

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.07.004

2',4'-二羟基查尔酮通过调控 miR-7-5p 诱导自噬抑制结直肠癌细胞增殖和迁移

苏朝霞^{1△}, 王南苗^{1△}, 陈丹¹, 韩有艳¹, 毕遥¹, 王彤¹, 安仁波^{1,2}, 朴英实^{1,3}, 任香善^{1,3}, 李文静^{1,4} (1. 延边大学附属医院 中心实验室&延边大学肿瘤生物学国家民委重点实验室&延边大学长白山天然药物研究教育部重点实验室, 吉林 延吉 133002; 2. 延边大学 药学院, 吉林 延吉 133002; 3. 延边大学医学院 病理学教研室, 吉林 延吉 133002; 4. 延边大学附属医院 麻醉科, 吉林 延吉 133002)

[摘要] **目的:** 探讨 2',4'-二羟基查尔酮(D2)通过调控 miR-7-5p 诱导自噬, 抑制结直肠癌细胞增殖、迁移及上皮间质转化(EMT)的分子机制。 **方法:** 选取结直肠癌细胞系 HCT-15、SW620 为研究对象, 分别用不同浓度(0、12.5、25、50 $\mu\text{mol/L}$)的 D2 处理细胞, 采用 MTT 法和平板克隆实验检测细胞增殖活力及克隆形成能力, 划痕愈合实验及 Transwell 实验评估细胞迁移能力, WB 法检测 EMT 相关蛋白、自噬相关蛋白及 PI3K/AKT/mTOR 信号通路蛋白的表达情况, 免疫荧光染色法观察自噬小体的形成。基于 TCGA 数据库分析 miR-7-5p 在结直肠癌中的表达水平, 并借助 KEGG 富集分析探究 miR-7-5p 与结直肠癌的关联。运用 RT-qPCR 检测 miR-7-5p 的表达量, 同时采用慢病毒转染技术构建 miR-7-5p 稳定敲低或过表达的细胞系。 **结果:** D2 抑制结直肠癌细胞的增殖、迁移及 EMT 进程($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。TCGA 数据库分析及 KEGG 富集分析显示, miR-7-5p 在结直肠癌中呈低表达, 且与结直肠癌的发生有密切关联。12.5、25、50 $\mu\text{mol/L}$ D2 处理均可上调 HCT-15、SW620 细胞 miR-7-5p 的表达水平(均 $P < 0.01$)。25 $\mu\text{mol/L}$ D2 处理组 HCT-15、SW620 细胞中 LC3、p-ULK1 等自噬相关蛋白表达增加, 而 PI3K/AKT/mTOR 信号通路受到抑制(均 $P < 0.05$), 细胞内自噬小体数量增加(均 $P < 0.01$); 与 D2 单独处理组相比, 经 D2 处理的 miR-7-5p 敲减细胞中 LC3、p-ULK 表达量有所下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。 **结论:** D2 通过调控 miR-7-5p 诱导自噬, 抑制结直肠癌细胞的增殖、迁移及 EMT 进程, 其机制可能与抑制 PI3K/AKT/mTOR 信号通路有关。

[关键词] 结直肠癌; 2',4'-二羟基查尔酮; 自噬; 细胞增殖; 上皮间质转化

[中图分类号] R735.3; R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2025) 07-0698-08

2', 4'-dihydroxychalcone inhibits the proliferation and migration of colorectal cancer cells by regulating miR-7-5p-induced autophagy

SU Zhaoxia^{1△}, WANG Nanmiao^{1△}, CHEN Dan¹, HAN Youyan¹, BI Yao¹, WANG Tong¹, AN Renbo^{1,2}, PIAO Yingshi^{1,3}, REN Xiangshan^{1,3}, LI Wenjing^{1,4} (1. Central Laboratory of Yanbian University Affiliated Hospital & Yanbian University State Key Laboratory of Tumor Biology & Yanbian University Key Laboratory of Natural Medicine Research in Changbai Mountain, Yanji 133002, Jilin, China; 2. School of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133002, Jilin, China; 3. Department of Pathology, College of Medicine, Yanbian University, Yanji 133002, Jilin, China; 4. Department of Anesthesiology, Yanbian University Affiliated Hospital, Yanji 133002, Jilin, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the molecular mechanism by which 2', 4'-dihydroxychalcone (D2) inhibits proliferation, migration, and epithelial-mesenchymal transition (EMT) in colorectal cancer cells through miR-7-5p-mediated autophagy. **Methods:** Human colorectal cancer cell lines HCT-15 and SW620 were treated with D2 at concentrations of 0, 12.5, 25, and 50 $\mu\text{mol/L}$. Cell proliferation and clonogenic capacity were evaluated using MTT and colony formation assays. Cell migration was assessed by wound healing and Transwell assays. WB assay was used to detect the expression of EMT-related proteins, autophagy-related proteins, and key components of the PI3K/AKT/mTOR pathway. Autophagosome formation was visualized by immunofluorescence staining. TCGA database and KEGG pathway analyses were performed to evaluate miR-7-5p expression and its association with colorectal cancer. RT-qPCR was used to quantify miR-7-5p expression, and lentiviral transduction was employed to establish stable miR-7-5p knockdown

[基金项目] 国家自然科学基金项目(No. 82260678);吉林省科技厅项目(No. YDZJ202201ZYTS173)

[作者简介] 苏朝霞(1999—),女,硕士生,主要从事肿瘤分子病理学相关研究;王南苗(1997—),女,硕士生,主要从事肿瘤分子病理学相关研究。[△]为共同第一作者

[通信作者] 李文静(扫码获取作者联系方式)



or overexpression cell lines. **Results:** D2 significantly inhibited colorectal cancer cell proliferation, migration, and EMT ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). TCGA and KEGG analyses revealed that miR-7-5p expression was downregulated in colorectal cancer and closely associated with disease progression. D2 treatment (12.5, 25, and 50 $\mu\text{mol/L}$) significantly upregulated miR-7-5p expression in HCT-15 and SW620 cells ($P < 0.01$). At 25 $\mu\text{mol/L}$, D2 increased the expression of autophagy-related proteins (LC3 and p-ULK1) and inhibited the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway ($P < 0.05$), accompanied by increased autophagosome formation ($P < 0.01$). In miR-7-5p-knockdown cells treated with D2, the levels of LC3 and p-ULK1 were significantly reduced compared to D2-only treated cells ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** D2 upregulates miR-7-5p to induce autophagy, thereby inhibiting colorectal cancer cell proliferation, migration, and EMT, possibly through suppression of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway.

