

本文引用: 孙 曦, 褚卫建, 郑 易, 陆森炯, 魏 义, 尹 鑫, 黄 栋. 6-姜烯酚对人结肠癌耐药细胞株 SW620/5-Fu 化疗敏感性及 SDF-1 α /CXCR7 信号通路的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(4): 707-714.

6-姜烯酚对人结肠癌耐药细胞株 SW620/5-Fu 化疗敏感性及 SDF-1 α /CXCR7 信号通路的影响

孙 曦, 褚卫建*, 郑 易, 陆森炯, 魏 义, 尹 鑫, 黄 栋

浙江中医药大学附属杭州市中医院肛肠科, 浙江 杭州 310007

〔摘要〕 目的 观察 6-姜烯酚对人结肠癌耐药细胞株 SW620/5-氟尿嘧啶(5-Fu)化疗敏感性的影响,并探讨其对基质细胞衍生因子-1 α (SDF-1 α)/CXCR7 趋化因子受体 7(CXCR7)通路的调控机制。方法 采用低剂量起始并逐步递增 5-Fu 浓度梯度(5、10、20、40、60、80 μ g/mL)的筛选策略,构建人结肠癌耐药细胞株 SW620/5-Fu,随后将其分为空白组、6-姜烯酚组、5-Fu 组、6-姜烯酚+5-Fu 组。其中空白组加入等体积无菌生理盐水,6-姜烯酚组加入终浓度为 40 μ mol/L 的 6-姜烯酚,5-Fu 组加入终浓度为 60 μ g/mL 的 5-Fu,6-姜烯酚+5-Fu 组同时加入终浓度为 40 μ mol/L 的 6-姜烯酚和 60 μ g/mL 的 5-Fu。培养 48 h 后,倒置显微镜下观察各组细胞形态学变化;MTT 法测定各组细胞增殖抑制率和药物敏感性;流式细胞术检测各组细胞凋亡率;RT-qPCR 检测各组细胞 SDF-1 α 、CXCR7、P-糖蛋白(P-gp)、B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)及 Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax) mRNA 表达;Western blot 检测各组细胞 SDF-1 α 、CXCR7、P-gp、Bcl-2、Bax 蛋白表达水平。结果 空白组和 5-Fu 组细胞单层贴壁生长,为梭形或三角形,呈上皮样;6-姜烯酚组和 6-姜烯酚+5-Fu 组贴壁细胞明显减少,细胞缩小变圆,碎片增多,但仍呈上皮样。与空白组和 5-Fu 组比较,6-姜烯酚组和 6-姜烯酚+5-Fu 组细胞增殖抑制率、细胞凋亡率、Bax mRNA 及蛋白表达水平均升高($P<0.05$);耐药指数、SDF-1 α 、CXCR7、P-gp、Bcl-2 mRNA 及蛋白表达水平均降低($P<0.05$)。结论 6-姜烯酚能够抑制人结肠癌耐药细胞株 SW620/5-Fu 的增殖,促进其凋亡,增强其化疗敏感性,其机制可能与抑制 SDF-1 α /CXCR7 信号通路激活,下调 P-gp 和 Bcl-2 表达,上调 Bax 表达有关。

〔关键词〕 结肠癌;6-姜烯酚;化疗敏感性;基质细胞衍生因子-1 α ;CXCR7 趋化因子受体 7

〔中图分类号〕 R285.5

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.04.007

Effects of 6-shogaol on chemosensitivity of human colon cancer drug-resistant cell line SW620/5-Fu and the SDF-1 α /CXCR7 signaling pathway

SUN Xi, CHU Weijian*, ZHENG Yi, LU Miaojiang, WEI Yi, YIN Xin, HUANG Dong

Department of Proctology, Hangzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou, Zhejiang 310007, China

〔Abstract〕 Objective To observe the effects of 6-shogaol on the chemosensitivity of the human colon cancer drug-resistant cell line SW620/5-fluorouracil (5-Fu) and to explore its regulatory mechanism on the stromal cell-derived factor-1 α (SDF-1 α)/CXCR7 chemokine receptor 7 (CXCR7) pathway. **Methods** A screening strategy was employed using a gradient of 5-Fu concentrations starting at a low dose and gradually increasing (5, 10, 20, 40, 60, 80 μ g/mL) to establish the human colon cancer drug-resistant cell line SW620/5-Fu. The cells were then divided into blank group, 6-shogaol group, 5-Fu group, and 6-shogaol+5-Fu group. The blank group received an equal volume of sterile normal saline. The 6-shogaol group was treated with 6-shogaol at a final concentration of

