·肿瘤专栏·

萝卜硫素对子宫内膜癌Ishikawa细胞株凋亡及小鼠移植瘤生长的影响及其与AKT/NF-κB信号通路的关系研究

杨红芳[1],郭子敬[2],姜蓓蓓[3],李 利[3],张 辉[3],赵焕焕[3*]
(1.河北医科大学第四医院检验科,河北 石家庄 050011;2.河北省中医院血液科,河北 石家庄 050017;
3.河北医科大学第四医院妇科,河北 石家庄 050011)

[摘要] **目的** 研究萝卜硫素(1-异硫氰酸-4-甲磺酰基丁烷,sulforaphane,SFN)对子宫内膜癌Ishikawa细胞凋亡的影响机制及对小鼠移植瘤生长的抑制作用。**方法** 体外实验:设置0、5、10、20、40、80 μmol/L浓度的SFN作用Ishikawa细胞,细胞计数试剂盒8(cell counting kit-8,CCK-8)法检测细胞活力,流式细胞术检测细胞凋亡,Western blot技术检测B细胞淋巴瘤-2基因(B-cell lymphoma-2,Bcl-2)、BCL-2相关蛋白(Bcl-2-associated X protein,Bax)、蛋白质丝氨酸苏氨酸激酶(protein-serine-threonine,AKT)/核转录因子(nuclear factor-kappaB,NF-κB)通路蛋白、细胞色素P4501B1(Cytochrome P4501B1,CYP1B1)、儿茶酚-O-甲基转移酶(Catechol-O-methyltransferase,COMT)的蛋白表达水平。体内实验:建立BALB/c-nu裸鼠子宫内膜癌移植瘤模型,随机分为对照组和SFN给药组(40 mg/kg,连续灌胃10 d),监测肿瘤生长并计算抑瘤率,HE染色观察肿瘤组织病理形态,免疫组织化学检测肿瘤组织相关蛋白表达。**结果** 体外实验:SFN可显著抑制Ishikawa细胞增殖并促进细胞凋亡,呈剂量和时间依赖性($P<0.05$)。Western blot结果显示,SFN可上调Bax及COMT表达,下调Bcl-2、CYP1B1及AKT/NF-κB相关蛋白表达($P<0.05$)。体内实验:在裸鼠移植瘤模型中,SFN组肿瘤体积及重量较对照组明显降低($P<0.05$),抑瘤率约为50%以上。免疫组织化学结果显示,SFN组Bcl-2、Ki67、CYP1B1及AKT/NF-κB相关蛋白表达降低,而Bax及COMT表达升高($P<0.05$)。**结论** SFN可在体外诱导Ishikawa细胞凋亡,在体内抑制裸鼠移植瘤生长,其机制可能与调控CYP1B1/COMT雌激素代谢通路及抑制AKT/NF-κB信号通路激活有关。

[关键词] 子宫内膜肿瘤;Ishikawa细胞;萝卜硫素 doi:10.3969/j.issn.1007-3205.2026.09.005
[中图分类号] R737.33 [文献标志码] A [文章编号] 1007-3205(2026)09-1025-08

Effects of sulforaphane on apoptosis of Ishikawa endometrial cancer cells and growth of xenograft tumors in mice and its relationship with the AKT/NF-κB signaling pathway

YANG Hong-fang[1], GUO Zi-jing[2], Jiang Bei-bei[3], LI Li[3], ZHANG Hui[3], ZHAO Huan-huan[3*]
(1.*Department of Laboratory Medicine, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang* 050011, *China*; 2.*Department of Hematology, Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang* 050017, *China*; 3.*Department of Gynecology, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang* 050011, *China*)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the mechanism of sulforaphane [SFN; 1-isothiocyanato-4-(methylsulfinyl)butane] on apoptosis of Ishikawa endometrial cancer cells and its inhibitory effect on the growth of xenograft tumors in mice. **Methods** In vitro, Ishikawa endometrial cancer cells were treated with 0, 5, 10, 20, 40, and 80 μmol/L SFN. Cell viability was determined using the Cell Counting Kit-8 (CCK-8) assay, and cell apoptosis was analyzed by flow cytometry. Protein expression levels of B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2-associated X

