 采用 ELISA 试剂盒检测血清中白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 水平, 采用 qRT-PCR 检测肝脏组织 EMT 相关基因表达, 采用 Western blotting 检测肝脏组织 TGF- β /Smad 信号通路和 EMT 相关蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 黄芪多糖组小鼠肝脏转移灶明显减少 ($P < 0.05$), 肝脏组织结构较完整, 血清中炎症因子水平显著降低 ($P < 0.05$), 肝脏组织 TGF- β 、Smad2、Smad3、N-cadherin、Vimentin 表达显著降低 ($P < 0.05$), E-cadherin 表达显著升高 ($P < 0.05$)。**结论** 黄芪多糖通过调控 TGF- β /Smad 信号通路, 抑制炎症反应及 EMT 过程, 从而抑制结直肠癌的肝转移。

关键词: 黄芪多糖; 结肠癌肝转移; 炎症因子; 上皮间充质转化; TGF- β /Smad 信号通路

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)08-2861-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.08.021

Astragalus polysaccharides inhibit liver metastasis of colorectal cancer by regulating TGF- β /Smad signaling pathway and epithelial-mesenchymal transition

WANG Yanyan^{1,3}, YANG Shifa¹, SUN Weiyi², ZHANG Nan², XI Zuowu³

1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

2. The First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China

3. Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine (The Second Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine), Zhengzhou 450002, China

Abstract Objective To explore the effect and mechanism of *Astragalus polysaccharides* (APS) on inhibiting liver metastasis of colorectal cancer based on transforming growth factor- β (TGF- β)/Smad signaling pathway and epithelial-mesenchymal transition (EMT). **Methods** A colorectal cancer liver metastasis model was established by injecting MC-38 cells into the spleen of mice. After successful modeling, model group, 5-fluorouracil (5-FU) group, and APS low-, medium-, high-dose groups were randomly selected. After 21 d of continuous administration, liver metastasis was evaluated using a live imaging device; Serum and liver tissue were collected, the pathological changes of liver tissue was investigated using hematoxylin eosin (HE) staining, the levels of interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in serum were detected using ELISA kit, the expressions of EMT-related genes in liver tissue were detected using qRT-PCR, the expressions of TGF- β /Smad signaling pathway and EMT-related proteins in liver tissue were detected using Western blotting. **Results** Compared with model group, APS group showed a significant reduction in liver

收稿日期: 2024-12-30

基金项目: 河南省中医药科学研究专项课题 (2021JDZY026); 河南中医药大学领军人才项目 (豫卫中医函[2021]8 号); 河南省自然科学基金项目 (222300420489)

作者简介: 王炎炎, 博士研究生, 从事中西医防治肛肠疾病研究。E-mail: 651521630@qq.com

*通信作者: 席作武, 教授, 主任医师, 博士生导师, 从事中西医防治肛肠疾病研究。E-mail: xizuowu@126.com

metastases ($P < 0.05$) and a more complete liver tissue structure, levels of inflammatory factors in serum were significantly decreased ($P < 0.05$), expressions of TGF- β , Smad2, Smad3, N-cadherin and Vimentin in liver tissue were significantly decreased ($P < 0.05$), while the expression of E-cadherin was significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion** APS inhibits liver metastasis of colorectal cancer by regulating TGF- β /Smad signaling pathway, suppressing inflammatory response and EMT process.

Key words: *Astragalus* polysaccharides; colorectal cancer liver metastasis; inflammatory factors; epithelial-mesenchymal transition; TGF- β /Smad signaling pathway

结直肠癌因其高度的侵袭性和转移性,常导致患者死亡,尤其肝脏转移往往是患者预后不佳的关键转折点^[1]。结直肠癌的肝脏转移过程涉及多个环节,包括肿瘤细胞的侵袭、新血管的形成、细胞外基质的破坏以及肿瘤逃避免疫系统的监控等^[2]。肝转移的发生通常通过血液循环和淋巴系统传播,从原发肿瘤通过侵袭进入肝脏形成转移灶^[3]。在肿瘤发展的过程中,癌细胞会经历一种称为上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的生物学变化,这一变化导致它们丧失了上皮细胞的黏附特性,并获得了间充质细胞的特性,为癌细胞的移动和扩散提供了可能。EMT 在肿瘤的起始和扩散中扮演着关键角色,它增强了癌细胞的移动性和侵袭性,从而推动了肿瘤的扩散^[4-5]。同时,肿瘤转移过程中炎症介质的作用不容忽视,它们对肿瘤细胞的扩散有着显著影响,尤其是在肿瘤微环境中,炎症因子能够促进肿瘤血管生成、破坏细胞外基质并促进细胞间的迁移,从而为肿瘤细胞的侵袭提供支持。研究发现,多种炎症介质如白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-11 等是 EMT 的强效诱导剂^[6]。炎症反应与 EMT 过程密切相关,且肿瘤细胞可以通过分泌细胞因子来调节肿瘤微环境,从而增强其转移能力^[7-8]。