〔收稿日期〕 2025-12-17

〔基金项目〕 浙江省中医药科技计划项目(2024ZL679)。

〔通信作者〕 * 褚卫建,男,主任医师,E-mail: 13336013320@189.cn。

40 $\mu\text{mol/L}$ 。The 5-Fu group was treated with 5-Fu at a final concentration of 60 $\mu\text{g/mL}$ 。The 6-shogaol+5-Fu group was treated with both 40 $\mu\text{mol/L}$ 6-shogaol and 60 $\mu\text{g/mL}$ 5-Fu。After 48 hours of culture, morphological changes of the cells in each group were observed under an inverted microscope。The cell proliferation inhibition rate and drug sensitivity were measured by MTT assay。Apoptosis rate was determined by flow cytometry。The mRNA expression levels of SDF-1 α , CXCR7, P-glycoprotein (P-gp), B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), and Bcl-2-associated X protein (Bax) were determined by RT-qPCR。The protein expression levels of SDF-1 α , CXCR7, P-gp, Bcl-2, and Bax were examined by Western blot。**Results** In the blank group and the 5-Fu group, cells grew as a monolayer adherent culture, appearing spindle- or triangular-shaped with an epithelial-like morphology。In the 6-shogaol group and the 6-shogaol+5-Fu group, adherent cells were significantly reduced, cells shrank and became round, and cell debris increased, though they still exhibited an epithelial-like appearance。Compared with the blank group and the 5-Fu group, the cell proliferation inhibition rate, apoptosis rates, as well as the mRNA and protein expression levels of Bax significantly increased in the 6-shogaol group and the 6-shogaol+5-Fu group ($P<0.05$)。Meanwhile, the drug resistance index, the mRNA and protein expression levels of SDF-1 α , CXCR7, P-gp, and Bcl-2 significantly decreased ($P<0.05$)。**Conclusion** 6-Shogaol can inhibit the proliferation, promote apoptosis, and enhance chemosensitivity of the human colon cancer drug-resistant cell line SW620/5-Fu。The mechanism may be associated with inhibition of the SDF-1 α /CXCR7 signaling pathway, downregulation of P-gp and Bcl-2 expression, and upregulation of Bax expression。

〔**Keywords**〕 colon cancer; 6-shogaol; chemosensitivity; stromal cell-derived factor-1 α ; CXC chemokine receptor 7

结直肠癌是临床上最常见的消化道恶性肿瘤之一,其发病率居全球癌症第3位,癌症相关死亡原因第2位,给人类健康带来日益严重威胁^[1]。化疗是结肠癌患者的主要治疗手段,但多药耐药性的出现严重影响了化疗效果,甚至导致化疗失败^[1]。因此,如何逆转肿瘤化疗耐药,提高肿瘤细胞的化疗敏感性成为了近年来的研究热点。5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)是目前临床治疗结肠癌最常用的化疗药物,但近年来越来越多的结肠癌患者对5-Fu出现了耐药性^[2]。一方面,由多药耐药基因1(multidrug resistance gene 1, MDR1)编码的P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)能够将细胞内的抗肿瘤药物泵出细胞外,降低细胞内的药物浓度,导致肿瘤细胞产生耐药性^[3];另一方面,抗凋亡基因B细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)的高表达会抑制肿瘤细胞凋亡,促进耐药性的产生^[4]。此外,肿瘤微环境相关信号通路在耐药过程中同样发挥重要作用,其中基质细胞衍生因子-1 α (stromal cell-derived factor-1 α , SDF-1 α)可通过与其受体CXC趋化因子受体(CXC chemokine receptor, CXCR)结合参与肿瘤进展调控;已有研究证实SDF-1 α /CXCR7信号通路可通过上调P-gp的表达,进一步促进结肠癌细胞对5-Fu产生耐药性^[5]。

6-姜烯酚是从生姜中提取出的一种酚醛酮类活性物质,有广泛的药理学作用^[6]。近年来的研究报

道显示,6-姜烯酚具有一定的抗肿瘤作用,可在多种肿瘤类型(如胃癌、乳腺癌、肝癌、肺和膀胱癌等)中发挥逆转耐药的潜在效应^[7]。然而,其在结肠癌耐药细胞中的具体作用机制及相关信号通路仍有待进一步深入研究,故本研究通过构建人结肠癌耐药细胞株SW620/5-Fu,研究6-姜烯酚对其化疗敏感性的影响,并探讨6-姜烯酚对SDF-1 α /CXCR7通路的调控机制。

1 材料

1.1 细胞来源

人结肠癌细胞株SW620(美国ATCC细胞库,批号:YB-ATCC-4193)。

1.2 主要药物与试剂

6-姜烯酚(西安维珍生物科技有限公司,批号:190526);MTT试剂盒(美国Biovision公司,批号:K299-1000);兔抗人SDF-1 α 、CXCR7、P-gp、Bcl-2、Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2-associated X protein, Bax)单克隆抗体和兔抗人SDF-1 α 、CXCR7、P-gp、Bcl-2、Bax多克隆抗体(美国ABGENT公司,批号:190122、191123、190431、191202、191017、1910225、1910413、190130、190817、191104);人Annexin V-FITC/PI双染试剂盒[翌圣生物科技(上海)股份有限公司,批号:40302ES20];Trizol试剂盒(上海邦景实业有限公司,批号:BJ-S963719);CCK-8试剂盒(上海碧云天生物

技术有限公司,批号:C0037);逆转录试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司,批号:R323-01);蛋白提取试剂盒(北京雅安达生物技术有限公司,批号:26131-100);辣根过氧化物酶(HRP)(德国 Merck KGaA 公司,批号:9003-99-0);ECL 化学发光试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号:WBK1S0100)。

1.3 主要仪器

BC 190 型 CO₂ 培养箱 (瑞士SALVIS 公司);STP FDE 型超低温冰箱 (美国 Thermo Fisher 公司);HCB-900V 型超净工作台(中国青岛海尔生物医疗股份有限公司);ECHO revolve FL 型倒置光学显微镜(美国 ECHO 公司);Spark 型多功能酶标仪(瑞士 TECAN 公司);FACSCanto II 型流式细胞仪 (美国 BD 公司);Sigma 4-16S 型高速离心机(美国 Sigma 公司);CFX96 Touch 型 PCR 仪 (伯乐生命医学产品有限公司);BFEP-300 型电泳仪 (杭州比格飞序生物科技有限公司);GDST-1302 型凝胶成像系统(北京莱博特科技有限公司)。

