

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.06.004

连翘苷通过激活 Hippo-YAP 信号通路抑制结肠癌 LS180 细胞的恶性生物学行为

郑成富^a, 周贵丰^a, 李青^b, 陈莹^a (滕州市中心人民医院 a. 肛肠外科; b. 检验科, 山东 滕州 277500)

[摘要] **目的:** 探究连翘苷(Phi)通过调控Hippo/YAP信号通路对结肠癌LS180细胞增殖、迁移和侵袭的影响。**方法:** 用不同浓度(0、5、10、20、40、80 $\mu\text{mol/L}$)的Phi处理人结肠癌LS180细胞, MTT法检测24、48和72 h时的细胞活力。将LS180细胞分为对照组、Phi-L(5 $\mu\text{mol/L}$ Phi)组、Phi-M(10 $\mu\text{mol/L}$ Phi)组、Phi-H(20 $\mu\text{mol/L}$ Phi)组、Phi-H+YAP抑制剂维替泊芬(VP)组(20 $\mu\text{mol/L}$ Phi+5 $\mu\text{mol/L}$ VP), 各组均处理24 h。EdU法检测Phi对各组细胞增殖的影响, 划痕愈合实验、Transwell小室法分别检测Phi对细胞迁移和侵袭的影响, 免疫荧光法和WB法检测Phi对细胞Ki-67表达率和LATS1、YAP和p-YAP、MMP-2、MMP-9、E-cadherin、N-cadherin表达的影响。构建LS180细胞移植瘤裸鼠模型, 观察Phi对移植瘤体积和质量的影响, 免疫荧光法和WB法检测移植瘤组织中Ki-67表达率和LATS1、YAP和p-YAP蛋白的表达水平。**结果:** 与对照组比较, Phi-L、Phi-M和Phi-H组LS180细胞EdU阳性率、划痕愈合率、侵袭细胞数、Ki-67阳性率、MMP-2、MMP-9、N-cadherin表达均显著降低(均 $P<0.05$), E-cadherin、LATS1和p-YAP/YAP表达均显著升高(均 $P<0.05$); 同时使用VP则部分逆转了Phi对LS180细胞增殖、迁移与侵袭的抑制作用(均 $P<0.05$)。Phi显著抑制裸鼠移植瘤生长, 与对照组比较, Phi组裸鼠移植瘤体积、质量和Ki-67阳性率均显著降低(均 $P<0.05$), LATS1和p-YAP/YAP水平均显著升高(均 $P<0.05$)。**结论:** Phi可能通过激活Hippo/YAP信号通路抑制结肠癌LS180细胞的恶性生物学行为。

[关键词] 连翘苷; Hippo/Yes信号通路; 结肠癌; LS180细胞; 增殖; 迁移; 侵袭; 小鼠模型**[中图分类号]** R735.3; R730.2; R730.52 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2024)06-0566-07

Phillyrin inhibits the malignant biological behaviors of colon cancer LS180 cells through activation of the Hippo/YAP signaling pathway

ZHENG Chengfu^a, ZHOU Guifeng^a, LI Qing^b, CHEN Ying^a (a. Department of Anorectal Surgery; b. Department of Clinical Laboratory, Tengzhou Central People's Hospital, Tengzhou 277500, Shandong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of phillyrin (Phi) on the proliferation, migration and invasion of colorectal cancer LS180 cells by regulating the Hippo/YAP signaling pathway. **Methods:** Human colon cancer LS180 cells were treated with Phi at different concentrations (0, 5, 10, 20, 40, 80 $\mu\text{mol/L}$), and cell vitality at 24, 48, and 72 h was detected by MTT assay. LS180 cells were divided into the Control group, the Phi-L (5 $\mu\text{mol/L}$ Phi) group, the Phi-M (10 $\mu\text{mol/L}$ Phi) group, the Phi-H (20 $\mu\text{mol/L}$ Phi) group, and the Phi-H+YAP inhibitor verteporfin (VP) group (20 $\mu\text{mol/L}$ Phi+5 $\mu\text{mol/L}$ VP). EdU was applied to detect the effects of Phi on cell proliferation in each group; scratch healing test and Transwell chamber experiments were applied to detect the effects of Phi on cell migration and invasion, respectively; the effects of Phi on Ki-67 expression rate and LATS1, YAP, p-YAP, MMP-2, MMP-9, E-cadherin and N-cadherin expressions were detected by immunofluorescence and WB. A nude mouse model of LS180 cell transplanted tumor was constructed to observe the effects of Phi on the volume and mass of transplanted tumors. Ki-67 expression rate and the expression levels of LATS1, YAP and p-YAP proteins in transplanted tumor tissues were detected by immunofluorescence and WB methods. **Results:** Compared with the Control group, the cell EdU positive rate, scratch healing rate, cell invasion number, Ki-67 positive rate, MMP-2, MMP-9 and N-cadherin expression levels of LS180 cells in the Phi-L, Phi-M, and Phi-H groups decreased significantly (all $P<0.05$), while the expression levels of E-cadherin, LATS1 and p-YAP/YAP increased significantly (all $P<0.05$). The inhibition of Phi on the proliferation, migration and invasion of LS180 cells was partially reversed when VP was used simultaneously. Phi significantly inhibited tumor growth in nude mice. Compared with the Control group, the tumor volume, mass and Ki-67 positive rate of nude mice in the Phi group decreased significantly (all $P<0.05$), while the levels of LATS1 and p-YAP/YAP increased significantly (all $P<0.05$).

