

# 薏梅败酱方对炎症相关性结直肠癌小鼠肠上皮-间质转化的影响

杨雁琳<sup>1,2</sup>, 付加伟<sup>3</sup>, 晋小宁<sup>2</sup>, 刘建琴<sup>4</sup>, 赵龙<sup>2</sup>, 陈辉<sup>2</sup>, 李丽<sup>2</sup>, 李志<sup>1,2,5,6\*</sup>

<sup>1</sup>西南医科大学中西医结合学院, 四川泸州 646000; <sup>2</sup>西南医科大学附属中医医院脾胃科, 四川泸州 646000; <sup>3</sup>成都市郫都区中医医院脾胃科, 四川成都 611730; <sup>4</sup>西南医科大学附属中医医院中西医结合研究中心, 四川泸州 646000; <sup>5</sup>川北医学院中西医结合临床学院, 四川南充 637100; <sup>6</sup>西南医科大学附属中医医院中西医结合防治消化系统疾病泸州市重点实验室, 四川泸州 646000

[中图分类号] R256; R285; R735.3\*5 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.0526.2025.1028

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 杨雁琳, 付加伟, 晋小宁, 等. 薏梅败酱方对炎症相关性结直肠癌小鼠肠上皮-间质转化的影响[J]. 解放军医学杂志, 2026, 51(1): 103-110.

[收稿日期] 2025-03-21 [录用日期] 2025-06-12 [上线日期] 2025-10-28

**[摘要]** **目的** 探讨薏梅败酱方(YMBJF)对炎症相关性结直肠癌(CAC)小鼠肠上皮-间质转化(EMT)的影响。**方法** 将60只6~8周龄雄性BALB/c小鼠随机分为空白组、模型组、卡倍他滨组(0.83 g/kg)及YMBJF低、中、高剂量组(4.63、9.25、18.5 g/kg), 每组10只, 除空白组腹腔注射生理盐水(10 mg/kg)外, 其余各组小鼠均采用一次性腹腔注射氧化偶氮甲烷(10 mg/kg)和2.5%葡聚糖硫酸钠循环饮用构建CAC模型, 在造模开始后第5周进行干预, 各组小鼠给药2周停药1周, 停药期间予以生理盐水灌胃, 直到第77天实验结束。实验过程中观察小鼠一般情况, 测量结直肠长度和肿瘤数量, 采用苏木精-伊红(HE)染色观察各组小鼠结直肠组织病理变化, 酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清炎症因子[肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、 $\gamma$ 干扰素(IFN- $\gamma$ )、白细胞介素-10(IL-10)]水平, 免疫组织化学法(IHC)观察结直肠组织中TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-10的表达情况, 实时荧光定量PCR(qRT-PCR)检测E-钙黏蛋白(E-cadherin)、N-cadherin、波形蛋白(Vimentin)基因的表达, Western blotting检测结直肠组织中N-cadherin、E-cadherin蛋白的表达。**结果** (1)HE染色结果显示, 与空白组比较, 模型组小鼠体重下降( $P<0.05$ ), 一般情况差, 结直肠长度明显缩短( $P<0.05$ ), 肠道内 $>3$  mm的肿瘤数量明显增多( $P<0.05$ ), 结直肠病理损伤明显; 与模型组比较, YMBJF中、高剂量组小鼠体重增加( $P<0.05$ ), 一般情况良好, 结直肠长度增加( $P<0.05$ ), 肠道内 $>3$  mm肿瘤数量减少( $P<0.05$ ), 病理损伤程度减轻。(2)ELISA与IHC检测结果显示, 与空白组比较, 模型组小鼠血清及肠道组织IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 表达水平明显升高, IL-10表达水平明显下降( $P<0.05$ ); 与模型组比较, 卡倍他滨组及YMBJF中、高剂量组上述炎症因子表达水平呈相反的变化趋势( $P<0.05$ )。(3)qRT-PCR与Western blotting检测结果显示, 与空白组比较, 模型组N-cadherin mRNA和蛋白、Vimentin mRNA水平表达明显升高, E-cadherin mRNA和蛋白表达水平明显降低( $P<0.05$ ); 与模型组比较, YMBJF中、高剂量组上述基因及蛋白表达变化则相反( $P<0.05$ )。**结论** YMBJF可改善CAC小鼠一般生长情况, 减少肿瘤数量, 降低炎症因子水平, 延缓EMT进程, 从而起到预防CRC的作用。

**[关键词]** 薏梅败酱方; 炎症相关性结直肠癌; 上皮-间质转化; 炎症因子

## Effect of Yimei Baijiang formula on intestinal epithelial-mesenchymal transition in mice with inflammation-associated colorectal cancer

Yang Yan-Lin<sup>1,2</sup>, Fu Jia-Wei<sup>3</sup>, Jin Xiao-Ning<sup>2</sup>, Liu Jian-Qin<sup>4</sup>, Zhao Long<sup>2</sup>, Chen Hui<sup>2</sup>, Li Li<sup>2</sup>, Li Zhi<sup>1,2,5,6\*</sup>

<sup>1</sup>Southwest Medical University School of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Luzhou, Sichuan 646000, China

<sup>2</sup>Department of Spleen and Stomach Diseases, <sup>4</sup>the Research Center of Integrated Chinese and Western Medicine, <sup>6</sup>the Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Treatment of Digestive System Diseases of Luzhou City, the

[基金项目] 泸州市科技计划项目(2024JYJ003); 泸州市人民政府-西南医科大学科技战略合作项目(2024LZXNYDJ112)

[作者简介] 杨雁琳, 硕士研究生, 主要从事中西医结合防治消化系统疾病方面的研究

[通信作者] 李志, E-mail: lizhi-scholar@swmu.edu.cn

Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital, Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China

<sup>3</sup>Department of Spleen and Stomach Diseases, Traditional Chinese Medicine Hospital of Chendu-Pidu District, Chendu, Sichuan 611730, China

<sup>5</sup>School of Integrated Traditional Chinese and Western Clinical Medicine, North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637100, China

\*Corresponding author, E-mail: lizhi-scholar@swmu.edu.cn

This work was supported by the Science and Technology Program Project of Luzhou (2024JYJ003), and the Science and Technology Strategic Cooperation Project between Luzhou Municipal People's Government and Southwest Medical University (2024LZXNYDJ112)