[Key words] colorectal cancer; 2',4'-dihydroxychalcone (D2); autophagy; cell proliferation; epithelial-mesenchymal transition (EMT)

[Chin J Cancer Biother, 2025, 32(7): 698-705. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.07.004]

在全球范围内,结直肠癌是高发恶性肿瘤,2020年新发病例约193万例,发病率居恶性肿瘤第4位^[1]。该病具有发病隐匿,诊断时多已在晚期、预后差、晚期患者放化疗效果不佳等特点^[2],亟需开发新靶点与药物。2',4'-二羟基查尔酮(2',4'-dihydroxychalcone, D2)是提取自东北岩高兰的黄酮类化合物^[3]。岩高兰粗提物可明显抑制胆管癌细胞的增殖和迁移^[4]。在胃癌、前列腺癌等肿瘤中,D2通过诱导凋亡或阻滞细胞周期来抑制肿瘤细胞的增殖^[5-6],但在结直肠癌中的作用机制尚未明确。miRNA是长约22 nt的非编码RNA,通过结合基因3'/5' UTR区抑制翻译^[7]。miR-7-5p在透明肾母细胞癌^[8]、结直肠癌^[9-10]和乳腺癌^[11]中发挥抑癌作用。有研究表明,结直肠癌放射抵抗细胞中miR-7-5p表达显著低于亲代细胞,其低表达提示患者不良预后^[10,12];过表达miR-7-5p可抑制结直肠癌细胞的增殖、迁移,且血清miR-7-5p水平有望成为非侵入性预后标志物^[10,12]。自噬作为细胞内的清洁和防御机制,能够通过抑制炎症、维持基因组稳定及增强免疫应答阻遏肿瘤发生^[13]。结直肠癌治疗中,靶向自噬可有效缓解化疗耐药性,已成为一种有吸引力的癌症预防策略^[14]。本研究旨在探究D2调控miR-7-5p与自噬的分子机制,为结直肠癌治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞及主要试剂

人结直肠腺癌细胞(HCT-15、SW620)由延边大学肿瘤研究中心提供。HCT-15细胞用含10%的胎牛血清和1%双抗的RPMI 1640与DMEM混合培养基(1:1)培养,SW620细胞用含10%的胎牛血清和1%双抗的RPMI 1640培养基常规培养。待细胞增殖至70%~80%时,取对数生长期细胞进行下一步实验。

RPMI 1640培养基、DMEM培养基购自上海absin(爱必信)公司,胎牛血清购自奥普赛公司,PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT、mTOR、p-mTOR、E-cadherin、vimentin、微管相关蛋白1轻链 β 3(microtubule-associated protein 1 light chain β 3,

LC3B)、p62、unc-51样激酶1(unc-51 like autophagy activating kinase 1, ULK1)、磷酸化ULK1(p-ULK1)抗体均购自美国Cell Signaling Technology公司,MMP2、MMP9、snail、slug、 β -actin抗体均购自美国Proteintech公司,MTT、二甲基亚砜(DMSO)均购自中国索莱宝生物公司。

1.2 MTT法检测D2对HCT-15、SW620细胞增殖的影响

将HCT-15、SW620细胞接种于96孔板,每孔加入 5×10^3 个细胞,用0、12.5、25、50 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的D2处理24、48、72 h,每孔加入100 μL 质量浓度为1 mg/mL的MTT,继续培养4 h后加入100 μL DMSO,用全波长酶标仪测量490 nm处的光密度(D)值,并进行统计学分析。细胞增殖率=(实验组 D 值-调零孔 D 值)/(空白对照组 D 值-调零孔 D 值) $\times 100\%$ 。

1.3 克隆形成实验检测D2对HCT-15、SW620细胞克隆形成能力的影响

将HCT-15、SW620细胞接种于6孔板中(每孔500个),次日加入终浓度0、12.5、25、50 $\mu\text{mol/L}$ 的D2。继续培养约2周或待生长至肉眼可见的细胞集落时,终止培养。PBS清洗,使用多聚甲醛固定并加结晶紫染色过夜,流水洗净后放置室温干燥。

1.4 划痕愈合实验检测D2对HCT-15、SW620细胞迁移能力的影响

将细胞种于6孔板内,待细胞生长至80%汇合后,用无菌移液器吸头在孔底划出“一”字形划痕,洗去脱落的细胞后,用含0、12.5、25、50 $\mu\text{mol/L}$ 的D2的培养液培养,于0、24、48、72 h时置于显微镜下观察、拍照,计算划痕面积及划痕愈合率。划痕愈合率=(0 h划痕面积-24 h划痕面积)/0 h划痕面积 $\times 100\%$ 。

1.5 Transwell实验检测D2对HCT-15、SW620细胞迁移能力的影响

用含1%胎牛血清的细胞培养液将HCT-15、SW620细胞悬液稀释至 5×10^5 个/mL并接种于Transwell小室上室,每孔100 μL ,向下室加入700 μL 无血清培养液。培养细胞6~8 h至贴壁,向上室加无

血清培养液,下室加终浓度为0、12.5、25、50 $\mu\text{mol/L}$ 的D2(含20%~30%胎牛血清培养液配置)。继续培养48 h后弃去培养基,用棉棒小心擦净未迁移的细胞,清洗后,用4%多聚甲醛溶液中固定30 min,0.1%结晶紫染色30 min,用超轻水清洗,置于室温下干燥,显微镜下观察、计数穿膜细胞并拍照。