[收稿日期]2026-04-10
[基金项目]中国抗癌协会肿瘤领域区域性科研培育基金(CESTDQLCORP300-08);河北省医学科学研究课题计划项目(20230967)
[作者简介]杨红芳(1983-),女,河北宁晋人,河北医科大学第四医院中级技师,医学硕士,从事肿瘤标记物检验及妇科肿瘤研究。
*通信作者。E-mail:zhaohuanyikeda@126.com

protein（Bax），protein-serine-threonine（AKT）/nuclear factor-kappaB（NF-κB）pathway-related proteins，cytochrome P450 family 1 subfamily B member 1（CYP1B1），and catechol-O-methyltransferase（COMT）were determined by Western blotting. For the in vivo experiment，a BALB/c nude mouse xenograft model of endometrial cancer was established. The mice were randomly assigned to a control group and an SFN treatment group（40 mg/kg，intragastric administration for 10 consecutive days）. Tumor growth was monitored，and the tumor growth inhibition rate was calculated. Histopathological changes in tumor tissues were examined by hematoxylin and eosin（H&E）staining，and the expression of related proteins in tumor tissues was assessed by immunohistochemistry（IHC）. **Results** In vitro，SFN significantly inhibited the proliferation of Ishikawa cells and induced cell apoptosis in a dose- and time-dependent manner（$P<0.05$）. Western blot results showed that SFN upregulated the expression of Bax and COMT and downregulated the expression of Bcl-2，CYP1B1，and AKT/NF-κB pathway-related proteins（$P<0.05$）. In vivo，in the nude mouse xenograft model，tumor volume and weight in the SFN group were significantly decreased compared with those in the control group（$P<0.05$），with a tumor inhibition rate of approximately more than 50%. Immunohistochemical results showed that the expression levels of Bcl-2，Ki67，CYP1B1，and AKT/NF-κB pathway-related proteins were decreased，while the expression levels of Bax and COMT were increased in the SFN group（$P<0.05$）. **Conclusion** SFN can induce apoptosis of Ishikawa cells in vitro and inhibit the growth of xenograft tumors in nude mice in vivo. Its mechanism may be related to the regulation of the CYP1B1/COMT estrogen metabolism pathway and the inhibition of AKT/NF-κB signaling pathway activation.

［**Key words**］ endometrial neoplasms；Ishikawa cells；sulforaphane

子宫内膜癌是女性生殖系统中发病率较高的恶性肿瘤，近年发病率逐年升高且呈年轻化趋势，临床以手术治疗为主，放化疗等辅助治疗不良作用明显且疗效有限，亟需研发新型治疗药物[1]。雌激素代谢紊乱是子宫内膜癌发生发展的重要因素，细胞色素P4501B1（Cytochrome P4501B1，CYP1B1）可促进雌激素向具有潜在致癌性的代谢产物转化，而儿茶酚-O-甲基转移酶（Catechol-O-methyltransferase，COMT）则参与对活性雌激素代谢产物的灭活与清除，两者失衡可增加肿瘤发生风险[2-3]。核转录因子（nuclear factor-kappaB，NF-κB）和蛋白质丝氨酸苏氨酸激酶（protein-serine-threonine，AKT）信号通路在肿瘤细胞增殖与凋亡调控中发挥关键作用[4-6]。AKT/NF-κB信号通路异常激活可调控B细胞淋巴瘤-2基因（B-cell lymphoma-2，Bcl-2）、BCL-2相关蛋白（Bcl-2-associated X protein，Bax）等凋亡相关蛋白表达，促进细胞存活和肿瘤进展[7-8]。萝卜硫素（1-异硫氰酸-4-甲磺酰基丁烷，sulforaphane，SFN）是十字花科植物提取的天然活性化合物，兼具抗炎、抗氧化、抑癌作用，在多种肿瘤中被证实具有抗肿瘤效果[9-10]。但其在子宫内膜癌中的作用及与CYP1B1/COMT、AKT/NF-κB相关信号变化的关系尚缺乏系统研究。因此，本研究以Ishikawa细胞及裸鼠移植瘤模型为研究对象，探讨SFN对子宫内膜癌增殖、凋亡及肿瘤生长的影响，并初步分析其与CYP1B1/COMT及AKT/NF-κB相关信号变化的关系，为SFN治疗子宫内膜癌提供实验依据。