2 方法

2.1 人结肠癌耐药细胞株 SW620/5-Fu 的构建

将 SW620 培养于含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基,于 37 ℃、5% CO₂ 条件下贴壁培养。当细胞汇合度达 70%~80%时,参考既往研究,采用低剂量起始并逐步递增药物浓度梯度筛选策略,构建结直肠癌细胞 5-Fu 耐药模型^[8]。具体为:先以低剂量 5-Fu 对 SW620 进行诱导处理,在细胞能够耐受并恢复稳定生长后,逐步提高 5-Fu 的筛选浓度(筛选浓度梯度为 5、10、20、40、60、80 μg/mL)。当细胞在连续多代培养过程中能够在 40~60 μg/mL 的 5-Fu 条件下保持稳定贴壁生长、形态基本一致且增殖速度无明显下降时,认为其已获得相对稳定的耐药表型。结合细胞存活率、增殖状态及长期培养稳定性,最终选择 60 μg/mL 的 5-Fu 作为维持浓度,用于耐药细胞株的持续培养及后续实验。为避免短期药物应激影响功能实验,实验前将细胞于无药条件下培养 1~2 代。耐药细胞株构建成功通过 MTT 法检测 5-Fu 的 IC₅₀ 值进行验证,并以耐药指数[耐药指数=耐药细胞株(SW620/5-Fu)IC₅₀/亲本细胞株(SW620)IC₅₀]评价耐药程度^[8]。

2.2 6-姜烯酚作用浓度筛选

为确定后续实验中 6-姜烯酚的适宜处理浓度,采用 CCK-8 法检测不同浓度 6-姜烯酚对 SW620/5-Fu 细胞活力的影响。将对数生长期的 SW620/5-Fu 接种于 96 孔板中,贴壁后分别给予 0、10、20、40、80、160 μmol/L 6-姜烯酚处理,常规培养 24 h 后加入 CCK-8 试剂,孵育 2 h,于 450 nm 波长处检测吸光度值。以 0 μmol/L 作为对照,计算不同浓度处理后细胞相对存活率,并据此确定后续实验所用 6-姜烯酚工作浓度。

2.3 分组与干预

将构建成功的人结肠癌耐药细胞株 SW620/5-Fu 随机分为 4 组:空白组、6-姜烯酚组、5-Fu 组及 6-姜烯酚+5-Fu 组。空白组加入等体积无菌生理盐水;6-姜烯酚组加入终浓度为 40 μmol/L 的 6-姜烯酚;5-Fu 组加入终浓度为 60 μg/mL 的 5-Fu;6-姜烯酚+5-Fu 组同时加入终浓度为 40 μmol/L 的 6-姜烯酚和 60 μg/mL 的 5-Fu。各组均在相同培养条件下继续培养 48 h 后进行后续实验检测。

2.4 细胞形态学观察

各组细胞在培养 48 h 后,弃去原培养基并用 PBS 冲洗 2 次,于倒置光学显微镜下观察细胞形态学变化。

2.5 MTT 法测定各组细胞增殖抑制率

细胞分组及给药处理同 2.3。各组在相同培养条件下继续培养 48 h 后,每孔加入 20 μL 浓度为 5 mg/mL 的 MTT 溶液,培养 4 h 后弃孔内液体,加入 150 μL DMSO,于摇床上振荡 10 min。采用多功能酶标仪在 490 nm 波长处检测各孔吸光度值。细胞增殖抑制率=(空白组吸光度值-用药组吸光度值)/空白组吸光度值×100.00%,每组取 6 个复孔的平均值用于统计分析。

2.6 流式细胞术检测各组细胞凋亡率

细胞分组及给药处理同 1.2.3。各组继续培养 48 h 后,采用不含 EDTA 的胰酶消化细胞,收集细胞悬液,离心弃上清。用 PBS 冲洗 2 次后加入 500 μL 结合缓冲液重悬细胞,依次加入 Annexin V-FITC 5 μL 和 PI 5 μL,室温避光孵育 15 min。采用流式细胞仪检测细胞凋亡情况,并使用 CellQuest 软件进行分析。

2.7 MTT 法检测各组细胞药物敏感性

细胞分组及给药处理同 2.3。各组细胞经相应处理 48 h 后,消化并制成单细胞悬液,调整细胞密度为 5×10^4 个/mL,按 200 μ L/孔接种至 96 孔板,每组设置 3 个复孔。培养 24 h 后弃去孔内培养基,设置对照孔和调零孔,分别加入含不同浓度 5-Fu (12.5、25.0、50.0、100.0、200.0、400.0、800.0、1 600.0 μ g/mL) 的培养液,每孔 200 μ L,继续培养 48 h。其余 MTT 检测步骤同 2.5。计算得出各浓度条件下细胞的抑制率及 5-Fu 对各组细胞的 IC_{50} ,并按 2.1 中公式计算耐药指数。