1.6 WB法检测D2对HCT-15、SW620细胞中EMT和自噬相关蛋白表达的影响

HCT-15、SW620细胞经0、12.5、25、50 $\mu\text{mol/L}$ 的D2处理24 h后提总蛋白,检测样品中EMT相关蛋白(E-cadherin、MMP-2、MMP-9、snail、slug、vimentin)和自噬相关蛋白(LC3B、P62、p-ULK1、ULK1)的表达水平。各组取40 μg 总蛋白样品进行SDS-PAGE,经转膜、5%脱脂奶粉封闭后,加入一抗溶液于4 $^{\circ}\text{C}$ 下处理过夜。洗涤后加入对应二抗于室温下反应1 h,加入ECL液曝光、拍照,分析蛋白表达水平。

1.7 免疫荧光染色法检测D2对HCT-15细胞内自噬小体形成的影响

将对数期HCT-15细胞接种于6孔板,次日用25 $\mu\text{mol/L}$ D2处理24 h,随后再加入自噬抑制剂3-甲基腺嘌呤(3-methyladenine, 3MA)处理24 h。免疫荧光染色法检测D2和3-MA处理PBS清洗3次后用4%多聚甲醛于室温下固定细胞30 min,加入0.1% TritonX-100进行透膜处理、3% BSA溶液进行封闭,清洗后滴加LC3抗体(1:100)于4 $^{\circ}\text{C}$ 下处理过夜。清洗后滴加对应的荧光二抗,室温、避光反应1 h,使用含DAPI的抗荧光淬灭封片液封片。

1.8 慢病毒转染法构建miR-7-5p稳定过表达或敲减的HCT-15细胞

miR-7-5p、sh-miR-7-5p和阴性对照(NC和shNC对照)由上海吉凯基因设计。将对数生长期HCT-15细胞分为NC组、miR-7-5p组、shNC组和sh-miR-7-5p组,转染相应质粒,嘌呤霉素筛选获得稳定表达或敲减miR-7-5p的细胞系。

1.9 RT-qPCR检测miR-7-5p的相对表达量

取各组细胞,用1 mL TRIzol从 5×10^6 个细胞中提取细胞总RNA,用100 μL 去离子水溶解。将1 μg 细胞总RNA以Oligo(dT)为引物逆转录为cDNA。引物由广州复能基因有限公司合成,95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性1 min后扩增并收集信号,每个检测进行3次重复,计算miR-7-5p的相对表达量。

1.10 统计学处理

泛癌分析的数据、ROC曲线及KEGG富集分析均借助The Cancer Genome Atlas (TCGA) miRNome^[15] (<https://doi.org/10.1093/nar/gkab784>)完成。采用GraphPad Prism 9.0统计软件对本文全部实验数据进行分析处理。所有实验均独立重复3次,符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组之间的比较采用单因素方差分析,两个独立样本的比较采用 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 D2抑制HCT-15、SW620细胞的增殖和克隆形成能力

MTT实验和克隆形成实验检测结果(图1)显示,12.5、25、50 $\mu\text{mol/L}$ 的D2均能够抑制HCT-15细胞的增殖和克隆形成能力($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

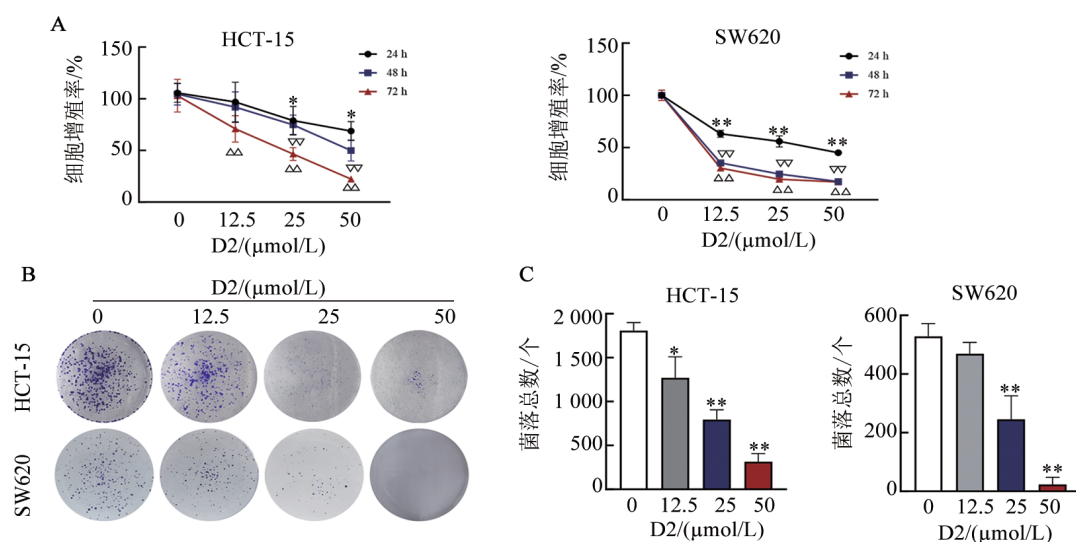
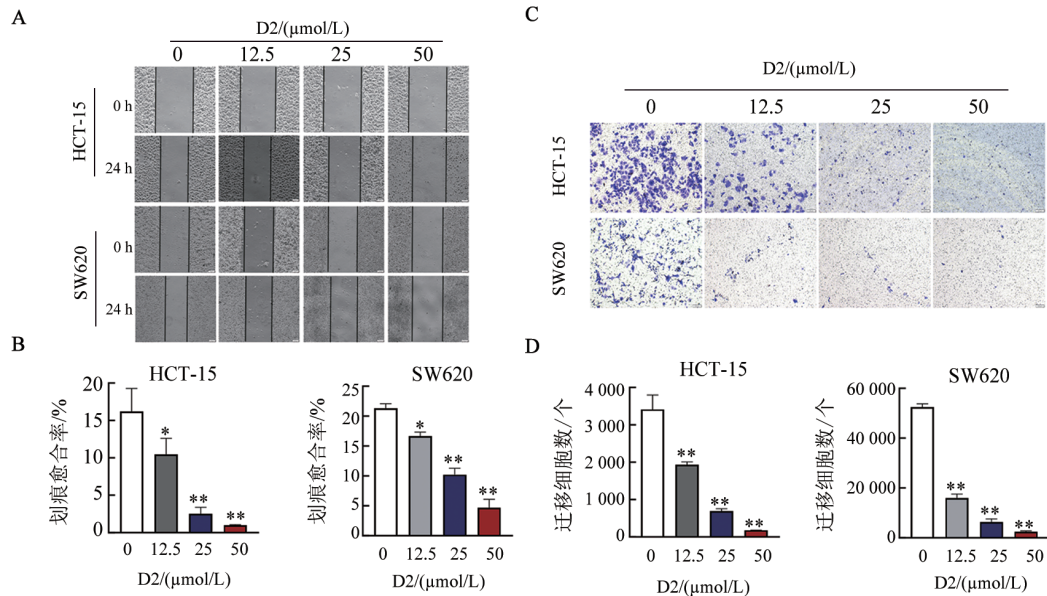


