

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2023.08.006

· 基础研究 ·

## 毛兰素通过 Hedgehog 信号通路调控结直肠癌 HT29 细胞的上皮间质转化和血管生成

张国<sup>a</sup>, 张波<sup>a</sup>, 马刚<sup>a</sup>, 胡安祥<sup>b</sup> (滕州市中心人民医院 a. 胃肠外科; b. 肿瘤二科, 山东 滕州 277599)

**[摘要]** **目的:** 基于 Hedgehog 信号通路探讨石斛提取物毛兰素(erianin, ER)抑制结直肠癌 HT29 细胞上皮间质转化(EMT)和血管生成的作用机制。**方法:** 将 HT29 细胞分为空白对照组、ER-L(25 μg/mL)组、ER-M(50 μg/mL)组、ER-H(75 μg/mL)组、ER-H(75 μg/mL)+PM(Hedgehog 通路激活剂, 1.5 μmol/L)组。MTT 法检测细胞增殖活力, 克隆形成实验检测细胞克隆形成能力, 划痕实验和 Transwell 实验检测细胞迁移与侵袭能力, 血管拟态形成实验检测血管生成能力, WB 法检测与 EMT 进程、Hedgehog 信号通路和拟态血管生成相关蛋白质的表达。**结果:** HT29 细胞增殖活性随着 ER 质量浓度的升高而逐渐降低( $P<0.05$ ); 与空白对照组比较, ER 各组细胞克隆形成率、迁移与侵袭能力、血管形成能力、间质标志蛋白(N-cadherin、vimentin)、血管生成相关蛋白(VEGF、VE-cadherin)及 Hedgehog 通路相关蛋白(SHH、GLI1、SMO、c-Myc)表达均显著下降(均  $P<0.05$ ), 上皮标志蛋白(E-cadherin)、Hedgehog 通路中融合蛋白抑制剂(SUFU)蛋白表达均显著上升(均  $P<0.05$ ); PM 处理在一定程度上逆转了 ER 对于 HT29 细胞增殖、EMT 和血管生成的抑制作用(均  $P<0.05$ )。**结论:** ER 可以抑制结直肠癌 HT29 细胞的增殖、迁移与侵袭、EMT 和血管生成, 其机制可能与抑制 Hedgehog 信号通路激活有关。

**[关键词]** 毛兰素; 结直肠癌; HT29 细胞; 上皮间质转化; Hedgehog 信号通路; 血管生成

**[中图分类号]** R735.3; R730.52 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2023)08-0689-06

## Erianin regulates epithelial-mesenchymal transformation and angiogenesis of colorectal cancer HT29 cells via the Hedgehog signal pathway

ZHANG Guo<sup>a</sup>, ZHANG Bo<sup>a</sup>, MA Gang<sup>a</sup>, HU Anxiang<sup>b</sup> (a. Department of Gastrointestinal Surgery; b. Department of Oncology II, Tengzhou Central People's Hospital, Tengzhou 277599, Shandong, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the mechanism of the inhibitory effects of *dendrobium* extract erianin (ER) on epithelial-mesenchymal transition (EMT) and angiogenesis of colorectal cancer HT29 cells based on the Hedgehog signal pathway. **Methods:** HT29 cells were separated into the blank control group, ER-L (25 μg/mL) group, ER-M (50 μg/mL) group, ER-H (75 μg/mL) group, and ER-H (75 μg/mL)+PM (Hedgehog pathway activator, 1.5 μmol/L) group. MTT assay was applied to detect cell proliferative viability; the clonogenic ability of cells was detected by clonogenic assay; the abilities of cell migration and invasion were detected by scratch test and Transwell test; vascular mimicry test was applied to detect the ability of angiogenesis; WB assay was applied to detect the expression of proteins related to EMT processes, Hedgehog signaling pathways, and mimic angiogenesis. **Results:** The proliferative viability of HT29 cells decreased gradually with the increase of ER concentration ( $P<0.05$ ). Compared with the control group, cell clone formation rate, migration and invasion abilities, angiogenesis ability, the expressions of interstitial marker proteins (N-cadherin, vimentin), angiogenesis related proteins (VEGF, VE-cadherin) and hedgehog pathway related proteins (SHH, GLI1, SMO, c-Myc) in the various ER groups decreased, and the expressions of both epithelial marker protein (E-cadherin) and suppressor of fused protein (SUFU) in hedgehog pathway increased (all  $P<0.05$ ). ER-H+PM group, to some extent, reversed the inhibition of ER on HT29 cell proliferation, EMT and angiogenesis (all  $P<0.05$ ). **Conclusion:** ER can inhibit the proliferation, migration and invasion, EMT and angiogenesis of colorectal cancer HT29 cells, and its mechanism may be related to the inhibition of the activation of the Hedgehog signal pathway.