2.8 RT-qPCR 检测各组细胞 SDF-1 α 、CXCR7、P-gp、Bcl-2、Bax mRNA 表达水平

各组细胞在培养 48 h 后,弃去原培养基并用 PBS 冲洗 2 次,用 Trizol 试剂盒分别提取各组总 RNA,使用逆转录试剂盒合成 cDNA,然后进行 RT-qPCR 反应。RT-qPCR 反应体系总体积为 20 μ L,反应条件为预变性 95 $^{\circ}$ C 15 min,变性 95 $^{\circ}$ C 10 s,退火/延伸 60 $^{\circ}$ C 32 s,共计 40 个循环。以 GAPDH 作为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算各基因的相对表达量。RT-qPCR 所用引物由上海圻明生物科技有限公司设计合成。详见表 1。

表 1 RT-qPCR 引物序列
Table 1 RT-qPCR primer sequences

基因	引物序列(5'→3')	引物长度/bp
SDF-1 α	正向:TTACGTACGCATGACAC	286
	反向:CATTACAGGCAGTCGACA	
CXCR7	正向:ACATCGTCAGTACGAACATA	292
	反向:CGTAATGTAGCACCATCA	
P-gp	正向:TGGAGGAGATGAGGATGTTG	240
	反向:ATGTTGCCATAGGCTGACTT	
Bcl-2	正向:CGTCACGTGTACGAACATCGTA	316
	反向:CATCACTACGTACGAATGCAC	
Bax	正向:TGTCGATAGCATAGACC	281
	反向:TTCAGTACAGTAGTAAC	
GAPDH	正向:TCGTACAATGTCAGTCAC	294
	反向:TTCGTACGAATCGTCAGTC	

2.9 Western blot 检测各组细胞 SDF-1 α 、CXCR7、P-gp、Bcl-2、Bax 蛋白表达水平

各组细胞在培养 48 h 后,弃去原培养基并用 PBS 冲洗 2 次,加入 RIPA 裂解液裂解 30 min,提

取并测定蛋白浓度。每上样孔加 20 μ L 蛋白样品,用 10% SDS-PAGE 凝胶进行电泳,转膜后用脱脂牛奶室温封闭 1 h,随后分别加入 SDF-1 α 、CXCR7、P-gp、Bcl-2、Bax 及 GAPDH 一抗,于 4 $^{\circ}$ C 条件下孵育过夜,其中 SDF-1 α 、CXCR7、Bcl-2 和 Bax 一抗稀释比例为 1:1 000,P-gp 一抗稀释比例为 1:500,GAPDH 一抗稀释比例为 1:5 000。TBST 洗膜 3 次后,加入相应 HRP 标记的二抗,于室温孵育 1 h,其中二抗稀释比例为 1:5 000;随后再次用 TBST 洗膜 3 次,移至暗室,通过凝胶成像系统曝光显影。以 β -actin 为内参,计算各组目标蛋白的相对表达量。

2.10 统计学分析

采用 SPSS 23.0 软件进行统计学分析,采用 GraphPad Prism 8.0 软件绘图。计量资料以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示。符合正态分布且方差齐者,多组间比较采用 one-way ANOVA,组间两两比较采用 SNK-q 法;若方差不齐者,采用 Welch 校正的方差分析,组间两两比较采用 Games-Howell 法。不符合正态分布者,采用非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 人结肠癌耐药细胞株 SW620/5-Fu 的鉴定

SW620 细胞的 IC_{50} 值为 $(14.25 \pm 1.34) \mu$ g/mL,而 SW620/5-Fu 细胞的 IC_{50} 值为 $(96.98 \pm 2.24) \mu$ g/mL。SW620/5-Fu 细胞的耐药倍数是 SW620 细胞的 6.8 倍,说明人结肠癌耐药细胞株 SW620/5-Fu 构建成功。详见图 1。

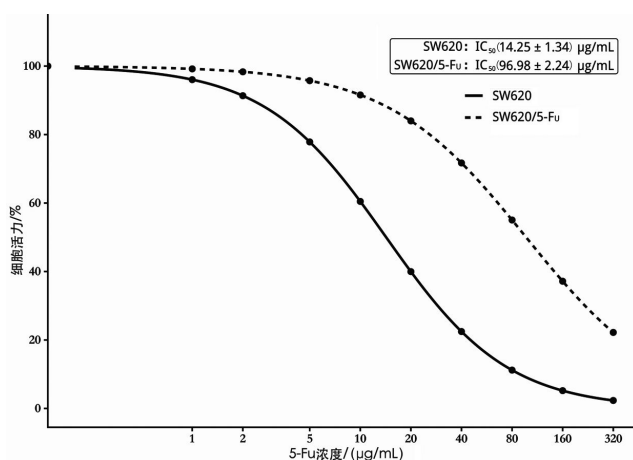


图 1 人结肠癌细胞 SW620 与人结肠癌耐药细胞株 SW620/5-Fu 对 5-Fu 的剂量-反应曲线

Fig.1 Dose-response curves of human colon cancer cells SW620 and human colon cancer drug-resistant cell line SW620/5-Fu to 5-Fu

3.2 不同浓度 6-姜烯酚对人结肠癌耐药细胞株 SW620/5-Fu 细胞活力的影响

与 0 $\mu\text{mol/L}$ 比较,20、40、80、160 $\mu\text{mol/L}$ 的 6-姜烯酚干预后细胞活力均下降($P<0.05$, $P<0.01$),且随着 6-姜烯酚浓度的升高,细胞活力下降趋势越明显。综合考虑不同浓度 6-姜烯酚对细胞活力的抑制幅度及细胞生长状态,在 40 $\mu\text{mol/L}$ 条件下即可引起稳定且具有统计学意义的细胞活力下降,同时未出现明显过度细胞毒性,故选其作为后续实验的工作浓度。详见图 2。