图1 D2抑制结直肠癌细胞增殖

2.2 D2 抑制 HCT-15、SW620 细胞的迁移能力

划痕愈合实验及 Transwell 实验检测 D2 对 HCT-15、SW620 细胞迁移能力的影响, 结果显示, 用 12.5、

25、50 $\mu\text{mol/L}$ D2 处理 24 h 后, HCT-15、SW620 细胞的横向迁移(图 2A、B)和纵向迁移(图 2C、D)能力均明显被抑制($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。



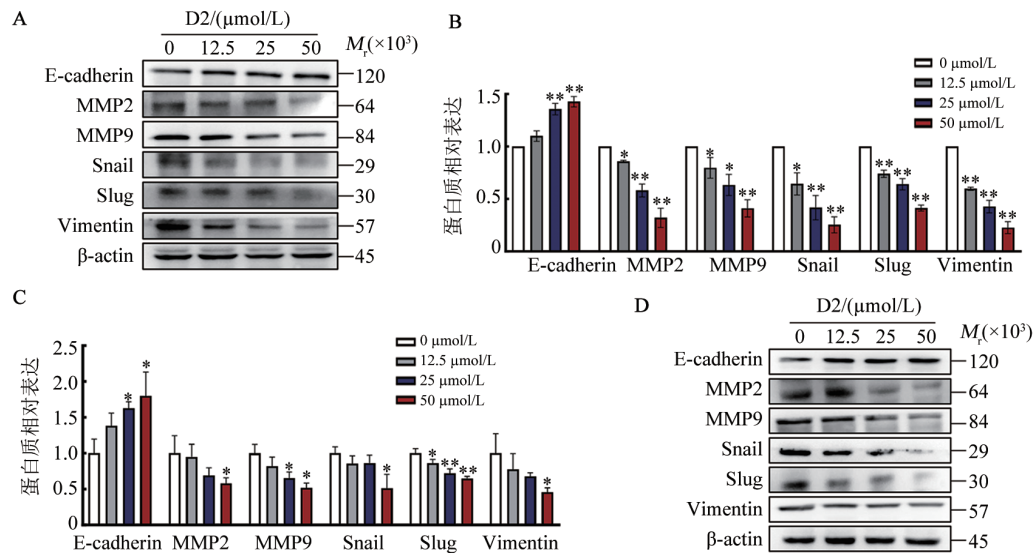
A、B: 经 0、12.5、25、50 $\mu\text{mol/L}$ D2 处理 24 h 的 HCT-15、SW620 细胞划痕愈合情况及数据统计图;
C、D: 经 0、12.5、25、50 $\mu\text{mol/L}$ D2 处理 48 h 的 HCT-15、SW620 细胞 Transwell 迁移实验图及数据统计图。
与 0 $\mu\text{mol/L}$ 组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 2 D2 抑制 HCT-15、SW620 细胞的迁移($\times 100$)

2.3 D2 影响 HCT-15、SW620 细胞中 EMT 相关蛋白的表达

WB 法检测 EMT 相关蛋白表达结果(图 3)显示, 0、12.5、25、50 $\mu\text{mol/L}$ D2 处理后 HCT-15、SW620 细

胞中 E-cadherin 表达显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), MMP2、MMP9、snail、slug、Vimentin 表达显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。



与 0 $\mu\text{mol/L}$ 组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 3 D2 抑制 HCT-15(A、B)、SW620(C、D)细胞 EMT 进程