黄芪 *Astragali Radix* 中的主要成分黄芪多糖在免疫调节、抗癌、抗炎以及提升肿瘤药物敏感性方面均表现出了显著的效果^[9-11]。研究表明,黄芪多糖通过调节多条信号通路增强机体的免疫功能,减轻肿瘤的耐药性,并在一定程度上抑制肿瘤的生长与转移^[12-13];黄芪多糖能够有效抑制结直肠癌细胞的生长、扩散和侵袭行为,同时对于优化结直肠癌患者的免疫功能也显示出积极效果^[14-15]。尽管黄芪多糖的抗肿瘤作用在一定程度上得到了验证,但其在结直肠癌肝转移中的具体作用机制仍不明确。本研究通过构建结直肠癌小鼠肝转移模型,基于转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)/

Smad 信号通路探究黄芪多糖影响 EMT 进程的作用机制。

1 材料

1.1 细胞株与动物

小鼠结肠癌 MC-38 细胞(批号 353445)购自河北北纳生物科技有限公司。

SPF 级 C57B6L 雄性小鼠 40 只,7~8 周龄,体质量(16.41 ± 0.70)g,北京华阜康生物科技股份有限公司供应,许可证编号为 SCXK(豫)2020-0002。动物实验经河南中医药大学第一附属医院实验动物福利伦理委员会批准(批准号 YFYDW2021027)。

1.2 药品与试剂

5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU, 批号 H12620959)购自天津金耀药业有限公司;注射用黄芪多糖(国药准字 Z20040086,批号 Z20040086)购自天津赛诺制药有限公司;RPMI 1640 培养基(批号 PM150110)、胰蛋白酶(批号 T1350)购自 Biosharp 公司;二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO, 批号 D8370)、苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(批号 G1120)购自北京索莱宝科技有限公司;PBS 缓冲液(批号 PB180329)购自武汉普诺赛生命科技有限公司;胎牛血清(fetal bovine serum, FBS, 批号 SA201.02)购自赛澳美细胞技术(北京)有限公司;RIPA 组织/细胞裂解液(批号 PC101)、蛋白酶抑制剂(批号 GRF101)、BCA 蛋白定量试剂盒(批号 ZJ101)、ECL 发光液(批号 SQ201)购自 Epizyme 公司;总 RNA 提取试剂(批号 YY101)购自上海雅酶生物科技有限公司;TGF- β 1、Smad2、Smad3、E-cadherin、N-cadherin、Vimentin(批号 GB111876、GB11172、GB13518、AP0063、AP0063、LF101)购自美国 CST 公司。

1.3 仪器

SW-CJ-1FD 型超净工作台(苏净安泰空气技术有限公司);ROC-3000TVBB 型 CO₂ 恒温恒湿培养箱(美国 REVCO 公司);D3024R 型台式高速冷冻

离心机[大龙兴创实验仪器(北京)股份有限公司]; 6100 型化学发光仪(上海勤翔科学仪器有限公司); DP70 型显微镜及显微照相系统(日本 Olympus 公司); ChemiDoc M 全能成像系统(美国 Bio-Rad 公司); IVIS Lumina III 小鼠活体成像仪(上海珀金埃尔默企业管理有限公司)。

2 方法

2.1 细胞培养

MC-38 细胞用含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养基, 于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养。

2.2 结直肠癌肝转移小鼠模型的建立、分组与给药

小鼠 ip 5% 戊巴比妥钠麻醉, 备毛, 消毒脾脏区域的皮肤, 在左上腹部肋缘下做 0.5~1 mm 的斜切口, 逐步进入腹腔以暴露脾脏, 镊子夹住脾脏下端, 将其拉出腹腔外。将 100 μL MC-38 细胞 (2 × 10⁷ 个) 缓慢注射进脾脏内^[6], 注射时针头与脾脏平行且略微向上倾斜, 深度约为 3 mm。注射完成后, 对注射点施加压力 5 min, 以防止出血和细胞外溢。操作完成后, 轻柔地将脾脏归位至腹腔内, 并进行分层缝合。缝合结束后, 对缝合部位进行二次碘伏消毒。造模后, 将小鼠放回笼中, 并密切监视其饮食、精神状态和活动能力等状况。

造模 1 周后采用活体成像仪评价小鼠造模情况, 将造模成功的小鼠随机分为模型组、5-FU (10 mg/kg) 组和黄芪多糖低、中、高剂量 (50、100、250 mg/kg) 组, 每组 8 只。各给药组 ip 相应药物 (20 mL/kg), 模型组 ip 等体积生理盐水, 1 次/d, 连续给药 21 d。每 4 天称定小鼠体质量并记录。