[基金项目] 济宁医学院教师科研扶持基金(No. JYFC2018FKJ078)**[作者简介]** 郑成富(1986—),男,硕士,主治医师,主要从事肛肠肿瘤治疗的研究。E-mail: b92vwx@163.com**[通信作者]** 陈莹, E-mail: x74kar@163.com

Conclusion: Phi may inhibit the malignant biological behaviors of colon cancer LS180 cells by activating the Hippo/YAP signaling pathway.

[Key words] phillyrin (Phi); Hippo/YAP signaling pathway; colorectal cancer (CRC); LS180 cell; proliferation; migration; invasion; mouse model

[Chin J Cancer Biother, 2024, 31(6): 566-572. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.06.004]

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是世界上发病率位居第三、病死率位居第二的恶性肿瘤,目前其发病患者的年龄正趋于年轻化^[1]。由于CRC的早期临床症状不明显,许多患者确诊时已处于疾病的晚期,手术切除、放疗、化疗和免疫治疗是其临床主要治疗手段,虽然取得了显著疗效,但患者的预后仍不乐观,多数患者仍有复发和转移的风险。如何降低CRC复发、转移是目前临床和基础研究的重点。连翘苷(phillyrin, Phi)是中药连翘的关键活性化合物,其具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤等药理学作用,在抗肿瘤方面具有巨大的潜力^[2]。研究^[3]认为,Phi对结肠癌细胞活性、增殖有显著的抑制作用。然而,Phi的抗肿瘤机制尚不完全明确。Hippo信号通路在器官发育、组织生长和肿瘤发生中具有重要作用,Yes相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)是Hippo通路的核心效应因子,其与细胞核中其他转录因子结合后,作为转录辅激活因子启动靶基因的转录^[4]。研究结果^[5-6]显示,通过促进YAP磷酸化水平增加,抑制CRC细胞的增殖和迁移。WANG等^[7]研究表明,抑制Hippo/YAP信号转导可降低哺乳动物STE20样激酶1(mammalian STE20-like protein kinase, MST1)、大肿瘤抑制激酶(large tumor suppressor kinase 1, LATS1)和YAP的磷酸化水平,从而促进CRC的进展。目前,有关Phi调控Hippo/YAP信号通路对CRC细胞增殖、迁移与侵袭影响的机制尚不清楚。本研究基于Hippo/YAP信号通路,通过体内外实验观察Phi对结肠癌LS180细胞增殖、迁移和侵袭及裸鼠LS180细胞移植瘤生长的影响,旨在为结肠癌的治疗提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 细胞、实验动物及主要试剂

人结肠癌LS180细胞(AW-CCH128)购自长沙艾碧维生物科技有限公司。BALB/c裸鼠[实验动物合格证号SCXK(滇)2022-0003]购自云南达生生物科技有限公司。

Phi(HB0010,纯度>98%)购自江苏永健医药科技有限公司,Hippo/YAP通路抑制剂维替泊芬(verteporfin, VP;HY-B0146)购自MCE公司,MTT细胞活力检测试剂盒(FKU0190)购自合肥万物生物科技有限公司,EdU细胞增殖检测试剂盒(E-CK-A375)购自武汉伊莱瑞特

生物科技股份有限公司,Ki-67(ab16667)、LATS1(ab243656)、MMP-2(ab92536)、MMP-9(ab76003)、E-cadherin(ab227639)、N-cadherin(ab76011)、GAPDH(ab128915)抗体、FITC标记的羊抗兔IgG和HRP标记的山羊抗兔IgG(ab150077)均购自Abcam公司,YAP(4912)和p-YAP(4911)抗体购自Cell Signaling Technology公司。

1.2 MTT法检测不同浓度的Phi对LS180细胞活力的影响

将对数生长期LS180细胞接种于96孔板中,使用不同浓度(0、5、10、20、40、80 $\mu\text{mol/L}$)的Phi分别处理24、48和72 h,每孔中加入20 μL MTT溶液处理4 h,后加入100 μL 的DMSO溶液振荡摇匀,在酶标仪490 nm波长处检测各孔的光密度(D)值,并计算细胞存活率。细胞存活率=(实验组D值-空白组D值)/(对照组D值-空白组D值) $\times 100\%$,筛选出适合的Phi浓度进行后续实验。

1.3 细胞培养及分组处理

LS180细胞在RPMI 1640培养基中,于37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的培养箱中培养,细胞汇合度达到80%以上时进行消化并传代。

将对数生长期LS180细胞分为对照组、Phi低剂量(Phi-L)组、Phi中剂量(Phi-M)组、Phi高剂量(Phi-H)组、Phi-H+VP组。Phi-L、Phi-M、Phi-H组分别使用5、10、20 $\mu\text{mol/L}$ 的Phi处理24 h;Phi-H+VP组使用20 $\mu\text{mol/L}$ 的Phi和5 $\mu\text{mol/L}$ 的VP^[8]处理24 h;对照组细胞给予等量的生理盐水和DMSO处理24 h。