1　材料与方法

1.1　实验材料及仪器　人高分化子宫内膜腺癌Ishikawa细胞系，购自苏州海星生物科技有限公司。5周龄雌性BALB/c-nu裸鼠10只，体重18～22 g，购自北京华阜康生物科技股份有限公司，实验动物生产许可证号：SCXK（京）2024-0003，动物质量合格证号：110322251102575356。二甲基亚砜（dimethyl sulfoxide，DMSO）、RPMI-1640培养基、胎牛血清、青霉素-链霉素、β-actin抗体（美国GIBCO公司）；放射免疫沉淀法裂解液（radioimmunoprecipitation assay lysis buffer，RIPA lysis buffer，与二辛可宁酸（bicinchoninic acid，BCA）蛋白定量试剂盒（江苏碧云天生物技术有限公司）；细胞计数试剂盒8（cell counting kit-8，CCK-8）（美国Med Chem Express公司）。抗体Bax（A0207SP）、Bcl-2（A19693），AKT（A18675）、p-AKT（AP0274）、β-actin（AC026）、Ki-67（A20018）（武汉爱博泰克生物科技有限公司，中国）。抗体CYP1B1（67033-1-Ig）、COMT（14754-1-AP）、NF-κB p65（10745-1-AP）、p-NF-κB p65（80379-2-RR）、（武汉三鹰有限公司，中国）；Annexin V-FITC/PI凋亡检测试剂盒来源于美国BD Pharmingen公司。免疫组织化学SP试剂盒购自Cell Signaling Technology公司；苏木精－伊红（hematoxylin-eosin，HE）染色试剂盒购自北

京中杉金桥生物技术有限公司。Navios Flow Cytometer流式细胞仪（Beckman Coulter，美国）；超微量分光光度计（Thermo Fisher，美国）；凝胶成像系统（GE，美国）；多功能酶标仪（Tecan，瑞士）；垂直电泳仪与湿式转膜仪（Bio-Rad，美国）；光学显微镜购自日本Olympus公司。

动物实验经河北医科大学第四医院实验动物中心伦理委员会审核批准（批准文号：20250625）。

1.2　Ishikawa细胞培养　复苏人子宫内膜癌Ishikawa细胞后，接种至添加10%胎牛血清及双抗（青霉素100 U/mL、链霉素100 mg/L）的DMEM-F12培养体系中，置于恒温培养箱（37 ℃、5%CO_2、95%湿度）中常规培养，取对数生长期贴壁细胞进行后续操作。

1.3　实验药物　SFN（纯度98.87%）购自美国MedChemExpress公司，用DMSO配制成100 mmol/L母液，-20 ℃分装保存，实验前用新鲜培养基稀释至0 μmol/L、5 μmol/L、10 μmol/L、20 μmol/L、40 μmol/L、80 μmol/L，DMSO终浓度≤0.5%。

1.4　SFN体外对Ishikawa细胞株的影响

1.4.1　CCK-8法检测Ishikawa细胞增殖活性　取对数期细胞以2×10^3个/孔，接种96孔板中，每组6个复孔，贴壁后加梯度浓度SFN，对照组加含0.5%DMSO的培养基。分别孵育24 h、48 h、72 h后，每孔加10 μL CCK-8试剂，37 ℃孵育2 h，酶标仪测450 nm处OD值，GraphPad软件拟合半数抑制浓度（median inhibition concentration，IC50）值。