2.3 小鼠活体成像的检测

末次给药结束后, 采用活体成像仪对小鼠进行荧光成像检测。小鼠于麻醉状态放置在活体成像仪的成像平台上, 使肝脏区域处于成像视野内。使用活体成像仪的荧光成像模式, 设置激发波长和发射波长以检测荧光信号, 并调整曝光时间和增益以获得清晰的成像结果, 记录成像过程中荧光信号的分布和强度。使用成像软件对荧光信号进行定量分析, 计算每个小鼠肝脏区域的荧光信号覆盖面积 (ROI 值), 并对各实验组的 ROI 值进行统计分析, 比较不同组之间的差异。

2.4 血清中 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 水平的测定

末次给药结束后, 小鼠 ip 5% 戊巴比妥钠麻醉, 腹主动脉采血, 静置 30 min 后, 低温 3 000 r/min 离心 10 min (离心半径 10 cm), 分离血清。按照 ELISA

试剂盒说明书检测血清 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 水平。

2.5 HE 染色检测小鼠肝脏组织病理变化

取各组小鼠肝脏组织, 于多聚甲醛中固定, 石蜡包埋后切片 (4 μm), 脱蜡至水, 进行 HE 染色, 于显微镜下观察并拍照。

2.6 qRT-PCR 检测小鼠肝脏组织 E-cadherin、N-cadherin、Vimentin mRNA 表达

取各组小鼠肝脏组织, 按照试剂盒说明书提取总 RNA 并合成 cDNA, 进行 qRT-PCR 分析。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	引物序列 (5'-3')	产物大小/bp
<i>E-cadherin</i>	F: CCTCGTCCCGTAGACAAAATG R: TGAGGTCAATGAAGGGGTCGT	133
<i>N-cadherin</i>	F: ACTCCGCCAGTGGTGAAGAG R: CAAGCTCATCTAACCCTCCTG	164
<i>Vimentin</i>	F: GGAATGCAGCCGTGGAAGCTT R: TTGCAGCCTGGTGGGATCTT	181
<i>GAPDH</i>	F: TAATGGTGGACCGCAACAAC R: ACATGTTGCTCCACTTGTAT	171

2.7 Western blotting 检测小鼠肝脏组织 TGF-β/Smad 信号通路及 EMT 相关蛋白表达

取各组小鼠肝脏组织, 切成小块, 加入裂解液提取总蛋白, 采用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 封闭后加入相应抗体, 4 °C 孵育过夜; TBST 洗膜 3 次, 加入二抗, 室温孵育 1 h, TBST 洗膜 3 次, 加入 ECL 发光液显影, 利用 Image J 软件进行定量分析。

2.8 统计学分析

采用 SPSS 26.0 软件进行数据处理, 定量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。符合正态分布采用 LSD 法进行分析, 不符合正态分布采用 Dunnett's T3 法分析。

3 结果

3.1 黄芪多糖对结直肠癌肝转移模型小鼠一般情况及体质量的影响

实验过程中, 模型组和 5-FU 组各有 1 只小鼠死亡。随着给药时间的延长, 模型组小鼠活动、进食量和饮水量大幅减少, 毛发无光泽, 出现脱毛现象, 同时伴有大量腹水积聚, 体质量逐渐升高 (图 1); 5-FU 组小鼠活动降低, 进食量和饮水量略有下降, 毛发光泽度降低, 偶尔出现脱毛现象, 腹水积聚量较少, 体质量明显降低; 黄芪多糖低、中剂量