1.4 EdU法检测Phi对LS180细胞增殖的影响

将各组LS180细胞接种在96孔板(1×10^5 个/孔)中,培养48 h后,向每个孔中加入100 μL 的EdU溶液处理2 h后,在4%多聚甲醛溶液中固定30 min,加入500 μL 的点击化学反应液作用30 min,最后加入500 μL 的DAPI试剂染色10 min。在荧光显微镜下($\times 200$)拍照、观察细胞的增殖情况,依据公式“EdU阳性细胞率=EdU阳性细胞数/细胞总数 $\times 100\%$ ”计算EdU阳性细胞率。

1.5 划痕愈合实验检测Phi对LS180细胞迁移的影响

将各组密度为 1×10^7 个/mL 1 mL的LS180细胞接种于六孔培养板中培养,待细胞汇合度达到90%时,使用移液器吸头尖端在细胞板上沿纵轴划痕,用PBS小心地将分离的细胞从平板上清除,加入含有

10% FBS 的培养基, 在 37 °C、5%CO₂ 培养箱中培养。分别在 0、24 h 时, 使用光学显微镜观察并拍照, 并依据公式“划痕愈合率=(24 h 时划痕面积-0 h 时划痕面积)/0 h 时划痕面积×100%”计算细胞划痕愈合率。

1.6 Transwell 小室法检测 Phi 对 LS180 细胞侵袭的影响

取各组 LS180 细胞, 将 100 μL 密度为 1×10⁵ 个/mL 的细胞悬液注入预铺基质胶的 Transwell 上室中, 下室内加入 500 μL 10% FBS 完全培养基, 在 37 °C、5%CO₂ 条件下培养 24 h, 4% 甲醛溶液固定 20 min, 0.1% 结晶紫溶液中染色 15 min。在光学显微镜下观察、拍照, 并计算侵袭细胞数。

1.7 免疫荧光法检测 Phi 对 LS180 细胞 Ki-67 蛋白表达的影响

取各组 LS180 细胞, 4% 甲醛溶液固定后, 在羊血清中封闭 30 min 后与稀释比例为 1:100 的 Ki-67 一抗 4 °C 下处理过夜。次日, 在稀释比例为 1:200 的 FITC 标记的羊抗兔二抗中室温处理 1 h, DAPI 染色后, 荧光显微镜(×200)下选择 5 个视野观察 Ki-67 表达情况, 计算这些视野中阳性细胞率。

1.8 WB 法检测 Phi 对 LS180 细胞迁移、侵袭、EMT 及 Hippo/YAP 通路相关蛋白表达的影响

使用 RIPA 裂解缓冲液提取各组 LS180 细胞总蛋白, BCA 法测定蛋白质浓度, 取等量蛋白样品进行 10% SDS-PAGE, 将蛋白质条带转移到 PVDF 膜上, 在 5% 脱脂牛奶中封闭 1 h, 加入稀释比例均为 1:1 000 的 LATS1、YAP 和 p-YAP、MMP-2、MMP-9、E-cadherin、N-cadherin 和 GAPDH 一抗, 4 °C 下处理过夜。清洗后, 在稀释比例为 1:4 000 的 HRP 标记的二抗中室温下处理 1 h, 用电化学法曝光、显影, Image J 软件分析蛋白质条带的灰度值。

1.9 LS180 细胞移植瘤裸鼠模型的构建及观察

将 8 周龄、体质量为 (18±2)g 的 BALB/c 裸鼠适应性喂养 7 d 后, 于裸鼠前肢腋部皮下注射 LS180 细胞 (2×10⁶ 个/只), 待移植瘤长至 100 mm³ 大小时将裸鼠分为对照组和 Phi 组 (6 只/组)。Phi 组裸鼠腹腔注射 Phi 溶液 (50 mg/kg) 0.1 mL/2 d^[9], 对照组裸鼠以相同方式注射等量的生理盐水。此后, 每 10 d 测量一次移植瘤体积, 30 d 后颈椎脱臼法处死各组裸鼠, 分离移植瘤、测量体积并称质量。切取部分移植瘤组织标本行免疫荧光染色检测 Ki-67 阳性表达率 (方法同 1.7), WB 法检测 LATS1、YAP 和 p-YAP 蛋白的表达水平 (方法同 1.8)。

1.10 统计学处理

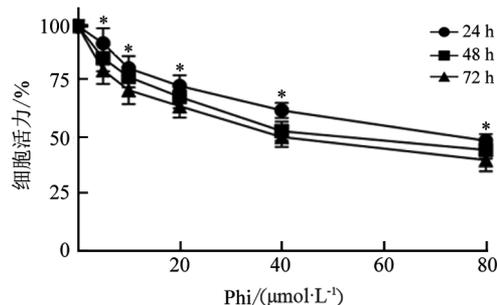
以上主要实验均独立重复 3 次。采用 SPSS 20.0 统计软件分析实验数据。符合正态分布的计量数

据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间数据比较采用单因素方差分析, 两组间数据比较采用 LSD-*t* 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 Phi 显著抑制 LS180 细胞活力