**[Key words]** erianin (ER); colorectal cancer; HT29 cell; epithelial-mesenchymal transformation (EMT); Hedgehog signal pathway; angiogenesis

[Chin J Cancer Biother, 2023, 30(8): 689-694. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.08.006]

结直肠癌是世界第三大常见癌症, 具有较高的发病率和病死率<sup>[1]</sup>。结直肠癌的临床常规治疗手段包括手术和放疗、化疗, 但是对于转移性患者的治疗

**[作者简介]** 张国(1975—), 男, 本科, 副主任医师, 主要从事胃肠道疾病和疝气相关研究, E-mail: zg19856@163.com

**[通信作者]** 胡安祥, E-mail: d448lk@163.com

效果不佳<sup>[2]</sup>。因此寻找可以抑制癌细胞增殖、转移的药物至关重要。Hedgehog 信号通路与胚胎发育、细胞自我更新、迁移和干细胞群维持有关,其激活可以促进肿瘤发生发展。Hedgehog 信号转导能够促进直肠癌细胞的自我更新和增殖、形成并维持肿瘤血管系统,抑制该通路可以降低肿瘤细胞增殖活性<sup>[3-4]</sup>。在结直肠癌的发展过程中,上皮间质转化(EMT)是其核心机制,而 Hedgehog 信号激活可以促进肿瘤细胞的 EMT 进程,进而促进肿瘤细胞的侵袭和转移<sup>[5-6]</sup>。毛兰素(eriannin, ER)是从石斛中提取的二萜基化合物,对多种癌症具有抑制作用。ZHANG 等<sup>[7]</sup>研究发现,ER 可通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 通路抑制肺癌细胞增殖、迁移和侵袭,诱导细胞凋亡,阻滞细胞周期于 G2/M 期,抑制肺癌小鼠移植瘤的生长。XIANG 等<sup>[8]</sup>研究发现,ER 可通过诱导细胞铁死亡促进膀胱癌细胞死亡和细胞周期停滞,抑制肿瘤生长。SUN 等<sup>[9]</sup>研究发现,ER 可抑制结直肠癌细胞增殖活性,并诱导细胞周期停滞,促进细胞凋亡,提示 ER 可以作为结直肠癌患者的潜在治疗药物。但 ER 是否还可通过调节 Hedgehog 信号通路抑制结直肠癌细胞生长尚未可知。因此,本研究主要探索 ER 对于结直肠癌细胞增殖、EMT、血管生成的影响,并进一步探讨该作用机制是否是通过调节 Hedgehog 信号通路实现的,为寻找抗结直肠癌的天然药物提供实验基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料与试剂

结直肠癌 HT29 细胞购自长沙艾碧维生物科技有限公司,用 DMEM 培养基(添加 10% 胎牛血清)培养,置于 37 °C、5%CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱中,每 2 d 更换一次培养基,待细胞汇合度达到 80% 时进行传代,使用传至第五代的细胞进行后续实验。

ER(纯度为 HPLC≥98%)、DMEM 培养基(含青霉素、链霉素)、胎牛血清和 MTT 试剂盒均购自北京索莱宝科技有限公司,Transwell 小室购自西格玛奥德里奇公司,SHH(Sonic hedgehog)、神经胶质瘤相关癌基因锌指蛋白 1(glioma-associated oncogene homolog 1, GLI1)、SMO(smoothened)、c-Myc、融合蛋白抑制剂(suppressor of fused protein, SUFU)、E-cadherin、N-cadherin、vimentin、VEGF、VE-cadherin、GAPDH 单克隆抗体及相应二抗均购自 Abcam 公司,多功能酶标仪购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司,倒置荧光显微镜购自德国徕卡公司。Hedgehog 通路激活剂嘌呤吗啡胺(purmorphamine, PM)纯度为 HPLC≥98%,购自瑞士 Selleck 公司。

### 1.2 MTT 法筛选 ER 处理细胞的适宜浓度

MTT 法测定细胞活力,将对数期的 HT29 细胞制成  $1 \times 10^5$  个/mL 的悬液,以每孔 100 μL 接种入 96 孔板中,培养 12 h 后将培养基更换为含有不同质量浓度 ER(5、25、50、75、100 μg/mL)的含药培养基(所有药物均使用含 0.1% DMSO 的培养基来配制),以含 0.1% DMSO 的培养基作为对照(DMSO)组,继续培养 24、48 h,每孔加入 10 μL MTT 溶液,在细胞培养箱中培养 4 h 后,弃去培养基,加入 DMSO 溶液,混匀,在酶标仪中读取 570 nm 波长处的光密度(D)值,计算细胞增殖抑制率。细胞增殖抑制率 =  $(D_{\text{实验组}} - D_{\text{空白组}}) / (D_{\text{对照组}} - D_{\text{空白组}}) \times 100\%$ 。

