

蔓荆子黄素通过调控肠道菌群介导的补体凝血级联通路改善炎症相关性结直肠癌作用

曹 景¹, 陈 洋², 郭新志¹, 孙 梧¹, 陈澳琳¹, 王晓芬¹, 李凤琴³, 罗 平^{1*}, 王 芳^{1*}

1. 江西中医药大学 癌症研究中心, 江西 南昌 330004

2. 赣江中药创新中心, 江西 南昌 330100

3. 江西中医药大学, 江西 南昌 330004

摘要: **目的** 探讨蔓荆子黄素改善炎症相关性结直肠癌 (colitis-associated colorectal cancer, CAC) 的药效作用及作用机制。**方法** 建立氧化偶氮甲烷 (azoxymethane, AOM) /葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium, DSS) 诱导的 CAC 小鼠模型, 给予蔓荆子黄素干预。通过比较体质量变化、疾病活动指数、结肠肿瘤负荷、荷瘤生存率、脏器指数、病理学改变及血清肝功能指标, 分别评价蔓荆子黄素的药效与安全性作用; 采用 16S rRNA 测序分析肠道菌群结构变化; 运用蛋白质组学技术筛选差异表达蛋白及关键信号通路; 采用 Western blotting 验证关键蛋白表达; 基于 TCGA 数据库进行 Kaplan-Meier 生存分析评估靶基因预后价值, 并通过分子对接技术预测蔓荆子黄素与靶蛋白的结合模式; 通过关联分析揭示肠道菌群与宿主靶点之间的相互作用关系。**结果** 与模型组比较, 蔓荆子黄素显著缓解 CAC 小鼠体质量下降, 改善肠道炎症反应, 降低结肠肿瘤体积与肿瘤负荷 ($P < 0.05$), 提高荷瘤小鼠生存率。安全性评价显示, 各给药组小鼠血清肝功能指标及主要脏器组织形态未见明显毒性改变。16S rRNA 测序显示, 蔓荆子黄素有效逆转 CAC 诱导的肠道菌群失衡, 显著下调促癌相关菌门梭杆菌门 Fusobacteriota 和包氏菌门 Patesbacteria 的相对丰度, 同时富集产短链脂肪酸 Lachnospiraceae_NK4A136_group 和 Prevotellaceae_UCG-001 抗炎菌属。蛋白质组学分析锁定补体凝血级联通路为核心响应通路, 其中微环境重塑相关分子丝氨酸蛋白酶抑制因子 1 (serine protease inhibitor 1, Serpine1) 和免疫识别受体整合素 α M (integrin α M, Itgam) 的表达呈现剂量相关性回调。Western blotting 验证显示, 与模型组比较, 蔓荆子黄素组小鼠结肠组织 Itgam 和 Serpine1 蛋白表达显著下调 ($P < 0.01$ 、 0.001), 与蛋白质组学趋势一致。联合分析进一步揭示, Lachnospiraceae_NK4A136_group 等有益菌丰度与微环境重塑分子 Serpine1 表达呈显著负相关, 而 Fusobacteriota 等促癌菌丰度与免疫识别受体 Itgam 表达呈显著正相关。**结论** 蔓荆子黄素可通过重塑肠道菌群结构, 调控补体凝血级联通路的关键分子响应补体凝血级联通路的关键分子响应, 进而协同阻断 CAC 炎癌转化进程。

关键词: 蔓荆子黄素; 炎症相关性结直肠癌; 肠道菌群; 蛋白质组学; 补体凝血级联通路; Itgam; Serpine1

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)15-5915-16

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.15.012

Casticin improves colitis-associated colorectal cancer by regulating gut microbiota-mediated complement and coagulation cascades

CAO Jing¹, CHEN Yang², GUO Xinzhì¹, SUN Wu¹, CHEN Aolin¹, WANG Xiaofen¹, LI Fengqin³, LUO Ping¹, WANG Fang¹

1. Research Center for Cancer, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

2. Ganjiang Chinese Medicine Innovation Center, Nanchang 330100, China

3. Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

Abstract: **Objective** To investigate the pharmacodynamic effect and mechanism of casticin on improving colitis-associated colorectal cancer (CAC). **Methods** A CAC mouse model was established using azoxymethane (AOM)/dextran sulfate sodium

收稿日期: 2026-03-11

基金项目: 江西省重点研发计划重点项目 (2023QGZDSYS003); 江西省自然科学基金会项目 (20232BAB216095, 20252BAC240492); 江西省研究生创新专项基金项目 (YC2025-S718); 江西中医药大学本科生创新创业计划 (S202510412104)

作者简介: 曹 景, 硕士研究生, 从事中药药理作用机制研究。E-mail: caoj0315@163.com

***通信作者:** 王 芳, 教授, 博士生导师, 从事中药炮制机制与应用研究。E-mail: wangfang@jxutcm.edu.cn

罗 平, 副教授, 硕士生导师, 从事中药炮制学的机制研究。E-mail: Luoping1018@jxutcm.edu.cn

(DSS) induction, followed by intervention with casticin. Therapeutic efficacy and safety of casticin were evaluated by comparing body weight changes, disease activity index, colonic tumor burden, tumor-bearing survival rates, organ indices, pathological alterations and serum liver function indicators. Intestinal microbiota structural alterations were analyzed using 16S rRNA sequencing. Differentially expressed proteins and key signaling pathways were screened through proteomic techniques. Western blotting was performed to validate key protein expressions. Kaplan-Meier survival analysis based on TCGA database was conducted to evaluate the prognostic value of target genes, and molecular docking was employed to predict the binding modes between casticin and target proteins. The interaction between gut microbiota and host targets was revealed through correlation analysis. **Results** Compared with model group, casticin significantly alleviated body weight loss in CAC mice, improved intestinal inflammatory responses, reduced colonic tumor volume and tumor burden ($P < 0.05$), and improved survival rates of tumor-bearing mice. Safety evaluation showed no significant abnormalities in serum liver indicators and histomorphology of major organs in all treatment groups. 16S rRNA sequencing demonstrated that casticin effectively reversed CAC-induced intestinal dysbiosis, significantly downregulated the relative abundance of pro-carcinogenic phyla Fusobacteriota and Patesbacteria, while enriched the anti-inflammatory genera Lachnospiraceae_NK4A136_group and Prevotellaceae_UCG-001 that produce short-chain fatty acids. Proteomic analysis identified the complement and coagulation cascade pathway as the core responsive pathway, with dose-dependent restoration of microenvironment remodeling-related molecule serine protease inhibitor 1 (Serpine1) and immune recognition receptor integrin alpha M (Itgam) expression. Western blotting validation demonstrated that compared with model group, the protein expression levels of Itgam and Serpine1 in colonic tissues were significantly downregulated in casticin group ($P < 0.01, 0.001$), consistent with the proteomic trend analysis. Integrated analysis further revealed that the abundance of beneficial bacteria such as Lachnospiraceae_NK4A136_group was significantly negatively correlated with the expression of microenvironment remodeling molecule Serpine1, while the abundance of pro-carcinogenic bacteria such as Fusobacteriota was significantly positively correlated with the expression of immune recognition receptor Itgam. **Conclusion** Casticin can reshape the intestinal microbiota structure, regulate key molecular responses in the complement and coagulation cascade pathway, thereby synergistically blocking the inflammatory-carcinogenic transformation process of CAC.

Key words: casticin; colitis-associated colorectal cancer; gut microbiota; proteomics; complement and coagulation cascades; Itgam; Serpine1

结直肠癌是全球范围内发病率和死亡率均位居前列的恶性肿瘤,其中 15%~20%的病例与慢性炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)密切相关,称为炎症相关性结直肠癌(colitis-associated colorectal cancer, CAC)^[1]。与散发性结直肠癌不同, CAC 遵循“炎症-异型增生-癌变”的独特病理进程,长期慢性肠道炎症导致的微环境失衡、氧化应激及肠道菌群紊乱是其发生发展的关键驱动因素^[2-3]。目前临床针对 CAC 的治疗仍以抗炎药物及手术切除为主,但存在疗效有限、不良反应多、无法阻断癌变进程等局限,因此从天然产物中发掘高效低毒的防治药物具有重要意义。

黄酮类化合物作为中药重要的活性物质基础,具有来源广泛、多靶点、相对安全等突出优势,是开发 CAC 等复杂疾病防治药物的理想来源^[4]。蔓荆子黄素是从马鞭草科植物单叶蔓荆 *Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham.或蔓荆 *V. trifolia* L.干燥成熟果实中提取的黄酮类单体成分,现代药理学研究证实其具有抗炎、抗血管生成和抗肿瘤等多种活性,

契合 CAC 多环节干预的治疗需求。蔓荆子黄素能够破坏肌苷-5'-单磷酸脱氢酶 2 (inosine 5'-monophosphate dehydrogenase 2, IMPDH2)和 c-Myc 之间的相互作用来促进泛素化降解并降低 c-Myc 水平,从而抑制结直肠癌恶性进展^[5];亦可通过下调巨噬细胞中蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)/核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B)通路,抑制促炎趋化细胞因子的产生,显著改善葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)诱导的小鼠溃疡性结肠炎症状^[6];此外,还能诱导 G₂/M 期阻滞、自噬体形成,从而诱导人前列腺癌 PC-3 细胞和人骨肉瘤 MG63 细胞凋亡^[7-8]。然而,蔓荆子黄素对 CAC 的干预效果及其作用机制,特别是其对“炎症-菌群”轴的调控作用,尚未见系统报道。

补体凝血级联通路是连接先天免疫、炎症反应与组织修复的关键网络,在肿瘤微环境重塑及炎症转化过程中扮演重要角色^[9]。近年研究表明,该通路不仅通过调控吞噬和膜攻击复合物直接参与免疫监视,其活化片段 C3a、C5a 还能调控髓源抑制

细胞募集及血管生成,进而影响肿瘤发生发展^[10]。肠道菌群与补体通路之间存在双向调控关系:一方面,有益菌代谢产物如短链脂肪酸可通过调节补体成分表达影响通路活性^[11];另一方面,致病菌及其毒素亦可直接激活补体系统^[12]。这种“菌群-补体”互动模式为 CAC 的干预提供了潜在靶点,靶向该轴的药物研发或将为 CAC 防治开辟新途径。本研究基于肠道菌群与宿主免疫协同调控肿瘤发生的研究背景,采用氧化偶氮甲烷(azoxymethane, AOM)/DSS 联合诱导的 CAC 小鼠模型,系统评价蔓荆子黄素对 CAC 发生发展的干预效应,整合 16S rRNA 测序技术与蛋白质组学,从多维度关联分析中阐明其调控肠道菌群及补体凝血级联通路的潜在机制,旨在为黄酮类中药单体防治 CAC 提供实验依据,并为中药活性成分的现代化研究提供新思路。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠 28 只,4~5 周龄,体质量(23±2)g,购自江苏集萃药康生物科技股份有限公司,动物生产许可证号 SCXK(苏)2023-0009。动物在温度 22~25℃、相对湿度 40%~70%的环境中饲养,自由进食饮水。动物实验经江西中医药大学动物实验伦理委员会批准(批准号 JZLLSC20250618)。