MTT 法检测结果 (图 1) 显示, 不同浓度的 Phi 处理 LS180 细胞 24、48 和 72 h 后, 细胞活力均显著降低 (均 $P < 0.05$)。其中, 经 40 和 80 μmol/L 的 Phi 处理的 LS180 细胞活力较低, 因此选择 5、10、20 μmol/L 三个剂量的 Phi 进行后续实验。



与对照 (0 μmol/L) 组比较, * $P < 0.05$ 。

图 1 MTT 法检测不同浓度 Phi 对 LS180 细胞活力的影响

2.2 Phi 可显著降低 LS180 细胞的增殖能力

EdU 法检测结果 (图 2) 显示, 与对照组比较, Phi-L、Phi-M 和 Phi-H 组 LS180 细胞 EdU 阳性率呈浓度依赖性降低 (均 $P < 0.01$); 与 Phi-H 组比较, Phi-H+VP 组细胞 EdU 阳性率显著升高 ($P < 0.01$)。结果表明, 低、中、高浓度的 Phi 均可抑制 LS180 细胞的增殖能力, 而同时使用 VP 则可部分逆转 Phi 对细胞增殖的抑制作用。

2.3 Phi 可显著降低 LS180 细胞的迁移和侵袭能力

划痕愈合实验、Transwell 小室和 WB 法检测结果 (图 3) 显示, 与对照组比较, Phi-L、Phi-M 和 Phi-H 组 LS180 细胞划痕愈合率、侵袭细胞数、MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达均呈浓度依赖性降低 (均 $P < 0.01$); 与 Phi-H 组比较, Phi-H+VP 组细胞的划痕愈合率、侵袭细胞数、MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达均显著升高 (均 $P < 0.01$)。结果表明, 低、中、高浓度的 Phi 均可抑制 LS180 细胞的迁移和侵袭能力, 同时使用 VP 则可部分逆转 Phi 对细胞迁移和侵袭的抑制作用。

2.4 Phi 对 LS180 细胞中 Ki-67、E-cadherin、N-cadherin、LATS1、p-YAP/YAP 蛋白表达的影响

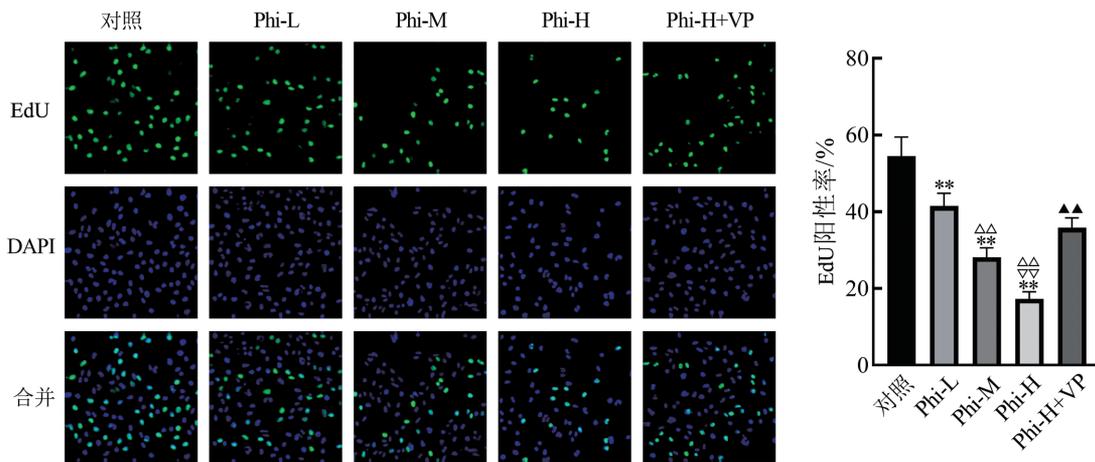
免疫荧光法、WB 法检测结果 (图 4) 显示, 与对照组比较, Phi-L、Phi-M 和 Phi-H 组 LS180 细胞 Ki-67 阳性率、N-cadherin 表达均显著降低 (均 $P < 0.01$),

E-cadherin、LATS1、p-YAP/YAP水平均显著升高(均 $P<0.01$)。与Phi-H组比较,Phi-H+VP组细胞E-cadherin、LATS1和p-YAP/YAP水平显著降低(均 $P<0.01$),Ki-67阳性率、N-cadherin表达均显著升高(均 $P<0.01$)。以上实验结果表明,低、中、高浓度的Phi均可抑制LS180细胞增殖、EMT进程并激活Hippo/YAP信号通路,同时使用VP则可部分逆转Phi对细胞增殖、EMT的抑制作用及对Hippo/YAP信号