**[Abstract] Objective** To investigate the effect of Yimei Baijiang formula (YMBJF) on intestinal epithelial-mesenchymal transition (EMT) in mice with inflammation-associated colorectal cancer (CAC). **Methods** Sixty male BALB/c mice aged 6-8 weeks were randomly divided into blank group, model group, capecitabine group (0.83 g/kg), and low-, medium-, and high-dose groups of YMBJF (4.63, 9.25, 18.5 g/kg), with 10 mice in each group. In addition to blank group that was injected with normal saline (10 mg/kg) intraperitoneally, the rest of the mice were injected with azoxymethane (10 mg/kg) intraperitoneally once and given 2.5% dextran sulfate sodium cyclically to drink daily to establish the CAC model. Intervention was conducted at the 5th week after the modeling began. Mice in each group were treated with the drug for 2 weeks and given a 1-week break (drug holiday); during the break, they were given normal saline by gavage. The experiment ended on the 77th day. During the experiment, the general state of the mice was observed; after sacrifice, the colorectal length and the number of tumors were measured. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the pathological changes of colorectal tissues. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of serum inflammatory factors [tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) and interleukin-10 (IL-10)]; immunohistochemistry (IHC) was used to observe the expression of TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , and IL-10 in colorectal tissues. Real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR) was used to determine the expression of *E-cadherin*, *N-cadherin*, and *Vimentin* mRNA in colorectal tissues. Western blotting was used to detect the expression of N-cadherin and E-cadherin proteins in colorectal tissues. **Results** (1) HE staining results showed that, compared with blank group, model group showed decreased body weight ( $P < 0.05$ ), poorer general conditions, significantly shortened colorectal length ( $P < 0.05$ ), a notable increase in the number of tumors  $> 3$  mm ( $P < 0.05$ ), and obvious colorectal pathological damage. In comparison with model group, medium- and high-dose YMBJF groups exhibited increased body weight ( $P < 0.05$ ), improved general conditions, longer colorectal length ( $P < 0.05$ ), reduced number of tumors  $> 3$  mm ( $P < 0.05$ ), and alleviated pathological damage. (2) ELISA and IHC results showed that, compared with blank group, the expression of IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  in serum and intestinal tissues of model group was significantly increased, while the expression of IL-10 was significantly decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with model group, capecitabine group and medium- and high-dose YMBJF groups showed opposite trends in the expression of these factors ( $P < 0.05$ ). (3) qRT-PCR and Western blotting results showed that, compared with blank group, the expression of *N-cadherin* (protein and mRNA) and *Vimentin* mRNA was significantly increased in model group, while the expression of *E-cadherin* (protein and mRNA) was significantly decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with model group, medium- and high-dose YMBJF groups exhibited opposite changes in the expression of these genes and proteins ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** YMBJF can improve the general growth condition of mice with inflammation-associated colorectal cancer, reduce the number of tumors, lower the levels of inflammatory factors, and delay the EMT process, thereby preventing colorectal cancer.

**[Key words]** Yimei Baijiang formula; inflammatory-associated colorectal cancer; epithelial-mesenchymal transition; inflammatory factors

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是全球第三大常见恶性肿瘤<sup>[1]</sup>,也是导致癌症死亡的第二大主要原因<sup>[2]</sup>。2022年,中国新确诊CRC病例占全部癌症的10.7%,相关死亡例数占全部癌症死亡的9.3%<sup>[3]</sup>。研究发现,约5%的CRC由炎症性肠病发展而来,称为炎症相关性CRC(inflammation-associated colorectal cancer, CAC)。上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transformation, EMT)在结直肠癌-癌转化中扮演着重要角色。肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )通过下调E-钙黏蛋白(E-cadherin),上调波形蛋白(Vimentin)驱动EMT<sup>[4]</sup>,赋予上皮细胞迁移、侵

袭的能力<sup>[5-6]</sup>,与肿瘤的起始、转移有关<sup>[7]</sup>。EMT还可调控肿瘤相关巨噬细胞的表型,重塑免疫微环境<sup>[8-9]</sup>,并通过降低药物敏感性导致化疗抵抗<sup>[10]</sup>。因此,控制炎症、逆转EMT是防治CRC的重要策略。

中医药在防治CRC中发挥多靶点调控作用,复方及单体药物可通过调控转化生长因子(tumor supplied group of factors, TGF)- $\beta$ /Smads、磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)、Wnt/ $\beta$ -catenin等信号通路,发挥抗炎、逆转EMT的功能,从而减少CRC转移并降低耐药性<sup>[11-12]</sup>,提升治疗效果及增高患者

5年生存率<sup>[13-14]</sup>。值得注意的是,中医学认为,“气机失调、痰瘀郁结、癌毒蓄变”是恶性肿瘤动态变化、层层渐近的核心<sup>[15]</sup>;现代研究表明,痰瘀郁毒涉及炎症、氧化应激、糖脂代谢、微循环障碍等恶性肿瘤发病、进展相关环节,与EMT密切相关<sup>[16]</sup>。这种抗炎、抗EMT协同机制凸显了中医药在CRC治疗中的重要潜能。薏苡败酱方(YMBJF)是笔者团队基于薏苡附子败酱散和济生乌梅丸研发的复方,其抗CRC的作用机制已有部分研究支持<sup>[17]</sup>。现代药理研究发现,薏苡仁甘油三酯可通过抑制核因子 $\kappa$ B(nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B)信号通路抑制EMT<sup>[18]</sup>,其制品康莱特注射液(Kanglaite injection)已被广泛应用于CRC的治疗<sup>[19-20]</sup>。败酱草中的异牡荆素(Isovitexin)和木犀草素(Luteolin)分别可通过PI3K/Akt/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)和Wnt/ $\beta$ -catenin/转录因子4(transcription factor 4, TCF-4)信号通路抑制EMT,发挥抑制CRC细胞侵袭、迁移的作用<sup>[21-22]</sup>。本研究通过构建氧化偶氮甲烷(azoxymethane, AOM)/葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate, DSS)诱导的CAC小鼠模型,探究YMBJF对CRC及EMT的干预作用,以期为YMBJF的临床应用及新药开发提供依据。