1.4.2　流式细胞术测定细胞凋亡　取对数生长期Ishikawa细胞，以3×10^5个/孔的密度接种于6孔板，培养24 h待细胞融合度达80%～90%后，实验组分别给予10 mol/L、20 mol/L、40 mol/L的SFN处理，对照组加入等体积无药培养基。继续培养48 h后收集细胞：弃去上清，PBS漂洗2次，0.25%胰酶消化3 min，以完全培养基终止反应，1 000 r/min离心5 min。沉淀经PBS洗涤2次后，收集5×10^5个细胞重悬于100 μL结合缓冲液，加入Annexin V-FITC和PI各5 μL，轻柔混匀，室温避光反应15 min，流式细胞仪检测凋亡率，采用分层设门策略以精确量化凋亡细胞比例，每组独立重复3次取均值。

1.4.3　Western blot检测SFN对Bax、Bcl-2、CYP1B1、COMT和AKT/NF-κB信号通路蛋白表达的影响　用10 μmol/L、20 μmol/L、40 μmol/L的SFN作用Ishikawa细胞48 h，细胞裂解后，4 ℃、12 000 r/min离心15 min取上清。BCA法定量蛋白，调整浓度后加5×上样缓冲液，100 ℃煮10 min变性，采用10%SDS-PAGE进行蛋白分离，电转印至PVDF膜，5%脱脂牛奶封闭1 h，TBST洗膜3次。抗体Bax（1∶5 000）、Bcl-2（1∶5 000）、CYP1B1（1∶6 000）、COMT（1∶2 000）、AKT（1∶5 000）、p-AKT（1∶1 000）、NF-κB p65（1∶2 000）和p-NF-κB p65（1∶5 000）4 ℃摇床避光孵育24 h，TBST洗3次；二抗β-actin（稀释比例1∶100 000）室温避光1 h，TBST洗3次。发光液1∶1配制，覆盖膜表面，化学发光系统显影成像。Image J软件分析蛋白质灰度值，以β-actin作为内参，计算蛋白相对表达量。每组独立重复3次取均值。

1.5　SFN体内对小鼠移植瘤的影响

1.5.1　药物配置　将配置的SFN母液，实验前用0.9%生理盐水稀释，根据体重计算给药剂量（40 mg·kg^{-1}·d^{-1}），按10 mL/kg灌胃体积设计给药方案，其中DMSO终浓度为0.1%，现配现用，避免强光照射。对照组溶剂为含0.1% DMSO的生理盐水，配制方法同给药液（不含SFN）。

1.5.2　移植瘤模型建立与分组给药　取对数生长期Ishikawa细胞，0.25%胰酶消化后离心收集，用无血清DMEM-F12培养基调整细胞浓度至1×10^7个/mL，裸鼠右侧背部皮肤消毒后，用1 mL无菌注射器皮下注射0.2 mL细胞悬液（含2×10^6个细胞）。接种后每日观察裸鼠精神状态、饮食活动情况，同时监测移植瘤的生长状态，用游标卡尺测量肿瘤最长径（L）和最短径（W），按公式V=0.5×L×W^2计算肿瘤体积。当肿瘤体积达到100～150 mm^3时，视为模型建立成功，将裸鼠随机分为对照组和SFN给药组（每组5只），参考同类天然产物体内抗肿瘤实验文献[11]，2组裸鼠体重差异无统计学意义（P>0.05）。SFN给药组按40 mg/kg剂量每日清晨进行灌胃给药，按10 mL/kg灌胃体积设计给药方案，给药液根据体重及给药体积进行现配现用配制，使各动物实际获得药物剂量一致。对照组给予等体积含0.1% DMSO的生理盐水灌胃，1次/d，连续给药10 d。给药期间每日记录裸鼠体重、饮食量及精神状态，每3 d测量肿瘤体积，绘制肿瘤生长曲线。