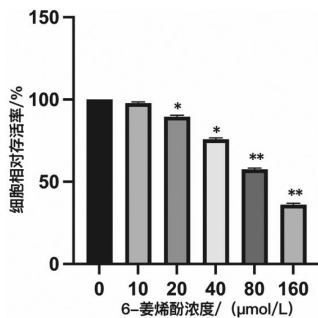


图 2 不同浓度 6-姜烯酚对人结肠癌耐药细胞株 SW620/5-Fu 细胞活力的影响($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Fig.2 Effects of different concentrations of 6-shogaol on the cell viability of the human colon cancer drug-resistant cell line SW620/5-Fu ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)
注:与 0 $\mu\text{mol/L}$ 组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

3.3 各组细胞形态学观察

空白组和 5-Fu 组细胞呈上皮样,单层贴壁生长,为梭形或三角形;6-姜烯酚组和 6-姜烯酚+5-Fu 组

组细胞仍呈上皮样,但贴壁细胞明显减少,细胞缩小变圆,碎片增多,胞质中黑色颗粒增多。详见图 3。

3.4 各组细胞增殖抑制率分析

与空白组比较,5-Fu 组细胞增殖抑制率的差异无统计学意义($P>0.05$);与空白组和 5-Fu 组比较,6-姜烯酚组及 6-姜烯酚+5-Fu 组细胞增殖抑制率均升高($P<0.05$);与 6-姜烯酚组比较,6-姜烯酚+5-Fu 组细胞增殖抑制率差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表 2。

表 2 各组细胞增殖抑制率比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Table 2 Comparison of cell proliferation inhibition rates among groups ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	细胞增殖抑制率/%
空白组	0
5-Fu 组	18.62 $\pm$ 4.35
6-姜烯酚组	88.98 $\pm$ 13.16**
6-姜烯酚+5-Fu 组	85.52 $\pm$ 12.37**

注:与空白组相比,* $P<0.05$;与 5-Fu 组相比,* $P<0.05$ 。

3.5 各组细胞凋亡率分析

与空白组比较,5-Fu 组细胞早期凋亡率、晚期凋亡率及总凋亡率差异均无统计学意义($P>0.05$);与空白组和 5-Fu 组比较,6-姜烯酚组及 6-姜烯酚+5-Fu 组细胞早期凋亡率、晚期凋亡率及总凋亡率均升高($P<0.05$);与 6-姜烯酚组比较,6-姜烯酚+5-Fu 组早期凋亡率、晚期凋亡率及总凋亡率差异均无统计学意义($P>0.05$)。详见图 4、表 3。

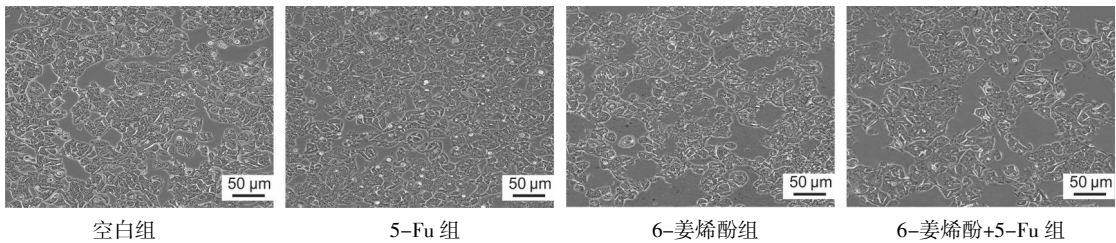


图 3 各组细胞形态学代表性图像($\times 200$)

Fig.3 Representative morphological images of cells in each group ($\times 200$)

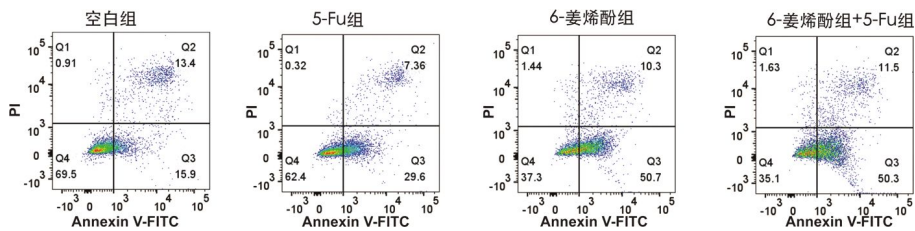


图 4 各组细胞早期、晚期和总凋亡率比较

Fig.4 Comparison of early, late, and total apoptosis rates of cells among groups

表 3 各组细胞早期、晚期和总凋亡率比较($\bar{x}\pm s$, %, $n=6$)Table 3 Comparison of early, late, and total apoptosis rates of cells among groups ($\bar{x}\pm s$, %, $n=6$)

组别	早期凋亡率	晚期凋亡率	总凋亡率
空白组	16.42±3.87	14.14±2.96	30.56±5.22
5-Fu 组	29.61±5.82	7.35±1.86	36.96±6.21
6-姜烯酚组	50.72±8.96 [#]	10.31±2.44 [#]	61.03±10.18 [#]
6-姜烯酚+5-Fu 组	50.08±8.97 [#]	12.16±3.21 [#]	62.24±11.36 [#]

