·博硕园地·

PNO1通过上皮间质转化介导大肠癌HT-29细胞迁移以及解毒消癥饮提取物的干预作用

宋亚雯[1,2],陈多多[3],许 晴[1,2],张竹青[1,2],沈阿灵[1,2*]
(1.福建中医药大学中西医结合学院 中西医结合研究院,福建 福州 350122;
2.福建省中西医结合老年性疾病重点实验室,福建 福州 350122;
3.福建中医药大学药学院,福建 福州 350122)

摘 要: 目的 观察NOB1的RNA结合蛋白伴侣(PNO1)表达变化对大肠癌HT-29细胞迁移的影响,并探讨解毒消癥饮(JXY)提取物是否通过下调PNO1抑制细胞迁移及上皮间质转化(EMT)。 方法 ① 应用慢病毒构建PNO1敲减,将HT-29细胞分为sh-NC组、sh-PNO1组;② 分别应用慢病毒和质粒转染构建PNO1过表达,并分为oe-NC组和oe-PNO1组;③ 将HT-29细胞分为0、0.05、0.1、0.2 mg/mL组,分别加入0、0.05、0.1、0.2 mg/mL的JXY提取物干预48 h。按上述分组干预后,采用划痕实验和Transwell迁移实验检测细胞迁移能力,并计算划痕愈合率和相对迁移率;RT-qPCR检测PNO1、锌指E盒结合蛋白1(ZEB1)、钙黏蛋白1(CDH1)、钙黏蛋白2(CDH2)、波形蛋白(VIM)、蜗牛家族转录抑制因子1(SNAI1)mRNA相对表达水平;Western blot检测PNO1、ZEB1、E-钙黏蛋白(E-cadherin)、N-钙黏蛋白(N-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)和蜗牛蛋白(Snail)蛋白相对表达量。 结果 ① PNO1作用机制研究结果:与oe-NC组比较,oe-PNO1组干预48、72、96 h划痕愈合率均明显升高($P<0.05$),相对迁移率明显升高($P<0.05$);PNO1、ZEB1、CDH2、VIM和SNAI1 mRNA相对表达水平均明显升高($P<0.05$),CDH1 mRNA相对表达水平明显降低($P<0.05$);PNO1、ZEB1、N-cadherin、Vimentin和Snail蛋白相对表达量均明显升高($P<0.05$),E-cadherin蛋白相对表达量明显降低($P<0.05$)。与sh-NC组比较,sh-PNO1组干预72、96 h划痕愈合率均明显降低($P<0.05$),相对迁移率明显降低($P<0.05$);PNO1、ZEB1、CDH2、VIM和SNAI1 mRNA相对表达水平均明显降低($P<0.05$),CDH1 mRNA相对表达水平明显升高($P<0.05$);PNO1、ZEB1、N-cadherin、Vimentin和Snail蛋白相对表达量均明显降低($P<0.05$),E-cadherin蛋白表达量明显升高($P<0.05$)。② JXY干预作用研究结果:与0 mg/mL组比较,0.05 mg/mL组干预48、72、96 h划痕愈合率均明显降低($P<0.05$),0.1、0.2 mg/mL组干预24、48、72、96 h划痕愈合率均明显降低($P<0.05$);0.1、0.2 mg/mL组相对迁移率均明显降低($P<0.05$);0.05、0.1、0.2 mg/mL组PNO1、ZEB1、CDH2、VIM和SNAI1 mRNA相对表达水平均明显降低($P<0.05$),PNO1、ZEB1、N-cadherin、Vimentin和Snail蛋白相对表达量均明显降低($P<0.05$)。 结论 PNO1可促进大肠癌HT-29细胞迁移并促进EMT进程;JXY通过下调PNO1抑制HT-29细胞迁移及EMT进程。

关键词: 大肠癌;解毒消癥饮;PNO1;上皮间质转化;细胞迁移;HT-29细胞

大肠癌(colorectal cancer,CRC)为临床高发消化系统恶性肿瘤,2022年全球发病率居恶性肿瘤第3位,病死率居第2位[1],而我国CRC发病率位列全部恶性肿瘤第2位、病死率居第4位[2],严重威胁人类健康。当前临床主要治疗手段包括手术切除、放疗、化疗及分子靶向治疗等[3-4]。然而,对于发生远处转移的患者,上述治疗手段疗效有限,其5年生存率仍不足40%[5]。因此,肿瘤的复发与转移是影响CRC患者预后的关键因素[6]。上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition,EMT)作为肿瘤迁移侵袭的关键生物学过程,可使上皮细胞获得间质表型,增强迁移、侵袭能力,在CRC恶性进展中发挥重要作用[7-8]。NOB1的RNA结合蛋白伴侣(PNO1)在CRC、肝细胞癌、卵巢癌、肺癌等多种恶性肿瘤中高表达,是潜在的致癌基因[9-12]。研究表明,在卵巢癌和肺癌中,抑制PNO1表达可显著下调EMT相关转录因子与间质蛋白,逆转细胞间质表型,最终阻滞肿瘤细胞迁移与侵袭[11-12]。然而,PNO1在CRC中是否参与EMT的调控,进而影响细胞的转移,尚不清楚。解毒消癥饮(JXY)为临床常用抗肿瘤复方,具有清热解毒、消癥散结的功效[13-14]。前期研究表明,JXY可抑制大肠癌细胞迁移,但其具体分子机制尚未完全阐明[15]。基于此,本研究以人大肠癌HT-29细胞为研究对象,探讨JXY对细胞迁移能力及EMT相关通路的影响,并进一步验证PNO1是否为其潜在作用靶点,为JXY的临床应用及CRC的靶向治疗提供实验依据。