### 1.3 细胞分组处理

将对数生长期的 HT29 细胞分为空白对照组、ER-L(25 μg/mL)组、ER-M(50 μg/mL)组、ER-H(75 μg/mL)组、ER-H+PM(75 μg/mL ER+1.5 μmol/L PM)<sup>[10-11]</sup>组,加药处理 24 h 后进行后续实验。

### 1.4 克隆形成实验检测 ER 对 HT29 细胞克隆形成的影响

上述分组处理 24 h 后,将各组细胞按照  $2 \times 10^2$  个/孔接入 96 孔板,每组设置 6 个复孔。培养 14 d,每 2 d 更换一次培养基,培养结束后,加入 4% 多聚甲醛固定细胞,用结晶紫进行染色,倒置显微镜观察并拍照、计数克隆形成数。克隆形成率 =  $(\text{克隆数} / \text{接种细胞数}) \times 100\%$ 。

### 1.5 划痕愈合实验检测 ER 对 HT29 细胞迁移的影响

取各组对数期 HT29 细胞,配置成  $1 \times 10^5$  个/mL 的细胞悬液。接种至 96 孔板中,在细胞汇合度达 80% 左右时,使用无菌枪头在孔板底部垂直划痕,在培养的 0 h 和 24 h 时,使用倒置显微镜观察并拍照。细胞迁移率 =  $(0 \text{ h 划痕宽度} - \text{培养 24 h 时划痕宽度}) / 0 \text{ h 划痕宽度} \times 100\%$ 。

### 1.6 Transwell 实验检测 ER 对 HT29 细胞侵袭的影响

在 Transwell 小室铺设无血清培养基稀释的基质胶,置于细胞培养箱中待基质胶固定后,取各组对数期 HT29 细胞,配置成  $4 \times 10^5$  个/mL 的细胞悬液。在小室的上室中加入 200 μL 细胞悬液,下室加 600 μL 含血清的培养基,在细胞培养箱中培养 24 h 后,擦去漂浮细胞,加入 4% 多聚甲醛固定细胞,结晶紫染色后,倒置显微镜观察并拍照。

### 1.7 血管拟态形成实验检测 ER 对 HT29 细胞血管形成能力的影响

将冷冻的基质胶冷藏至融化后,与预冷的 DMEM 培养基等比例混合均匀后,加入到 96 孔板中,每孔 50 μL,37 °C 烘干使其固定在 96 孔板中。然后将各组 HT29 细胞按照  $1 \times 10^4$  个/孔的密度接种到 96 孔板中,每孔设置 6 个复孔,置于细胞培养箱培养

24 h, 倒置显微镜观察血管生成情况。

### 1.8 WB法检测ER对HT29细胞EMT相关标志蛋白表达的影响

收集按照1.3的分组处理24 h后的细胞, 加入RIPA裂解液, 提取细胞总蛋白。BCA法测定蛋白浓度后, 取适量蛋白质变性后电泳、湿法转膜、5%牛血清白蛋白封闭1.5 h, 加入按照1:1 000比例稀释的一抗SHH、Gli1、SMO、c-Myc、SUFU、E-cadherin、N-cadherin、vimentin、VEGF、VE-cadherin, 内参为GAPDH, 4℃过夜, 洗膜加入二抗(1:2 000), 室温下反应2 h, 化学发光法显影, 使用Image Lab分析蛋白条带灰度, 计算目的蛋白相对表达量。

### 1.9 统计学处理

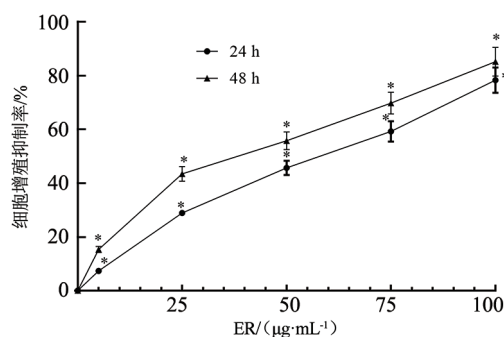
采用SPSS 26.0进行数据分析, 计量资料通过正态性检验均符合正态分布后用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两间比较采用SNK-*q*检验。以 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同质量浓度ER对HT29细胞增殖活性的影响