注:与空白组相比, * $P<0.05$; 与 5-Fu 组相比, [#] $P<0.05$ 。

3.6 各组细胞药物敏感性分析

与空白组比较, 5-Fu 组细胞耐药指数差异无统计学意义($P>0.05$); 与空白组和 5-Fu 组比较, 6-姜烯酚组及 6-姜烯酚+5-Fu 组细胞耐药指数均降低($P<0.05$); 与 6-姜烯酚组比较, 6-姜烯酚+5-Fu 组细胞耐药指数差异均无统计学意义($P>0.05$)。详见表 4。

表 4 各组细胞耐药指数比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)Table 4 Comparison of drug resistance index of cells among groups ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	耐药指数
空白组	7.89±1.24
5-Fu 组	7.95±1.31
6-姜烯酚组	2.02±0.35 [#]
6-姜烯酚+5-Fu 组	1.96±0.31 [#]

注:与空白组相比, * $P<0.05$; 与 5-Fu 组相比, [#] $P<0.05$ 。

3.7 各组细胞 SDF-1 α 、CXCR7、P-gp、Bcl-2、Bax mRNA 表达水平分析

与空白组比较, 5-Fu 组细胞 SDF-1 α 、CXCR7、P-gp、Bcl-2 及 Bax mRNA 表达水平差异均无统计学意义($P>0.05$); 与空白组和 5-Fu 组比较, 6-姜烯酚组及 6-姜烯酚+5-Fu 组细胞 SDF-1 α 、CXCR7、P-gp、Bcl-2 mRNA 表达水平均降低($P<0.05$), Bax mRNA

表达水平均升高($P<0.05$); 与 6-姜烯酚组比较, 6-姜烯酚+5-Fu 组细胞 SDF-1 α 、CXCR7、P-gp、Bcl-2 及 Bax mRNA 表达水平差异均无统计学意义($P>0.05$)。详见表 5。

3.8 各组细胞 SDF-1 α 、CXCR7、P-gp、Bcl-2、Bax 蛋白表达水平分析

与空白组比较, 5-Fu 组细胞 SDF-1 α 、CXCR7、P-gp、Bcl-2 及 Bax 蛋白表达水平差异均无统计学意义($P>0.05$); 与空白组和 5-Fu 组比较, 6-姜烯酚组及 6-姜烯酚+5-Fu 组细胞 SDF-1 α 、CXCR7、P-gp、Bcl-2 蛋白表达水平均降低($P<0.05$), Bax 蛋白表达水平均升高($P<0.05$); 与 6-姜烯酚组比较, 6-姜烯酚+5-Fu 组细胞 SDF-1 α 、CXCR7、P-gp、Bcl-2 及 Bax 蛋白表达水平差异均无统计学意义($P>0.05$)。详见图 5、表 6。

4 讨论

结肠癌化疗耐药严重影响患者治疗效果, 因此, 从分子水平探讨其发生机制并筛选有效的逆转策略具有重要意义^[9-11]。化疗药物主要通过诱导肿瘤细胞凋亡、抑制细胞增殖而发挥抗肿瘤作用, 而凋亡调控通路中相关分子的异常表达可削弱化疗药物诱导凋亡的效果, 进而促使耐药性的产生^[12]。6-姜烯酚作为生姜中重要活性成分, 已被证实有促进肿瘤细胞自噬和凋亡、诱导细胞周期阻滞、抑制肿瘤细胞增殖、侵袭和转移等多种抗肿瘤药理活性^[13]。研究显示, 6-姜烯酚能在不同程度上抑制人结肠癌细胞 SW480 的 DNA 合成和有丝分裂, 使 SW480 细胞的增殖周期停留在 G₂/M 期, 进而导致细胞增殖停滞和凋亡^[14]。本研究结果显示, 与空白组和 5-Fu 组相比, 6-姜烯酚组及 6-姜烯酚+5-Fu 组细胞贴壁明显减少、细胞碎片增多, 细胞增殖抑制率和凋亡率升高, 耐药指数降

表 5 各组细胞 SDF-1 α 、CXCR7、P-gp、Bcl-2、Bax mRNA 表达水平比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)Table 5 Comparison of mRNA expression levels of SDF-1 α , CXCR7, P-gp, Bcl-2, and Bax of cells among groups ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	SDF-1 α	CXCR7	P-gp	Bcl-2	Bax
空白组	1.86±0.33	2.15±0.41	1.83±0.31	1.96±0.32	0.26±0.04
5-Fu 组	1.91±0.36	2.12±0.38	1.80±0.29	2.02±0.35	0.25±0.04
6-姜烯酚组	0.84±0.15 [#]	0.96±0.17 [#]	0.72±0.13 [#]	0.92±0.16 [#]	1.33±0.21 [#]
6-姜烯酚+5-Fu 组	0.81±0.14 [#]	1.01±0.18 [#]	0.74±0.14 [#]	0.88±0.15 [#]	1.36±0.23 [#]