1 实验材料

1.1 实验细胞 人大肠癌HT-29细胞,购自中国科学院细胞库(货号:SCSP-5032)。

1.2 实验药物 JXY药物组成:白花蛇舌草30 g,

收稿日期: 2026-05-01;**接受日期:** 2026-06-04
基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(82405152);福建省科技创新联合资金项目(2024Y9515);福建省卫健委科技计划项目(2025YBA010)
通信作者: 沈阿灵,E-mail:2018025@fjtcm.edu.cn
DOI: 10.13260/j.cnki.jfjtcm.2026.08008

夏枯草15 g,山慈菇15 g,苦参15 g,由福建中医药大学国医堂医院提供。JXY经回流提取处理:先后用95%乙醇回流提取2次,每次3 h,再进行真空旋转蒸发。将总提取物以水混悬,再用乙酸乙酯进行二次萃取,乙酸乙酯提取液于50 ℃水浴中真空蒸发至干。体外实验时,配制100 mg/mL JXY提取物做为储备溶液,于-20 ℃条件下保存备用。

1.3 实验试剂　McCoy's 5A培养基(江苏凯基生物技术股份有限公司,货号:KGL1702-500);青霉素和链霉素双抗[思拓凡生物科技(杭州)有限公司,货号:SV30010];Transwell小室(美国Corning公司,货号:3422);Gibco胎牛血清(FBS,货号:A5669701)、Lipofectamine™ 3000转染试剂(货号:L3000015)、Opti-MEM减血清培养基(货号:11058021)均购自美国Thermo Fisher Scientific公司;超敏ECL化学发光试剂盒(上海碧云天生物技术股份有限公司,货号:P0018S);磷酸盐缓冲液(PBS,货号:SH30256.01)、4%多聚甲醛(货号:La0427)均购自北京索莱宝科技有限公司;LV-PNO1(货号:25543-2)、LV-PNO1阴性对照病毒(货号:CON335)、LV-PNO1-RNAi(货号:127630-1)、LV-PNO1-RNAi阴性对照病毒(货号:CON218)、25× HitransG P病毒感染试剂(货号:REVG005)均购自上海吉凯基因医学科技股份有限公司;蜗牛蛋白(Snail)抗体(南京赛戈巍生物科技有限公司,货号:38667);RNA提取试剂盒(货号:RC102)、一步法逆转录试剂盒(货号:R333)、荧光实时定量PCR试剂盒(货号:Q312)均购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司;PNO1抗体(货号:21059-1-AP)、锌指E盒结合蛋白1(ZEB1)抗体(货号:66279-1-Ig)、E-钙黏蛋白(E-cadherin)抗体(货号:18470-1-AP)、N-钙黏蛋白(N-cadherin)抗体(货号:22018-1-AP)、波形蛋白(Vimentin)抗体(货号:60330-1-Ig)、GAPDH抗体(货号:60004-1-AP)均购自武汉三鹰生物技术有限公司;HRP标记山羊抗兔IgG(H+L)二抗(货号:RS0002)、HRP标记山羊抗鼠IgG(H+L)二抗(货号:RS0001)均购自美国Immunoway公司。

1.4 实验仪器　倒置显微镜(德国Leica公司,型号:DMIL LED);多功能酶标仪(美国Thermo Fisher Scientific公司,型号:357-911802);超灵敏多功能成像仪[思拓凡生物科技(杭州)有限公司,型号:Amersham Imager 800 RGB];PCR仪(型号:S1000™ 96 Well)、荧光实时定量PCR仪(型号:CFX96 Touch)均购自美国Bio-Rad公司;超纯水机(美国Millipore公司,型号:Milli-Q IQ7005)。

2　实验方法

2.1 细胞培养　HT-29细胞培养于含10%FBS、1%双抗的McCoy's 5A完全培养基,置于37 ℃、5%CO_2饱和湿度培养箱中培养,待细胞融合至80%～90%时传代,取对数生长期细胞用于后续实验。

2.2 慢病毒感染　将HT-29细胞按3.0×10^5/mL密度接种于6孔板,并分为sh-NC组、sh-PNO1组以及oe-NC组、oe-PNO1组,于37 ℃、5% CO_2培养箱中培养24 h。弃上清,每孔加入1.5 mL McCoy's 5A完全培养基及60 μL 25× Hitrans G P病毒感染试剂。应用慢病毒构建PNO1过表达及敲减,依据MOI=10以及细胞数核算病毒加样体积,sh-NC组加入6.0 μL病毒滴度为1×10^9 TU/mL的LV-PNO1-RNAi阴性对照病毒,sh-PNO1组加入18.8 μL病毒滴度为3.2×10^8 TU/mL的LV-PNO1-RNAi构建PNO1敲减;oe-NC组加入6.0 μL病毒滴度为1×10^9 TU/mL的LV-PNO1阴性对照病毒,oe-PNO1组加入17.1 μL病毒滴度为3.5×10^8 TU/mL的LV-PNO1构建PNO1过表达。充分混匀后,置于CO_2细胞培养箱培养24 h后换液,继续培养24 h后转移至6 cm培养皿,并加入2 μg/mL嘌呤霉素筛选三代,观察荧光强度及细胞形态,经台盼蓝染色计数后传代。