MTT法检测结果(图1)显示, 与DMSO组(0 μg/mL ER)比较, 不同质量浓度的ER(5、25、50、75、100 μg/mL)均能明显抑制HT29细胞增殖活性, 且呈浓度依赖性( $P<0.05$ )。ER干预细胞24 h时, 其 $IC_{50}$ 为(58.58±2.19) μg/mL, 干预48 h的 $IC_{50}$ 为(45.21±1.76) μg/mL。实验结果表明, ER可抑制HT29细胞增殖活力。由于ER在24 h已对细胞具有较好的增殖抑制效果, 并为保证ER对HT29细胞的

作用效果及较小的细胞毒性, 故选择ER干预细胞24 h, 并选择25、50、75 μg/mL作为后续实验ER的浓度。



与DMSO组(0 μg/mL ER)相比, \* $P<0.05$ 。

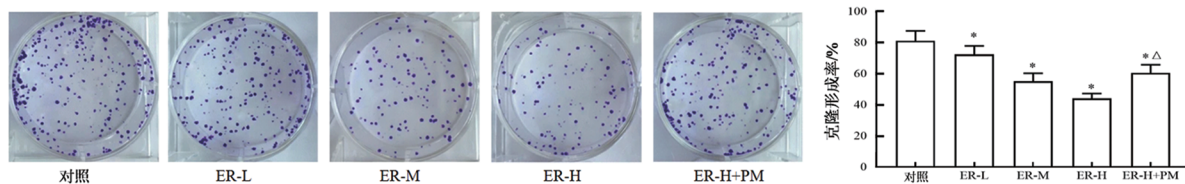
图1 不同质量浓度ER对HT29细胞增殖的抑制作用

### 2.2 ER与PM对HT29细胞克隆形成能力的影响

克隆形成实验结果(图2)显示, 与对照组比较, ER-L组、ER-M组、ER-H组HT29细胞克隆形成率均显著下降(均 $P<0.05$ ); 与ER-H组比较, ER-H+PM组HT29细胞克隆形成率显著上升( $P<0.05$ )。结果表明ER可抑制HT29细胞克隆形成能力, 而PM会逆转ER对细胞克隆的抑制作用。

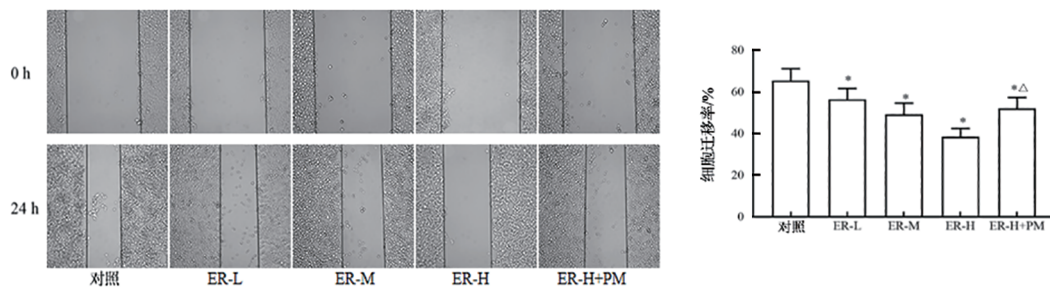
### 2.3 ER对HT29细胞迁移能力的影响

划痕愈合实验结果(图3)显示, 与对照组相比, ER-L组、ER-M组、ER-H组HT29细胞迁移率均显著下降(均 $P<0.05$ ); 与ER-H组相比, ER-H+PM组HT29细胞迁移率显著上升( $P<0.05$ )。结果表明, ER可抑制HT29细胞迁移能力, 而PM会逆转ER对细胞迁移的抑制作用。



与对照组相比, \* $P<0.05$ ; 与ER-H组相比, <sup>^</sup> $P<0.05$ 。

图2 克隆形成实验检测ER与PM对HT29细胞克隆形成能力的影响



与对照组相比, \* $P<0.05$ ; 与ER-H组相比, <sup>^</sup> $P<0.05$ 。

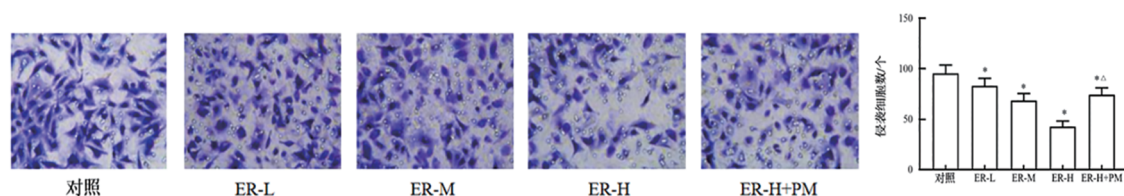
图3 划痕愈合实验检测ER与PM对HT29细胞迁移能力的影响(×100)