1.2 药品与试剂

AOM(批号 A5486)购自美国 Sigma 公司;DSS(批号 YD05012)购自美国 MP Biomedicals 公司;蔓荆子黄素(质量分数 98%,批号 25041603)购自成都普菲德生物科技有限公司;4%多聚甲醛固定液(批号 24319739)购自北京兰杰柯科技有限公司;苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)高清恒染试剂盒(批号 2512E015)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)试剂盒(批号 20250909)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)试剂盒(批号 20251020)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)试剂盒(批号 20251128)、RIPA 强裂解液(批号 CR2411174)、HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗(批号 10278302I537H)、GAPDH 抗体(批号 GB15004)购自武汉赛维尔生物科技有限公司;正丁醇(批号 100052190)、丙酮(批号 10000418)、中性树胶(批号 10004160)购自国药集团化学试剂有限公司;二甲苯(批号 10023418)购自上海凌峰化学试剂有限

公司;BCA 蛋白浓度测定试剂盒(批号 HR20250529M)购自福建荷瑞生物科技有限公司;整合素 α M(integrin α M, Itgam)抗体(批号 DF2911)购自美国 Affinity 公司;丝氨酸蛋白酶抑制因子 1(serine protease inhibitor 1, Serpine1)抗体(批号 23010535)购自武汉三鹰生物技术有限公司。

1.3 仪器

Tims TOF HT 质谱仪、Nanoelute 液相系统(美国 Bruker 公司);Astral 质谱仪、Vanquish neo 液相系统、Q Exactive plus 质谱仪、Orbitrap Fusion 质谱仪、Easy-nLC 1200 型液相系统、NanoDrop2000 型紫外分光光度计(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);Agilent 1200 型高 pH 分离液相色谱仪(美国 Agilent 公司);JXFSTPRP-CLN-48 型多功能冷冻研磨仪(上海净信实业发展有限公司);NovaSeq 6000 型测序仪、MiSeq 测序仪(美国 Illumina 公司);ChemiDoc XRS+成像系统(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 动物分组、CAC 模型构建与给药

C57BL/6 小鼠适应性饲养 1 周后,随机分为对照组、模型组和蔓荆子黄素低、高剂量(20、40 mg/kg)组,每组 7 只。除对照组外,其余小鼠单次 ip 12.5 mg/kg AOM,给予纯净水喂养 1 周后,更换为 2.5% DSS 水溶液自由饮用 5 d,随后饮用纯净水 14 d,以(5±14) d 为 1 个周期重复造模 3 个周期。对照组小鼠单次 ip 生理盐水,并全程饮用纯净水。在第 1 轮 DSS 饮用时,各给药组小鼠 ig 相应药物,对照组和模型组 ig 含 2%聚山梨酯-80 的生理盐水,1 次/d,连续给药 78 d。

2.2 小鼠状态和疾病活动指数(disease activity index, DAI)评估

实验期间,每日观察并记录小鼠体质量变化、大便形状及便血情况,依据疾病活动指数(disease activity index, DAI)评分标准^[13]进行量化评估。

DAI 评分=(体质量下降分数+粪便性状分数+便血分数)/3

2.3 标本采集与处理

实验终点时,小鼠禁食不禁水 12 h。将小鼠置于诱导盒中,采用异氟烷吸入麻醉(诱导体积分数 4%,维持体积分数 1.5%)。待小鼠麻醉后,首先经眼眶后静脉丛采血 0.8~1.0 mL,收集于 1.5 mL 无抗凝离心管中。随后通过颈椎脱臼法处死小鼠,解剖分离结直肠(自盲端至肛门)及主要脏器(心、肝、脾、肺、肾),并计算脏器指数。将结直肠沿纵

轴剪开,用预冷生理盐水漂洗内容物,平铺于白色背景板上,观察大体形态并拍照,记录结直肠长度、肿瘤数量、直径大小及分布位置,计算成瘤率、肿瘤体积和肿瘤负荷^[14]。取部分结直肠组织和主要脏器组织置于 4%多聚甲醛中固定,用于后续病理学检测;剩余组织及血清样本冻存于-80℃备用。

脏器指数=脏器质量/小鼠体质量

成瘤率=肿瘤数量大于 0 的小鼠数量/小鼠总数

肿瘤体积=0.5×长径×宽径²

肿瘤负荷=结肠中肿瘤组织最长直径的总和

2.4 结直肠组织和主要脏器病理学检测

取部分结直肠组织和主要脏器置于 4%多聚甲醛中固定 24 h,经梯度乙醇脱水、二甲苯透明,常规石蜡包埋。将蜡块切成 4~5 μm 薄片,贴附于载玻片,进行 HE 染色,最后用中性树胶封片,于光学显微镜下观察并拍照。

2.5 血清生化指标分析

采集的血液样本于室温静置 30 min,待血液完全凝固后,4℃、3 000 r/min 离心 15 min,分离上层血清,按照试剂盒说明书检测血清中 ALT、AST 及 ALP 活性。

2.6 粪便样本 16S rRNA 基因测序

于末次给药后 1 h,收集各组小鼠新鲜粪便样本,液氮速冻后置于-80℃冰箱保存,委托上海欧易生物医学科技有限公司进行 16S rRNA 基因测序。提取样本总 DNA 后,采用引物对细菌 16S rRNA 基因的 V3~V4 高变区进行 PCR 扩增。上游引物序列为 343F: 5'-TACGGRAGGCAGCAG-3',下游引物序列为 798R: 5'-AGGGTATCTAATCCT-3'。PCR 产物经纯化、定量和均质化后,构建测序文库。文库经质量控制合格后,采用 Illumina NovaSeq 6000 平台进行双端测序(PE250)。

2.7 结肠组织蛋白质组学分析

各组随机选取 3 只小鼠,取远端结肠组织,液氮速冻后置于-80℃冰箱保存,委托上海欧易生物医学科技有限公司进行蛋白质组学检测。组织样本经研磨裂解提取总蛋白,采用 BCA 法测定蛋白浓度。蛋白样品经二硫苏糖醇还原和碘乙酰胺烷基化处理后,用胰蛋白酶酶解为肽段。肽段经脱盐、冻干后,采用液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)进行分离鉴定。所得质谱数据通过相应数据库检索,并进行生物信息学分析,以|差异倍数(fold change, FC)|≥1.5 和 P<0.05 为标准筛选差异表达蛋白。

进一步采用 2 种互补的生物信息学策略挖掘核心靶点:①通过两组别差异蛋白交集分析,识别药物干预后能够逆转模型异常的蛋白,并对其富集的共同通路进行解析;②基于蛋白表达随剂量的变化趋势,采用短时间序列表达挖掘器(short time-series expression miner, STEM)趋势分析识别与药效呈剂量相关性的表达模块。对交集差异蛋白及趋势显著蛋白进行京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析,筛选关键信号通路。针对核心通路中的关键蛋白,进一步进行蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络分析,并通过拓扑学参数识别网络枢纽节点。同时,采用 Spearman 相关性分析评估差异菌群与关键蛋白表达之间的关联,揭示“菌群-宿主”互作关系。

2.8 Western blotting 检测结肠组织 Itgam 和 Serpin1 蛋白表达

取各组小鼠的远端结肠组织,使用含 PMSF、蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液提取总蛋白,采用 BCA 法测定蛋白浓度。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,加入 5%脱脂牛奶于室温封闭 2 h 后,分别加入一抗(1:1 000),4℃孵育过夜。TBST 洗涤后,加入 HRP 标记的二抗(1:10 000),室温孵育 1 h。采用 ECL 化学发光法显影和拍照,并使用 Image J 软件对条带灰度值进行定量分析。

2.9 生物信息学验证

基于蛋白质组学筛选的候选蛋白,采用生物信息学手段评估其临床预后价值及与蔓荆子黄素的结合潜能。从 TCGA 数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)下载结直肠癌转录组及临床数据,以目标基因表达中位值为界分为高、低表达组,通过 Kaplan-Meier 法和 Log-rank 检验分析总生存期差异。从 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)获取蔓荆子黄素结构(CID: 5315263),经 ChemBio3D 能量最小化;从 PDB 数据库(<https://www.rcsb.org/>)获取靶蛋白晶体结构,经 PyMOL 预处理后,采用 AutoDock Vina 软件进行半柔性对接,以结合能评价亲和力,并通过 PyMOL 可视化互作模式。

2.10 统计学分析

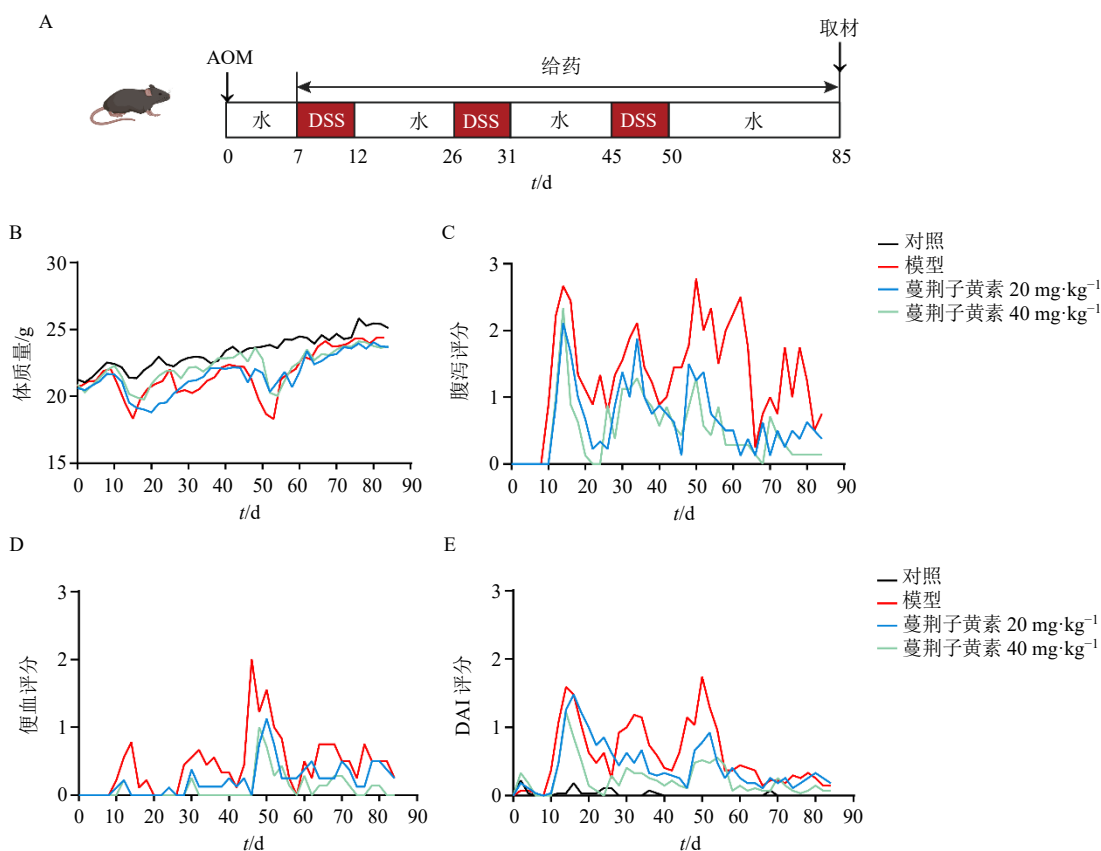
使用 GraphPad Prism 9.5.1 软件进行统计分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 Tukey's 多重比较(t 检验),多组间比较采用单因素方差分析检验。