注:与空白组相比, * $P<0.05$; 与 5-Fu 组相比, [#] $P<0.05$ 。

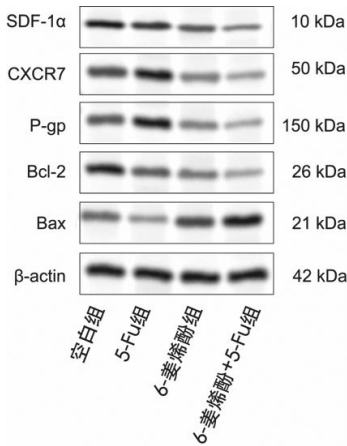


图 5 各组细胞蛋白条带图

Fig.5 Protein band images of cells in each group

低,提示6-姜烯酚在耐药背景下仍可有效抑制人结肠癌耐药细胞株 SW620/5-Fu 的增殖并促进其凋亡。

在肿瘤微环境相关信号通路中,SDF-1 α 作为 CXC 趋化因子家族成员之一,可通过与其受体 CXCR4 和 CXCR7 结合,参与调控肿瘤细胞的增殖、凋亡及迁移过程,同时还能通过趋化炎症细胞浸润,为肿瘤生长和侵袭提供有利条件^[15]。研究显示,SDF-1 α 在肠癌、肾癌和乳腺癌等多种恶性肿瘤中高表达,是多种肿瘤预后不良的标志物^[16]。研究发现,SDF-1 α 与肿瘤细胞的多药耐药性有密切关系^[17]。在耐药机制方面,由多药耐药基因 MDR1 编码的 P-gp 可通过调控细胞外信号调节激酶通路介导多药耐药的发生^[18]。而 SDF-1 α /CXCR7 通路的激活被证实可通过上调 P-gp 的表达诱导肿瘤细胞耐药性的产生^[19]。本研究中,6-姜烯酚处理后细胞中 SDF-1 α 、CXCR7 及 P-gp 的 mRNA 和蛋白表达水平均明显低于空白组和 5-Fu 组,提示 6-姜烯酚可能通过抑制 SDF-1 α /CXCR7 通路活化,从而降低耐药相关蛋白 P-gp 的表达。

除药物外排机制外,肿瘤细胞对凋亡信号的耐

受同样是化疗耐药形成的重要原因。研究指出,抗凋亡基因 Bcl-2 的过表达会抑制肿瘤细胞的凋亡,促进耐药性的产生,而促凋亡基因 Bax 的高表达能诱导肿瘤细胞凋亡,增强化疗敏感性^[20]。而 6-姜烯酚可通过上述机制诱导肿瘤细胞发生凋亡^[21]。本研究结果显示,6-姜烯酚处理后,人结肠癌耐药细胞株 SW620/5-Fu 中抗凋亡相关分子 Bcl-2 的 mRNA 及蛋白表达水平均降低,而促凋亡分子 Bax 的 mRNA 及蛋白表达水平均升高。在耐药背景下,6-姜烯酚组与 6-姜烯酚+5-Fu 组在上述凋亡相关分子表达方面差异无统计学意义。该结果可能与 SW620/5-Fu 细胞株已形成稳定的 5-Fu 耐药表型密切相关。研究表明,在长期化疗药物筛选形成的耐药肿瘤细胞中,细胞内多条与药物诱导凋亡相关的调控机制发生重塑,导致细胞对化疗药物刺激的应答能力下降,单纯增加药物刺激往往难以进一步增强其促凋亡效应^[8]。本研究中 6-姜烯酚单独处理即可下调 Bcl-2 的表达,并上调 Bax 的表达,提示其在耐药细胞中可能通过直接调控凋亡相关分子的表达发挥主要生物学效应。6-姜烯酚联合 5-Fu 给药并未在分子层面产生进一步增强作用,可能反映了耐药状态下 5-Fu 作用效应的受限。

综上所述,6-姜烯酚可能通过抑制 SDF-1 α /CXCR7 通路的异常激活,下调 P-gp 和 Bcl-2 的表达,上调 Bax 的表达,进而抑制人结肠癌耐药细胞株 SW620/5-Fu 的增殖,促进其凋亡,增强化疗敏感性。

但是本研究仍存在一定局限性:第一,本研究仅在体外细胞水平进行验证,尚缺乏动物模型及临床样本的进一步支持;第二,本研究主要聚焦于 SDF-1 α /CXCR7 通路,未对其他耐药相关信号通路之间的相互作用进行深入探讨;第三,6-姜烯酚逆转耐药的直接分子靶点仍有待进一步研究。

表 6 各组细胞 SDF-1 α 、CXCR7、P-gp、Bcl-2、Bax 蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Table 6 Comparison of protein expression levels of SDF-1 α , CXCR7, P-gp, Bcl-2, and Bax of cells among groups ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	SDF-1 α	CXCR7	P-gp	Bcl-2	Bax
空白组	0.86 $\pm$ 0.16	0.77 $\pm$ 0.14	0.92 $\pm$ 0.16	0.85 $\pm$ 0.15	0.16 $\pm$ 0.02
5-Fu 组	0.78 $\pm$ 0.15	0.86 $\pm$ 0.15	1.02 $\pm$ 0.16	0.76 $\pm$ 0.16	0.11 $\pm$ 0.02
6-姜烯酚组	0.54 $\pm$ 0.09 [*]	0.43 $\pm$ 0.07 ^{*#}	0.55 $\pm$ 0.09 [*]	0.53 $\pm$ 0.09 [*]	0.33 $\pm$ 0.05 ^{*#}
6-姜烯酚+5-Fu 组	0.48 $\pm$ 0.08 [*]	0.40 $\pm$ 0.06 ^{*#}	0.50 $\pm$ 0.10 [*]	0.49 $\pm$ 0.08 [*]	0.39 $\pm$ 0.06 ^{*#}