2.3 质粒转染　将HT-29细胞按5.0×10^5/mL密度接种于6孔板,并分为oe-NC组和oe-PNO1组,24 h后每孔更换1 mL McCoy's 5A完全培养基。分别取阴性对照质粒和PNO1过表达质粒,按3 μg/孔加入125 μL Opti-MEM培养基中,再分别加入6 μL P3000试剂,混匀配置质粒稀释液。另取125 μL Opti-MEM培养基,加入7.5 μL Lipofectamine™ 3000转染试剂,混匀配置脂质体稀释液,室温静置5 min。将阴性对照质粒和PNO1过表达质粒稀释液分别与脂质体稀释液轻柔混合,室温孵育15 min,形成稳定DNA-脂质复合物,逐滴均匀加入对应的oe-NC组和oe-PNO1组中,混匀后放回培养箱继续培养。转染48 h后,荧光显微镜观察转染效率。

2.4 JXY干预实验分组　将HT-29细胞分为0、0.05、0.1、0.2 mg/mL组,分别加入0、0.05、0.1、0.2 mg/mL的JXY提取物干预48 h。

2.5 观察指标

2.5.1 划痕实验检测细胞迁移能力　① 按"2.2"项下方法分为sh-NC组、sh-PNO1组以及oe-NC组、oe-PNO1组,应用慢病毒构建PNO1过表达及敲减后,按6×10^5个/孔密度接种于12孔板;② 将HT-29细胞按6×10^5个/孔密度接种于12孔板中,按"2.4"项下分组和干预方法。按上述分组干预后,用200 μL无菌枪头垂直划痕,PBS溶液清洗,随后更换为含5% FBS的McCoy's 5A培养基(1 mL/孔)。分别于0、24、48、72、96 h在倒置显微镜下(×4)拍摄划痕图像,记录划痕宽度变化,并计算划痕愈合率。

$$划痕愈合率=\frac{0\,h划痕宽度-对应时间点划痕宽度}{0\,h划痕宽度}\times100\%$$

2.5.2 Transwell迁移实验检测细胞迁移能力 提前30 min在Transwell小室上室加入100 μL无血清McCoy′s 5A培养基，润湿上室。① 按“2.2”项下方法分为sh-NC组、sh-PNO1组以及oe-NC组、oe-PNO1组，应用慢病毒构建PNO1过表达及敲减后，按4×10^4个/孔密度重新悬浮于200 μL无血清McCoy′s 5A培养基中，接种于上室，下室加入700 μL McCoy′s 5A完全培养基；② 将HT-29细胞按4×10^4个/孔的密度接种于上室，下室分别加入含0、0.1、0.2 mg/mL JXY提取物的700 μL McCoy′s 5A完全培养基。培养6 d后，弃去上室和下室中的培养基，PBS轻柔漂洗小室1次，加入4%多聚甲醛固定15 min，PBS漂洗1次，加入0.1%结晶紫染液染色15 min。用清水洗净残余结晶紫，用湿棉签擦去上室内表面未迁移的细胞，自然晾干小室后，于光学显微镜下计数穿膜细胞数，计算细胞相对迁移率。

$$相对迁移率=\frac{实验组穿膜细胞数}{对照组穿膜细胞数}\times 100\%$$

2.5.3 RT-qPCR检测PNO1以及EMT相关mRNA相对表达水平 ① 按“2.2”项下方法分为sh-NC组、sh-PNO1组以及oe-NC组、oe-PNO1组，应用慢病毒构建PNO1过表达及敲减后，按3×10^5个/孔密度接种于6孔板中，培养48 h；② 将HT-29细胞按3×10^5个/孔密度接种至6孔板中，按“2.4”项下分组和干预方法。按上述分组干预后，弃去细胞培养基，PBS溶液清洗2次；随后采用RNA提取试剂盒提取细胞总RNA，并按照一步法逆转录试剂盒说明书将RNA逆转录为cDNA。以GAPDH为内参，参照荧光实时定量PCR试剂盒说明书进行反应，以$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算各目的基因的相对表达量。所用引物均由北京擎科生物科技股份有限公司合成，见表1。

表1 相关基因引物序列

基因名称	基因序列	产物长度/bp
PNO1	F:5′-TGTTAAACCCCTAAAGGGAGACC-3′ R:5′-CCTTGTCCGTGTCACATTCTCT-3′	103
ZEB1	F:5′-GATGATGAATGCGAGTCAGATGC-3′ R:5′-ACAGCAGTGTCTTGTTGTTGT-3′	86
钙黏蛋白1(CDH1)	F:5′-CGAGAGCTACACGTTCACGG-3′ R:5′-GGGTGTCGAGGGAAAAATAGG-3′	119
钙黏蛋白2(CDH2)	F:5′-TCAGGCGTCTGTAGAGGCTT-3′ R:5′-ATGCACATCCTTCGATAAGACTG-3′	94
波形蛋白(VIM)	F:5′-GACGCCATCAACACCGAGT-3′ R:5′-CTTTGTCGTTGGTTAGCTGGT-3′	238
蜗牛家族转录抑制因子1(SNAI1)	F:5′-TCGGAAGCCTAACTACAGCGA-3′ R:5′-AGATGAGCATTGGCAGCGAG-3′	140
GAPDH	F:5′-AACGGATTTGGTCGTATTGG-3′ R:5′-TTGATTTTGGAGGGATCTCG-3′	179