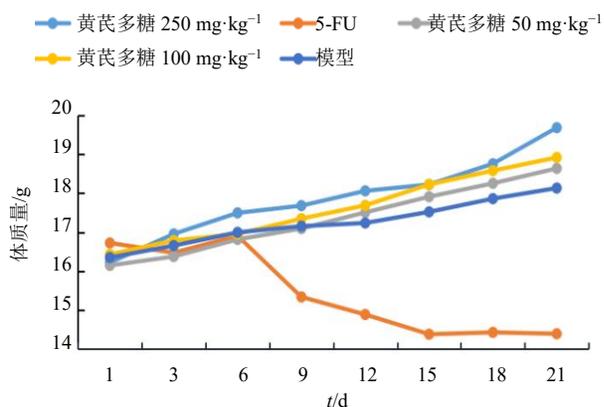
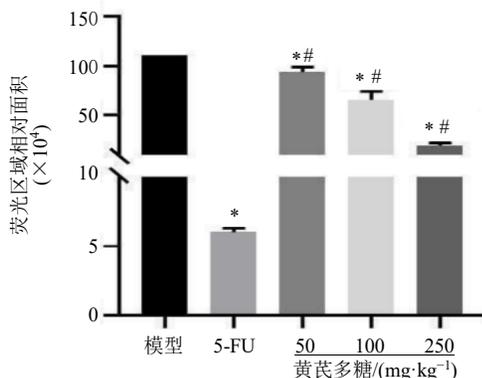
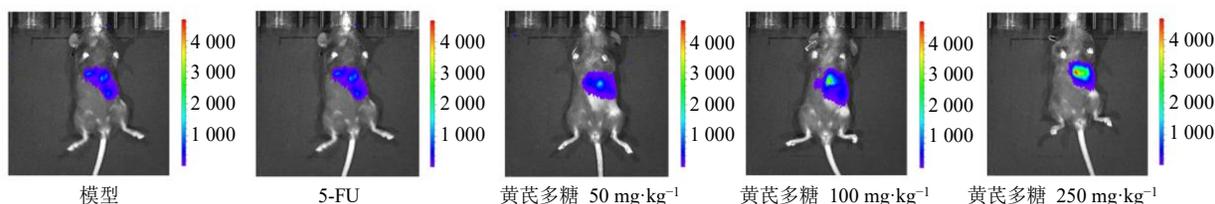


图 1 各组小鼠体质量变化 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 1 Changes in body weight of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)



与模型组比较: * $P < 0.05$; 与 5-FU 组比较: # $P < 0.05$, 图 4 同。

* $P < 0.05$ vs model group; # $P < 0.05$ vs 5-FU group, same as Fig. 4.

图 2 各组小鼠活体成像结果 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 2 Live imaging results of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

见大量灰白结节, 与模型组相比结节相对较小; 黄芪多糖高剂量组和 5-FU 组小鼠肝脏表面光滑且规则, 结构完整。对肝脏组织进行 HE 染色, 结果见图 3, 模型组小鼠肿瘤细胞排列紧密, 异性性显著, 出现巨核和异形核; 黄芪多糖低剂量组肿瘤细胞排列稍稀疏, 但异形性仍较为明显; 黄芪多糖中剂量组肿瘤细胞分布较为松散, 细胞核的染色较为浅淡, 核分裂现象有所降低; 黄芪多糖高剂量组和 5-FU 组小鼠肝脏组织结构较为完好, 肝细胞排列呈现出较好的秩序, 可见少量形态异常的细胞。

组小鼠活动和进食量减少, 毛发暗淡, 有少量毛发脱落, 存在大量腹水, 体质量逐渐升高; 黄芪多糖高剂量组小鼠活动正常, 进食量和饮水量稳定, 毛发有色泽, 仅有轻微的腹水积聚, 体质量逐渐升高。

3.2 各组小鼠活体成像结果

如图 2 所示, 给药 21 d 后, 各给药组小鼠荧光成像 ROI 值显著低于模型组 ($P < 0.05$), 其中 5-FU 组 ROI 值最低。

3.3 黄芪多糖对结直肠癌肝转移模型小鼠肝脏组织病理变化的影响

对肝脏组织进行观察, 模型组小鼠肝脏表面出现较多较大的灰白色肝转移结节, 肝脏结构模糊, 难以分辨; 黄芪多糖低、中剂量组小鼠肝脏区域可

3.4 黄芪多糖对结直肠癌肝转移模型小鼠血清中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平的影响

如表 2 所示, 与模型组比较, 各给药组小鼠血清中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平均显著降低 ($P < 0.05$); 与 5-FU 组比较, 黄芪多糖高剂量组 IL-1 β 和 IL-6 水平显著降低 ($P < 0.05$)。

3.5 黄芪多糖对结直肠癌肝转移模型小鼠肝脏组织 E-cadherin、N-cadherin、Vimentin mRNA 表达的影响

如表 3 所示, 与模型组比较, 各给药组小鼠肝

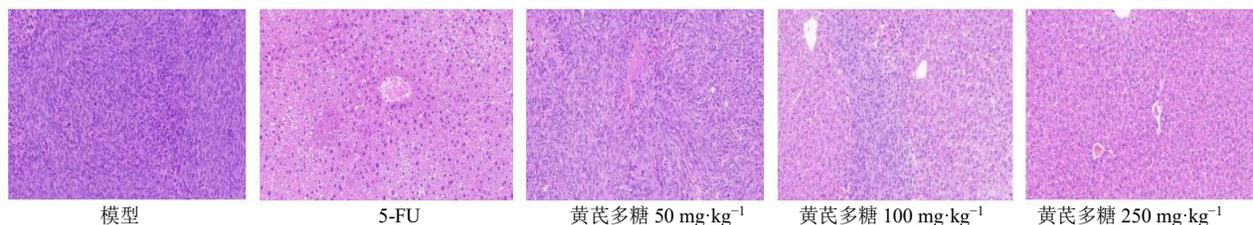


图3 各组小鼠肝脏组织 HE 染色结果 (×200)