注:与空白组相比,^{*} $P<0.05$;与 5-Fu 组相比,[#] $P<0.05$ 。

参考文献

- [1] ZABOROWSKI A M, WINTER D C, LYNCH L. The therapeutic and prognostic implications of immunobiology in colorectal cancer: A review[J]. *British Journal of Cancer*, 2021, 125(10): 1341–1349.
- [2] XU R, DU A S, DENG X P, et al. tsRNA-GlyGCC promotes colorectal cancer progression and 5-FU resistance by regulating SPIB[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2024, 43(1): 230.
- [3] GUO Y, ASHRAFIZADEH M, TAMB UWALA M M, et al. P-glycoprotein (P-gp)-driven cancer drug resistance: Biological profile, non-coding RNAs, drugs and nanomodulators[J]. *Drug Discovery Today*, 2024, 29(11): 104161.
- [4] YANG Y, JN-SIMON N, HE Y H, et al. A BCL-xL/BCL-2 PROTAC effectively clears senescent cells in the liver and reduces MASH-driven hepatocellular carcinoma in mice[J]. *Nature Aging*, 2025, 5(3): 386–400.
- [5] ROMANOWICZ A, ŁUKASZEWICZ-ZAJĄC M, MROCZKO B. Potential of selected C-X-C motif chemokines as biomarkers in colorectal cancer diagnosis[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2025, 26(17): 8715.
- [6] PAN M H, HSIEH M C, KUO J M, et al. 6-Shogaol induces apoptosis in human colorectal carcinoma cells via ROS production, caspase activation, and GADD 153 expression[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2008, 52(5): 527–537.
- [7] KOU X R, WANG X Q, JI R Y, et al. Occurrence, biological activity and metabolism of 6-shogaol[J]. *Food & Function*, 2018, 9(3): 1310–1327.
- [8] GU J R, ZHONG K Q, WANG L G, et al. ENO1 contributes to 5-fluorouracil resistance in colorectal cancer cells via EMT pathway[J]. *Frontiers in Oncology*, 2022, 12: 1013035.
- [9] LI B Y, ZU M H, JIANG A D, et al. Magnetic natural lipid nanoparticles for oral treatment of colorectal cancer through potentiated antitumor immunity and microbiota metabolite regulation[J]. *Biomaterials*, 2024, 307: 122530.
- [10] SONG M Y, CHAN A T, SUN J. Influence of the gut microbiome, diet, and environment on risk of colorectal cancer[J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(2): 322–340.
- [11] KAJMOLLI A, GACHABAYOV M, ROJAS A, et al. Impact of chemotherapy on primary colon cancer[J]. *Techniques in Coloproctology*, 2021, 25(7): 893–894.
- [12] BUKOWSKI K, KCIUK M, KONTEK R. Mechanisms of multidrug resistance in cancer chemotherapy[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(9): 3233.
- [13] FIGUEROA-GONZÁLEZ G, QUINTAS-GRANADOS L I, REYES-HERNÁNDEZ O D, et al. Review of the anticancer properties of 6-shogaol: Mechanisms of action in cancer cells and future research opportunities[J]. *Food Science & Nutrition*, 2024, 12(7): 4513–4533.
- [14] 王宇锋, 杨 春, 陈 超, 等. 6-姜烯酚诱导 SW480 凋亡及对 APC 基因表达的影响[J]. *现代食品科技*, 2018, 34(2): 14–19, 175.
- [15] KHARE T, BISSONNETTE M, KHARE S. CXCL12–CXCR4/CXCR7 axis in colorectal cancer: Therapeutic target in pre-clinical and clinical studies[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(14): 7371.
- [16] ZHOU W Q, GUO S C, LIU M L, et al. Targeting CXCL12/CXCR4 axis in tumor immunotherapy[J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2019, 26(17): 3026–3041.
- [17] 刘小慧, 贺曼曼, 张 伟, 等. SDF-1 过表达对人胃癌耐药细胞株 SGC7901/L-OHP 增殖、凋亡、耐药的影响[J]. *重庆医学*, 2020, 49(5): 695–700.
- [18] JIAO C W, QIU J S, GONG C C, et al. *Ganoderma lucidum* extract reverses multidrug resistance in breast cancer cells through inhibiting ATPase activity of the P-glycoprotein via MAPK/ERK signaling pathway[J]. *Experimental Cell Research*, 2025, 444(2): 114355.
- [19] 黄 鹏, 王国琴, 董泽涛, 等. SDF-1 α /CXCR7 介导结肠癌细胞对 5-FU 的耐药作用[J]. *肿瘤*, 2018, 38(1): 18–24.
- [20] 嘉俊毅, 甘 平, 查 勇, 等. microRNA-21 通过 Bcl-2 通路调节胃癌紫杉醇化疗耐药性[J]. *现代肿瘤医学*, 2019, 27(23): 4218–4222.
- [21] 王宇锋, 陈 超, 杨 春, 等. 6-姜烯酚诱导人结直肠癌细胞凋亡及与 Bax、BCL2、Caspase3 和 PARP1 基因表达的影响[J]. *现代食品科技*, 2017, 33(11): 7–15.

(本文编辑 陈 晨)