3 结果

3.1 蔓荆子黄素减轻 CAC 模型小鼠体质量下降及肠道炎症活动度

采用 AOM/DSS 诱导的 CAC 模型 (图 1-A) 动态监测各组小鼠体质量及 DAI 评分变化, 以评价蔓荆子黄素的干预效果。如图 1-B 所示, 实验期间对照组小鼠体质量呈稳步增长趋势, 模型组小鼠自第 1 周期 DSS 饮用起即出现体质量下降, 第 2 周期 DSS 处理期间下降幅度相对较小, 第 3 周期 DSS 处理期间体质量下降更为明显, 3 次 DSS 循环结束后体质量较初始值降低约 18%。与模型组相比, 蔓荆子黄素高剂量组自第 1 周期 DSS 处理期间即表现出对体质量的保护作用, 并在后续第 2、3 周期 DSS 处理期间显著减缓体质量下降趋势; 蔓荆子黄素低剂量组自第 2 周期起亦显示出一定保护效果。如图 1-C 所示, 模型组小鼠在 DSS 处理期间出现明显的腹泻症状且随周期推移反复发作, 各给药组腹泻程

度均较模型组有所减轻, 高剂量组改善效果尤为明显。如图 1-D 所示, 模型组小鼠在 DSS 处理期间出现明显的便血症状, 便血程度随 DSS 处理周期推进逐渐加重, 并于第 3 周期 DSS 处理期间达到较高水平; 各给药组便血程度均较模型组呈下降趋势, 且高剂量组改善效果优于低剂量组。如图 1-E 所示, 模型组 DAI 评分随 DSS 处理周期推进总体呈波动性升高趋势, 其中第 1 周期 DSS 处理后 DAI 评分明显升高, 第 2 周期 DSS 处理期间再次升高但升高幅度较第 1 周期有所减小, 提示模型小鼠对重复 DSS 刺激的急性炎症反应可能存在阶段性波动, 至第 3 周期 DSS 处理期间, DAI 评分进一步升高并维持在较高水平, 提示慢性复发性结肠炎及癌前病变逐渐形成。各给药组 DAI 评分均较模型组呈下降趋势, 且高剂量组改善效果优于低剂量组。上述结果表明, 蔓荆子黄素可显著缓解 AOM/DSS 诱导的 CAC 小鼠体质量下降, 并改善 DAI 评分。



A-实验流程示意图; B-各组小鼠体质量变化曲线; C-各组小鼠腹泻评分变化曲线; D-各组小鼠便血评分变化曲线; E-各组小鼠 DAI 评分变化曲线。

A-schematic diagram of experimental process; B-body weight change curves of mice in each group; C-curve of diarrhea score changes of mice in each group; D-curve of changes in rectal blood scores of mice in each group; E-changes in DAI scores of mice in each group.

图 1 蔓荆子黄素对 CAC 模型小鼠体质量及 DAI 评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Fig. 1 Effect of casticin on body weight and DAI score of CAC model mice ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

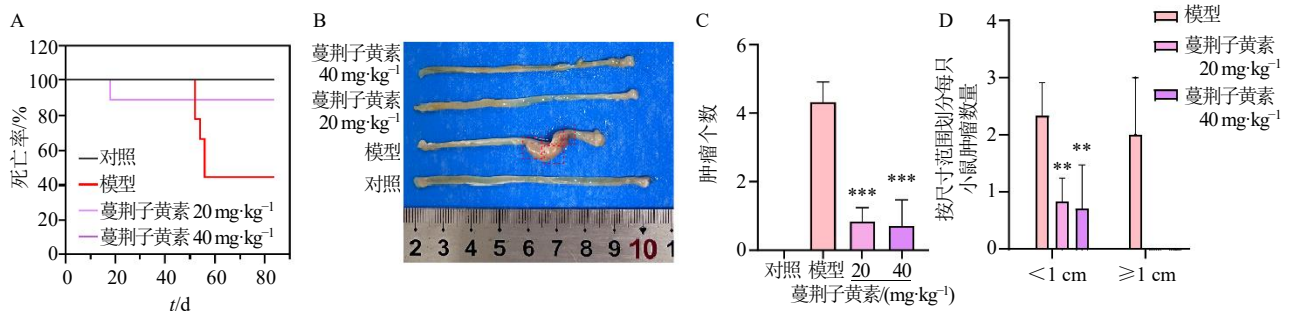
3.2 蔓荆子黄素显著降低 CAC 模型小鼠死亡率及结肠肿瘤形成

采用 AOM/DSS 联合诱导建立 CAC 小鼠模型, 通过生存分析、结肠成瘤情况及肿瘤负荷评价蔓荆子黄素的干预效应。生存分析如图 2-A 所示, 模型组小鼠于实验第 50 天左右开始出现死亡, 至第 80 天累积死亡率约为 60%; 与模型组相比, 蔓荆子黄素高剂量组小鼠累积死亡率为 10%, 提示蔓荆子黄素可显著改善荷瘤小鼠的总体生存状况。结肠大体成瘤情况及肿瘤负荷如图 2-B 所示, 对照组结肠黏膜光滑完整, 未见明显肿瘤形成, 成瘤率为 0; 模型组小鼠结肠可见多发肿瘤结节, 结肠长度显著缩短至 $(7.33 \pm 0.96) \text{ cm}$ ($P < 0.05$), 成瘤率达 100%, 平均肿瘤体积为 $(0.17 \pm 0.12) \text{ cm}^3$, 肿瘤负荷为 $(1.53 \pm 1.05) \text{ cm}$ 。与模型组比较, 蔓荆子黄素干预组小鼠结肠肿瘤形成受到明显抑制, 低、高剂量组成瘤率分别降至 85.7% (6/7) 和 57.1% (4/7); 低、高剂量组平均肿瘤体积均显著缩小, 分别降至 $(0.02 \pm$

$0.01)$ 、 $(0.03 \pm 0.02) \text{ cm}^3$ ($P < 0.05$), 肿瘤负荷亦显著降低至 (0.45 ± 0.19) 、 $(0.50 \pm 0.22) \text{ cm}$ ($P < 0.05$); 高剂量组结肠长度恢复至 $(8.03 \pm 0.92) \text{ cm}$, 与模型组相比有所改善但无统计学差异, 低剂量组结肠长度为 $(7.37 \pm 0.53) \text{ cm}$, 变化不显著。此外, 与模型组比较, 各给药组肿瘤数量显著减少 ($P < 0.001$, 图 2-C)。进一步按肿瘤大小进行分层分析, 如图 2-D 所示, 模型组中可见一定数量直径 $\geq 1 \text{ cm}$ 的大肿瘤, 而低、高剂量组中则未见此类大肿瘤形成; 同时, 给药组中直径 $< 1 \text{ cm}$ 的小肿瘤数量也明显少于模型组 ($P < 0.01$)。上述结果表明, 蔓荆子黄素可有效抑制 AOM/DSS 诱导的 CAC 小鼠结肠肿瘤生长, 减少结肠肿瘤的发生数量, 显著降低肿瘤负荷及死亡率, 改善荷瘤小鼠生存状况。

3.3 蔓荆子黄素有效改善 CAC 模型小鼠结肠组织病理学改变

如图 3 所示, 对照组结肠组织结构完整, 黏膜层上皮细胞排列整齐, 隐窝结构规则, 杯状细胞丰



A-各组小鼠生存曲线; B-各组小鼠结肠组织代表性图片; C-各组小鼠结肠肿瘤数量统计; D-各组小鼠按肿瘤大小 (<1 cm 和 ≥1 cm) 划分的肿瘤数量分布; 与模型组比较: ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

A-survival curves of mice in each group; B-representative images of colonic tissues of mice in each group; C-statistical analysis of colonic tumor number of mice in each group; D-distribution of tumor number classified by tumor size (<1 cm and ≥1 cm) of mice in each group; ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group.

图2 各组小鼠结肠肿瘤发生情况及生存曲线 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 2 Colon tumor incidence and survival curve of mice in each group ($\bar{x} \pm s$)

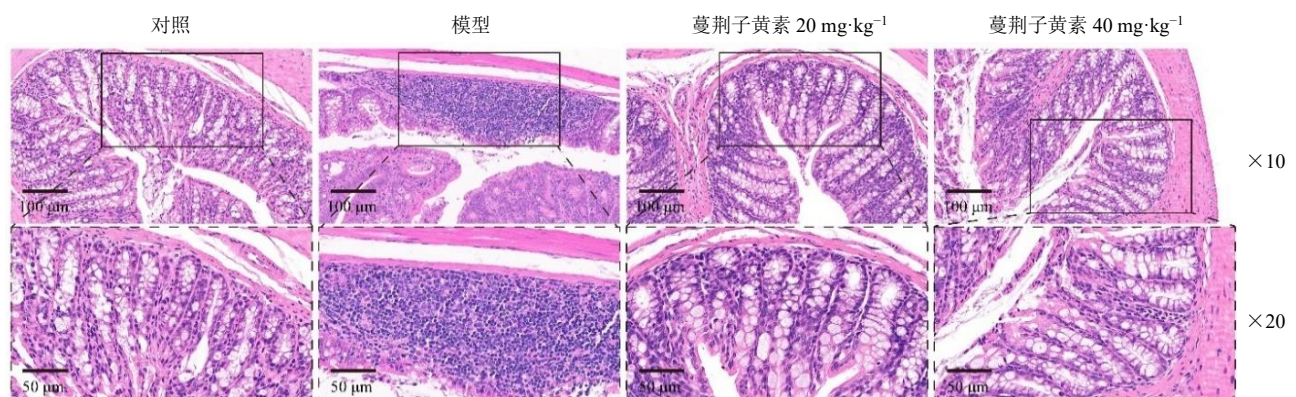


图3 蔓荆子黄素对 CAC 模型小鼠结肠组织病理变化的影响 (HE 染色)