### 2.4 ER对HT29细胞侵袭能力的影响

Transwell实验检测结果(图4)显示,与对照组相比,ER-L组、ER-M组、ER-H组发生侵袭的HT29细胞数目均显著减少(均 $P<0.05$ );与ER-H组相比,

ER-H+PM组发生侵袭的HT29细胞数目显著增多( $P<0.05$ )。结果表明,ER可抑制HT29细胞侵袭能力,而PM会逆转ER对细胞侵袭的抑制作用。



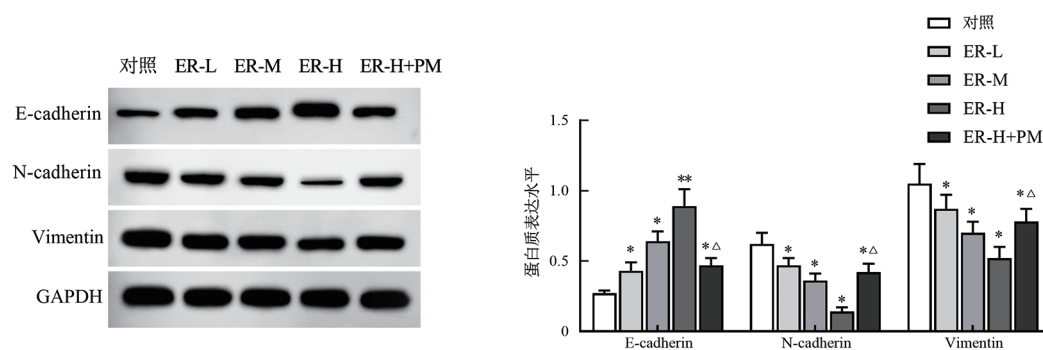
与对照组相比,\* $P<0.05$ ;与ER-H组相比,<sup>△</sup> $P<0.05$ 。

图4 Transwell实验检测ER与PM对HT29细胞侵袭能力的影响( $\times 200$ )

### 2.5 ER对HT29细胞EMT标志蛋白表达的影响

WB法检测结果(图5)显示,与对照组相比,ER-L组、ER-M组、ER-H组HT29细胞中E-cadherin表达上升,N-cadherin、vimentin表达下降( $P<0.05$ 或

$P<0.01$ );与ER-H组相比,ER-H+PM组HT29细胞中E-cadherin表达下降,N-cadherin、vimentin表达上升(均 $P<0.05$ )。



与对照组相比,\* $P<0.05$ 、\*\* $P<0.01$ ;与ER-H组相比,<sup>△</sup> $P<0.05$ 。

图5 WB法检测ER与PM对HT29细胞中EMT标志蛋白表达的影响

### 2.6 ER对HT29细胞血管生成的影响

血管拟态形成实验(图6A)和WB检测结果(图6B)显示,与对照组相比,ER-L组、ER-M组、ER-H组管状结构数量明显下降,血管生成相关因子VEGF和VE-cadherin表达下降(均 $P<0.05$ );与ER-H组相比,ER-H+PM组的管状结构数量明显上升,VEGF和VE-cadherin表达上升(均 $P<0.05$ )。实验结果表明,ER可抑制HT29细胞的血管生成,而PM会逆转ER对细胞血管生成的抑制作用。