2.5.4 Western blot检测PNO1以及EMT相关蛋白表达量 ① 按“2.2”项下方法分为sh-NC组、sh-PNO1组，应用慢病毒构建PNO1敲减；按“2.3”项下方法分为oe-NC组和oe-PNO1组，应用质粒转染构建PNO1过表达，分别按3×10^5个/mL密度接种至6孔板中。② 将HT-29细胞按3×10^5个/孔的密度接种至6孔板中，按“2.4”项下分组和干预方法。按上述分组干预后，弃掉细胞培养基，预冷PBS清洗2遍，用细胞裂解液提取细胞总蛋白，BCA法检测蛋白浓度。蛋白样品经变性、电泳、转膜、封闭后，置于PNO1(1∶2 000)、E-cadherin(1∶20 000)、N-cadherin(1∶20 000)、Vimentin(1∶20 000)、Snail(1∶1 000)、ZEB1(1∶5 000)、GAPDH(1∶5 000)一抗4 ℃孵育过夜；TBST溶液清洗后，加入对应种属HRP标记二抗(1∶5 000)室温孵育1 h，ECL化学发光法显影，使用ImageJ软件分析蛋白条带灰度值。

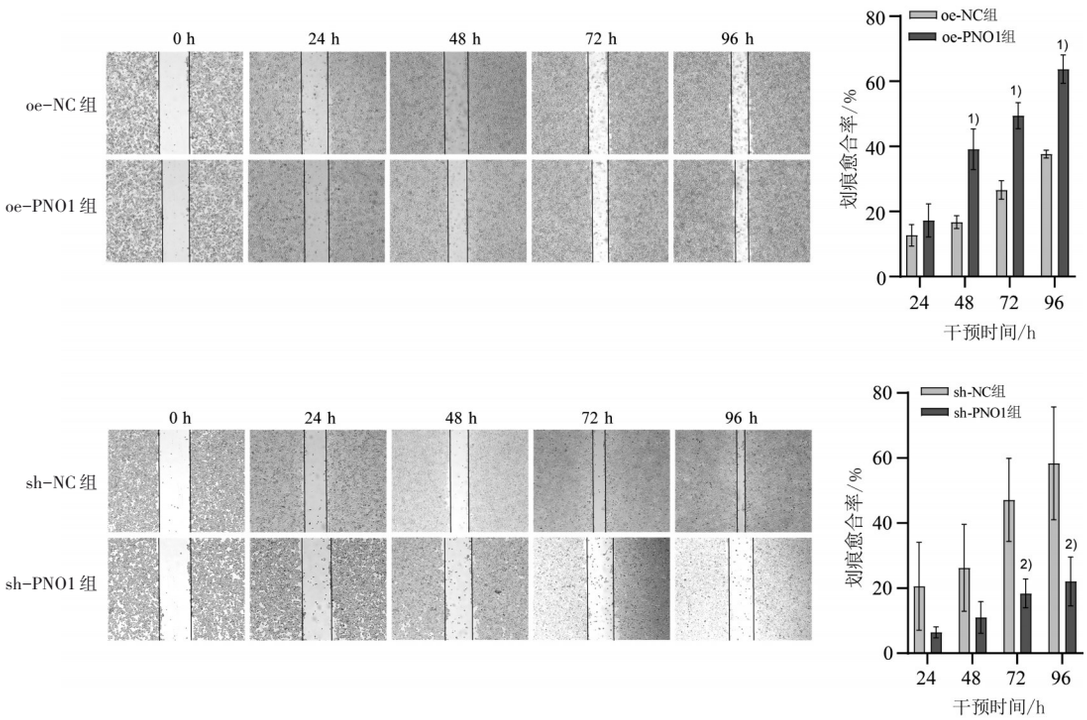
2.6 统计学方法 采用GraphPad Prism 9软件进行统计分析。计量资料符合正态分布以($\bar{x}\pm s$)表示，2组间比较使用独立样本t检验；多组间比较采用单因素方差分析，若方差齐时，组间两两比较采用LSD-t检验，若方差不齐则采用Tamhane′s T2检验。不符合正态分布以$M(P_{25},P_{75})$表示，2组间比较采用Mann-Whitney U检验，多组间比较采用Kruskal-Wallis H检验。$P<0.05$为差异具有统计学意义。

3　结　果

3.1　PNO1 作用机制研究结果

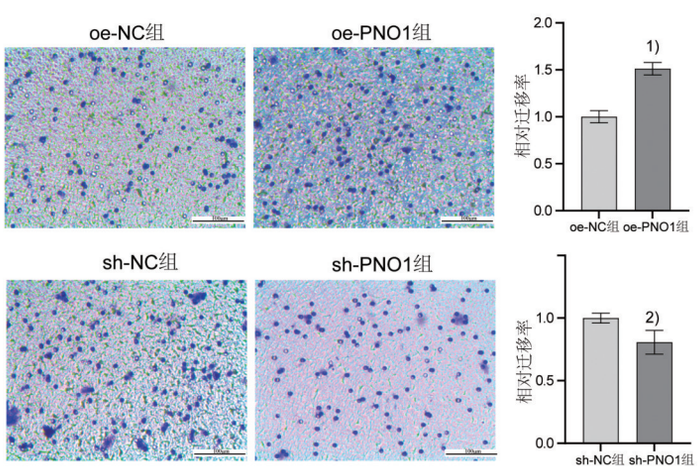
3.1.1　过表达和敲低 PNO1 后划痕愈合率比较　与 oe-NC 组比较，oe-PNO1 组干预 48、72、96 h 划痕愈合率均明显升高（$P<0.05$）；与 sh-NC 组比较，sh-PNO1 组干预 72、96 h 划痕愈合率均明显降低（$P<0.05$）。见图 1。