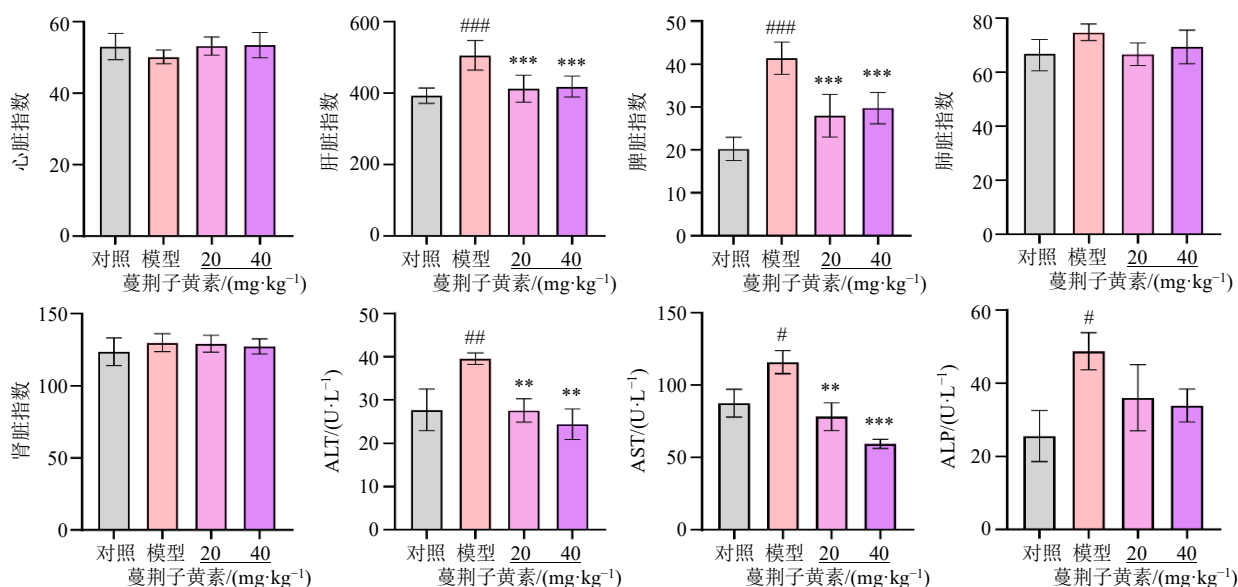
Fig. 3 Effect of casticin on histopathological changes in colonic tissue of CAC model mice (HE staining)

富,未见明显炎症细胞浸润。模型组结肠组织则呈现明显病理损伤,黏膜层上皮细胞脱落、坏死,隐窝结构破坏、分支或消失,杯状细胞数量显著减少,黏膜下层及固有层可见大量炎症细胞浸润,部分区域可见腺瘤样增生及异型性改变,提示慢性炎症伴癌前病变形成。与模型组比较,蔓荆子黄素低剂量组结肠病理损伤有所减轻,黏膜层结构部分保留,隐窝结构较规则,炎症细胞浸润减少;蔓荆子黄素高剂量组改善更为显著,黏膜层上皮细胞排列较整齐,隐窝结构基本恢复,杯状细胞数量增多,炎症细胞浸润明显减少,未见明显腺瘤样增生。上述结果表明蔓荆子黄素可减轻 AOM/DSS 诱导的结肠组织病理损伤,改善黏膜屏障结构,抑制炎症反应及癌前病变进展。

3.4 蔓荆子黄素对 CAC 模型小鼠主要脏器及肝功能的影响

实验终点称量心、肝、脾、肺、肾质量并计算脏器指数,结果如图 4 所示,与对照组比较,模型组小鼠肝脏指数和脾脏指数显著升高 ($P<0.001$),提示 AOM/DSS 诱导的慢性炎症状态引起了肝脾代偿性增大^[15-16];与模型组比较,蔓荆子黄素低、高剂量组肝脏指数和脾脏指数均显著降低 ($P<0.001$)。各组心脏指数、肺脏指数及肾脏指数均无统计学差异。

鉴于药物肝毒性评价是安全性研究的重要内容,通过检测血清 ALT(反映肝细胞损伤)、AST(反映肝细胞线粒体损伤或坏死程度)、ALP(反映胆汁淤积及胆管上皮细胞功能状态)并结合主要脏器 HE 染色,初步评价蔓荆子黄素的安全性。血清肝功能指标检测结果(图 4)显示,与对照组比较,模型组小鼠血清中 ALT、AST 和 ALP 活性显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01);与模型组比较,蔓荆子黄素低、高剂量组小鼠血清中 ALT 和 AST 活性显著降低 ($P<0.01$ 、 0.001),ALP 活性呈降低趋势。提示 AOM/DSS 诱导的慢性炎症可能伴随轻度胆汁淤积,而蔓荆子黄素干预后呈下降趋势,提示药物未加重胆汁淤积性损伤。进一步采用 HE 染色观察各组小鼠心、肝、脾、肺、肾组织形态。如图 5 所示,模型组汇管区可见少量炎细胞浸润,肝血窦略显扩张,脾脏白髓淋巴小结略增大、细胞密集,肾脏肾小管上皮细胞可见明显空泡;而低、高剂量蔓荆子黄素干预后均可不同程度减轻上述病理损伤。此外,心、肺组织未见明显异常,提示蔓荆子黄素对其影响较小。以上结果表明,在本研究剂量范围内,蔓荆子黄素长期给药未对 CAC 小鼠主要脏器产生明显毒性作用;对于模型组中观察到的肝、脾、肾轻度组织学改变,蔓荆子黄素亦未加重,且呈现出一定的缓解趋势,提示其具有良好的安全性特征。



与对照组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$ ### $P<0.001$;与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$.
$P<0.05$ ## $P<0.01$ ### $P<0.001$ vs control group; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs model group.

图 4 各组小鼠脏器指数及血清肝功能指标水平 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 4 Organ indexes and serum liver function indicators levels of mice in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

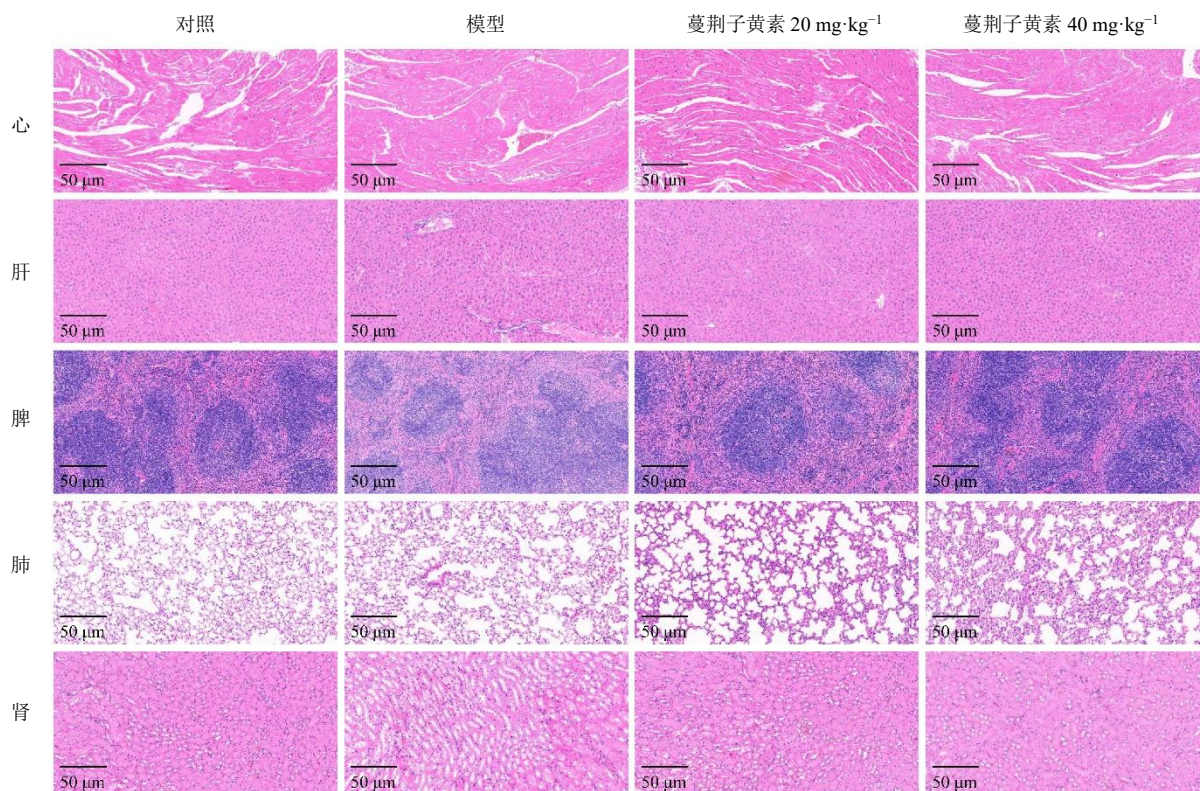


图 5 各组小鼠主要脏器组织病理变化 (HE, ×20)

Fig. 5 Histopathological changes of major organs of mice in each group (HE, ×20)

3.5 蔓荆子黄素重塑 CAC 模型小鼠肠道菌群结构

为评估蔓荆子黄素对 CAC 模型小鼠肠道菌群结构的影响, 收集各组小鼠粪便进行 16S rRNA 基因测序分析。如图 6-A 所示, 对照组、模型组、蔓荆子黄素低剂量组和蔓荆子黄素高剂量组 24 个样本的 Observes Feature 稀释性曲线均趋于平缓, 表明测序深度达到饱和, 能够准确反映样本中的真实物种丰富度。对操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU) 分析发现 4 组共有 274 个 OTU, 而对照组、模型组、蔓荆子黄素低剂量组和蔓荆子黄素高剂量组独有 OTU 分别为 740、642、490 和 576 个 (图 6-B)。如图 6-C 所示, 模型组 Chao1 指数较对照组略升高, 而蔓荆子黄素干预后 Chao1 指数显著降低 ($P < 0.05$), 提示蔓荆子黄素通过抑制特定致病菌而非简单增加多样性来优化菌群结构。主坐标分析 (principal co-ordinates analysis, PCoA) 显示, 模型组菌群结构与对照组明显分离, 高剂量组则部分恢复 ($P = 0.001$, 图 6-D)。

如图 6-E~H 所示, 在门水平上, 模型组脱铁杆菌门 *Deferribacterota*、梭杆菌门 *Fusobacteriota* 和包氏菌门 *Patesbacteria* 等促癌菌门丰度升高, 蔓荆

子黄素干预后促癌菌门丰度降低。如图 6-I~L 所示, 在属水平上, 模型组产短链脂肪酸的有益菌属 *Lachnospiraceae_NK4A136_group* 和 *Prevotellaceae_UCG-001* 丰度降低, 而促炎菌属拟杆菌属 *Bacteroides* 丰度升高, 蔓荆子黄素干预后能够逆转上述趋势。LEfSe 分析进一步确认, 模型组中显著富集的菌群主要为拟杆菌属及拟杆菌科, 而高剂量组则以 *Prevotellaceae_UCG-001*、*Lachnospiraceae_NK4A136_group* 等产短链脂肪酸菌为标志性差异菌群 (图 7)。以上结果表明蔓荆子黄素可通过抑制促癌菌并富集有益菌的双向调控作用, 有效改善 CAC 小鼠肠道微生态失衡。

3.6 蛋白质组学筛选揭示补体凝血级联通路为蔓荆子黄素抗 CAC 的关键调控通路

16S rRNA 测序结果显示, 蔓荆子黄素可显著重塑 CAC 小鼠肠道菌群结构, 而菌群与宿主之间的交互作用往往通过调控宿主蛋白表达实现。为进一步探究菌群变化下游的宿主分子响应机制, 对对照组、模型组、蔓荆子黄素低剂量组和蔓荆子黄素高剂量组小鼠结肠组织进行蛋白质组学分析。主成分分析 (principal components analysis, PCA) 结果