白的变化结果表明,ER明显抑制HT29细胞中Hedgehog通路的激活,而PM可明显逆转该抑制作用。

### 2.7 ER抑制HT29细胞Hedgehog通路的激活

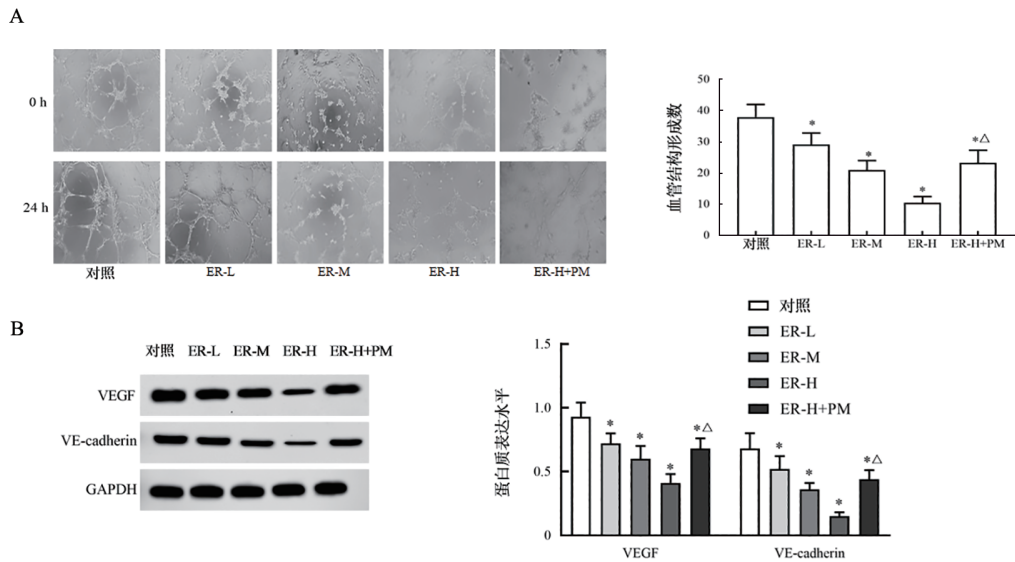
WB法检测结果(图7)显示,与对照组相比,ER-L组、ER-M组、ER-H组HT29细胞中GLI1、SMO、SHH和c-Myc的表达水平下降,SUFU表达水平上升(均 $P<0.05$ );与ER-H组比较,ER-H+PM组HT29细胞中GLI1、SMO、SHH、c-Myc的表达水平上升,SUFU表达水平下降( $P<0.05$ )。上述这些标志物蛋

## 3 讨论

结直肠癌在早期阶段时,患者可通过手术进行根治性治疗,其5年生存率大于60%,然而有超过一半的患者确诊时已处在晚期且已发生转移,5年生存率锐降至10%<sup>[1]</sup>。ER是一种由中草药中提取的二萜基化合物,研究<sup>[12]</sup>发现其能够影响口腔鳞状细胞癌细胞的凋亡与自噬。肿瘤细胞的转移早期阶段由EMT完成,主要通过极化上皮细胞使其失去细胞极性和细胞间黏附力以获得间充质表型,EMT能够促进结直肠癌细胞的迁移和侵袭<sup>[13-14]</sup>,因此,抑制EMT进程对于肿瘤治疗具有重要意义。细胞发生EMT的主要表现为上皮标志物E-cadherin表达上升,间

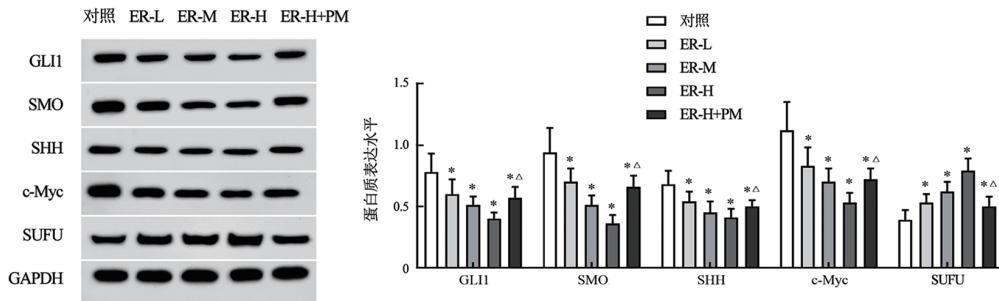
质标志物 N-cadherin、vimentin 表达下调<sup>[15]</sup>。本研究探讨了 ER 对结直肠癌细胞 HT29 的影响,结果显示, ER 可明显抑制 HT29 细胞增殖,并抑制细胞迁移和侵袭能力,这一结果与 SUN 等<sup>[9]</sup>研究结果基本一致,提示 ER 可抑制结直肠癌细胞恶性生物学行为,可作为

结直肠癌治疗的潜在药物。本研究还发现, ER 干预 HT29 细胞后,细胞 E-cadherin 表达上升, N-cadherin、vimentin 表达下降,提示 ER 抑制结直肠癌细胞 EMT 过程。



A: 血管拟态形成实验检测血管形成能力( $\times 40$ ); B: WB 法检测 HT29 细胞中 VEGF 和 VE-cadherin 的表达。与对照组相比,  $P < 0.05$ ; 与 ER-H 组相比,  $\Delta P < 0.05$ 。