1.5.3　标本采集与免疫组织化学染色　末次给药24 h后，断颈法处死各组小鼠，迅速解剖分离移植

瘤组织，剥离周围结缔组织及脂肪组织，用生理盐水冲洗表面血迹，滤纸吸干水分后，电子天平精确称重并拍照记录。取部分肿瘤组织置于10%中性福尔马林溶液中固定48 h，将组织采用梯度乙醇浸泡脱水，乙醇浓度依次为50%、70%、80%、95%Ⅰ、95%Ⅱ、无水乙醇Ⅰ、无水乙醇Ⅱ。每种浓度浸泡时间30 min，其中在95%乙醇中浸泡12 h以上。然后组织浸泡于二甲苯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ中透明，每种溶剂中浸泡10 min。组织浸蜡后，用石蜡包埋成组织蜡块。用切片机将组织蜡块切成厚度为5 μm的切片。经60 ℃烘片2 h处理，依次经二甲苯及梯度乙醇脱蜡水化，柠檬酸钠缓冲液（pH 6.0）微波修复10～15 min。3%H_2O_2进行孵育，以山羊血清进行封闭。Bax（1∶1 000）、Bcl-2（1∶2 000）、Ki-67（1∶500）、AKT（1∶200）、p-AKT（1∶100）、NF-κB p65（1∶200）、p-NF-κB p65（1∶800）、COMT（1∶200）、CYP1B1（1∶1 000）抗体，加入一抗用于免疫组织化学检测。采用显微镜观察并分析免疫染色表达差异。

结果判断标准：每只动物随机选取1～2张肿瘤组织切片进行免疫组织化学检测，免疫组织化学结果免疫组织化学评分（immunoreactivity score，IRS）来进行评分[11]，评分计算公式为IRS=SI（染色强度）×pp（阳性细胞百分率）。无阳性染色细胞为0分；阳性细胞占比≤10%为1分；10%～50%阳性细胞占比为2分；51%～80%阳性细胞占比为3分；＞80%阳性细胞占比为4分。染色强度评分标准：无明显染色为0分；细胞质或细胞核呈淡黄色弱阳性染色为1分；呈棕黄色中等强度阳性染色为2分；呈棕褐色强阳性染色为3分。所有切片的免疫组织化学结果均由2位资深病理学专家采用双盲法进行独立评分，每张切片在显微镜下随机选取5个高倍视野（×400）进行阳性表达评分，取其平均值作为该个体的最终数据用于统计分析。评分结果不一致时经共同讨论确定最终分值。

1.6　统计学方法　应用GraphPad Prism 9.5统计软件分析数据。所有独立实验均重复3次。正态分布的计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，比较采用独立样本t检验、单因素方差分析、SNK-q检验和重复测量的方差分析。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　SFN对Ishikawa细胞活力的影响　以CCK-8实验评价SFN的细胞毒性效应。设计0 μmol/L、5 μmol/L、10 μmol/L、20 μmol/L、40 μmol/L、80 μmol/L 6个浓度梯度处理Ishikawa细胞，于24 h、48 h、72 h后进行检测，结果显示，SFN对Ishikawa细胞系的增殖抑制具有显著的浓度—时间协同效应—随着药物浓度的递增及暴露时间延长，细胞增殖能力呈进行性下降，组间、时点间、组间·时点间交互作用差异有统计学意义（$P<0.001$），24、48 h的IC_{50}值分别为15.26 μmol/L、9.66 μmol/L。见表1。

表1　SFN对人子宫内膜癌Ishikawa细胞增殖能力的影响

Table 1　Effects of SFN on the proliferation ability of human endometrial cancer Ishikawa cells