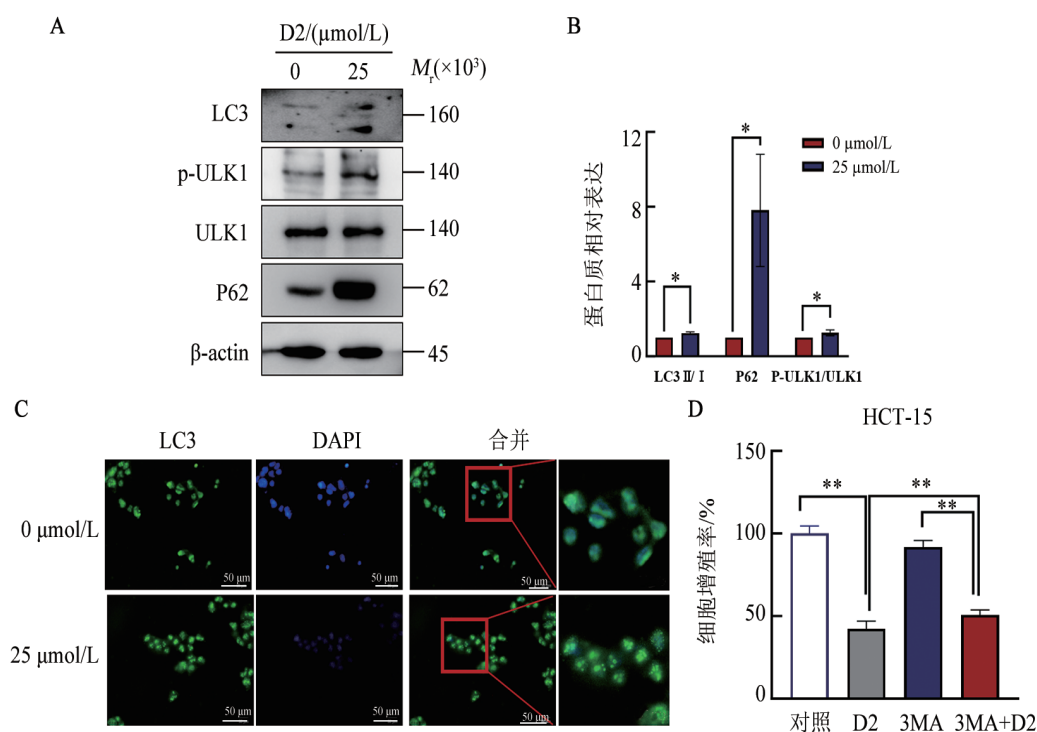
2.4 D2 诱导 HCT-15、SW620 细胞的自噬

WB 法检测自噬相关蛋白表达结果(图 4A、B)显

示, 25 $\mu\text{mol/L}$ D2 处理后 HCT-15、SW620 细胞中 LC3B、P62、p-ULK1 表达显著升高(均 $P < 0.05$)。免

免疫荧光检测结果显示, 25 μmol/L D2 处理后 HCT-15、SW620 细胞质内自噬小体数量显著增加(均 $P < 0.01$,

图 4C); 3MA 处理可以部分逆转 D2 诱导自噬引起的细胞增殖的抑制作用($P < 0.01$, 图 4D)。



A、B: WB 法检测经 0、25 μmol/L D2 处理后 HCT-15 细胞中 LC3、p-ULK1、ULK1 及 p62 蛋白表达; C: 免疫荧光染色法分析 D2 处理 (0、25 μmol/L) 对 HCT-15 细胞中 LC3 蛋白表达的影响 (× 200); D: MTT 法检测 D2 (25 μmol/L)、3MA (5 μmol/L) 和 3MA+D2 处理 24 h 对 HCT-15 细胞增殖的影响。* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ 。

图 4 D2 诱导结直肠癌细胞的自噬

2.5 miR-7-5p 在结直肠癌中低表达且与结直肠癌发生存在密切的关联

基于 TCGA 数据库的泛癌分析显示, miR-7-5p 在结直肠癌组织中的表达量显著低于癌旁组织(图 5A、B)。通过 ROC 曲线分析评估样本选取的可信度, 结果显示样本选择具有较高的可信度, 上述分析结果可靠(图 5C)。为进一步深入探究 miR-7-5p 与结直肠癌之间的关系, 对 miR-7-5p 进行了 KEGG 富集分析(图 5D)。分析结果表明, miR-7-5p 与结直肠癌的发生发展存在密切的关联。

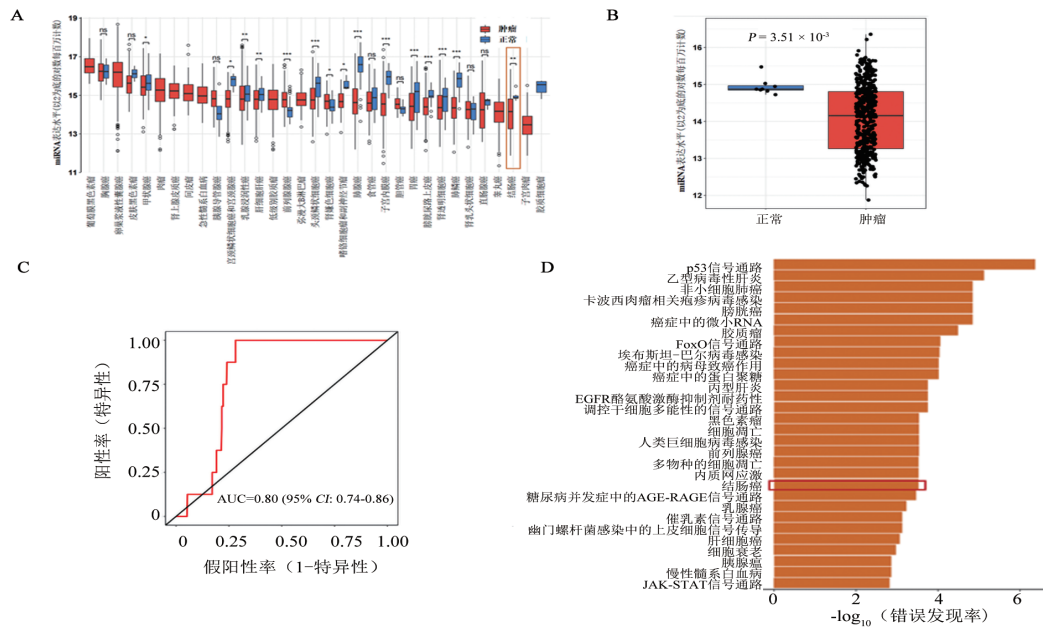
2.6 D2 通过上调 miR-7-5p 诱导 HCT-15、SW620 细胞自噬

RT-qPCR 检测 miR-7-5p 表达水平, 结果(图 6A)显示, 随着 D2 浓度升高, HCT-15、SW620 细胞中 miR-7-5p 表达增加(均 $P < 0.01$)。随后, 为了验证 miR-7-5p 对自噬的影响, 用慢病毒转染方法构建过表达或敲减 miR-7-5p 的 HCT-15 细胞, 用 WB 实验检测自噬相关蛋白表达水平, 结果(图 6B、C)显示, 过表达 miR-7-5p 后自噬相关蛋白 LC3B、P62、p-ULK1 表

达水平增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 敲低 miR-7-5p 则呈现出相反的结果(均 $P < 0.01$)。随后进行回复实验发现, 敲低 miR-7-5p 能逆转 D2 对自噬的促进($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$, 图 6D、E)。