通路的激活作用。

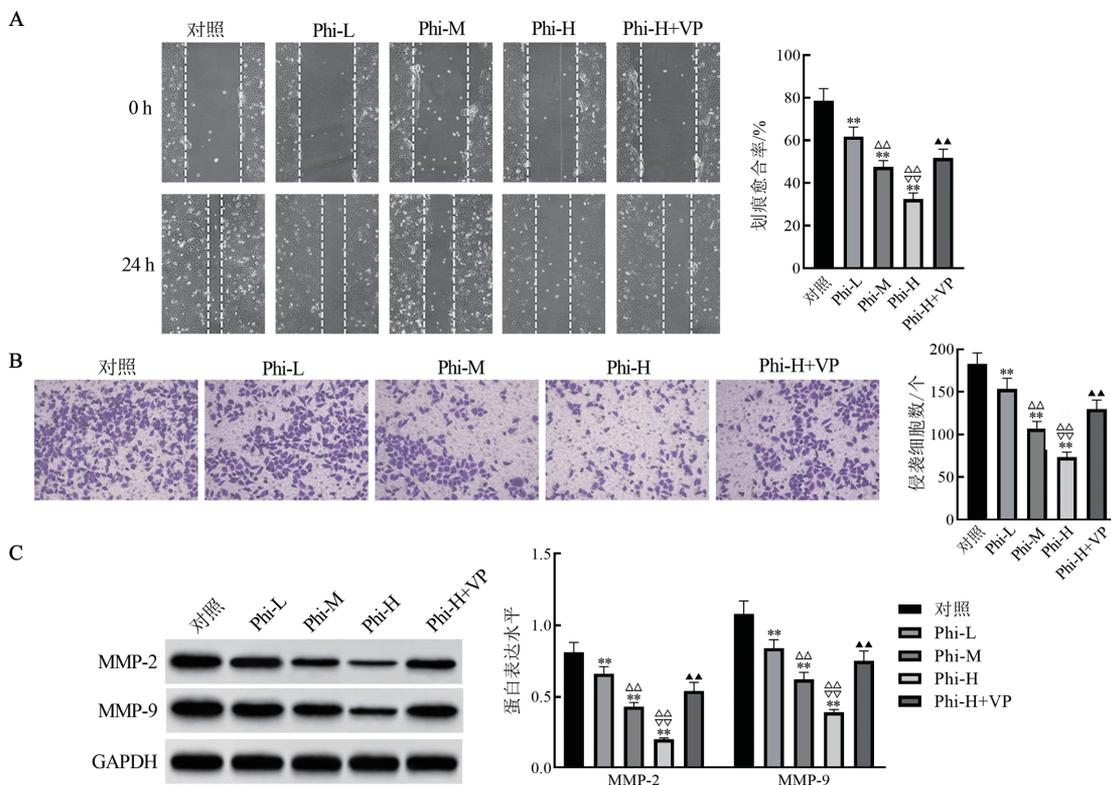
2.5 Phi可显著抑制裸鼠LS180细胞移植瘤的生长

荷瘤裸鼠实验结果(图5)显示,与对照组比较,Phi组裸鼠移植瘤体积和质量、Ki-67阳性率均显著降低(均 $P<0.01$),移植瘤组织中LATS1和p-YAP/YAP水平均显著升高(均 $P<0.01$)。结果表明,Phi在体内显著抑制裸鼠LS180细胞移植瘤的生长。



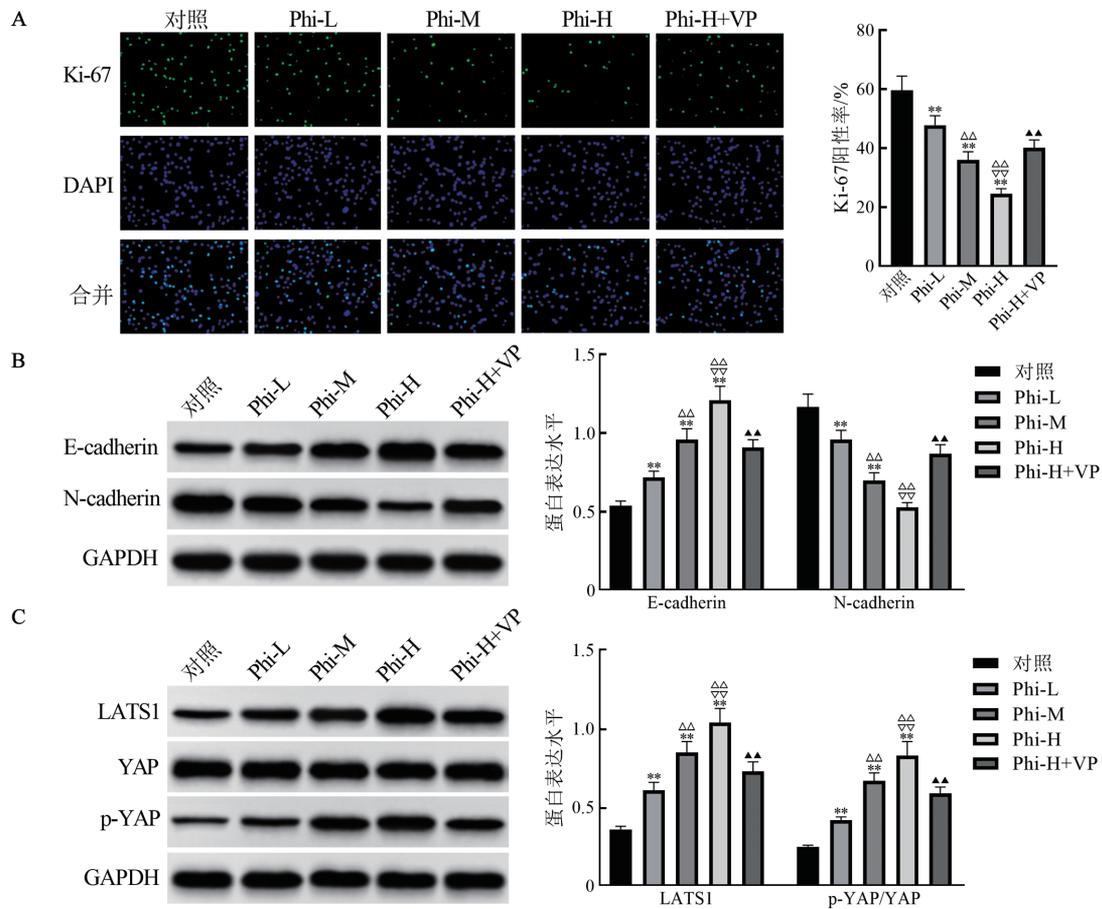
与对照组比较,** $P<0.01$;与Phi-L组比较,^{△△} $P<0.01$;与Phi-M组比较,^{▽▽} $P<0.01$;与Phi-H组比较,^{▲▲} $P<0.01$ 。