（$n=3,\bar{x}\pm s$）

组别	OD值			
	0 h	24 h	48 h	72 h
对照组（0 μmol/L）	1.9067±0.028	2.6012±0.041	3.0920±0.053	3.5951±0.057
SFN组（5 μmol/L）	1.8456±0.031	2.0482±0.062	1.8785±0.076	1.2613±0.089
SFN组（10 μmol/L）	1.9235±0.029	1.6811±0.068	1.4087±0.082	0.5932±0.064
SFN组（20 μmol/L）	1.8943±0.033	1.0660±0.075	0.9452±0.069	0.2900±0.031
SFN组（40 μmol/L）	1.8532±0.035	0.8914±0.066	0.6372±0.058	0.2949±0.038
SFN组（80 μmol/L）	1.8643±0.032	0.4572±0.047	0.4211±0.043	0.2453±0.029
组间		F值=547.820	P值<0.001	
时点间		F值=412.690	P值<0.001	
组间·时点间		F值=103.750	P值<0.001	

2.2　SFN对Ishikawa细胞凋亡的影响　流式细胞术Annexin V-FITC/PI双染结果显示，SFN可显著促进子宫内膜癌Ishikawa细胞发生凋亡，且随SFN干预浓度的升高，细胞的总凋亡率呈显著上升趋势，差异有统计学意义（$P<0.05$），见表2、图1。

2.3　SFN对Ishikawa细胞Bax、Bcl-2、CYP1B1、COMT、AKT、p-AKT、NF-κB p65、p-NF-κB p65

表2　不同浓度SFN对人子宫内膜癌Ishikawa细胞凋亡率比较

Table 2　Comparison of apoptosis rates of human endometrial cancer Ishikawa cells treated with different concentrations of SFN

（n=3，$\bar{x}\pm s$，%）

组别	凋亡率
对照组（0 μmol/L）	2.0±0.3
SFN组（10 μmol/L）	7.3±0.6*
SFN组（20 μmol/L）	20.3±0.9*#
SFN组（40 μmol/L）	33.5±1.2*#△
F值	883.480
P值	＜0.001