## 1 材料与方法

**1.1 实验药物** YMBJF组成:薏苡仁(*Semen coicis*; 230402)20 g、附子(*Aconitum carmichaeli debx*; 2221001)1 g(四川鑫仁泰药业有限公司),乌梅(*Mume fructus*; 23030101)8 g、败酱草(*Herba patriniae*; 22090103)10 g、土鳖虫(*Eupolyphaga seu steleophaga*; 22120101)2 g(四川天植中药股份有限公司),白僵蚕(*Bombyx batryticatus*; 221105-91)2 g(成都吉安康药业有限公司),九香虫(*Coridius chinensis*; 230505-1)2 g(泸州百草堂中药饮片有限公司)。以上药物经西南医科大学附属中医医院黄江副主任中药师鉴定质量合格,由西南医科大学附属中医医院制剂室制作,符合2020年版《中华人民共和国药典》要求。按折算系数表换算,YMBJF分别以4.63、9.25、18.5 g/kg为低、中、高剂量,卡倍他滨以0.83 g/kg灌胃(依据说明书方法,每天总量2500 mg/m<sup>2</sup>,经过人体表面积1.62 m<sup>2</sup>及换算公式换算得到),按每只小鼠20 g计算给药量,经稀释后,每只小鼠每次灌胃0.3 ml[折算系数表<sup>[23]</sup>为《动物与人的每千克体重剂量折算系数表》,剂量(mg/kg)=W×人体剂量(mg/kg),模型动物为小鼠,故系数W为12.33]。

**1.2 实验动物** 60只SPF级BALB/c雄性小鼠,6~8周龄,体重约20 g,购自成都药康生物科技有限公司[实验动物生产许可证号:SCXK(川)2020-034],饲养

于西南医科大学动物实验中心SPF级动物房,饲养室恒温18~22℃,相对湿度45%~55%,光照周期12 h,自由饮食,适应性饲养1周后进行实验。本研究获西南医科大学实验动物伦理委员会审批(20221018-003)。实验过程符合国家和单位有关实验动物的管理和使用规定。

**1.3 试剂与抗体** AOM(A5486,美国Sigma公司);DSS(160110,美国MP公司);卡培他滨片(2L2023DE3,齐鲁制药有限公司);4%多聚甲醛(AC28L112,中国Biosharp公司);BCA蛋白浓度测定试剂盒(p0012,上海雅酶生物医药科技公司);兔源E-cadherin一抗(22018-1-AP,武汉三鹰生物技术有限公司);兔源N-cadherin一抗(AB18203,美国Abcam公司);辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记山羊抗兔IgG(orb20674,美国ImmunoWay公司);IL-10 ELISA kit [EMC005(H)]、TNF- $\alpha$  ELISA kit(EMC102a.96)、IFN- $\gamma$  ELISA kit(EMC101g.48)(深圳欣博盛生物科技有限公司);HE染色试剂盒(C0105S,上海碧云天生物技术有限公司)。

## 1.4 方法

**1.4.1 动物分组、造模及给药** 小鼠按随机数字表法分为空白组、模型组、卡倍他滨组及YMBJF低、中、高剂量组,每组10只,除空白组注射生理盐水(10 mg/kg)外,其余各组小鼠一次性腹腔注射10 mg/kg诱变剂AOM。正常饮水1周后,给予2% DSS连续饮用7 d,继续恢复正常饮水2周,将此定义为1个DSS周期,共进行3个DSS周期循环。空白组小鼠整个实验期间饮水均为普通饮水。在第2个DSS周期循环第1天开始进行药物干预,YMBJF低、中、高剂量组灌胃给予4.63、9.25、18.5 g/kg药液0.3 ml;卡倍他滨组给予0.83 g/kg卡倍他滨溶液0.3 ml;空白组及模型组予以等体积生理盐水;各组用药2周停药1周。停药期间予以生理盐水灌胃,直至第77天取材。

**1.4.2 小鼠一般情况** 实验过程中隔天观察并记录小鼠的一般状态、毛发光泽、活动情况、进食量、大便性状及弓背现象等,每7 d称量1次体重。

**1.4.3 标本采集** 药物干预结束后,各组小鼠禁食24 h,采集血清样本并制备血清,用于血清炎症因子检测;采集结直肠组织样本,观察记录结直肠大体形态和肠道内壁情况,拍照并记录肠道内肿瘤数量、大小、结直肠长度;结直肠组织一部分于4%多聚甲醛溶液中固定,用于HE染色;另一部分用于实时荧光定量PCR(qRT-PCR)和Western blotting检测相关基因和蛋白的表达。

**1.4.4 HE染色观察结直肠组织的病理变化** 取固定的结直肠组织,经常规脱水、石蜡包埋、切片(厚度

4  $\mu\text{m}$ )、二甲苯透明和乙醇梯度脱水后,依次进行苏木精染色5 min、1%盐酸乙醇分化、反蓝、伊红染色1 min,再次经梯度乙醇脱水、二甲苯透明,最后中性树胶封片。于光学显微镜下观察结肠黏膜组织形态结构、隐窝、杯状细胞和组织炎症情况。

**1.4.5 ELISA法检测血清炎症因子TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-10水平** 将小鼠血液4  $^{\circ}\text{C}$ 放置过夜,1000 r/min离心20 min后取上清液,-80  $^{\circ}\text{C}$ 冰箱储存。检测前复温2 h,采用ELISA法检测血清中TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-10水平。

**1.4.6 免疫组化法(IHC)检测结直肠组织中IFN- $\gamma$ 、IL-10、TNF- $\alpha$ 的表达** 结直肠组织经脱蜡、复水、抗原修复、内源性过氧化物酶阻断、磷酸盐缓冲盐水洗涤、封闭、一抗孵育[TNF- $\alpha$ (1:200)、IL-10(1:200)、IFN- $\gamma$ (1:200)]、二抗孵育、显色、苏木精复染后,待玻片自然风干,中性树胶封片,于光学显微镜下拍片,获取图像,并使用ImageJ图像处理软件对阳性结果行半定量分析,结果采用平均光密度值表示(目的蛋白光密度值/图像面积)。