图6 ER 与 PM 对 HT29 细胞中 HT29 细胞血管生成能力的影响



与对照组相比,  $P < 0.05$ ; 与 ER-H 组相比,  $\Delta P < 0.05$ 。

图7 WB 法检测 HT29 细胞中 Hedgehog 通路相关蛋白的表达

肿瘤血管的形成和再生对于肿瘤进展具有重要意义,血管生成可通过促血管生成因子如 VEGF 和 VE-cadherin 表达开启,新生血管为肿瘤细胞输送营养、排泄代谢废物,也是肿瘤生长和转移的先决条件<sup>[16]</sup>。CHEN 等<sup>[17]</sup>研究发现, ER 可通过下调肝癌细胞 VEGF 的表达抑制肝癌细胞的血管生成,进而抑制细胞增殖、侵袭和迁移。在本研究中, ER 处理降低了血管生成相关因子 VEGF 和 VE-cadherin 的表达水平,使 HT29 细胞迁移、侵袭能力下降,这一结果与 CHEN 等<sup>[17]</sup>研究结果一致,提示 ER 可以抑制肿瘤细胞血管生成而影响 HT29 细胞恶性生物学行为。

肿瘤血管生成和转移的机制复杂,涉及多种信

号通路,其中 Hedgehog 通路在肿瘤恶性进展中发挥重要作用。Hedgehog 通路由 SHH 与 Ptch1 结合后,释放、激活 SMO,进一步激活 GLI1,然后引起原癌基因 c-Myc 表达上调,完成 Hedgehog 信号转导,促进肿瘤细胞转移。其中 GLI1 是全长转录激活剂,主要受蛋白质抑制因子 SUFU 调节, SUFU 直接阻止 GLI 蛋白质从细胞质转移到细胞核,从而抑制 Hedgehog 信号转导,通过抑制 GLI1、c-Myc 表达,可诱导 SUFU 的表达,促进肿瘤细胞恶性进展<sup>[18-19]</sup>。JIANG 等<sup>[20]</sup>研究发现, Hedgehog 通路抑制剂 GANT61 治疗转移性乳腺癌时,可以抑制肿瘤细胞血管生成、迁移、侵袭和干性获得,抑制肿瘤细胞活性和转移,提示通过抑制

Hedgehog 通路激活可以抑制肿瘤发展。本研究结果显示, ER 处理 HT29 细胞后, 可以抑制 GLI1、SMO、SHH、c-Myc 的表达, 促进 SUFU 表达, 抑制 Hedgehog 通路激活, 提示 ER 抑制 HT29 细胞生长可能是通过抑制 Hedgehog 通路激活而实现的。通过设置 Hedgehog 激活剂组 (ER-H+PM 组), 研究发现 Hedgehog 通路激活剂明显逆转了 ER 对于 HT29 细胞增殖、EMT 和血管生成的抑制作用, 进一步证实了 ER 对结直肠癌的抑制作用可能与抑制 Hedgehog 通路激活有关。

综上所述, ER 可以通过抑制 Hedgehog 通路激活, 从而抑制结直肠癌 HT29 细胞的增殖、迁移、侵袭、EMT 和血管生成。ER 抑制 HT29 细胞转移和血管生成的机制较为复杂, 可能涉及多种通路的协同作用, 本研究仅在一株结直肠癌细胞的单个信号通路中进行了初步研究, 后续将使用不同结直肠癌细胞进一步探究 ER 的作用机制。