3.1.2　过表达和敲低 PNO1 后 Transwell 迁移情况比较　与 oe-NC 组比较，oe-PNO1 组相对迁移率明显升高（$P<0.05$）；与 sh-NC 组比较，sh-PNO1 组相对迁移率明显降低（$P<0.05$）。见图 2。



注：与 oe-NC 组比较，1）$P<0.05$；与 sh-NC 组比较，2）$P<0.05$。

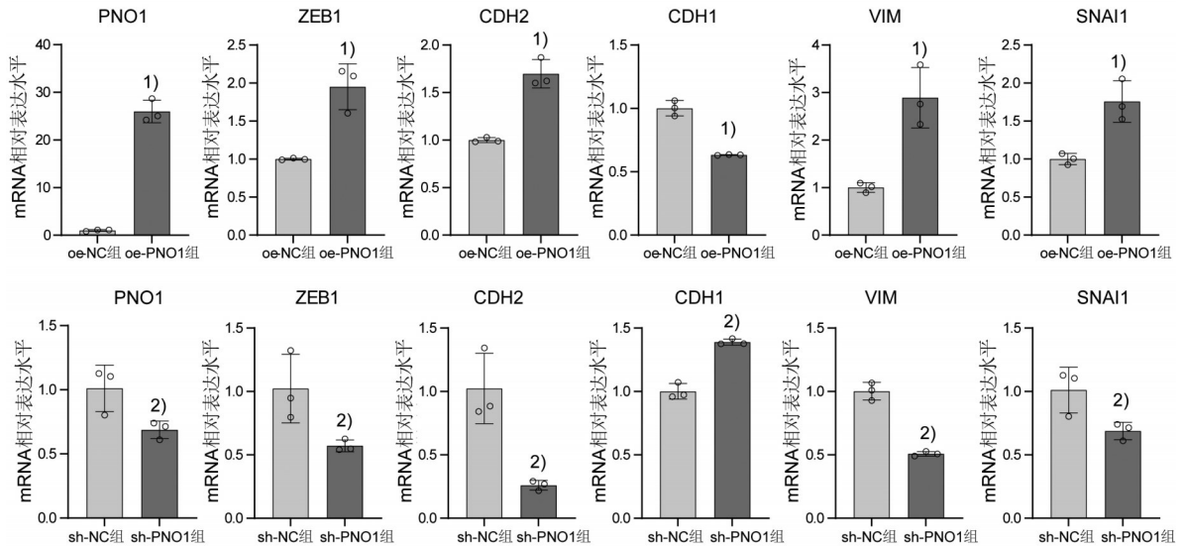
图 1　过表达和敲低 PNO1 后细胞划痕愈合情况比较



注：与 oe-NC 组比较，1）$P<0.05$；与 sh-NC 组比较，2）$P<0.05$。

图 2　过表达和敲低 PNO1 后 Transwell 迁移情况比较

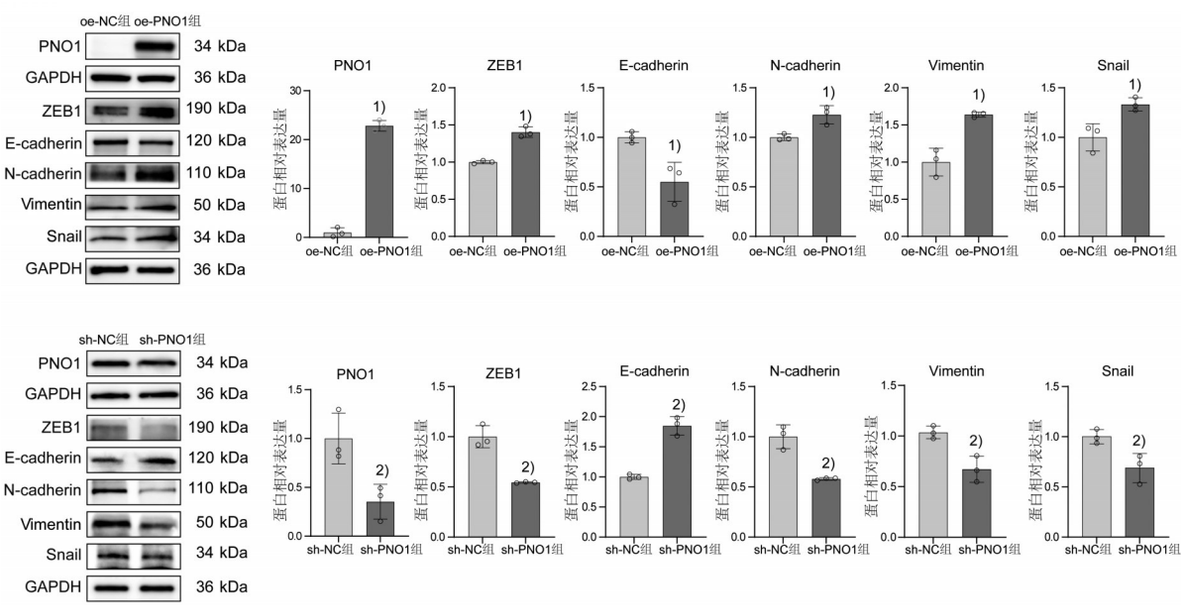
3.1.3　过表达和敲低 PNO1 后 PNO1 以及 EMT 相关 mRNA 相对表达水平比较　与 oe-NC 组比较，oe-PNO1 组 PNO1、ZEB1、CDH2、VIM 和 SNAI1 mRNA 相对表达水平均明显升高（$P<0.05$），CDH1 mRNA 相对表达水平明显降低（$P<0.05$）；与 sh-NC 组比较，sh-PNO1 组 PNO1、ZEB1、CDH2、VIM 和 SNAI1 mRNA 相对表达水平均明显降低（$P<0.05$），CDH1 mRNA 相对表达水平明显升高（$P<0.05$）。见图 3。