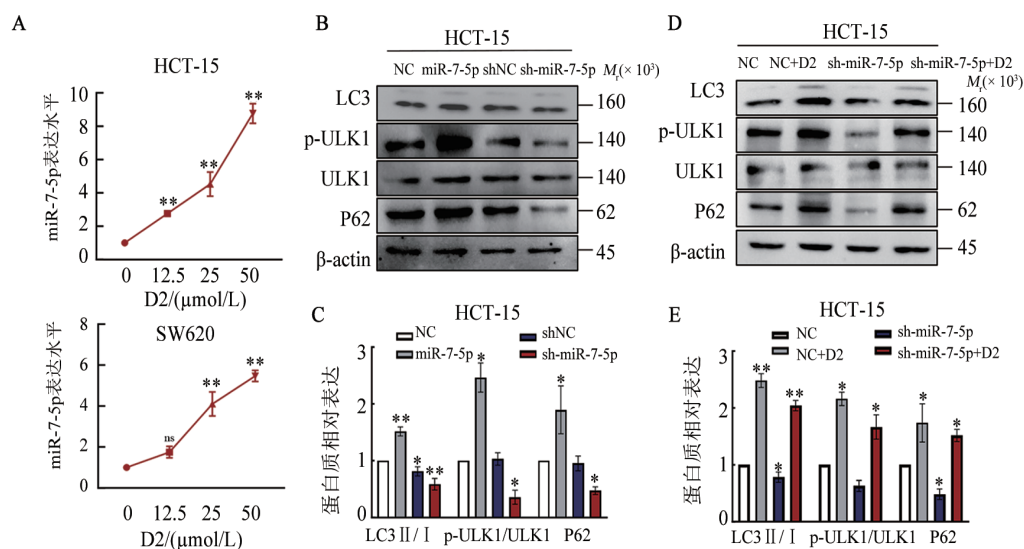
2.7 D2 通过抑制 PI3K/AKT/mTOR 通路诱导 HCT-15 细胞自噬

WB 法检测信号通路蛋白表达结果(图 7A、B)显示, 0、12.5、25、50 μmol/L D2 处理后, HCT-15 细胞中 PI3K、AKT、mTOR 的表达无明显变化, 而 p-PI3K、p-AKT、p-mTOR 的表达量降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。HCT-15 细胞敲低或过表达 miR-7-5p 后, WB 法检测 PI3K/AKT/mTOR 信号通路蛋白表达, 结果(图 7C~E)显示, 过表达 miR-7-5p 后 PI3K、AKT、mTOR 的表达无明显变化, 而 p-PI3K、p-AKT、p-mTOR 的表达量降低, 而敲低 miR-7-5p 得到相反的结果($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。随后在 HCT-15 细胞敲低 miR-7-5p 并添加 D2 处理, 进行回复实验, WB 检测结果显示, D2 能够部分逆转敲低 miR-7-5p 所导致的 PI3K/AKT/mTOR 通路的激活($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。



A: TCGA 数据库分析的 miR-7-5p 泛癌表达情况; B: TCGA 数据库分析的 miR-7-5p 在结直肠癌中的表达情况; C: ROC 曲线; D: miR-7-5p 的 KEGG 富集分析。

图5 miR-7-5p 在结直肠癌中低表达且与结直肠癌发生存在密切关联



A: 采用 RT-qPCR 检测不同浓度 D2 处理的 HCT-15 细胞中 miR-7-5p 的表达情况; B、C: 检测 miR-7-5p 敲低或过表达后 HCT-15 细胞中自噬相关蛋白的表达情况及数据统计; D、E: 自噬相关蛋白的表达情况及数据统计。与 0 μmol/L 或 NC 或 shNC 组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图6 D2 通过上调 miR-7-5p 来诱导自噬

3 讨论

近年来, 结直肠癌的发病率持续上升, 由于其起病隐匿、预后不良等特点, 其病死率仅次于肺癌^[2]。多数患者确诊时已是晚期, 而放化疗对晚期患者疗效有限, 因此寻找新的药物与分子靶点至关重要。查尔酮是植物中黄酮类和异黄酮类化合物的生物前体, 广泛存在于植物中, 是药物化学中新药发现的重要先导化合物^[6]。查尔酮衍生物对多种肿瘤具有抗

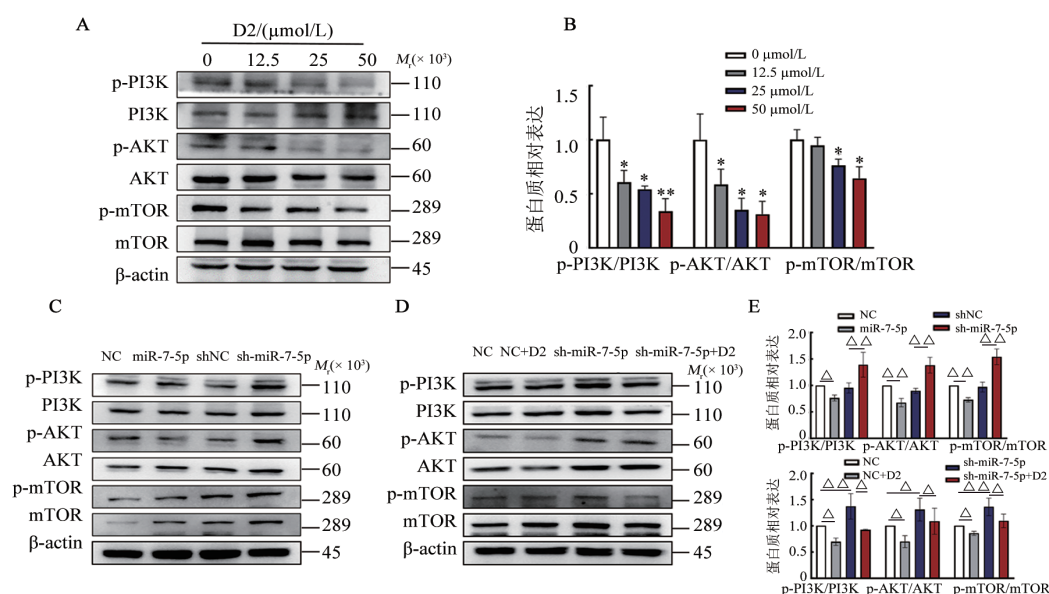
肿瘤活性, 如结直肠癌^[17]、卵巢癌^[18]、黑色素瘤^[19]。D2 作为类黄酮的一种, 早在 1994 年就被发现具有抑制结肠腺癌的作用^[20]。因此, 本研究旨在探究 D2 对结直肠癌细胞的影响。实验结果显示, D2 能够抑制结直肠癌细胞系的增殖、迁移能力及 EMT 进程。

miR-7 作为肿瘤抑制因子, 调节众多癌症基因。在结直肠癌中, miR-7-5p 的低表达与不良预后相关^[7]。近期研究发现, miR-7-5p 参与多种疾病的自噬调控, 如弥漫性大 B 细胞淋巴瘤^[21]、骨关节炎^[22]。过表达 miR-7-5p