Fig. 3 HE staining results of liver tissues in each group of mice (× 200)

表2 黄芪多糖对结直肠癌肝转移模型小鼠血清中 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 水平的影响 (x̄ ± s)

Table 2 Effect of *Astragalus* polysaccharides on levels of TNF-α, IL-1β and IL-6 in serum of mice with colorectal cancer liver metastasis model (x̄ ± s)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	n/只	TNF-α/(pg·mL ⁻¹)	IL-1β/(pg·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)
模型	—	7	244.81 ± 10.69	115.43 ± 15.92	165.30 ± 10.15
5-FU	10	7	100.84 ± 7.49*	65.28 ± 14.37*	79.53 ± 5.71*
黄芪多糖	50	8	162.95 ± 12.68*	86.23 ± 6.47*	111.30 ± 11.53*
	100	8	135.62 ± 14.05*	65.67 ± 6.02*	83.28 ± 9.83*
	250	8	85.09 ± 20.58*	38.81 ± 6.95*#	53.21 ± 8.09*#

与模型组比较: *P<0.05; 与 5-FU 组比较: #P<0.05, 表 3 同。

*P<0.05 vs model group; #P<0.05 vs 5-FU group, same as table 3.

表3 黄芪多糖对结直肠癌肝转移模型小鼠肝脏组织 E-cadherin、N-cadherin、Vimentin mRNA 表达的影响 (x̄ ± s)

Table 3 Effect of *Astragalus* polysaccharides on mRNA expressions of E-cadherin, N-cadherin and Vimentin in liver tissue of mice with colorectal cancer liver metastasis model (x̄ ± s)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	n/只	mRNA 相对表达量		
			E-cadherin	N-cadherin	Vimentin
模型	—	7	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
5-FU	10	7	3.18 ± 0.14*	0.36 ± 0.05*	0.49 ± 0.02*
黄芪多糖	50	8	1.41 ± 0.06*#	0.85 ± 0.03*#	0.72 ± 0.03*#
	100	8	2.08 ± 0.12*#	0.69 ± 0.03*#	0.69 ± 0.02*#
	250	8	2.84 ± 0.08*#	0.43 ± 0.02*	0.52 ± 0.04*

脏组织 E-cadherin mRNA 表达水平显著升高 (P<0.05), N-cadherin 和 Vimentin mRNA 表达水平显著降低 (P<0.05); 与 5-FU 组比较, 黄芪多糖各剂量组 E-cadherin mRNA 表达水平显著降低 (P<0.05), 黄芪多糖低、中剂量组 N-cadherin 和 Vimentin mRNA 表达水平显著升高 (P<0.05)。

3.6 黄芪多糖对结直肠癌肝转移模型小鼠肝脏组织中 TGF-β/Smad 信号通路及 EMT 相关蛋白表达的影响

如图 4 所示, 与模型组比较, 各给药组小鼠肝脏组织 E-cadherin 蛋白表达水平显著升高 (P<0.05), TGF-β、Smad2、Smad3、N-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达水平均显著降低 (P<0.05); 与 5-FU 组比较, 黄芪多糖各剂量组 E-cadherin 蛋白表达水平显著降低 (P<0.05), N-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达水平均显著升高 (P<0.05)。表明黄芪多

糖通过调控 TGF-β/Smad 信号通路来抑制 EMT, 从而降低小鼠结直肠癌向肝脏转移的风险。

4 讨论

结直肠癌是消化系统中最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率和死亡率均居高不下, 对全球公共卫生构成挑战^[17]。结直肠癌患者的死亡率高, 很大程度上是因为肝脏转移, 肝脏是结直肠癌最常见的转移部位^[18]。统计显示, 50%结直肠癌患者在病程中会发生肝脏转移^[19], 而在初次诊断时 20%~25%的患者已存在肝转移, 即使在原发肿瘤被切除后, 仍有 15%~25%的患者会出现新的肝脏转移^[20]。手术切除是目前唯一可能治愈结直肠癌肝转移的方法, 但由于许多患者在确诊时已经不符合手术切除的指征, 治疗结直肠癌的肝脏转移面临着重大挑战^[18]。根据《中国结直肠癌肝转移诊断和综合治疗指南 (2023 版)》^[19], 未接受治疗的肝转移患者预期生存