注：与oe-NC组比较，1）$P<0.05$；与sh-NC组比较，2）$P<0.05$。

图3 过表达和敲低PNO1后PNO1以及EMT相关mRNA相对表达水平比较

3.1.4 过表达和敲低PNO1后PNO1以及EMT相关蛋白表达量比较 与oe-NC组比较，oe-PNO1组PNO1、ZEB1、N-cadherin、Vimentin和Snail蛋白相对表达量均明显升高（$P<0.05$），E-cadherin蛋白相对表达量明显降低（$P<0.05$）；与sh-NC组比较，sh-PNO1组PNO1、ZEB1、N-cadherin、Vimentin和Snail蛋白相对表达量均明显降低（$P<0.05$），E-cadherin蛋白相对表达量明显升高（$P<0.05$）。见图4。



注：与oe-NC组比较，1）$P<0.05$；与sh-NC组比较，2）$P<0.05$。

图4 过表达和敲低PNO1后PNO1以及EMT相关蛋白相对表达量比较

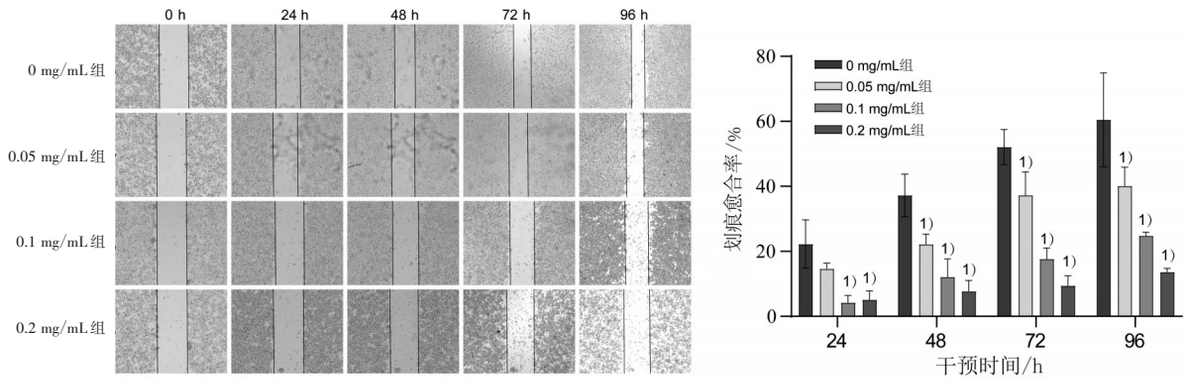
3.2 JXY干预作用研究结果

3.2.1 4组划痕迁移率比较 与0 mg/mL组比较，0.05 mg/mL组干预48、72、96 h划痕愈合率均明显降低（$P<0.05$），0.1、0.2 mg/mL组干预24、48、72、96 h划痕愈合率均明显降低（$P<0.05$）。见图5。

3.2.2 3组Transwell迁移情况比较 与0 mg/mL组比较，0.1、0.2 mg/mL组相对迁移率均明显降低（$P<0.05$）。见图6。

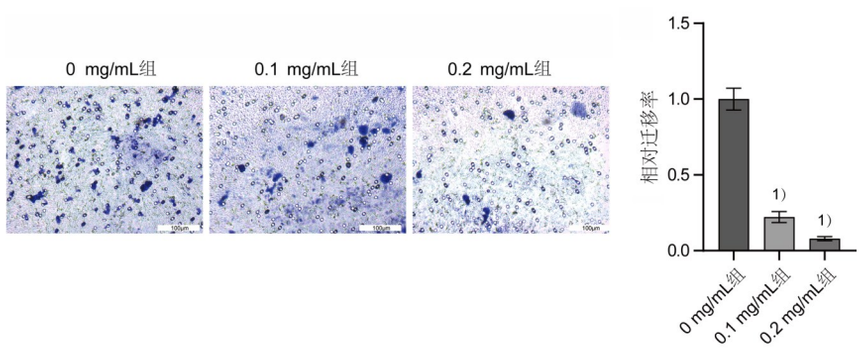
3.2.3 4组PNO1以及EMT相关mRNA相对表达水平比较 与0 mg/mL组比较，0.05、0.1、0.2 mg/mL组PNO1、ZEB1、CDH2、VIM和SNAI1 mRNA相对表达水平均明显降低（$P<0.05$）。见图7。

3.2.4 4组PNO1以及EMT相关蛋白相对表达量比较 与0 mg/mL组比较，0.05、0.1、0.2 mg/mL组PNO1、ZEB1、N-cadherin、Vimentin和Snail蛋白相对表达量均明显降低（$P<0.05$）。见图8。