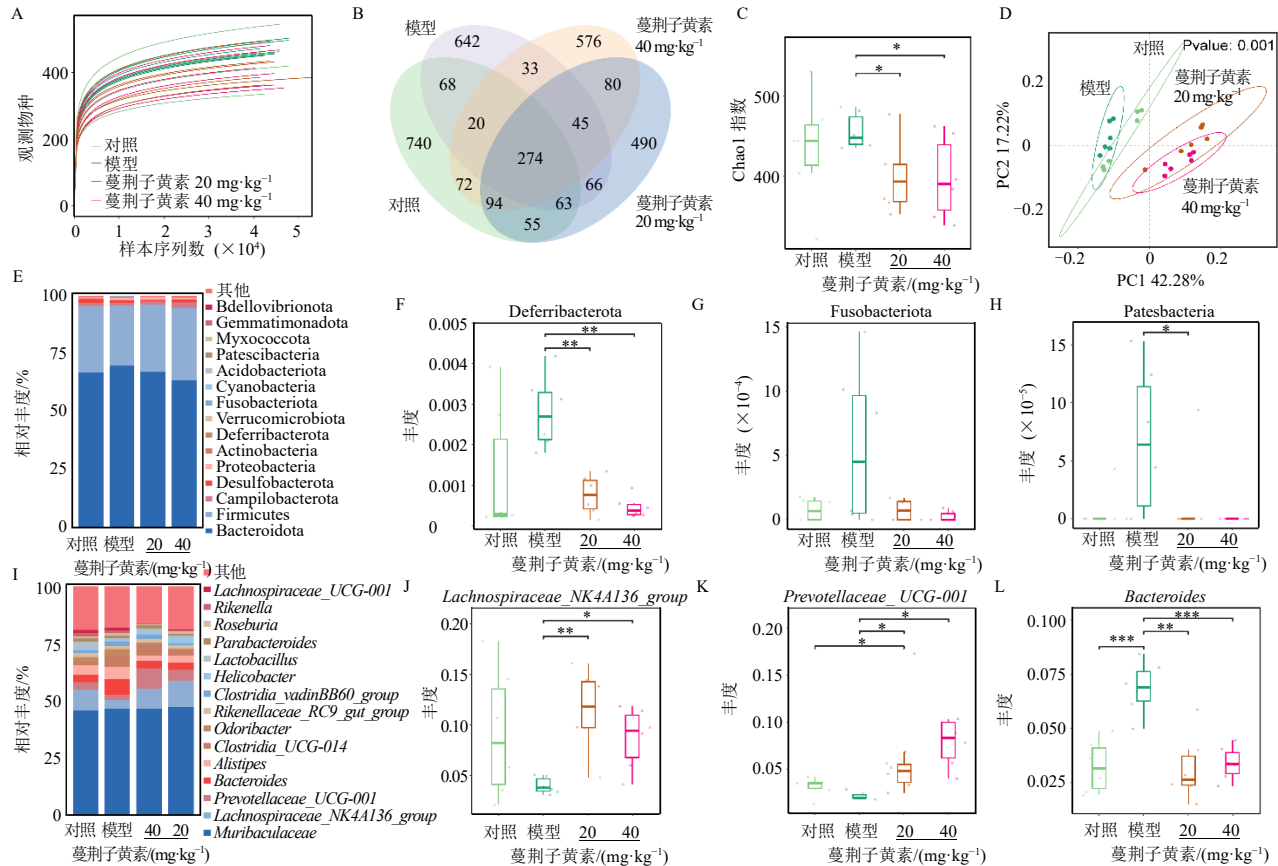
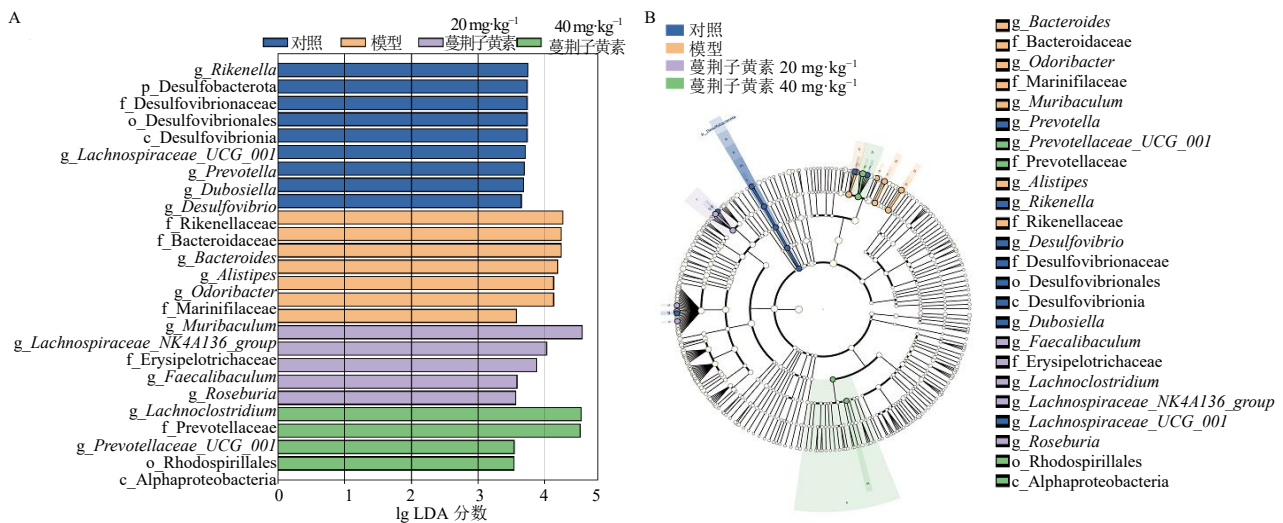


图6 各组小鼠肠道菌群 16S rRNA 测序分析结果 (n = 6)

Fig. 6 16S rRNA sequencing analysis of gut microbiota in mice of each group (n = 6)



A-LDA 评分柱状图; B-进化分支图。

A-bar plot of LDA scores; B-cladogram.

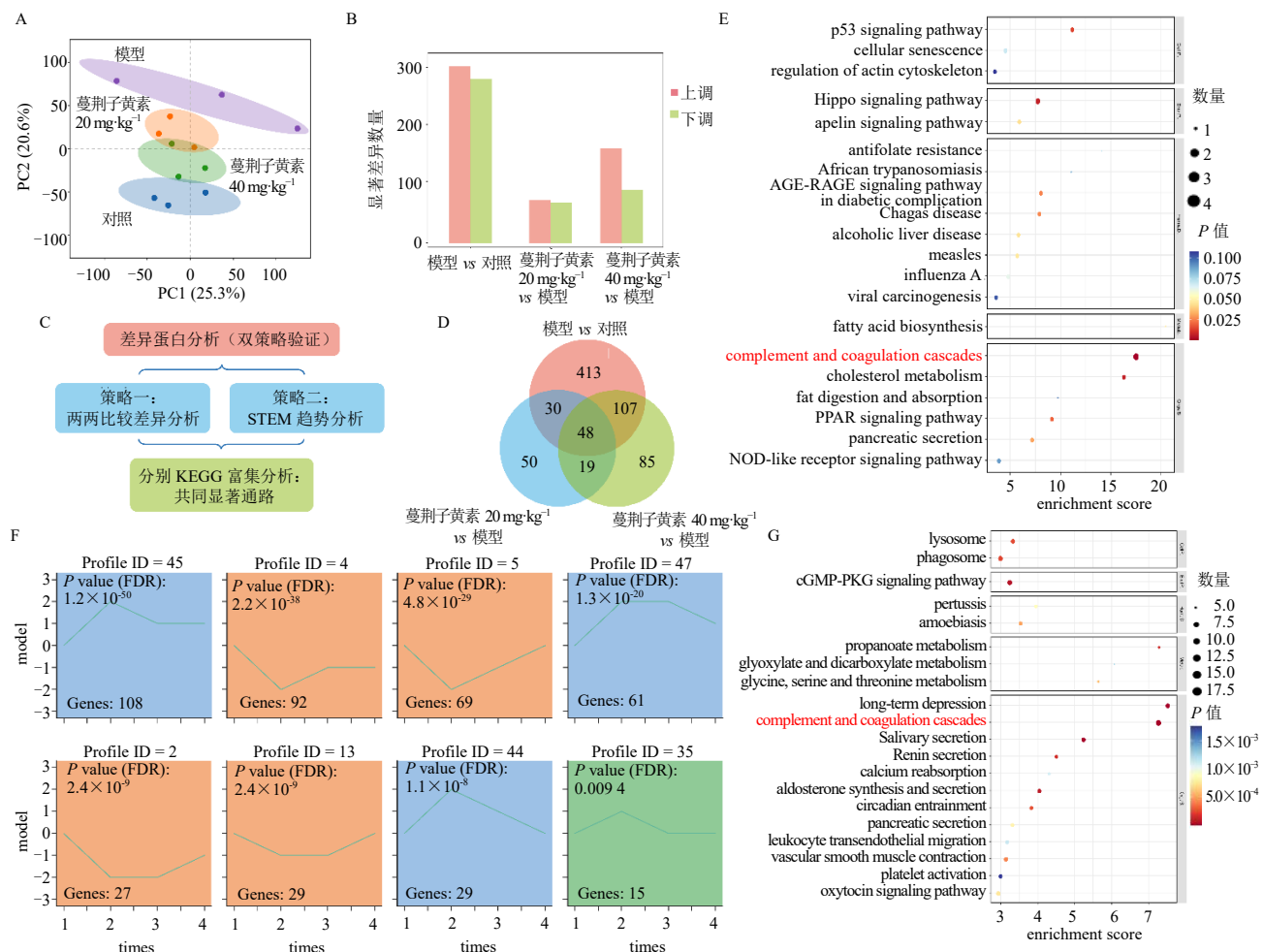
图7 LEfSe 分析差异物种

Fig. 7 LEfSe analysis for differential species

(图 8-A) 显示, 4 组样本间分离明显, 组内聚集良好, PC1 (25.3%) 和 PC2 (20.8%) 可有效区分各组样本, 表明蛋白质组学数据质量可靠, 适用于后续差异分析。以 $|FC| \geq 1.5$ 且 $P < 0.05$ 为标准筛选差异表达蛋白, 如图 8-B 所示, 与对照组比较, 模型组共有 310 个蛋白上调、288 个蛋白下调; 与模型组相比, 蔓荆子黄素低剂量组有 76 个上调、71 个下调, 蔓荆子黄素高剂量组有 166 个上调、93 个下调。

差异蛋白分析采用双策略验证, 分别进行 KEGG 富集后取共同显著通路 (图 8-C)。采用两两差异比较分析显示, 模型组 vs 对照组、低剂量组 vs 模型组和高剂量组 vs 模型组比较中共同存在的差

异蛋白共 48 个 (图 8-D), 将其定义为蔓荆子黄素能够逆转的候选核心蛋白; KEGG 富集分析表明, 这 48 个蛋白显著富集于补体凝血级联通路, 其富集因子和显著性均居首位 (图 8-E)。采用 STEM 趋势分析共识别出 8 个具有显著表达趋势的模块 (FDR < 0.05, 图 8-F), 将各模块内所有蛋白合并进行 KEGG 富集, 结果显示补体凝血级联通路在富集显著性和富集因子 2 方面同样位居前列 (图 8-G)。值得注意的是, 2 种策略共同指向补体凝血级联通路, 提示该通路可能是蔓荆子黄素发挥抗 CAC 作用的核心靶点。进一步对该通路关键蛋白的表达及 PPI 网络进行分析, 聚类热图 (图 9-A) 显示, 模型



A-各组样本 PCA 图; B-各组间差异表达蛋白统计柱状图; C-差异蛋白分析策略流程图; D-各组间共有及特有的差异表达蛋白韦恩图; E-交集差异蛋白 top 20 KEGG 富集气泡图; F-STEM 趋势分析显著模式图, 横坐标轴 4 个处理组分别对对照组、模型组、蔓荆子黄素低剂量组、蔓荆子黄素高剂量组; G-趋势显著蛋白 top 20 KEGG 通路富集气泡图。

A-PCA plot of samples from each group; B-statistical bar chart of differentially expressed proteins among groups; C-flowchart of differential protein analysis strategy; D-Venn diagram of common and unique differentially expressed proteins among groups; E-top 20 KEGG enrichment bubble plot of intersection differential proteins; F-STEM trend analysis significant pattern diagram, the horizontal axis shows four treatment groups: Control group, model group, casticein low-dose group and casticein high-dose group; G-top 20 KEGG pathway enrichment bubble plot of trend proteins.