**1.4.7 qRT-PCR检测*N-cadherin*、*Vimentin*、*E-cadherin*基因的表达** 取100 mg结直肠组织,置于1.5 ml离心管中,加入1 ml裂解液,4  $^{\circ}\text{C}$ 下12 000 r/min离心30 s取上清,提取结直肠组织总RNA,随即使用酶标仪检测RNA纯度与浓度,反转录合成cDNA。在无酶96孔板中加入反应混合液10  $\mu\text{l}$ ,混匀后使用甩板机离心1 min用于qRT-PCR。PCR扩增程序为40个循环(95  $^{\circ}\text{C}$ 预变性120 s,95  $^{\circ}\text{C}$ 变性5 s,60  $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s)。最后使用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算*N-cadherin*、*Vimentin*、*E-cadherin*基因的表达。引物序列:*N-cadherin*正向:GAATCCCGCCTATGAGTGGG,反向:CCGCCTCTTGAGGTAACACC;*Vimentin*正向:TCTCTGGCACGTCTTGACC,反向:TCTCTGGCACGTCTTGACC;*E-cadherin*正向:GAGTGGAGAACGAGGAACCC,反向:AAGTCTTCGGGCACTTCGAC; $\beta$ -actin正向:CCACTGTGAGTCGCGTCC,反向:GCGCAGCGATATCGTCATCC。

**1.4.8 Western blotting检测*N-cadherin*、*E-cadherin*蛋白的表达** 结直肠组织总蛋白经BCA试剂盒检测蛋白浓度,变性后行SDS-PAGE电泳,湿转至PVDF膜(300 mA,1 h)上。经5%脱脂奶粉封闭1 h,依次孵育*N-cadherin*(1:1000)、*E-cadherin*(1:1000)、 $\beta$ -actin(1:5000)一抗(4  $^{\circ}\text{C}$ ,14 h)和二抗(1:20 000)(室温,1 h),TBST洗涤后采用增强型化学发光法(enhanced chemiluminescence,ECL)显影。通过ImageJ软件分析蛋白条带灰度值,以 $\beta$ -actin为内参计算目的蛋白相对表达量。

**1.5 统计学处理** 采用GraphPad Prism 9.0软件进行

统计分析。计量资料均符合正态分布及方差齐性,以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD- $t$ 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 小鼠一般情况** 实验期间,空白组小鼠体重稳步增长,精神活跃,进食可,皮毛润泽光亮,无腹泻、便血、脱肛、弓背、死亡等情况;与空白组比较,模型组小鼠在饮用DSS期间出现体重下降( $P<0.05$ ),并伴不同程度的精神萎靡、消瘦、进食及活动减少、腹泻、便血、脱肛等症状,部分小鼠出现弓背现象,更换正常饮水后症状逐渐缓解,但总体症状随造模时间逐渐加重,甚至出现小鼠死亡;与模型组比较,卡倍他滨组、YMBJF各剂量组小鼠在第77天实验结束后体重增加( $P<0.05$ ),且一般状态优于模型组,小鼠死亡数量减少(附表1)。

**2.2 YMBJF对小鼠结直肠长度及肿瘤数量的影响** 与空白组比较,模型组小鼠结直肠长度明显缩短( $P<0.05$ );与模型组比较,卡倍他滨组及YMBJF中、高剂量组小鼠结直肠长度均增加( $P<0.05$ );与卡倍他滨组比较,YMBJF高剂量组小鼠结直肠长度明显增加( $P<0.05$ )。与空白组比较,模型组小鼠出现瘤体,且肠道内 $>3\text{ mm}$ 的肿瘤数量明显增多( $P<0.05$ );与模型组比较,卡倍他滨组和YMBJF各剂量组小鼠肠道内 $>3\text{ mm}$ 的肿瘤数量均减少( $P<0.05$ );与卡倍他滨组比较,YMBJF高剂量组小鼠肠道内 $>3\text{ mm}$ 的肿瘤数量明显减少( $P<0.05$ ) (图1)。

**2.3 YMBJF对小鼠结直肠组织病理损伤的影响** HE染色结果显示,空白组小鼠结肠黏膜组织结构完整,腺体及隐窝排列规则,杯状细胞排列整齐,未见炎性细胞浸润;与空白组比较,模型组小鼠黏膜上皮部分缺损、腺体结构紊乱、隐窝畸变伴杯状细胞消失,大量炎性细胞浸润;与模型组比较,卡倍他滨组及YMBJF各剂量组小鼠结肠黏膜组织结构较完整,腺体及隐窝排列较规则,杯状细胞数量增多,炎性细胞浸润减少(图2)。

**2.4 YMBJF对小鼠血清和结直肠组织中TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 及IL-10表达的影响** ELISA法检测结果显示,与空白组比较,模型组小鼠血清TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 水平升高,IL-10水平下降( $P<0.05$ );与模型组比较,卡倍他滨组及YMBJF中、高剂量组小鼠血清TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 水平降低,IL-10水平升高( $P<0.05$ );与卡倍他滨组比较,YMBJF高剂量组小鼠血清TNF- $\alpha$ 水平明显降低,IL-10水平明显升高( $P<0.05$ ) (表1)。

IHC结果显示,与空白组比较,模型组TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 表达明显上调,IL-10表达明显下调