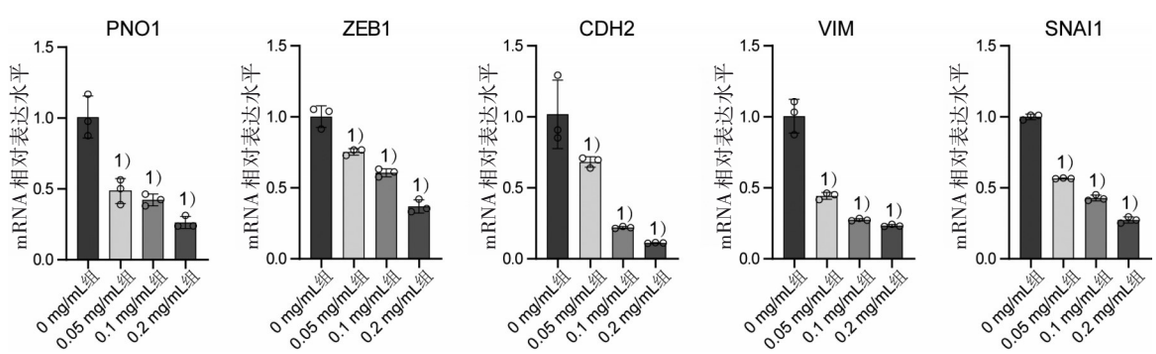
注:与 0 mg/mL 组比较,1) $P<0.05$。

图 5　4 组划痕愈合情况比较



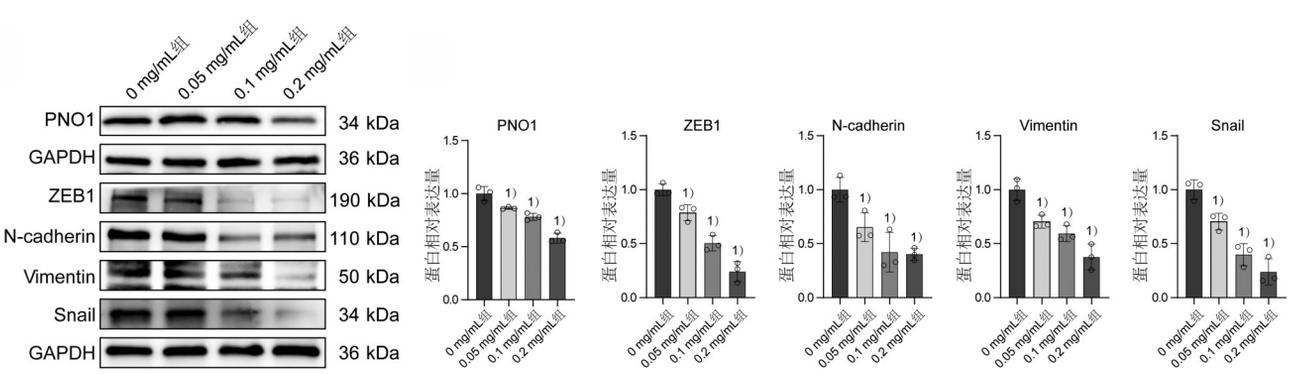
注:与 0 mg/mL 组比较,1) $P<0.05$。

图 6　3 组 Transwell 迁移情况比较



注:与 0 mg/mL 组比较,1) $P<0.05$。

图 7　4 组 PNO1 以及 EMT 相关 mRNA 相对表达水平比较



注:与 0 mg/mL 组比较,1) $P<0.05$。

图 8　4 组 PNO1 以及 EMT 相关蛋白相对表达量比较

4 讨 论

肿瘤复发、转移及耐药仍是制约患者长期生存的关键瓶颈，其核心生物学基础在于EMT进程的持续激活。EMT是调控肿瘤迁移的核心通路，通过下调上皮表型分子、上调间质表型分子，从而使上皮细胞失去极性和紧密连接，获得迁移和侵袭能力。在EMT进程中，上皮标志物E-cadherin的表达下调是EMT的标志性事件，其表达下调或功能丧失，会破坏细胞间黏附连接，导致细胞从原发灶脱落并转移。另外，间质标志物N-cadherin、Vimentin等表达上调，通过重塑细胞骨架，并赋予细胞运动能力，从而促进肿瘤细胞的侵袭与转移[7-8]。EMT相关转录因子Snail、ZEB1是调控上述过程的关键分子，可通过与E-cadherin启动子区域的E-box序列直接结合，抑制其转录表达，并协同上调间质标志物的表达，从而驱动EMT，最终促进肿瘤迁移与侵袭[16]。

PNO1作为调控核糖体生物合成的关键分子，在肝细胞癌、CRC、卵巢癌等肿瘤中均呈现异常高表达，并与肿瘤侵袭转移及不良预后密切相关。已有研究表明，PNO1在CRC中可通过负向调控p53/p21通路促进细胞增殖、抑制凋亡[9]；在肝癌中，敲除PNO1可显著诱导上皮标志物E-cadherin和OVOL1表达上调，间质标志物N-cadherin表达下调，同时抑制Snail、Slug和ZEB1等EMT转录因子的表达，抑制EMT进程，从而抑制肝癌细胞的转移[10]；在卵巢癌中，PNO1可能通过Akt/Wnt/β-catenin通路调控细胞增殖、迁移和侵袭[11]。另有研究显示，在肺腺癌中，敲低PNO1可明显逆转细胞EMT进程并诱导细胞凋亡，该生物学效应可能与Notch信号通路相关[12]。上述研究均提示PNO1参与肿瘤EMT与转移调控，但PNO1在CRC中是否参与EMT调控，尚未有研究报道。本研究通过构建过表达及敲低PNO1的HT-29细胞模型，证实PNO1过表达能够显著增强HT-29细胞的迁移能力，过表达PNO1可上调EMT相关基因ZEB1、CDH2、VIM、SNAI1 mRNA表达水平，而下调E-cadherin mRNA表达水平；同时上调相应蛋白ZEB1、N-cadherin、Vimentin、Snail的表达，而下调E-cadherin蛋白水平；反之，敲低PNO1后上述指标变化趋势相反，这提示PNO1可能通过调控EMT相关标志物的表达，促进EMT过程，从而推动CRC的进展。