图 8 差异蛋白表达变化分析 ($n = 3$)

Fig. 8 Analysis of expressed differentially proteins ($n = 3$)

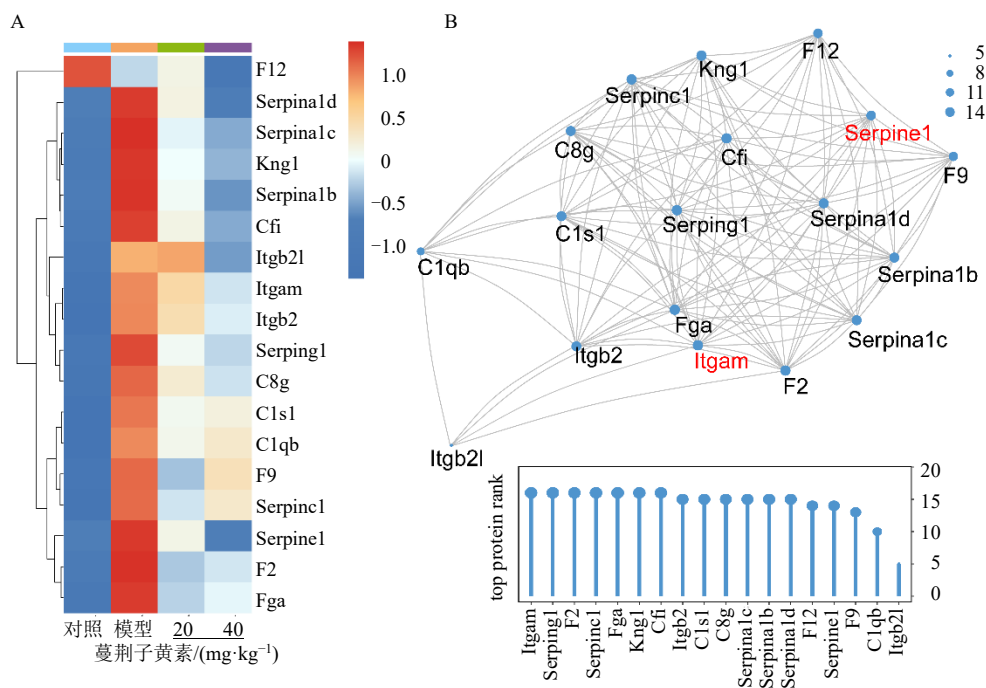


图 9 补体凝血级联通路关键差异蛋白表达聚类热图 (A) 及 PPI 网络 (B)

Fig. 9 Clustering heatmap (A) of key differentially expressed proteins in complement and coagulation cascades pathway and PPI network (B)

组补体成分 C1qb、C1s1、C8g，补体因子 Cfi，补体调节蛋白 Serping1，凝血相关蛋白 F2、F9、Fga、Kng1，以及丝氨酸蛋白酶抑制剂 Serpina1b/c/d、Serpinc1、Serpine1 等表达显著上调；蔓荆子黄素干预后，上述蛋白表达均呈剂量相关性回调。

为进一步明确补体凝血级联通路中的核心效应分子，对通路关键蛋白进行 PPI 网络分析。如图 9-B 所示，拓扑学分析显示 Itgam 在网络中具有较高的连接度，处于互作枢纽位置，且其编码的 CD11b 作为补体受体亚基介导免疫监视^[17]，提示其可能作为蔓荆子黄素调控免疫识别环节的核心靶点。此外，PPI 网络显示补体凝血通路中存在多个丝氨酸蛋白酶抑制剂（包括 Serping1、Serpinc1 及 Serpina1 家族成员），它们分别参与补体调节、凝血抑制及蛋白酶活性调控等环节^[18-19]，共同构成该通路的调控网络。其中，Serpine1 虽不处于网络拓扑核心，但其功能定位具有独特性：作为纤溶系统的主要抑制因子，它通过抑制纤溶酶原激活，同时参与调控细胞外基质降解、血管生成及炎症反应等多个肿瘤微环境关键环节^[20-21]。这一功能使其与补体成分（如 C1qb、C1s1）介导的免疫识别^[22]、凝血因子（如 F2、Fga）参与的纤维蛋白沉积^[23]形成功能互补，提示 Serpine1 可能作为“微环境重塑”维度的核

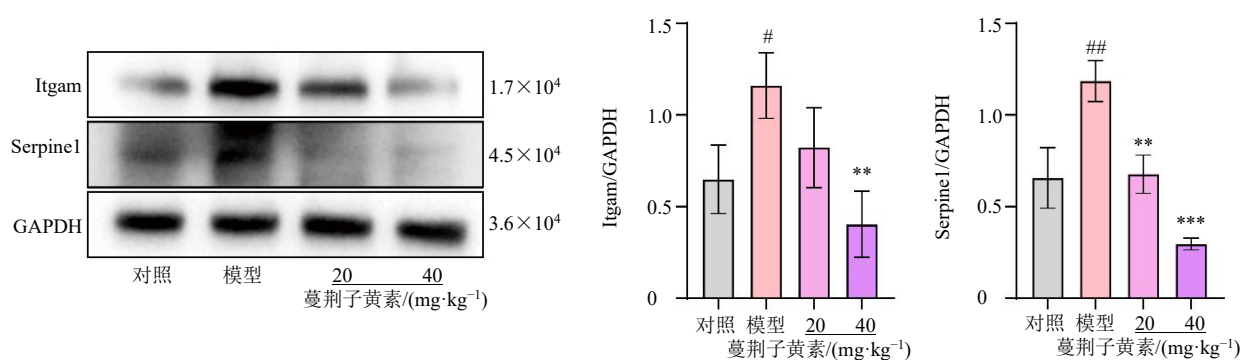
心效应分子，与 Itgam 介导的“免疫识别”协同参与蔓荆子黄素的抗肿瘤作用。综上，补体凝血级联通路为蔓荆子黄素抗 CAC 的核心靶点通路，其中 Itgam 和 Serpine1 分别作为“免疫识别”和“微环境重塑”的关键节点，均受蔓荆子黄素剂量相关性调控。

3.7 蔓荆子黄素显著下调 CAC 模型小鼠结肠组织 Itgam 及 Serpine1 蛋白表达

如图 10 所示，与对照组比较，模型组小鼠结肠组织 Itgam 和 Serpine1 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)，提示 CAC 状态下免疫识别受体 Itgam 及微环境重塑分子 Serpine1 在结肠组织中异常激活；与模型组比较，蔓荆子黄素低、高剂量组小鼠结肠组织 Itgam 和 Serpine1 蛋白表达水平均呈剂量相关性降低，其中高剂量组与模型组相比均具有统计学差异 ($P < 0.01$ 、 0.001)。以上结果表明，蔓荆子黄素可在蛋白水平显著下调补体凝血级联通路关键分子 Itgam 及 Serpine1 的表达，与蛋白质组学趋势分析结果一致，证实蔓荆子黄素对补体凝血级联通路具有重要的调控作用。

3.8 生物信息学验证揭示 Itgam 和 Serpine1 的临床预后价值及与蔓荆子黄素的结合潜力

基于 TCGA 数据库的结肠癌 (COAD) 和直肠癌 (READ) 转录组数据及临床生存信息，Kaplan-



与对照组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ 。

[#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group.

图 10 蔓荆子黄素对 CAC 模型小鼠结肠组织 Itgam 和 Serpine1 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 10 Effect of casticin on protein expressions of Itgam and Serpine1 in colonic tissues of CAC model mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Meier 生存分析显示, Itgam 高表达组患者的总生存期显著低于低表达组 (HR=1.54, 95% CI: 1.25~1.91, logrank $P=5.3 \times 10^{-5}$, 图 11-A); Serpine1 高表达组患者的总生存期亦显著低于低表达组 (HR=2.16, 95% CI: 1.74~2.67, logrank $P=7.0 \times 10^{-13}$, 图 11-B)。上述结果表明, Itgam 和 Serpine1 的高表达与结直肠癌患者不良预后密切相关, 提示二者可作为潜在的预后生物标志物。分子对接结果显示, 蔓荆子黄素能够进入 Itgam (PDB ID: 1NA5) 蛋白的

活性口袋, 与 LYS-290 和 HIS-295 残基形成氢键相互作用(图 11-C); 同时, 蔓荆子黄素也能与 Serpine1 (PDB ID: 1A7C) 蛋白的 LEU-165 和 ASN-167 残基形成稳定的氢键结合(图 11-D)。结合能计算结果显示, 蔓荆子黄素与 Itgam 的结合能为-6.6 kcal/mol (1 kcal/mol=4.182 kJ/mol), 与 Serpine1 的结合能为-6.8 kcal/mol (通常 < -5.0 kcal/mol 视为具有较好结合活性), 提示蔓荆子黄素与这 2 个靶点蛋白之间存在较强的结合亲和力。