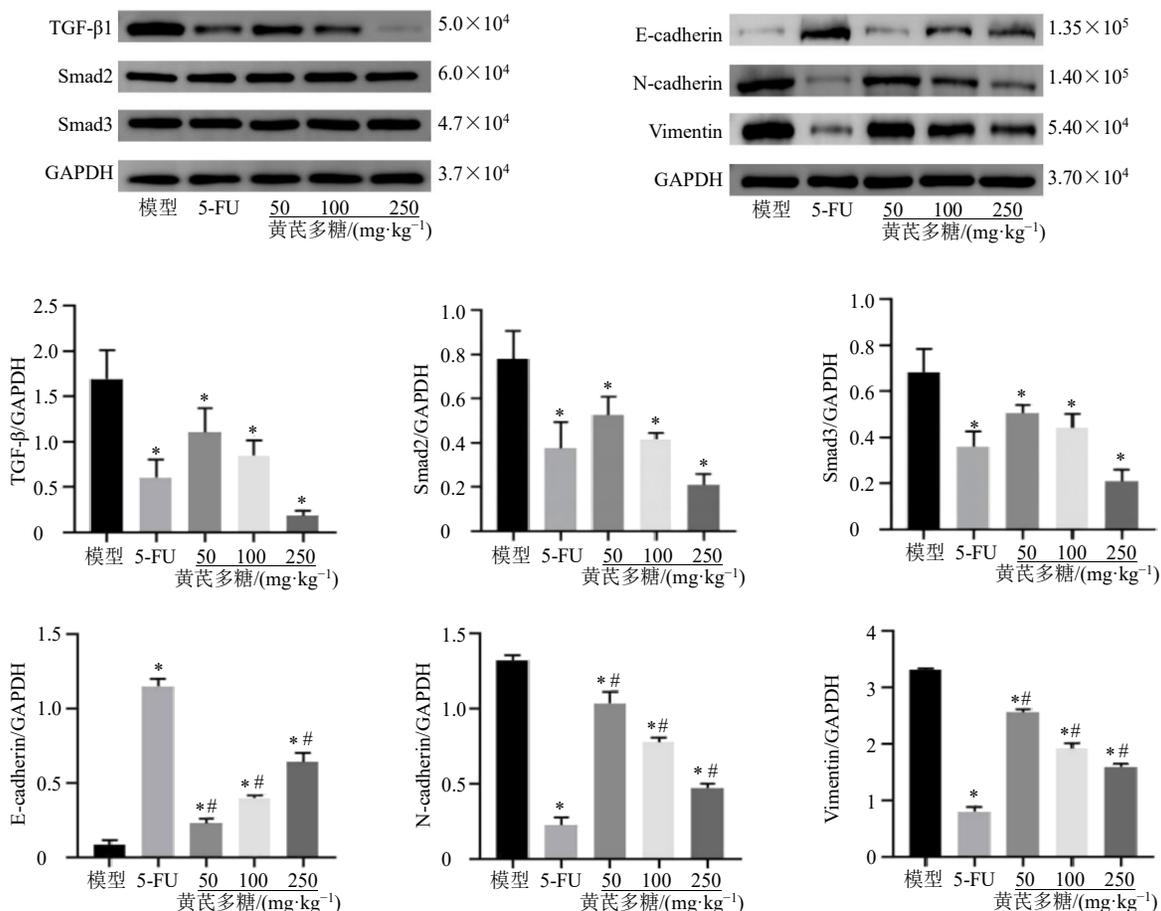


图 4 黄芪多糖对结直肠癌肝转移模型小鼠肝脏组织中 TGF-β/Smad 信号通路及 EMT 相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)
 Fig. 4 Effect of *Astragalus* polysaccharides on expressions of TGF-β/Smad signaling pathway and EMT related proteins in liver tissue of mice with colorectal cancer liver metastasis model ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

时间仅为 6.9 个月，而能够完全切除或达到无病状态的患者，预期生存时间可延长至 35 个月，5 年生存率为 30%~57%。因此，控制结直肠癌向肝脏的转移对于提升患者的生存率至关重要。

结直肠癌中肝脏转移涉及多个环节，癌细胞通过血液和淋巴系统从原发肿瘤部位扩散至肝脏，而 EMT 是此过程中癌细胞侵袭和转移的核心环节^[21]。EMT 使癌细胞失去了上皮细胞的特性，转而获得类似间充质细胞的移动能力，有助于癌细胞的侵袭、扩散以及逃避免疫系统的监控^[22]。目前，EMT 的启动涉及众多信号传导路径，TGF-β/Smad 信号传导路径被认为是调控 EMT 的关键路径之一。TGF-β 在肿瘤微环境中发挥着重要作用，不仅参与炎症反应，还通过激活 Smad 家族蛋白来调控肿瘤细胞的 EMT 过程，促进肿瘤的侵袭与转移^[21,23]。黄芪多糖作为黄芪的关键活性成分，具有抗肿瘤、免疫激活和抗炎等多重生物活性^[24-26]。研究发现，黄芪多糖