图2 EdU法检测Phi及PV对LS180细胞增殖的影响($\times 200$)



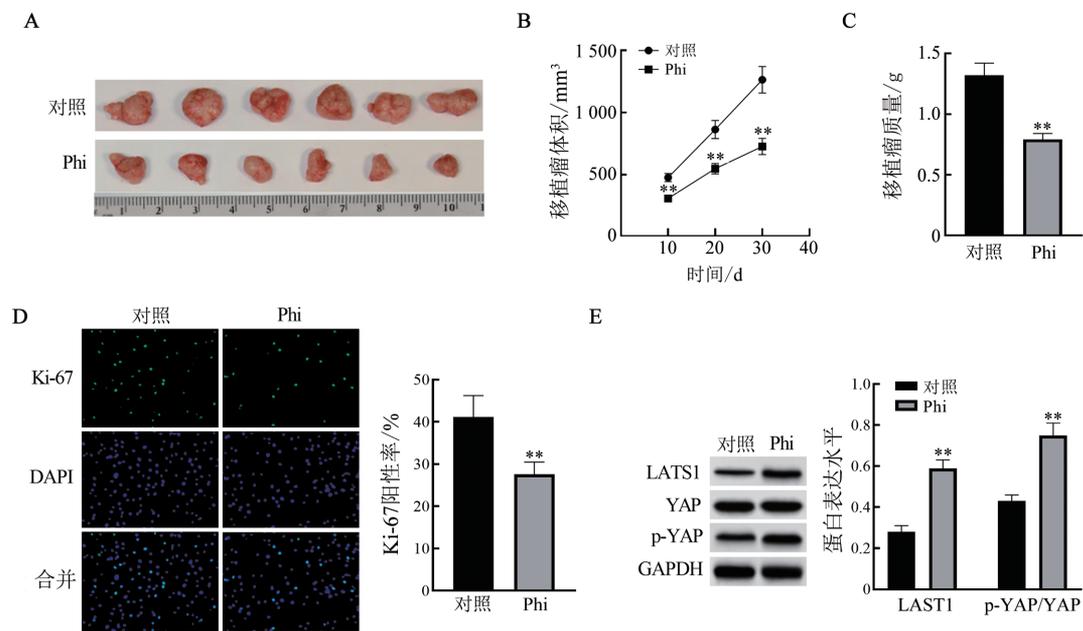
A: 划痕愈合实验检测细胞迁移能力($\times 50$);B: Transwell小室法检测细胞侵袭能力(结晶紫染色, $\times 200$);C: WB法检测细胞中MMP-2和MMP-9表达水平。与对照组比较,** $P<0.01$;与Phi-L组比较,^{△△} $P<0.01$;与Phi-M组比较,^{▽▽} $P<0.01$;与Phi-H组比较,^{▲▲} $P<0.01$ 。

图3 Phi及PV对LS180细胞迁移和侵袭及MMP-2和MMP-9表达的影响



A: 免疫荧光法检测 Ki-67 阳性率($\times 200$); B: WB 法检测 E-cadherin、N-cadherin 的表达; C: WB 法检测 LATS1 和 p-YAP/YAP 蛋白的表达。与对照组比较, $^{**}P < 0.01$; 与 Phi-L 组比较, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$; 与 Phi-M 组比较, $^{\nabla\nabla}P < 0.01$; 与 Phi-H 组比较, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$ 。

图 4 Phi 及 PV 对 LS180 细胞增殖、EMT 及 Hippo/YAP 通路相关蛋白表达的影响



A: 两组裸鼠移植瘤外形比较; B: Phi 对裸鼠移植瘤体积的影响; C: Phi 对裸鼠移植瘤质量的影响; D: 免疫荧光法检测移植瘤组织中 Ki-67 表达率($\times 200$); E: WB 法检测移植瘤组织中 LATS1、YAP 和 p-YAP 蛋白水平。与对照组比较, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ 。