#### [参考文献]

- [1] BAIDOUN F, ELSHIWY K, ELKERAIE Y, *et al.* Colorectal cancer epidemiology: recent trends and impact on outcomes[J]. *Curr Drug Targets*, 2021, 22(9): 998-1009. DOI: 10.2174/1389450121999201117115717.
- [2] DEKKER E, TANIS P J, VLEUGELS J L A, *et al.* Colorectal cancer [J]. *Lancet*, 2019, 394(10207): 1467-1480. DOI: 10.1016/s0140-6736(19)32319-0.
- [3] SILVA V R, DE S SANTOS L, DIAS R B, *et al.* Emerging agents that target signaling pathways to eradicate colorectal cancer stem cells[J]. *Cancer Commun*, 2021, 41(12): 1275-1313. DOI: 10.1002/cac2.12235.
- [4] BAUSCH D, FRITZ S, BOLM L, *et al.* Hedgehog signaling promotes angiogenesis directly and indirectly in pancreatic cancer [J]. *Angiogenesis*, 2020, 23(3): 479-492. DOI: 10.1007/s10456-020-09725-x.
- [5] MA Z, LOU S P, JIANG Z. PHLDA2 regulates EMT and autophagy in colorectal cancer via the PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Aging*, 2020, 12(9): 7985-8000. DOI: 10.18632/aging.103117.
- [6] XU H H, DUN S, GAO Y, *et al.* TMEM107 inhibits EMT and invasion of NSCLC through regulating the Hedgehog pathway[J]. *Thorac Cancer*, 2021, 12(1): 79-89. DOI: 10.1111/1759-7714.13715.
- [7] ZHANG H Q, XIE X F, LI G M, *et al.* Erianin inhibits human lung cancer cell growth via PI3K/Akt/mTOR pathway *in vitro* and *in vivo* [J]. *Phytother Res*, 2021, 35(8): 4511-4525. DOI: 10.1002/ptr.7154.
- [8] XIANG Y, CHEN X Y, WANG W G, *et al.* Natural product erianin inhibits bladder cancer cell growth by inducing ferroptosis via NRF2 inactivation[J/OL]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 775506 [2023-03-01]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8585785/>. DOI: 10.3389/fphar.2021.775506.
- [9] SUN Y H, LI G F, ZHOU Q, *et al.* Dual targeting of cell growth and phagocytosis by erianin for human colorectal cancer[J]. *Drug Des Dev Ther*, 2020, 14: 3301-3313. DOI: 10.2147/dDDT.s259006.
- [10] 仇欣霞, 陈荷, 冯德龙, 等. 调控 Smo 活性对成年大鼠神经干细胞增殖和迁移的影响[J]. *南方医科大学学报*, 2021, 41(10): 1588-1592. DOI: 10.12122/j.issn.1673-4254.2021.10.20
- [11] 卢游, 且迪, 伍晋辉, 等. 干预 Sonic Hedgehog 信号通路对宫内发育迟缓新生大鼠学习记忆能力的影响[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2021, 59(5): 82-89. DOI: 10.6040/j.issn.1671-7554.0.2021.0029
- [12] CHEN Y T, HSIEH M J, CHEN P N, *et al.* Erianin induces apoptosis and autophagy in oral squamous cell carcinoma cells[J]. *Am J Chin Med*, 2020, 48(1): 183-200. DOI: 10.1142/s0192415x2050010x.
- [13] ZHANG L, CAI Q Y, LIU J X, *et al.* Ursolic acid suppresses the invasive potential of colorectal cancer cells by regulating the TGF- $\beta$  1/ZEB1/miR-200c signaling pathway[J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(3): 3274-3282. DOI: 10.3892/ol.2019.10604.
- [14] 陈瑜, 崔发财, 张银苹, 等. 转凝蛋白在结直肠癌组织中的表达及其对 SW480 细胞恶性生物学行为的影响[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2021, 28(1): 67-73. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2021.01.011.
- [15] ZHANG Z X, LIN M, WANG J L, *et al.* Calycosin inhibits breast cancer cell migration and invasion by suppressing EMT via BATF/TGF- $\beta$ 1[J]. *Aging*, 2021, 13(12): 16009-16023. DOI: 10.18632/aging.203093.
- [16] UNTERLEUTHNER D, NEUHOLD P, SCHWARZ K, *et al.* Cancer-associated fibroblast-derived WNT2 increases tumor angiogenesis in colon cancer[J]. *Angiogenesis*, 2020, 23(2): 159-177. DOI: 10.1007/s10456-019-09688-8.
- [17] CHEN J Y, LIU J J, XU B X, *et al.* Ethoxy-erianin phosphate and afatinib synergistically inhibit liver tumor growth and angiogenesis via regulating VEGF and EGFR signaling pathways[J/OL]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2022, 438: 115911 [2023-03-01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35143806/>. DOI: 10.1016/j.taap.2022.115911.
- [18] ZHANG J, FAN J, ZENG X, *et al.* Hedgehog signaling in gastrointestinal carcinogenesis and the gastrointestinal tumor microenvironment[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(3): 609-620. DOI: 10.1016/j.apsb.2020.10.022.
- [19] NANTA R, SHRIVASTAVA A, SHARMA J, *et al.* Inhibition of sonic hedgehog and PI3K/Akt/mTOR pathways cooperate in suppressing survival, self-renewal and tumorigenic potential of glioblastoma-initiating cells[J]. *Mol Cell Biochem*, 2019, 454(1): 11-23. DOI: 10.1007/s11010-018-3448-z.
- [20] JIANG C L, WANG X Y, TENG B Y, *et al.* Peptide-targeted high-density lipoprotein nanoparticles for combinatorial treatment against metastatic breast cancer[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, 13(30): 35248-35265. DOI: 10.1021/acsami.1c02074.

[收稿日期] 2023-04-03

[修回日期] 2023-07-10

[本文编辑] 黄静怡