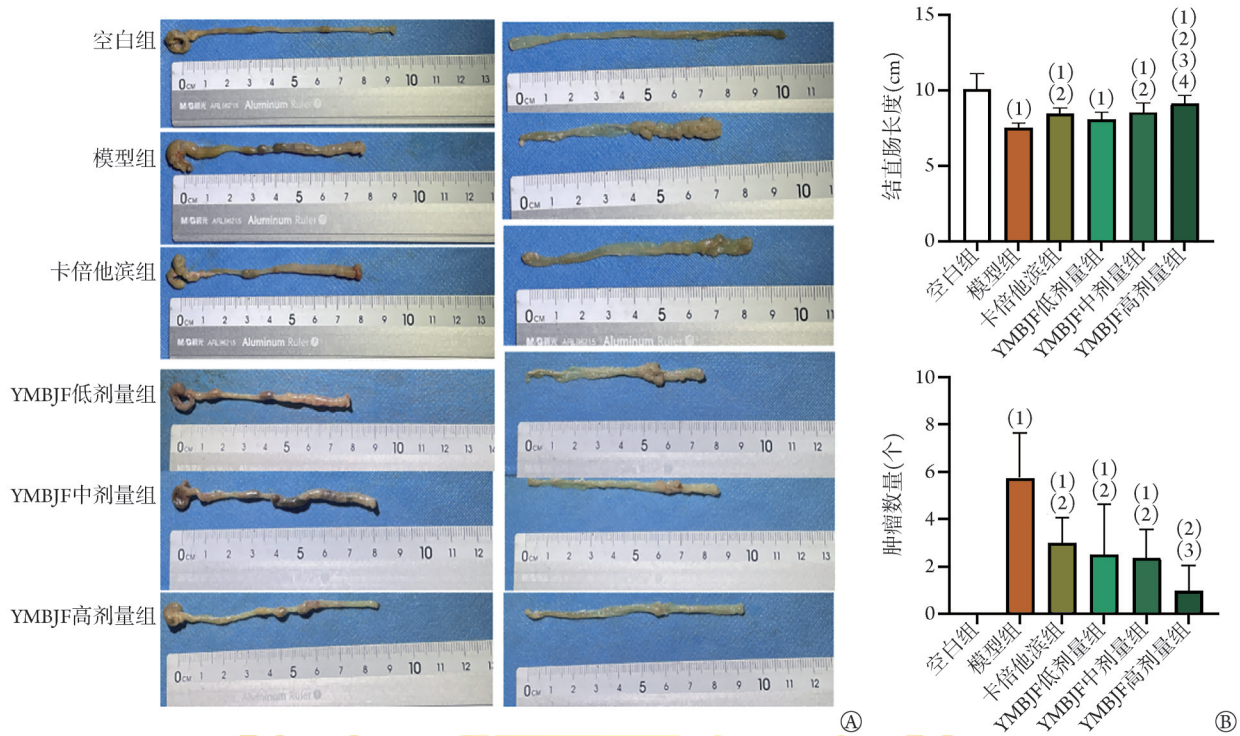


图1 YMBJF对小鼠结直肠长度及肠道内>3 mm肿瘤数量的影响(n=8)

Fig.1 Effects of YMBJF on colorectal length and number of tumors >3 mm in mice (n=8)

A. 各组小鼠结直肠长度及肠道剖开图; B. YMBJF对小鼠结直肠长度及肠道内>3 mm肿瘤数量的影响。与空白组比较, (1) $P<0.05$ ; 与模型组比较, (2) $P<0.05$ ; 与卡倍他滨组比较, (3) $P<0.05$ ; 与YMBJF低剂量组比较, (4) $P<0.05$ 。YMBJF. 薏梅败酱方

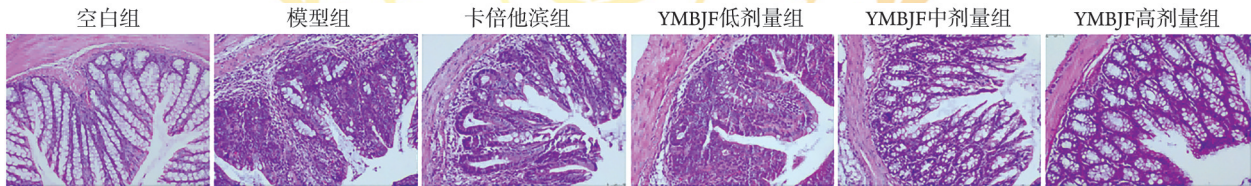


图2 各组小鼠组织病理学变化(HE,  $\times 200$ )

Fig.2 Histopathological changes of mice in each group (HE staining,  $\times 200$ )

YMBJF. 薏梅败酱方

( $P<0.05$ ); 与模型组比较, 卡倍他滨组及YMBJF中、高剂量组 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  表达明显下调, IL-10 明显上调( $P<0.05$ ) (表1、图3)

2.5 YMBJF对小鼠结直肠组织基因及蛋白表达的影响

表1 各组小鼠血清及结直肠组织中IFN- $\gamma$ 、IL-10和TNF- $\alpha$ 水平( $\bar{x}\pm s$ , n=3)

Tab.1 The levels of TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , and IL-10 in serum and colorectal tissues of each group of mice ( $\bar{x}\pm s$ , n=3)

组别	血清(pg/ml)			结直肠组织(%)		
	TNF- $\alpha$	IFN- $\gamma$	IL-10	TNF- $\alpha$	IFN- $\gamma$	IL-10
空白组	41.320 $\pm$ 20.890	7.994 $\pm$ 7.482	54.920 $\pm$ 2.864	6.677 $\pm$ 0.645	6.250 $\pm$ 0.406	0.842 $\pm$ 0.084
模型组	418.700 $\pm$ 60.500 <sup>(1)</sup>	42.010 $\pm$ 4.820 <sup>(1)</sup>	11.270 $\pm$ 2.350 <sup>(1)</sup>	31.440 $\pm$ 2.858 <sup>(1)</sup>	22.088 $\pm$ 2.226 <sup>(1)</sup>	0.336 $\pm$ 0.036 <sup>(1)</sup>
卡倍他滨组	248.500 $\pm$ 48.8500 <sup>(2)</sup>	22.370 $\pm$ 7.379 <sup>(2)</sup>	24.220 $\pm$ 3.025 <sup>(2)</sup>	9.615 $\pm$ 1.552 <sup>(2)</sup>	8.412 $\pm$ 0.536 <sup>(2)</sup>	0.770 $\pm$ 0.0368 <sup>(2)</sup>
YMBJF低剂量组	306.300 $\pm$ 44.110	26.220 $\pm$ 10.160	16.032 $\pm$ 1.652	25.706 $\pm$ 2.019 <sup>(2)</sup>	12.913 $\pm$ 1.240	0.379 $\pm$ 0.077 <sup>(2)</sup>
YMBJF中剂量组	225.900 $\pm$ 37.080 <sup>(2)</sup>	22.240 $\pm$ 2.274 <sup>(2)</sup>	23.260 $\pm$ 7.796 <sup>(2)</sup>	12.047 $\pm$ 2.033 <sup>(2)</sup>	9.791 $\pm$ 0.719 <sup>(2)</sup>	0.518 $\pm$ 0.030 <sup>(2)</sup>
YMBJF高剂量组	116.200 $\pm$ 51.480 <sup>(2)(3)(4)</sup>	16.040 $\pm$ 3.967 <sup>(2)</sup>	42.710 $\pm$ 4.503 <sup>(2)(3)(4)(5)</sup>	8.623 $\pm$ 0.835 <sup>(2)(4)</sup>	7.231 $\pm$ 0.864 <sup>(2)(4)</sup>	0.771 $\pm$ 0.038 <sup>(2)(4)(5)</sup>
F	26.090	9.022	47.170	95.830	75.190	48.320
P	<0.0001	0.0009	<0.0001	<0.0005	<0.0005	<0.0005