图 5 Phi 对裸鼠 LS180 细胞移植瘤生长及 Ki-67、LATS1、YAP 和 p-YAP 蛋白表达的影响

3 讨论

CRC 是消化道常见的恶性肿瘤之一,目前手术及放疗的治疗方式虽有一定效果但预后较差^[9]。因此,寻找新的药物及治疗靶点对 CRC 的临床治疗具有重大意义。天然药物在抗肿瘤方面有着多途径、多靶点和不良反应小等优势,是极具潜力的抗肿瘤药物^[3]。Phi 是连翘中的关键活性物质,具有抗肿瘤作用^[10]。研究^[11]发现,Phi 可降低食管上皮恶性转变细胞及食管癌细胞的存活率。Phi 可抑制体内外鼻咽癌细胞生长,促进鼻咽癌细胞铁死亡^[12]。此外,Phi 在体内外均能减弱结肠癌细胞增殖及干细胞特性^[3]。本研究结果显示,Phi 可显著抑制 LS180 细胞的活力,且细胞活力随着 Phi 浓度增加而降低,表明 Phi 对 CRC 有抗肿瘤作用。

细胞异常增殖与分化、肿瘤细胞凋亡抵抗、侵袭和转移等病理机制与 CRC 的发生发展密切相关^[13]。Ki-67 是一种与细胞增殖相关的核蛋白,在 CRC 组织中呈高表达,其高表达往往破坏正常细胞的增殖机制,导致肿瘤的发生^[14]。MMP-2 和 MMP-9 家族是 MMP 的主要成员,两者在 CRC 中表达增加,抑制 MMP-9 和 MMP-2 的表达能诱导细胞凋亡、自噬并抑制细胞迁移和侵袭^[15]。此外,EMT 是导致肿瘤细胞转移的主要因素,上皮表型(E-cadherin 表达下降)向间质表型(N-cadherin 表达升高)的转换是使肿瘤细胞更具迁移和侵袭性的关键^[16]。研究^[17]显示,Phi 能降低 Ki-67、MMP-2、MMP-9 的表达,抑制胃癌 AGS 细胞的增殖、迁移和侵袭。本研究结果显示,Phi 处理后的 LS180 细胞增殖、侵袭和迁移能力均显著降低,且 E-cadherin 的蛋白水平升高, Ki-67 阳性率、MMP-2、MMP-9、N-cadherin 的蛋白水平降低,表明 Phi 能够抑制 LS180 细胞的恶性生物学行为。

Hippo 通路失调和 YAP 过度激活常见于多种类型肿瘤,与肿瘤的发生发展有关,YAP 受 Hippo 途径上游成分[大型肿瘤抑制同源物(LATS)激酶、哺乳动物 STE20 样蛋白(MST)激酶等,统称为 Hippo 激酶]的负调控。当 Hippo 通路被激活时,MST 激活后能磷酸化 LATS1,进一步磷酸化 YAP,使其保留在细胞质中,通过泛素-蛋白酶体通路被降解,进而阻止 YAP 向细胞核转运,抑制其下游基因的转录。当 Hippo 通路失调时,细胞质 YAP 易位到细胞核以形成与转录增强因子(TEAD)的复合物,激活下游基因的转录,调节细胞增殖、EMT、转移、细胞存活等^[18-19]。SHEN 等^[20]研究发现,SNHG14 与 YAP 相互作用,从而使 Hippo 通路失活,增强 YAP 靶向的 KRAS 在 CRC 中的表达,促进 CRC 细胞增殖。另有研究^[21]发现,在结肠

癌中 YAP 的高表达促进 EMT 进程及肿瘤迁移与侵袭,通过激活 Hippo/YAP 信号传导,增加磷酸化 YAP 水平,降低 YAP 蛋白水平,发挥抗肿瘤活性。本研究结果显示,Phi 可上调 YAP 磷酸化水平和 LATS1 水平,而通路抑制剂 VP 则部分逆转了 Phi 对 LS180 细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用。移植瘤裸鼠实验也证实,Phi 能显著抑制 LS180 细胞移植瘤的体内生长,表明 Phi 可能通过激活 Hippo/YAP 信号通路抑制 LS180 细胞的恶性生物学行为。

综上所述,Phi 能抑制结肠癌 LS180 细胞的增殖、迁移和侵袭等恶性生物行为,发挥抗肿瘤作用,其机制可能与激活 Hippo/YAP 信号通路、上调 YAP 磷酸化水平相关。本研究初步探究了 Phi 调控 Hippo/YAP 信号通路对 LS180 细胞恶性生物行为的影响,但结肠癌的发病机制复杂,Phi 能否通过其他途径发挥抗结肠癌活性仍需进一步探索。未来将采用其他结肠癌细胞系并结合体内实验深入探索 Phi 抗结肠癌的具体作用机制。