具有抗结直肠癌的作用，能够抑制肿瘤细胞生长、促进细胞死亡、遏制肿瘤扩散^[24]。但黄芪多糖在结直肠癌肝脏转移中的具体作用机制尚不清晰。

在 EMT 过程中，上皮性标志物 E-cadherin 的表达降低，间充质标志物 N-cadherin 和 Vimentin 的表达升高。E-cadherin 表达的下调使肿瘤细胞间的黏附力减弱，进而促进肿瘤细胞向远处扩散；N-cadherin 表达的上调推动肿瘤细胞的侵袭和远处转移，Vimentin 表达的上调使肿瘤上皮细胞向间质细胞转化，从而获得间质细胞的运动能力使肿瘤细胞向远处转移^[27-28]。本研究结果显示，黄芪多糖能够上调 E-cadherin 表达，并下调 N-cadherin 和 Vimentin 表达，表明黄芪多糖对结直肠癌肝转移的抑制作用可能与其调控 EMT 的能力有着直接的联系。

TGF-β 参与细胞的增殖分化，能够调节免疫及肿瘤微环境^[29]。Smad 蛋白家族在 TGF-β 信号传导中扮演着关键的信号转导和效应蛋白角色，它们共

同构成了 TGF- β /Smad 信号网络, 不仅能调控正常细胞的生理活动, 在肿瘤细胞的生长、分化、死亡以及扩散等方面发挥着关键作用^[30]。此外, TGF- β /Smad 信号网络还能调节炎症因子的表达, 进而影响肿瘤的生长和扩散。本研究发现, 黄芪多糖显著抑制 TGF- β 1 及其下游信号蛋白 Smad2 和 Smad3 的表达。表明黄芪多糖通过调节 TGF- β /Smad 信号通路, 抑制 TGF- β 1、Smad2、Smad3 核心蛋白的活性, 从而抑制 EMT 的启动, 减弱了癌细胞的侵袭性和转移能力。

肿瘤扩散是一个复杂的过程, 炎症标志物不仅促进肿瘤血管生成, 还能引起细胞外基质的解构和组织重建, 从而促进肿瘤细胞的增殖和扩散^[6]。既往有研究指出, 炎症标志物能够通过激活核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 和信号转导和转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 信号通路, 促进 EMT 的发生^[31]。本研究结果显示, 黄芪多糖组小鼠血清中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平显著降低, 提示黄芪多糖可能通过抑制肿瘤周围环境中的炎症反应抑制 EMT 的发展, 从而限制结直肠癌的生长和转移。