与空白组比较, (1) $P<0.05$ ; 与模型组比较, (2) $P<0.05$ ; 与卡倍他滨组比较, (3) $P<0.05$ ; 与YMBJF低剂量组比较, (4) $P<0.05$ ; 与YMBJF中剂量组比较, (5) $P<0.05$ 。YMBJF. 薏梅败酱方; TNF- $\alpha$ . 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; IFN- $\gamma$ .  $\gamma$ 干扰素; IL-10. 白细胞介素-10

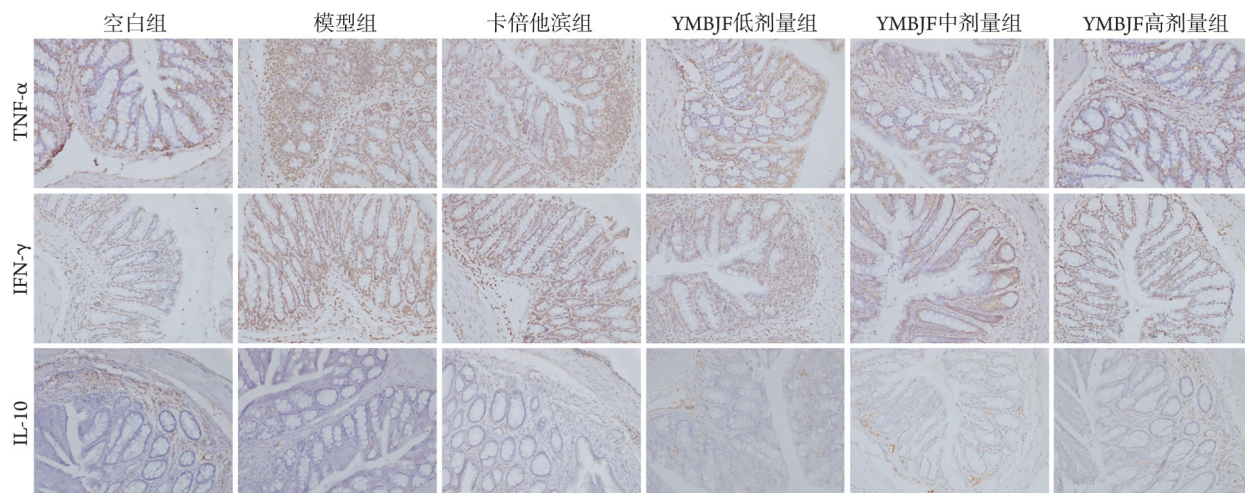


图3 各组小鼠结肠直肠组织中TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-10的表达情况(免疫组化,  $\times 200$ )

Fig.3 Expressions of TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , and IL-10 in colorectal tissues of each group mice (IHC,  $\times 200$ )

YMBJF. 薏苡仁败酱方; TNF- $\alpha$ . 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; IFN- $\gamma$ .  $\gamma$ 干扰素; IL-10. 白细胞介素-10

响 qRT-PCR 检测结果显示, 与空白组比较, 模型组 *E-cadherin* mRNA 表达明显下调, *N-cadherin*、*Vimentin* mRNA 表达明显上调 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 卡倍他滨组及 YMBJF 中、高剂量组 *E-cadherin* mRNA 表达明显上调, *N-cadherin*、*Vimentin* mRNA 表达明显下调 ( $P < 0.05$ ); 与卡倍他滨组比较, YMBJF 高剂量组 *E-cadherin* mRNA 表达明显上调, *Vimentin* mRNA 表达明显下调 ( $P < 0.05$ ) (图 4A)。

Western blotting 检测结果显示, 与空白组比较, 模型组 *E-cadherin* 蛋白表达水平明显降低, *N-cadherin* 蛋白表达水平明显升高 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, YMBJF 中、高剂量组 *E-cadherin* 蛋白表达水平升高, *N-cadherin* 蛋白表达水平下降 ( $P < 0.05$ ); 与卡倍他滨组比较, YMBJF 高剂量组 *E-cadherin* 蛋白表达水平明显升高 ( $P < 0.05$ ) (图 4B)。

### 3 讨论

随着早癌筛查的普及, 我国 CAC 发病率呈逐年增高趋势, 增加了社会经济负担。目前临床常采用口服化疗药卡倍他滨以发挥靶向抗肿瘤效应。研究表明, 卡倍他滨可通过下调 TNF- $\alpha$  水平、调控 EMT 相关标志物的表达, 抑制小鼠结肠直肠癌生长<sup>[24-25]</sup>。本研究中, 卡倍他滨和 YMBJF 干预后 CAC 模型小鼠结肠长度增加, 血清 IL-10、*E-cadherin* 表达上调, TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、*N-cadherin* 和 *Vimentin* 表达下调, 与既往研究<sup>[24-25]</sup>一致, 故选择卡倍他滨作为阳性对照药物具有一定积极意义。

慢性炎症是 CAC 肿瘤启动和发展的主要驱动力, 促炎因子与抗炎因子失衡在其中起关键作用。TNF- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$  通过破坏肠道屏障功能, 加剧炎-癌转化<sup>[26]</sup>, 其中 TNF- $\alpha$  水平与 CRC 恶性程度呈正相

关<sup>[27]</sup>, 而 IFN- $\gamma$  可通过激活 CD4<sup>+</sup> T 细胞促进炎症级联反应<sup>[28]</sup>。相反, IL-10 作为核心抗炎因子, 通过维持肠道免疫稳态发挥保护作用, 其缺失会显著增加肠炎癌变风险<sup>[29]</sup>。

长期炎症刺激通过诱导肠上皮细胞发生 EMT, 促进 CAC 的发展。研究表明, 结肠肿瘤邻近正常组织中, 炎症/纤维化相关通路(如 EMT 通路)在分子水平被显著激活<sup>[30]</sup>。关键炎性细胞因子 TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 、IL-1、IL-6 通过激活 EMT 转录因子驱动肿瘤转移, 其中 TNF- $\alpha$  可通过细胞因子级联反应诱导 EMT 进程。因此, 调控促炎/抗炎因子的平衡(特别是抑制 TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$  过表达)是防治 CAC 的重要策略。本研究发现, YMBJF 可上调 IL-10 的表达, 下调 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  的表达, 发挥抗炎作用。