[参考文献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, GODING SAUER A, *et al.* Colorectal cancer statistics, 2020[J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(3): 145-164. DOI: 10.3322/caac.21601.
- [2] ZHOU C Y, LU M Y, CHENG J L, *et al.* Review on the pharmacological properties of phillyrin[J/OL]. *Molecules*, 2022, 27(12): 3670[2023-11-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9231344/>. DOI: 10.3390/molecules27123670.
- [3] 毛肖瑜, 阮小娇. 连翘苷通过 Wnt/ β -catenin 通路抑制体内外结肠癌增殖和干细胞特性[J]. *浙江中医药大学学报*, 2023, 47(8): 843-851. DOI: 10.16466/j.issn1005-5509.2023.08.002.
- [4] DENG F H, WU Z R, ZOU F, *et al.* The hippo-YAP/TAZ signaling pathway in intestinal self-renewal and regeneration after injury[J/OL]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 894737[2023-11-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9343807/>. DOI: 10.3389/fcell.2022.894737.
- [5] LI S Q, YAN G Q, LIU W, *et al.* Circ0106714 inhibits tumorigenesis of colorectal cancer by sponging miR-942-5p and releasing DLG2 via Hippo-YAP signaling[J]. *Mol Carcinog*, 2020, 59(12): 1323-1342. DOI: 10.1002/mc.23259.
- [6] 刘晓璐, 马妍, 刘荣兴, 等. 和厚朴酚抑制结肠癌 SW620 细胞增殖与 TGF- β 1/p38 MAPK/Hippo 信号传导的关系[J]. *中国药理学通报*, 2021, 37(11): 1577-1584. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1978.2021.11.018.
- [7] WANG X, CHEN Y J, LIU W, *et al.* Hsa_circ_0128846 promotes tumorigenesis of colorectal cancer by sponging hsa-miR-1184 and releasing AJUBA and inactivating Hippo/YAP signaling[J/OL]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(17): 9908-9924[2023-11-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7520282/>. DOI: 10.1111/jcmm.15590.
- [8] 程燕敏. ELMO3 通过抑制 Hippo 信号通路促进结肠癌发展进程的研究[D]. 南昌大学医学部, 2022.
- [9] 易婧雅, 曹东林, 姚亚超. 结肠直肠癌根治性手术联合免疫治疗的临床应用研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2023, 30(4): 352-

356. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.04.011.
- [10] 齐丽娜, 陈炫好, 金华, 等. 中药连翘化学成分及药理活性研究进展[J]. 天津中医药大学学报, 2021, 40(2): 168-175. DOI: 10.11656/j.issn.1673-9043.2021.02.07.
- [11] 郭子琪, 王少康, 桂兰兰, 等. 连翘苷对食管上皮恶性转变细胞和食管癌Eca-109细胞的抑制作用及机制[J]. 食品科学, 2022, 43(15): 176-184. DOI: 10.7506/spkx1002-6630-20220104-021.
- [12] 李绍霄, 李邦亮. 连翘苷经 miR-545-3p/SLC7A11 途径诱导鼻咽癌细胞铁死亡[J]. 中药新药与临床药理, 2023, 34(9): 1179-1186.
- [13] IONESCU V A, GHEORGHE G, BACALBASA N, *et al.* Colorectal cancer: from risk factors to oncogenesis[J/OL]. *Medicina*, 2023, 59(9): 1646[2023-11-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10537191/>. DOI: 10.3390/medicina59091646.
- [14] 徐燕, 雷俊平, 尚松, 等. 结直肠癌中错配修复蛋白 MLH1、PMS2、MSH2、MSH6 和 Ki-67 表达的意义及与预后的关系[J]. 广东医学, 2023, 44(1): 90-95. DOI: 10.13820/j.cnki.gdyx.20224005.
- [15] ZHANG Z H, XU M, SUN X, *et al.* Naturally occurring glycyrrhizin triterpene exerts anticancer effects on colorectal cancer cells *via* induction of apoptosis and autophagy and suppression of cell migration and invasion by targeting MMP-9 and MMP-2 expression[J]. *J BUON*, 2020, 25(1): 188-193.
- [16] HWANG K E, KIM H J, SONG I S, *et al.* Salinomycin suppresses TGF- β 1-induced EMT by down-regulating MMP-2 and MMP-9 *via* the AMPK/SIRT1 pathway in non-small cell lung cancer[J/OL]. *Int J Med Sci*, 2021, 18(3): 715-726[2023-11-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7797542/>. DOI: 10.7150/ijms.50080.
- [17] 邓明, 邓芳, 陈志坚, 等. 连翘苷对胃癌细胞 AGS 增殖、迁移和侵袭的抑制作用[J]. 中成药, 2022, 44(9): 3009-3012. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.09.049.
- [18] HSU P C, YANG C T, JABLONS D M, *et al.* The crosstalk between Src and hippo/YAP signaling pathways in non-small cell lung cancer (NSCLC) [J/OL]. *Cancers*, 2020, 12(6): 1361[2023-11-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7352956/>. DOI: 10.3390/cancers12061361.
- [19] BIAN S B, YANG Y, LIANG W Q, *et al.* Leukemia inhibitory factor promotes gastric cancer cell proliferation, migration, and invasion *via* the LIFR-Hippo-YAP pathway[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2021, 1484(1): 74-89. DOI: 10.1111/nyas.14466.
- [20] SHEN M M, SU Y, SONG S B, *et al.* SNHG14 facilitates cell proliferation in colorectal cancer through targeting KRAS *via* Hippo-YAP signaling[J]. *Cell Mol Biol*, 2023, 69(3): 64-68. DOI: 10.14715/cmb/2023.69.3.8.
- [21] QIN X Y, LUO H H, DENG Y X, *et al.* Resveratrol inhibits proliferation and induces apoptosis *via* the Hippo/YAP pathway in human colon cancer cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022, 636(Pt 1): 197-204. DOI: 10.1016/j.bbrc.2022.10.077.

[收稿日期] 2023-11-09

[修回日期] 2024-03-06

[本文编辑] 党瑞山