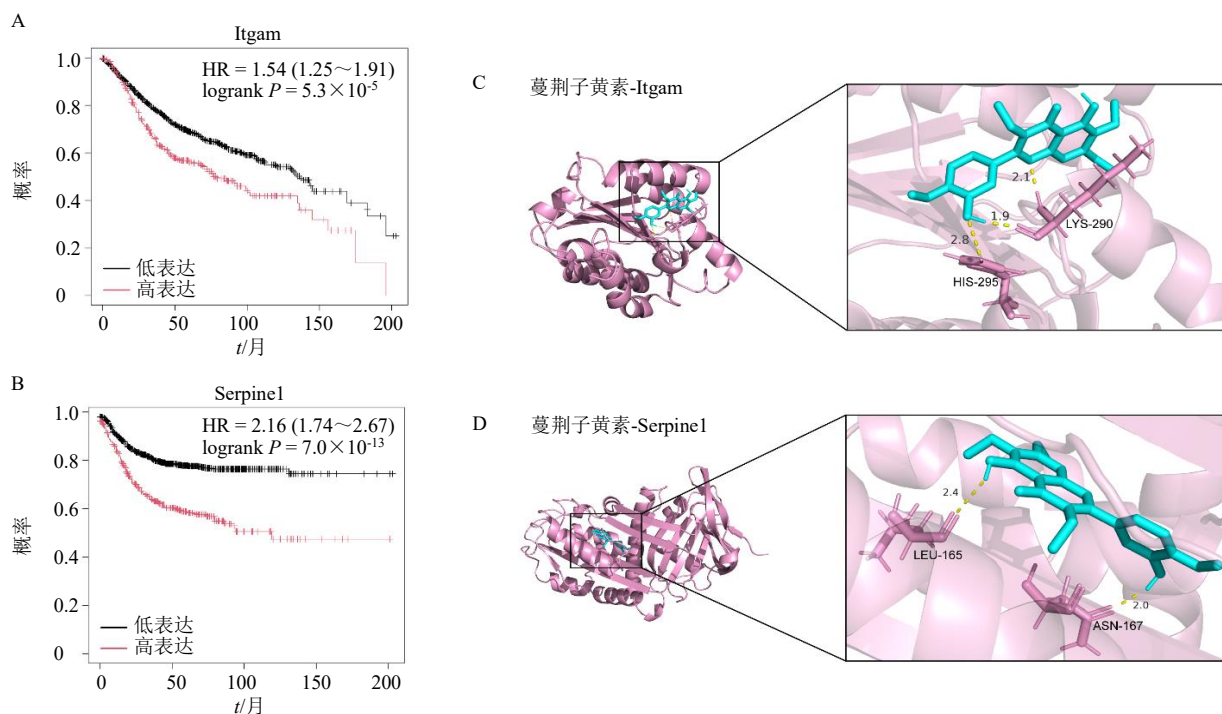


图 11 Itgam 和 Serpine1 的临床预后价值 (A、B) 及与蔓荆子黄素的分子对接分析 (C、D)

Fig. 11 Prognostic value of Itgam and Serpine1 (A, B) and their molecular docking analysis with casticin (C, D)

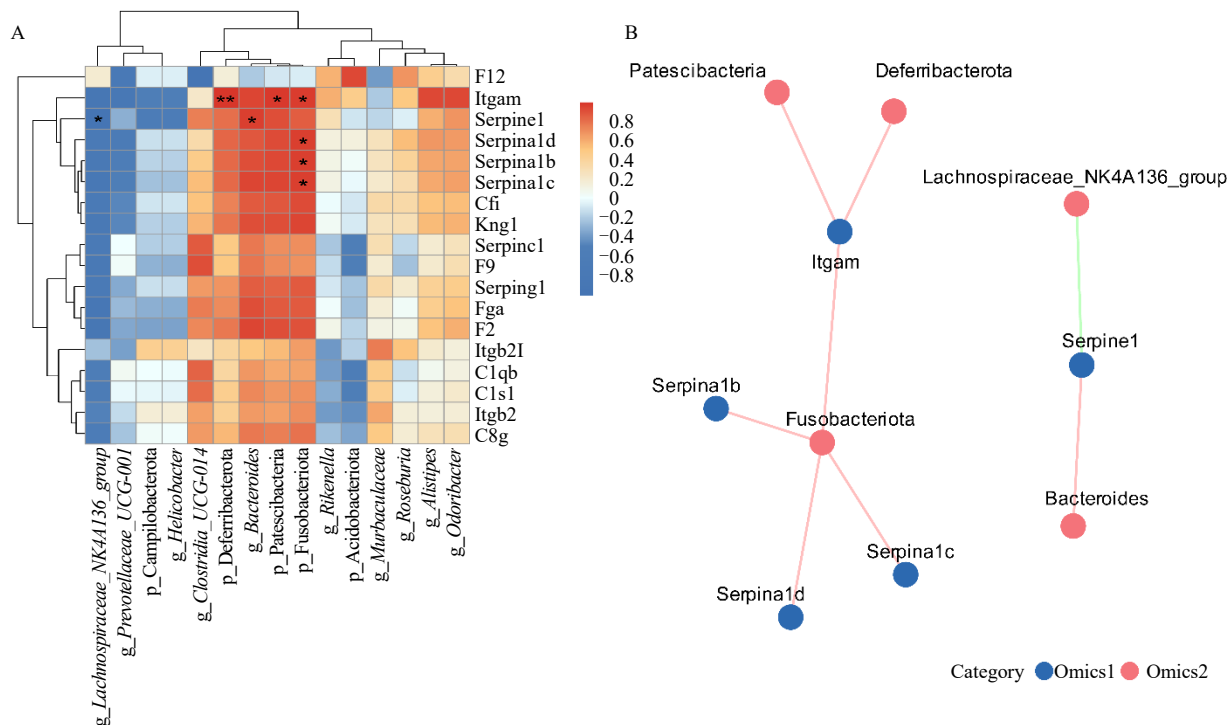
综上,生物信息学验证进一步支持了蛋白质组学的发现,表明 *Itgam* 和 *Serpine1* 不仅是 CAC 进展的关键分子,且与患者预后密切相关;蔓荆子黄素与二者的良好结合能力为其直接或间接调控这两个靶点提供了结构生物学线索。

3.9 肠道菌群-蛋白组学联合分析显示促癌菌与免疫识别/微环境重塑蛋白的显著关联

为探究肠道菌群变化与宿主蛋白表达之间的潜在关联,采用 Spearman 相关性分析对差异菌群与补体凝血通路关键蛋白进行联合分析。如图 12 所示,在门水平上, *Fusobacteriia* 丰度与 *Itgam* ($r=0.97, P<0.05$)、*Serpina1d* ($r=0.96, P<0.05$)、*Serpina1b* ($r=0.96, P<0.05$)、*Serpina1c* ($r=0.95, P<0.05$) 蛋白表达呈显著正相关; *Patescibacteria* 与 *Itgam* ($r=0.97, P<0.05$) 呈显著正相关; *Bacteroidetes* 与 *Serpine1* ($r=0.95, P<0.05$) 呈显著正相关; *Deferribacterota* 与 *Itgam* ($r=0.99, P<0.01$) 呈显著正相关。在属水平上, *Lachnospiraceae_NK4A136_group* 丰度与 *Serpine1* ($r=-0.95, P<0.05$) 呈显著负相关。

相关性网络图(图 12-B)进一步直观展示了上

述关联, *Itgam* 作为核心节点与 *Fusobacteriota* 直接正相关,而 *Fusobacteriota* 又分别与 *Serpina1b*、*Serpina1c* 及 *Serpina1d* 正相关,提示该促癌菌可能作为桥梁分子协同调控免疫识别与微环境重塑相关蛋白表达。有益菌 *Lachnospiraceae_NK4A136_group* 与 *Serpine1* 呈显著负相关,提示该产短链脂肪酸有益菌的富集可抑制微环境重塑关键分子 *Serpine1* 的表达。上述结果表明,促癌菌群(*Fusobacteriota*、*Patescibacteria*、*Deferribacterota*)的富集与补体凝血通路中免疫识别受体 *Itgam* 及丝氨酸蛋白酶抑制剂家族(*Serpina1b/c/d*)的表达上调密切相关,而产短链脂肪酸有益菌属 *Lachnospiraceae_NK4A136_group* 的丰度增加则与微环境重塑关键分子 *Serpine1* 的表达下调呈显著负相关。联合分析揭示了蔓荆子黄素抗 CAC 的“菌群-宿主”协同调控模式:一方面,蔓荆子黄素通过富集 *Lachnospiraceae_NK4A136_group* 等产短链脂肪酸有益菌、抑制 *Fusobacteriota* 等促炎致病菌;另一方面,蔓荆子黄素下调结肠组织补体凝血级联通路中 *Serpine1*、*Itgam* 等关键蛋白的表达,从“微环境重塑”和“免疫识别”2 个环节协同阻断炎症转化。



A-差异菌与差异蛋白相关性热图; B-差异菌与差异蛋白相关性网络图; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ 。

A-correlation heatmap of differential bacteria and differential proteins; B-correlation network diagram of differential bacteria and differential proteins;

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ 。

图 12 肠道差异菌群与补体凝血级联通路关键蛋白的 Spearman 相关性分析

Fig. 12 Spearman correlation between gut microbiota and key complement and coagulation proteins

4 讨论

CAC 是炎症驱动肿瘤发生的典型模型,其发生发展与肠道微环境失衡、慢性炎症及菌群紊乱密切相关^[23-24]。目前临床治疗存在疗效有限、无法阻断癌变进程等局限^[25-26]。近年来,中医药因其多靶点、低毒性的特点在 CAC 防治中展现出潜力。蔓荆子黄素作为黄酮类单体成分,虽已被证实具有抗炎、抗肿瘤活性^[27],但其对 CAC 的干预效应及对“炎症-菌群”轴的调控作用尚未见报道。

本研究基于 AOM/DSS 诱导的 CAC 小鼠模型,系统评价了蔓荆子黄素的干预效应。结果表明,蔓荆子黄素可显著缓解 AOM/DSS 诱导的体质量下降、降低肿瘤负荷并提高生存率,且无明显肝肾毒性,证实其对 CAC 具有明确保护作用。进一步的机制研究发现,该保护作用呈现明显的“菌群-宿主”互动特征:在菌群层面,蔓荆子黄素可抑制促癌菌 *Fusobacteriota*、*Patescibacteria*, 富集产短链脂肪酸的有益菌 *Lachnospiraceae_NK4A136_group*、*Prevotellaceae_UCG-001*;在宿主层面,蛋白组学分析锁定补体凝血级联通路为核心靶点,其中 *Serpine1* 和 *Itgam* 作为关键节点呈剂量相关性回调;联合分析则揭示出菌群变化与这 2 个蛋白表达之间的强关联。文献报道证实,补体凝血级联通路在结肠炎相关结直肠癌的炎-癌转化进程中发挥关键调控作用^[22,28]。基于此,提出蔓荆子素通过调控肠道菌群,介导补体凝血级联通路响应,进而阻断结肠炎-癌转化进展。

Itgam 作为补体受体 CR3 的 α 亚基,主要表达于髓系免疫细胞表面,介导免疫识别与吞噬清除^[17,29-30]。本研究中,*Itgam* 在拓扑排序分析中列居前位,且其表达与促癌菌 *Fusobacteriota*、*Bacteroides* 呈显著正相关。文献报道,*Fusobacterium nucleatum* 可通过其 *FadA* 黏附素与免疫细胞互作,逃逸免疫清除,甚至利用免疫细胞促进肿瘤定植^[31-32]。结合本研究的相关性结果,提示在 CAC 状态下,致病菌的富集可能与 *Itgam* 介导的免疫识别通路异常激活有关,但免疫清除功能受损,进而形成“菌群失调-补体激活-炎症放大”的潜在恶性循环。蔓荆子黄素干预后,随着致病菌丰度下降,*Itgam* 表达趋于正常,提示药物可能通过抑制致病菌间接恢复免疫识别稳态。*Serpine1* 是补体凝血级联通路的效应分子,也是连接凝血紊乱与肿瘤微环境重塑的关键节点^[33-34]。研究表明,*Serpine1* 可通过抑制纤溶酶原