表型可塑性是癌细胞的核心特征。在 CAC 中, EMT 的激活可驱动肿瘤侵袭边缘(invasive front)处细胞表型的动态变化, 显著促进癌细胞的转移扩散及肿瘤恶化<sup>[31]</sup>。尽管手术、放疗及靶向治疗是 CRC 的主要疗法, 但 EMT 诱导的肿瘤干细胞特性使细胞能在上皮-间质表型间动态转换, 通过增强环境适应性和损伤抵抗能力, 导致多药耐药并降低放疗/靶向/免疫治疗的疗效<sup>[32]</sup>。因此, 靶向抑制 EMT 已成为逆转治疗抵抗的关键策略。本研究发现, YMBJF 可上调 *E-cadherin* 蛋白的表达, 下调 *N-cadherin* 蛋白的表达, 发挥抑制 EMT 的作用。

综上所述, 本研究发现, YMBJF 可改善小鼠一般生长情况、减少肿瘤数量、降低炎症因子水平, 其机制可能与延缓 EMT 进程有关, 这为 YMBJF 防治 CAC 的临床应用提供了可靠依据。但本研究未深入分析 YMBJF 的具体分子机制, 未来拟通过基因敲除实验联合临床样本验证该方对 EMT 的潜在调控作

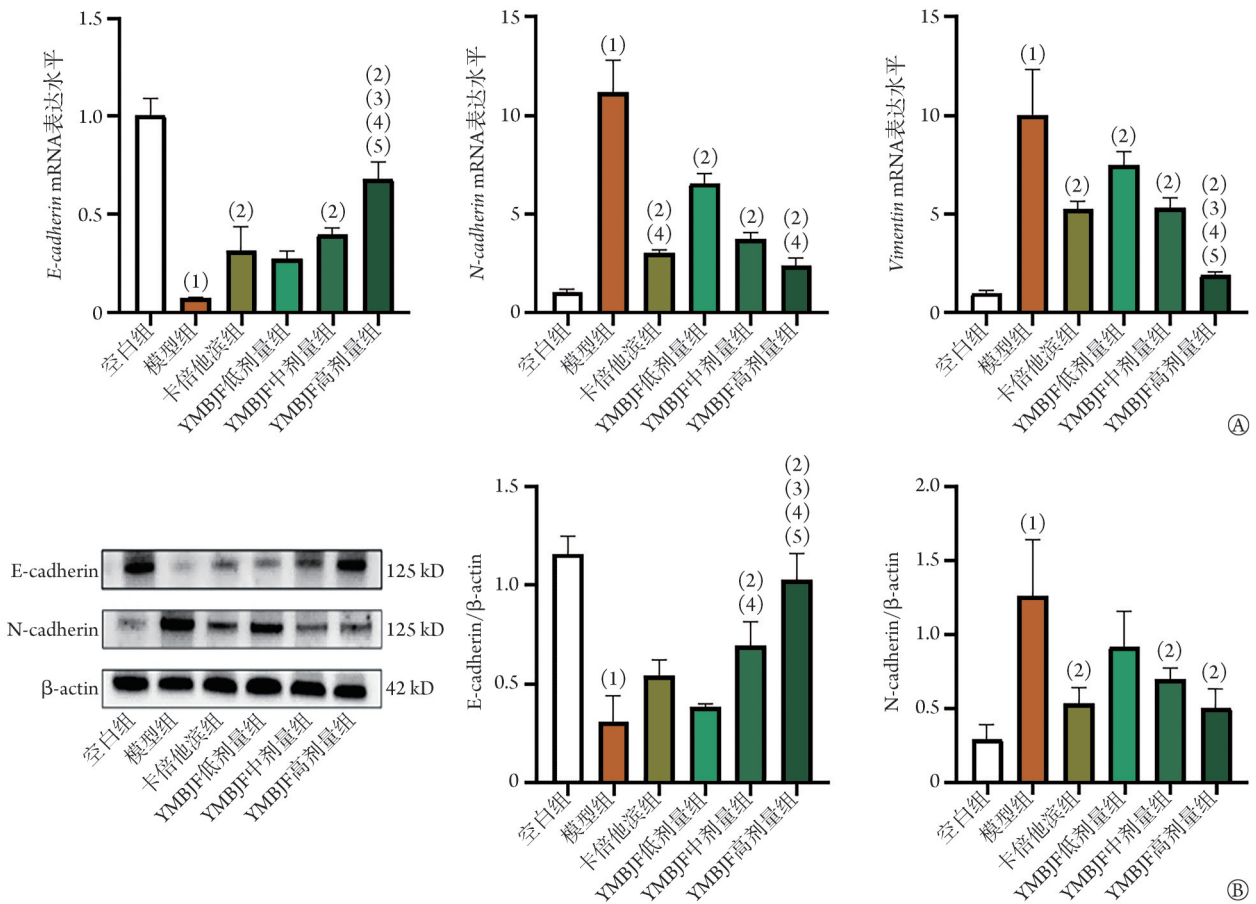


图4 各组小鼠肠道组织E-cadherin、N-cadherin、Vimentin mRNA及蛋白表达水平(n=3)

Fig.4 Comparison of the mRNA and protein expression levels of E-cadherin, N-cadherin, and Vimentin in intestinal tissues of mice in each group (n=3)

A. 各组小鼠肠道组织E-cadherin、N-cadherin、Vimentin mRNA表达水平；B. 各组小鼠肠道组织E-cadherin、N-cadherin、蛋白表达水平。与空白组比较，(1) $P < 0.05$ ；与模型组比较，(2) $P < 0.05$ ；与卡倍他滨组比较，(3) $P < 0.05$ ；与YMBJF低剂量组比较，(4) $P < 0.05$ ；与中剂量组比较，(5) $P < 0.05$ 。YMBJF. 薏梅败酱方；E-cadherin. E-钙黏蛋白；N-cadherin. N-钙黏蛋白；Vimentin. 波形蛋白