可促进膀胱癌细胞 LC3- I 向 LC3- II 转化, 增强自噬活性^[13]。因此, 本研究进一步探索结直肠癌中 D2 通过调控 miR-7-5p 诱导自噬的作用机制。结果显示, 使用 D2 后, miR-7-5p 表达水平及 LC3B 表达水平均升高, 且 LC3- I 向 LC3- II 转化增强。本研究表明, D2 通过上调 miR-7-5p 诱导细胞自噬。miR-7-5p 与自噬相关, 在结直肠癌治疗中可能具有重要意义。

自噬可以诱导细胞死亡这一观点是由 CLARKE 在 1990 年首次提出的, 后被归类为调节性细胞死亡的一种形式, 并被命名为自噬依赖性细胞死亡^[24]。PI3K/AKT/mTOR 作为经典的自噬信号通路, 是自噬的关键调节因子。例如, 紫草的主要成分天然紫萘酮通过抑制 SNU-449 和 Hep3B 细胞中的 PI3K/AKT/

mTOR 通路, 发挥抗增殖活性^[25]。从中药苦参中提取的天然产物苦参碱 A 产生 ROS 抑制 PI3K/AKT/mTOR 轴, 上调 A549 和 H820 细胞中的 LC3- II, 减缓 A549 原位异种移植模型中肿瘤的生长^[26]。在前列腺癌中, miR-7-5p 通过抑制 PI3K/AKT/mTOR 通路诱导细胞自噬, 从而抑制细胞的增殖迁移。2020 年, 研究人员发现, 非洲方铅草叶的乙醇提取物 KB2 在乳腺癌细胞中激活了自噬^[27]。D2 是 KB2 的主要成分之一^[27], 本研究旨在探究结直肠癌中 D2 对自噬的影响。结果显示, D2 通过上调 miR-7-5p 抑制 PI3K/AKT/mTOR 通路, 诱导细胞自噬, 进而抑制结直肠癌细胞的增殖、迁移及 EMT 进程。D2 上调 miR-7-5p 靶向自噬, 有望为结直肠癌患者带来新的治疗希望。



A、B: 不同浓度 D2 对 HCT-15 细胞 PI3K/AKT/mTOR 信号通路蛋白的影响及数据统计, 与 0 μmol/L 或 NC 或 shNC 组相比, * $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$; C-E: miR-7-5p 对 HCT-15 细胞 PI3K/AKT/mTOR 信号通路蛋白的影响及数据统计。△ $P < 0.05$ 、△△ $P < 0.01$

图 7 D2 通过抑制 PI3K/AKT/mTOR 通路增加 HCT-15 细胞的自噬

本研究表明 D2 能够抑制结直肠癌细胞的增殖、迁移及 EMT 进程, 其机制可能是通过调控 miR-7-5p 诱导自噬, 且与抑制 PI3K/AKT/mTOR 通路相关。综上所述, 本研究为 D2 作为结直肠癌抗肿瘤药物的潜力提供了理论依据, 有望为其未来的临床应用奠定基础。

利益冲突声明: 所有作者声明无利益冲突。

[参考文献]

[1] 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. DOI: 10.3760/cma.j.cn112152-20231024-00213.
[2] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin,

2021, 71(3): 209-249. DOI:10.3322/caac.21660.
[3] 张露丹. 东北岩高兰化学成分的研究[D]. 延吉: 延边大学, 2020. DOI:10.27439/d.cnki.gybd.2020.001361.
[4] 张鑫. 岩高兰粗提物靶向 DEK 调控 Akt 信号通路抑制人胆管癌细胞的增殖和迁移的机制研究[D]. 延吉: 延边大学, 2021. DOI: 10.27439/d.cnki.gybd.2021.000540.
[5] LOU C H, WANG M Y, YANG G M, et al. Preliminary studies on anti-tumor activity of 2', 4'-dihydroxychalcone isolated from *Herba Oxytropis* in human gastric cancer MGC-803 cells[J]. Toxicol In Vitro, 2009, 23(5): 906-910. DOI:10.1016/j.tiv.2009.05.002.
[6] SHENG Y Q, ZOU M C, WANG Y, et al. 2', 4'-dihydroxychalcone, a flavonoid isolated from *Herba oxytropis*, suppresses PC-3 human prostate cancer cell growth by induction of apoptosis[J]. Oncol Lett, 2015, 10(6): 3737-3741. DOI:10.3892/ol.2015.3795.
[7] MORALES-MARTÍNEZ M, VEGA M I. Role of microRNA-7 (MiR-7) in cancer physiopathology[J/OL]. Int J Mol Sci, 2022, 23(16): 9091 [2025-01-16]. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36012357/. DOI:

- 10.3390/ijms23169091.
- [8] HUANG Y, XIONG Z Y, WANG J J, *et al.* TBC1D5 reverses the capability of HIF-2 α in tumor progression and lipid metabolism in clear cell renal cell carcinoma by regulating the autophagy[J/OL]. *J Transl Med*, 2024, 22(1): 212[2025-01-16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38419050/>. DOI:10.1186/s12967-024-05015-y.
- [9] LU X L, LIU R Q, LIAO Y Y, *et al.* ACVRL1 drives resistance to multitarget tyrosine kinase inhibitors in colorectal cancer by promoting USP15-mediated GPX2 stabilization[J/OL]. *BMC Med*, 2023, 21(1): 366[2025-01-16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37743483/>. DOI:10.1186/s12916-023-03066-4.
- [10] SHANG Y Y, ZHU Z, ZHANG Y Y, *et al.* miR-7-5p/KLF4 signaling inhibits stemness and radioresistance in colorectal cancer[J/OL]. *Cell Death Discov*, 2023, 9(1): 42[2025-01-16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36732504/>. DOI:10.1038/s41420-023-01339-8.
- [11] LIANG Z Y, LIU L, GAO R X, *et al.* Downregulation of exosomal miR-7-5p promotes breast cancer migration and invasion by targeting RYK and participating in the atypical WNT signalling pathway[J/OL]. *Cell Mol Biol Lett*, 2022, 27(1): 88 [2025-01-16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36210461/>. DOI: 10.1186/s11658-022-00393-x.
- [12] GHARIB E, REJALI L, PIROOZKHAH M, *et al.* IL-2RG as a possible immunotherapeutic target in CRC predicting poor prognosis and regulated by miR-7-5p and miR-26b-5p[J/OL]. *J Transl Med*, 2024, 22(1): 439[2025-01-16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38720389/>. DOI:10.1186/s12967-024-05251-2.
- [13] ZHONG Q Y, LUO Q H, LIN B, *et al.* Protective effects of andrographolide sodium bisulfate on UV-induced skin carcinogenesis in mice model[J/OL]. *Eur J Pharm Sci*, 2022, 176: 106232[2025-01-16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35710077/>. DOI: 10.1016/j.ejps.2022.106232.
- [14] BROCKMUELLER A, RUIZ DE PORRAS V, SHAKIBAEI M. Curcumin and its anti-colorectal cancer potential: from mechanisms of action to autophagy[J]. *Phytother Res*, 2024, 38(7): 3525-3551. DOI:10.1002/ptr.8220.
- [15] LIU X, WANG J, ZHANG H, *et al.* CancerMIRNome: an interactive analysis and visualization database for miRNome profiles of human cancer[J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(D1): D1139-D1145[2025-01-16]. <https://academic.oup.com/nar/article/50/D1/D1139/6368054>. DOI:10.1093/nar/gkab784.
- [16] RAMMOHAN A, REDDY J S, SRAVYA G, *et al.* Chalcone synthesis, properties and medicinal applications: a review[J]. *Environ Chem Lett*, 2020, 18(2): 433-458. DOI:10.1007/s10311-019-00959-w.
- [17] YANG M H, BASAPPA B, DEVESHEGOWDA S N, *et al.* A novel drug prejudice scaffold-imidazopyridine-conjugate can promote cell death in a colorectal cancer model by binding to β -catenin and suppressing the Wnt signaling pathway[J]. *J Adv Res*, 2025, 72: 615-632. DOI:10.1016/j.jare.2024.07.022.
- [18] SALANCI Š, VILKOVÁ M, MARTINEZ L, *et al.* The induction of G2/M phase cell cycle arrest and apoptosis by the Chalcone derivative 1C in sensitive and resistant ovarian cancer cells is associated with ROS generation[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(14): 7541. DOI:10.3390/ijms25147541.
- [19] EBBERT L, VON MONTFORT C, WENZEL C K, *et al.* A combination of cardamomin and doxorubicin selectively affect cell viability of melanoma cells: an *in vitro* study[J/OL]. *Antioxidants*, 2024, 13(7): 864[2025-01-16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39061932/>. DOI:10.3390/antiox13070864.
- [20] YIT C C, DAS N P. Cytotoxic effect of butein on human colon adenocarcinoma cell proliferation[J]. *Cancer Lett*, 1994, 82(1): 65-72. DOI:10.1016/0304-3835(94)90147-3.
- [21] ZHANG C F, WANG K, TAO J H, *et al.* MYC-dependent miR-7-5p regulated apoptosis and autophagy in diffuse large B cell lymphoma by targeting AMBRA1[J]. *Mol Cell Biochem*, 2025, 480(1): 191-202. DOI:10.1007/s11010-024-04946-w.
- [22] ZHAO S, LIU Y E, WANG J, *et al.* ADSCs increase the autophagy of chondrocytes through decreasing miR-7-5p in Osteoarthritis rats by targeting ATG4A[J/OL]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 120: 110390[2025-01-16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37262955/>. DOI:10.1016/j.intimp.2023.110390.
- [23] MA X L, REN H T, ZHANG Y, *et al.* LncRNA RHPN1-AS1 inhibition induces autophagy and apoptosis in prostate cancer cells via the miR-7-5p/EGFR/PI3K/AKT/mTOR signaling pathway[J]. *Environ Toxicol*, 2022, 37(12): 3013-3027. DOI:10.1002/tox.23656.
- [24] JIN X, JIN W K, TONG L L, *et al.* Therapeutic strategies of targeting non-apoptotic regulated cell death (RCD) with small-molecule compounds in cancer[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2024, 14(7): 2815-2853. DOI:10.1016/j.apsb.2024.04.020.
- [25] ZHANG J L, SHANG L, JIANG W D, *et al.* Shikonin induces apoptosis and autophagy via downregulation of pyrroline-5-carboxylate reductase1 in hepatocellular carcinoma cells[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(3): 7904-7918. DOI:10.1080/21655979.2022.2052673.
- [26] LUO D, DAI X Y, TIAN H, *et al.* Sophflarine A, a novel matrine-derived alkaloid from *Sophora flavescens* with therapeutic potential for non-small cell lung cancer through ROS-mediated pyroptosis and autophagy[J/OL]. *Phytomedicine*, 2023, 116: 154909[2025-01-16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37269775/>. DOI: 10.1016/j.phymed.2023.154909.
- [27] MOHAMED L, CHAKRABORTY S, ARULJOTHI K N, *et al.* Galenia africana plant extract exhibits cytotoxicity in breast cancer cells by inducing multiple programmed cell death pathways[J]. *Saudi Pharm J*, 2020, 28(10): 1155-1165. DOI:10.1016/j.jsps.2020.08.004.

[收稿日期] 2025-01-18

[修回日期] 2025-06-20

[本文编辑] 黄静怡