综上, 本研究发现黄芪多糖能够通过抑制 TGF- β /Smad 信号途径的激活, 阻止结直肠癌细胞的 EMT, 从而抑制结直肠癌向肝脏的转移。本研究主要基于小鼠模型, 未来有必要开展更多细胞实验及临床试验, 进一步明确黄芪多糖在人体结直肠癌防治中的效果与机制, 为临床应用提供更充分的科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 冯子夜, 李松岩, 滕达, 等. 结直肠癌肝转移患者的临床表现及预后关联因素研究 [J]. 解放军医学院学报, 2023, 44(4): 333-338.
- [2] Zhou H, Liu Z T, Wang Y X, *et al.* Colorectal liver metastasis: Molecular mechanism and interventional therapy [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 70.
- [3] 黄翌楚, 姜雷. 结直肠癌肝转移与肿瘤微环境关系的研究进展 [J]. 肿瘤, 2024, 44(3): 241-251.
- [4] Yang S, Zhang D S, Sun Q Y, *et al.* Single-cell and spatial transcriptome profiling identifies the transcription factor BHLHE40 as a driver of EMT in metastatic colorectal cancer [J]. *Cancer Res*, 2024, 84(13): 2202-2217.
- [5] Bakir B, Chiarella A M, Pitarresi J R, *et al.* EMT, MET, plasticity, and tumor metastasis [J]. *Trends Cell Biol*, 2020, 30(10): 764-776.
- [6] Hibino S, Kawazoe T, Kasahara H, *et al.* Inflammation-induced tumorigenesis and metastasis [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11): 5421.
- [7] Jang J H, Kim D H, Surh Y J. Dynamic roles of inflammasomes in inflammatory tumor microenvironment [J]. *NPJ Precis Oncol*, 2021, 5(1): 18.
- [8] Karki R, Kanneganti T D. Diverging inflammasome signals in tumorigenesis and potential targeting [J]. *Nat Rev Cancer*, 2019, 19(4): 197-214.
- [9] 徐世一, 刘秀波, 陆佳欣, 等. 黄芪活性成分抗肿瘤作用机制的研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(23): 7613-7623.
- [10] 杨伟, 秦娟. 黄芪多糖在肿瘤治疗中的作用机制研究进展 [J]. 临床医学进展, 2021(11): 5353-5357.
- [11] 王祯, 张俊令, 焦宏基, 等. 黄芪有效成分的药理作用与质量控制研究进展 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(4): 917-924.
- [12] 杨乾方, 王帆, 叶婷, 等. 黄芪多糖提取工艺、化学结构及药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(12): 4069-4081.
- [13] 彭雅琼, 向辉, 冯振源, 等. 黄芪多糖通过 MEK/ERK 通路调控食管癌细胞生物学行为 [J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(19): 4759-4763.
- [14] 赵媛媛, 张楠, 孙维义, 等. 黄芪多糖对裸鼠结直肠癌移植瘤的抑制作用 [J]. 郑州大学学报: 医学版, 2021, 56(3): 375-379.
- [15] 招志辉, 丘振文, 招远明. 黄芪多糖通过调控 miR-20a/TGFBR2 分子轴降低结直肠癌 HT-29/DDP 细胞的顺铂耐药性 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2019, 26(4): 417-425.
- [16] 文字, 张子建, 颜世超, 等. 理想小鼠结直肠癌肝转移模型的建立及研究进展 [J]. 中国普通外科杂志, 2019, 28(4): 484-490.
- [17] 郭兰伟, 张兴龙, 蔡林, 等. 全球结直肠癌流行和防控现状 [J]. 中华肿瘤杂志, 2024, 46(1): 57-65.
- [18] 张宜利, 李巍. 结直肠癌肝转移转化治疗进展 [J]. 腹部外科, 2021, 34(4): 322-326.
- [19] 中国医师协会外科医师分会, 中华医学会外科分会胃肠外科学组, 中华医学会外科分会结直肠外科学组, 等. 中国结直肠癌肝转移诊断和综合治疗指南 (2023 版) [J]. 中国普通外科杂志, 2023, 32(1): 1-29.
- [20] 朱德祥, 任黎, 许剑民. 中国结直肠癌肝转移诊断和综合治疗指南 (2023 版) [J]. 中国实用外科杂志, 2023, 43(1): 9-22.
- [21] Zhang Y X, Yang Y M, Qi X, *et al.* SLC14A1 and TGF- β signaling: A feedback loop driving EMT and colorectal cancer metachronous liver metastasis [J]. *J Exp Clin*

- Cancer Res*, 2024, 43(1): 208.
- [22] Shin A E, Giaccotti F G, Rustgi A K. Metastatic colorectal cancer: Mechanisms and emerging therapeutics [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2023, 44(4): 222-236.
- [23] Lee J H, Massagué J. TGF- β in developmental and fibrogenic EMTs [J]. *Semin Cancer Biol*, 2022, 86(Pt 2): 136-145.
- [24] Li Q Y, Zhang C H, Xu G C, *et al.* Astragalus polysaccharide ameliorates CD8⁺ T cell dysfunction through STAT3/Gal-3/LAG3 pathway in inflammation-induced colorectal cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 171: 116172.
- [25] He L H, Xu K C, Niu L Z, *et al.* Astragalus polysaccharide (APS) attenuated PD-L1-mediated immunosuppression via the miR-133a-3p/MSN axis in HCC [J]. *Pharm Biol*, 2022, 60(1): 1710-1720.
- [26] Zhang Q F, Su C Z, Luo Y N, *et al.* Astragalus polysaccharide enhances antitumoral effects of chimeric antigen receptor- engineered (CAR) T cells by increasing CD122⁺CXCR3⁺PD-1⁻ memory T cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 179: 117401.
- [27] Huang Y H, Hong W Q, Wei X W. The molecular mechanisms and therapeutic strategies of EMT in tumor progression and metastasis [J]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 129.
- [28] Loh C Y, Chai J Y, Tang T F, *et al.* The E-cadherin and N-cadherin switch in epithelial-to-mesenchymal transition: Signaling, therapeutic implications, and challenges [J]. *Cells*, 2019, 8(10): 1118.
- [29] 马钧. 转化生长因子 β 在肿瘤微环境中的作用及其靶向药物研究进展 [J]. *国际生物制品学杂志*, 2023, 46(2): 103-108.
- [30] Gamage C D B, Kim J H, Zhou R, *et al.* Plectalibertellenone A suppresses colorectal cancer cell motility and glucose metabolism by targeting TGF- β /Smad and Wnt pathways [J]. *Biofactors*, 2025, 51(1): e2120.
- [31] Florescu D N, Boldeanu M V, Şerban R E, *et al.* Correlation of the pro-inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, and TNF- α , inflammatory markers, and tumor markers with the diagnosis and prognosis of colorectal cancer [J]. *Life*, 2023, 13(12): 2261.

[责任编辑 李亚楠]