解毒消癥饮作为抗肿瘤复方，是全国名中医杜建教授基于清热解毒、益气养阴、攻补兼施、标本兼治原则创制的临床防治CRC经验方，由白花蛇舌草、夏枯草、山慈菇、苦参4味中药组成[13-14]。本研究以HT-29细胞为模型，证实JXY提取物可显著抑制大肠癌细胞迁移。进一步机制研究发现，JXY提取物可在基因与蛋白水平同步下调PNO1表达，并抑制EMT进程，表现为同时抑制ZEB1、Snail、N-cadherin、Vimentin等EMT相关分子的表达，这提示JXY提取物可能通过下调PNO1表达抑制EMT进程，进而阻断大肠癌细胞迁移。

综上所述，本研究初步阐明了JXY提取物抗大肠癌迁移的分子机制，明确PNO1是其重要作用靶点。然而，本研究仅在体外细胞层面进行验证，尚未构建动物荷瘤模型，无法在体内环境中验证JXY通过抑制PNO1、调控EMT并抑制肿瘤转移的作用。此外，本研究仅明确了JXY对PNO1及EMT相关基因、蛋白的调控关系，未深入探究PNO1上下游关联信号通路。后续将进一步构建大肠癌肝转移动物模型，从体内水平验证JXY对PNO1、EMT及肿瘤转移的干预效果。同时，围绕PNO1上下游信号分子展开深入探究，解析PNO1调控大肠癌EMT的具体信号网络，完善分子作用机制，为JXY的临床推广及大肠癌靶向治疗提供实验依据。

参考文献

[1] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229-263.

[2] HAN B F, ZHENG R S, ZENG H M, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2022 [J]. J Natl Cancer Cent, 2024, 4(1): 47-53.

[3] 姚宏伟，高加勒，杨正阳，等. 结直肠癌精准治疗的现状与展望[J]. 中华消化外科杂志，2025，24(6)：690-694.

[4] 许诗语，戴伟钢，陈志辉，等. 中国临床肿瘤学会结直肠癌诊疗指南(2025版)更新要点解读[J]. 消化肿瘤杂志(电子版)，2025，17(3)：292-298.

[5] 葛淑敏，王哲汶，武金宝. Snail、MMP-9、VEGF在结直肠癌中的表达及进展[J]. 内蒙古医学杂志，2023，55(7)：820-824.

[6] 阚书航，耿雪尘，王俊壹，等. 中西医结合分期防治结直肠癌研究述评[J]. 中医肿瘤学杂志，2025，7(6)：1-11.

[7] MITTAL V. Epithelial mesenchymal transition in tumor metastasis [J]. Annu Rev Pathol, 2018, 13: 395-412.

[8] GHAFOOR S, GARCIA E, JAY D J, et al. Molecular mechanisms regulating epithelial mesenchymal transition (EMT) to promote cancer progression [J]. Int J Mol Sci, 2025, 26(9): 4364.

[9] SHEN Z Q, CHEN Y Q, LI L, et al. Transcription factor EBF1 over-expression suppresses tumor growth *in vivo* and *in vitro* via modulation of the PNO1/p53 pathway in colorectal cancer [J]. Front Oncol, 2020, 10: 1035.

[10] ROY S K, SRIVASTAVA S, MCCANCE C, et al. Clinical significance of PNO1 as a novel biomarker and therapeutic target of hepatocellular carcinoma [J]. J Cell Mol Med, 2024, 28(9): e18295.

[11] QIN L, LU J, QIAN Q H, et al. PNO1 enhances ovarian cancer cell growth, invasion, and stemness via activating the AKT/Wnt/β-catenin pathway [J]. Sci Rep, 2025, 15(1): 9656.

[12] ROY S K, SRIVASTAVA S, HANCOCK A, et al. Inhibition of ribosome assembly factor PNO1 by CRISPR/Cas9 technique suppresses lung adenocarcinoma and Notch pathway: clinical application [J]. J Cell Mol Med, 2023, 27(3): 365-378.

[13] 白裕海，魏开建. 魏开建教授运用解毒消癥饮方治疗正虚热毒证恶性肿瘤的经验[J]. 中国民族民间医药，2022，31(18)：88-92.

[14] 曹治云，杨小婷，黄争荣. 杜建运用清热解毒法治疗结直肠癌用药特点分析[J]. 山西中医，2023，39(12)：63-64.

[15] 冯海兰，陈虹，陈旭征，等. 解毒消癥饮抑制大肠癌细胞EMT及PD-L1表达相关研究[J]. 山西中医，2024，40(3)：53-56.

[16] ZHANG N, NG A S, CAI S J, et al. Novel therapeutic strategies: targeting epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer [J]. Lancet Oncol, 2021, 22(8): e358-e368.