用，并应用单细胞测序技术分析其特异性靶细胞，揭示其抗CAC的细胞学机制。

【附加材料】

附表1 见 <https://dx.doi.org/10.11855/j.issn.0577-7402.0526.2025.1028FJ>。

请扫描右方二维码获取。



【参考文献】

[1] 赵英楠, 高君妍, 贺子轩, 等. 中国结直肠癌早筛早诊早治高质量发展发展的思考[J]. 中国实用内科杂志, 2025, 45(5): 373-380.  
 [2] Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, et al. Colorectal cancer[J]. Lancet, 2019, 394(10207): 1467-1480.  
 [3] 郑荣寿, 陈茹, 韩冰峰, 等. 2022年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2024, 46(3): 221-231.  
 [4] Bhat AA, Ahmad R, Uppada SPB, et al. Claudin-1 promotes TNF- $\alpha$ -induced epithelial-mesenchymal transition and migration in colorectal adenocarcinoma cells[J]. Exp Cell Res, 2016, 349(1): e119-e127.  
 [5] Huang Y, Hong W, Wei X. The molecular mechanisms and

therapeutic strategies of EMT in tumor progression and metastasis [J]. J Hematol Oncol, 2022, 15(1): 129.  
 [6] Yeung KT, Yang J. Epithelial-mesenchymal transition in tumor metastasis[J]. Mol Oncol, 2017, 11(1): 28-39.  
 [7] Pastushenko I, Blanpain C. EMT transition states during tumor progression and metastasis[J]. Trends Cell Biol, 2019, 29(3): 212-226.  
 [8] Yang C, Dou R, Wei C, et al. Tumor-derived exosomal microRNA-106b-5p activates EMT-cancer cell and M2-subtype TAM interaction to facilitate CRC metastasis[J]. Mol Ther, 2021, 29(6): 2088-2107.  
 [9] 高世磊, 王家强, 姚伟涛, 等. miR-761通过调控肿瘤相关巨噬细胞极化对骨肉瘤MG63细胞上皮-间质转化的影响[J]. 吉林大学学报(医学版), 2024, 50(4): 978-988.  
 [10] Sabouni E, Nejad MM, Mojtavavi S, et al. Unraveling the function of epithelial-mesenchymal transition (EMT) in colorectal cancer: metastasis, therapy response, and revisiting molecular pathways[J]. Biomed Pharmacother, 2023, 160: 114395.  
 [11] 刘静, 杨世发, 郭海霞, 等. 中医药抑制EMT治疗结直肠癌转移研究进展[J]. 中医学报, 2023, 38(6): 1234-1239.  
 [12] 陈露莹, 姜靖雯, 张慧. 基于黄芩汤治疗结直肠癌作用机制的

- 网络药理学和分子对接分析[J]. 吉林大学学报(医学版), 2024,50(1): 208-220.
- [13] Feng P, Zhu L, Jie J, *et al.* Cannabidiol inhibits invasion and metastasis in colorectal cancer cells by reversing epithelial-mesenchymal transition through the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2023, 149(7): 3587-3598.
- [14] Lin X, Yi Z, Diao J, *et al.* ShaoYao decoction ameliorates colitis-associated colorectal cancer by downregulating proinflammatory cytokines and promoting epithelial-mesenchymal transition[J]. *J Transl Med*, 2014, 12: 105.
- [15] 孙晓荷, 李柳, 王俊壹, 等. 基于癌毒病机理论探讨恶性肿瘤癌变病机特点[J]. 中华中医药杂志, 2025, 40(4): 1651-1654
- [16] 胡镜清. 痰瘀互结证新论[J]. 中国中医基础医学杂志, 2023, 29(1): 12-13.
- [17] 吴倩, 邹鑫, 姜朝丽, 等. 基于NF- $\kappa$ B信号通路探讨薏苡败酱方对炎症相关性结肠癌模型小鼠的作用[J/OL]. 中国实验方剂学杂志, 2025. doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20251127.
- [18] 张潇宇, 任爽, 孟凡艳, 等. 基于糖脂代谢调控的薏苡仁提取物生物学活性作用机制探讨[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(5): 121-124.
- [19] Shi G, Zheng X, Zhang S, *et al.* Kanglaite inhibits EMT caused by TNF- $\alpha$  via NF- $\kappa$ B inhibition in colorectal cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2017, 9(6): 67-71.
- [20] Li X, Bian K, Zhang J, *et al.* Unveiling the anti-tumor and anti-fibrotic potentials of Kanglaite in esophageal cancer through PVT1/TGF- $\beta$ /Smad axis inhibition[J]. *Ital J Food Sci*, 2024, 36(3): 115.
- [21] Zhu H, Zhao N, Jiang M. Isovitexin attenuates tumor growth in human colon cancer cells through the modulation of apoptosis and epithelial-mesenchymal transition via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. *Biochem Cell Biol*, 2021, 99(6): 741-749.
- [22] 陈志成, 张波, 霍明东, 等. 木犀草素对人结肠癌干细胞样细胞转移能力的影响及机制[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(6): 1322-1325.
- [23] 魏伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 71.
- [24] Shao M, Jiang C, Yu C, *et al.* Capecitabine inhibits epithelial-to-mesenchymal transition and proliferation of colorectal cancer cells by mediating the RANK/RANKL pathway[J]. *Oncol Lett*, 2022, 23(3): 96.
- [25] Zhang Y, Yang Y, Zan L, *et al.* Preparation and application of patient-derived xenograft mice model of colorectal cancer[J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2023, 26(2): 248.
- [26] D'Attri F, Citi S. Cingulin interacts with F-actin *in vitro*[J]. *FEBS Lett*, 2001, 507(1): 21-24.
- [27] 张鹏飞, 张玉军, 朱振龙, 等. 血清IL-6和TNF- $\alpha$ 水平与结肠癌病程的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(11): 2716-2717.
- [28] Oh NS, Lee JY, Kim YT, *et al.* Cancer-protective effect of a synbiotic combination between *Lactobacillus gasserii* S05 and a *Cudrania tricuspidata* leaf extract on colitis-associated colorectal cancer[J]. *Gut Microbes*, 2020, 12(1): 1785803.
- [29] Wei H X, Wang B, Li B. IL-10 and IL-22 in mucosal immunity: driving protection and pathology[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1315.
- [30] Zhao Y, Guo M, Zhao F, *et al.* Colonic stem cells from normal tissues adjacent to tumor drive inflammation and fibrosis in colorectal cancer[J]. *Cell Commun Signal*, 2023, 21(1): 186.
- [31] 党锋, 杨坤荣, 刘文聘, 等. 柴胡皂苷D通过抑制EMT和细胞干性抑制人结肠癌细胞SW480的迁移和侵袭[J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(7): 1091-1096.
- [32] Shin AE, Giancotti FG, Rustig AK. Metastatic colorectal cancer: mechanisms and emerging therapeutics[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2023, 44(4): 222-236.

(责任编辑: 纪方方)



解放军医学杂志®