激活促进细胞外基质沉积,为肿瘤细胞增殖和侵袭提供“肥沃土壤”,其高表达与结直肠癌患者不良预后密切相关^[20]。本研究中,模型组 *Serpine1* 显著上调,蔓荆子黄素干预后呈剂量相关性回调。*Serpine1* 的表达变化与产短链脂肪酸菌属 *Lachnospiraceae_NK4A136_group* 丰度呈显著负相关;而丁酸等短链脂肪酸可通过抑制组蛋白去乙酰化酶活性下调 NF- κ B 通路炎症基因表达^[35],因此蔓荆子黄素可能通过富集产短链脂肪酸菌群,进而抑制 *Serpine1* 介导的促癌微环境形成。

本研究尚存在一定局限性,16S rRNA 测序无法精确到菌株水平,后续需结合宏基因组学明确关键菌种功能,如 Xu 等^[36]通过宏基因组学揭示了 *Fusobacterium nucleatum* 特定菌株在结直肠癌中的促癌机制,提示菌株水平分析对精准阐释菌群功能的重要性。相关性分析无法证明因果关系,需通过粪菌移植或无菌动物模型验证菌群对 *Itgam* 和 *Serpine1* 的驱动作用,已有研究采用粪菌移植证实肠道菌群可重塑宿主免疫微环境并影响肿瘤进展^[37]。此外,尽管本研究观察到产短链脂肪酸菌属的富集与微环境重塑分子 *Serpine1* 的下调呈显著负相关,但尚未对短链脂肪酸等代谢物进行直接检测;文献报道指出,丁酸等短链脂肪酸作为关键的菌群代谢产物,能够通过抑制组蛋白去乙酰化酶活性,下调 NF- κ B 通路介导的炎症基因表达,从而改善肿瘤相关微环境^[35]。因此,后续引入靶向代谢组学研究,将有助于明确蔓荆子黄素是否通过“菌群-代谢产物-靶蛋白”这一轴线发挥药效作用,从而进一步完善证据链。

本研究揭示了蔓荆子黄素抗 CAC 的“菌群-宿主协同”作用模式,即药物可双向调控肠道菌群(抑制促癌菌、富集有益菌),并伴随补体凝血级联通路中 *Itgam* (免疫识别)和 *Serpine1* (微环境重塑) 2 个关键节点的剂量相关性回调,二者从“免疫”和“土壤”2 个层面协同阻断炎癌转化。这一发现为黄酮类中药单体防治结直肠癌提供了新的实验依据,也为从“菌群-宿主”互动界面干预恶性肿瘤开辟了新视角。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Biancone L, Armuzzi A, Scribano M L, et al. Cancer risk in inflammatory bowel disease: A 6-year prospective multicenter nested case-control IG-IBD study [J]. *Inflamm*

- Bowel Dis, 2019: izz155.
- [2] Faye A S, Holmer A K, Axelrad J E. Cancer in inflammatory bowel disease [J]. *Gastroenterol Clin N Am*, 2022, 51(3): 649-666.
- [3] Paramythiotis D, Tsavdaris D, Geropoulos G, et al. Management of peritoneal metastases from colorectal cancer and small bowel adenocarcinoma in patients with inflammatory bowel disease [J]. *World J Gastrointest Oncol*, 2025, 17(11): 110486.
- [4] 代倩, 马科文, 赵强, 等. 中药抑制有氧糖酵解干预结肠癌的研究进展 [J]. *世界中医药*, 2025, 20(21): 3970-3981.
- [5] Ding X J, Cai X M, Wang Q Q, et al. Vitexicarpin suppresses malignant progression of colorectal cancer through affecting c-Myc ubiquitination by targeting IMPDH2 [J]. *Phytomedicine*, 2024, 132: 155833.
- [6] Ma J M, Yin G H, Lu Z B, et al. Casticin prevents DSS induced ulcerative colitis in mice through inhibitions of NF- κ B pathway and ROS signaling [J]. *Phytother Res*, 2018, 32(9): 1770-1783.
- [7] Meng F M, Yang J B, Yang C H, et al. Vitexicarpin induces apoptosis in human prostate carcinoma PC-3 cells through G₂/M phase arrest [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2012, 13(12): 6369-6374.
- [8] Yun H M, Kwon H S, Lee J Y, et al. Vitexicarpin induces apoptosis and inhibits metastatic properties via the Akt-PRAS40 pathway in human osteosarcoma [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(7): 3582.
- [9] Lian S X, Li L, Yang Y X, et al. Complement and coagulation cascades pathway was inactivated in HIV-associated colorectal cancer: Results from a proteomics study [J]. *J Cancer*, 2026, 17(2): 427-438.
- [10] Deshmukh H, Speth C, Sheppard D C, et al. *Aspergillus*-derived galactosaminogalactan triggers complement activation on human platelets [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 550827.
- [11] Xiong S J, Jiang J J, Wan F, et al. *Cordyceps militaris* extract and cordycepin alleviate oxidative stress, modulate gut microbiota and ameliorate intestinal damage in LPS-induced piglets [J]. *Antioxidants*, 2024, 13(4): 441.
- [12] Jung B J, Kim H, Jang K O, et al. Lipoteichoic acid from *Staphylococcus aureus* activates the complement system via C3 induction and CD55 inhibition [J]. *Microorganisms*, 2021, 9(6): 1135.
- [13] Guo X, Zhu Y, Hong X, et al. miR-181d and c-myc-mediated inhibition of CRY2 and FBXL3 reprograms metabolism in colorectal cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(7): e2958.
- [14] Liang J J, Yang C Y, Li P C, et al. Astragaloside IV inhibits AOM/DSS-induced colitis-associated tumorigenesis via activation of PPAR γ signaling in mice [J]. *Phytomedicine*, 2023, 121: 155116.
- [15] 魏秀楠, 孙大娟, 梁峻尉, 等. AOM/DSS 诱导建立结肠炎-癌转化大鼠模型的组织学评价及肠道菌群分析 [J]. *中国实验动物学报*, 2024, 32(11): 1369-1378.
- [16] Kusmardi, Khiputra H, Salinah. The effect of lunasin on liver histopathology of mice induced by azoximethane (AOM) and dextran sodium sulphate (DSS) [J]. *Int J App Pharm*, 2019: 84-87.
- [17] Han X L, Su X T, Li Z Q, et al. Complement receptor 3 mediates *Aspergillus fumigatus* internalization into alveolar epithelial cells with the increase of intracellular phosphatidic acid by activating FAK [J]. *Virulence*, 2021, 12(1): 1980-1996.
- [18] 江袁, 江敏, 龙燕. 丝氨酸蛋白酶抑制剂家族在疾病中的研究进展 [J]. *中华预防医学杂志*, 2025, 59(5): 734-746.
- [19] Defendi F, Amen A, Clavarino G, et al. C1 inhibitor: From complement system to bradykinin angioedema [J]. *Curr Opin Immunol*, 2025, 97: 102653.
- [20] Nuha N, Higgins S P, Czekay R P, et al. SERPINE1 drives molecular synergies in colorectal cancer [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2026, 330(1): C9-C25.
- [21] Kattner A A. From inhibition to regulation: Serpins in health and disease [J]. *Biomed J*, 2026, 49(1): 100950.
- [22] Krieg C, Guglietta S. The complement system in intestinal inflammation and cancer [J]. *J Clin Investig*, 2025, 135(19): e188348.
- [23] Fan Y T, Li Y, Gu X S, et al. Intestinal metabolites in colitis-associated carcinogenesis: Building a bridge between host and microbiome [J]. *Chin Med J*, 2025, 138(16): 1961-1972.
- [24] Dan W Y, Xiong C X, Zhou G Z, et al. Gut microbiota as a mediator of cancer development and management: From colitis to colitis-associated dysplasia and carcinoma [J]. *Biochim Biophys Acta BBA Rev Cancer*, 2025, 1880(4): 189381.
- [25] 李雪珂, 罗斯敏, 蹇若凡, 等. 基于微生物组学和代谢组学探究乌梅丸调复胆汁酸平衡阻延结肠炎癌转化的机制 [J]. *中草药*, 2026, 57(10): 3848-3860.
- [26] Yue Y Z, Su L L, Wang Y H, et al. Banxia Xiexin Decoction inhibits colitis-associated colorectal cancer development by modulating STAT3 signaling and gut microbiota [J]. *Chin Herb Med*, 2025, 17(2): 380-391.
- [27] 黄安. 蔓荆子黄素通过 NF- κ B/Bcl-2 信号通路抑制破骨细胞生成 [D]. 南昌: 南昌大学, 2022.

- [28] Xu Y W, Zhou J Q, Wu Y Y, *et al.* New insights into the role of complement system in colorectal cancer (Review) [J]. *Mol Med Rep*, 2025, 31(3): 68.
- [29] Brekke O L, Christiansen D, Fure H, *et al.* The role of complement C3 opsonization, C5a receptor, and CD14 in *E. coli*-induced up-regulation of granulocyte and monocyte CD11b/CD18 (CR3), phagocytosis, and oxidative burst in human whole blood [J]. *J Leukoc Biol*, 2007, 81(6): 1404-1413.
- [30] Barrera V, Skorokhod O A, Baci D, *et al.* Host fibrinogen stably bound to hemozoin rapidly activates monocytes via TLR-4 and CD11b/CD18-integrin: A new paradigm of hemozoin action [J]. *Blood*, 2011, 117(21): 5674-5682.
- [31] Hussan H, Clinton S K, Roberts K, *et al.* *Fusobacterium*'s link to colorectal neoplasia sequenced: A systematic review and future insights [J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(48): 8626-8650.
- [32] Li D H, Li Z W, Wang L, *et al.* Oral inoculation of *Fusobacterium nucleatum* exacerbates ulcerative colitis via the secretion of virulence adhesin FadA [J]. *Virulence*, 2024, 15(1): 2399217.
- [33] Pratte K A, Barón A E, Ogden L G, *et al.* Plasminogen activator inhibitor-1 is associated with coronary artery calcium in Type 1 diabetes [J]. *J Diabetes Complicat*, 2009, 23(6): 387-393.
- [34] Peng X Y, Sun Q, Zhao D L, *et al.* Bioinformatics-based screening and prediction of compounds and antigen epitopes for immune targets with point mutations in colitis-associated colorectal cancer [J]. *Discov Oncol*, 2025, 17(1): 189.
- [35] Sun J C, Xu G Z. Mesenchymal stem cell-derived exosomal miR-150-3p affects intracerebral hemorrhage by regulating TRAF6/NF- κ B axis, gut microbiota and metabolism [J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2023, 19(6): 1907-1921.
- [36] Xu C C, Fan L N, Lin Y F, *et al.* *Fusobacterium nucleatum* promotes colorectal cancer metastasis through miR-1322/CCL20 axis and M2 polarization [J]. *Gut Microbes*, 2021, 13(1): 1980347.
- [37] Yu H, Li X X, Han X, *et al.* Fecal microbiota transplantation inhibits colorectal cancer progression: Reversing intestinal microbial dysbiosis to enhance anti-cancer immune responses [J]. *Front Microbiol*, 2023, 14: 1126808.

[责任编辑 李亚楠]