*P值＜0.05与对照组比较　#P值＜0.05与SFN组（10 μmol/L）比较　△P值＜0.05与SFN组（20 μmol/L）比较（SNK-q检验）

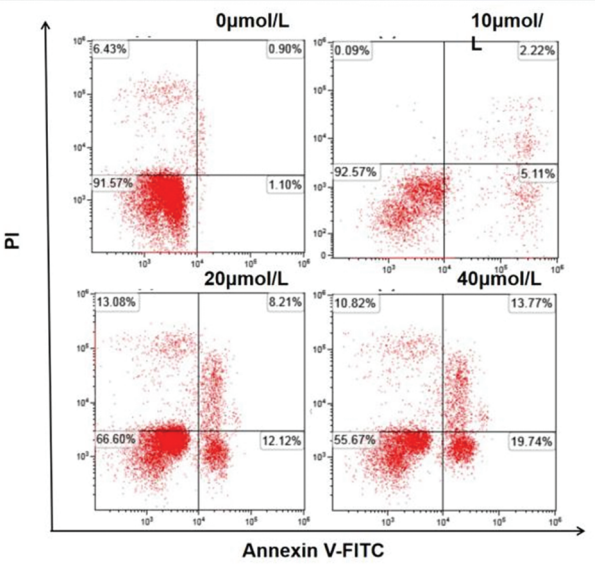


图1　SFN对Ishikawa细胞凋亡的影响

A. 对照区；B. 右上象限为凋亡晚期或坏死细胞区；C. 早期凋亡细胞区；D. 活细胞区

Figure 1　Effects of SFN on the apoptosis of Ishikawa cells

蛋白表达的影响　采用Western blot技术检测细胞中Bax、Bcl-2蛋白表达水平，以及子宫内膜癌发病相关的CYP1B1、COMT和AKT/NF-κB信号通路关键蛋白的表达水平。结果显示，当SFN干预浓度为10 μmol/L、20 μmol/L、40 μmol/L时，细胞内凋亡正向调控蛋白Bax的蛋白信号强调显著增强，而负向调控蛋白Bcl-2的信号强度显著减弱，差异有统计学意义（P＜0.05）。提示，SFN可显著诱导Ishikawa细胞发生凋亡。机制层面，SFN处理显著下调了促癌蛋白CYP1B1的表达水平，同时上调抑癌蛋白COMT的表达（P＜0.05），进一步证实其对子宫内膜癌的抑制效应。此外，AKT、p-AKT、NF-κB p65、p-NF-κB p65蛋白表达随SFN浓度增加而递减，呈剂量依赖性抑制AKT/NF-κB信号通路活化，最终促进肿瘤细胞凋亡。见表3、图2。

表3　SFN对Ishikawa细胞凋亡蛋白、CYP1B1、COMT及AKT/NF-κB通路蛋白表达的影响

Table 3　Effects of SFN on apoptosis proteins and the expression of CYP1B1, COMT and AKT/NF-κB pathway proteins in Ishikawa cells

（n=3，$\bar{x}\pm s$）

组别	蛋白相对表达量							
	Bax	Bcl−2	COMT	CYP1B1	AKT	p-AKT	NF-κB p65	p-NF-κB p65
对照组（0 μmol/L）	1.00±0.05	1.00±0.04	1.00±0.05	1.00±0.03	1.00±0.04	1.00±0.03	1.00±0.05	1.00±0.06
SFN组（10 μmol/L）	1.20±0.04*	0.65±0.05*	1.58±0.09*	0.95±0.03*	0.83±0.03*	0.91±0.06*	0.86±0.04*	0.93±0.04*
SFN组（20 μmol/L）	1.35±0.05*#	0.47±0.03*#	1.81±0.07*#	0.83±0.01*#	0.73±0.02*#	0.71±0.04*#	0.67±0.06*#	0.64±0.04*#
SFN组（40 μmol/L）	1.58±0.09*#△	0.27±0.06*#△	2.04±0.08*#△	0.62±0.03*#△	0.52±0.05*#△	0.48±0.07*#△	0.53±0.04*#△	0.58±0.05*#△
F值	34.820	198.570	246.310	121.690	78.430	127.860	89.240	118.530
P值	＜0.001	＜0.001	＜0.001	＜0.001	＜0.001	＜0.001	＜0.001	＜0.001

*P值＜0.05与对照组比较　#P值＜0.05与SFN组（10 μmol/L）比较　△P值＜0.05与SFN组（20 μmol/L）比较（SNK-q检验）

2.4　SFN对裸鼠移植瘤生长的抑制作用　体内实验结果显示，SFN灌胃给药可显著抑制裸鼠子宫内膜癌移植瘤的生长（图3）。给药10 d后，对照组移植瘤重量为（1.26±0.18）g，体积为（1 126.58±156.32）mm^3；SFN给药组移植瘤重量为（0.58±0.09）g，体积为（489.76±89.45）mm^3，SFN给药组移植瘤重量和体积均低于对照组，差异有统计学意义（移植瘤重量：t=7.560，P＜0.001；移植瘤体积：t=7.910，P＜0.001），肿瘤抑制率分别为54.0%（重量抑制率）和56.5%（体积抑制率）。给药期间，2组裸鼠体重均呈缓慢增长趋势，对照组体重从（19.32±0.85）g增长至（20.56±0.92）g，SFN给药组从（19.18±0.78）g增长至（20.23±0.86）g，2组体重变化比较差异无统计学意义（t=0.590，P=0.0569），且未观察到腹泻、精神萎靡、食欲减退等毒性反应，提示40 mg/kg SFN灌胃给药未观察到明显急性毒性表现。HE染色结果显示，对照组

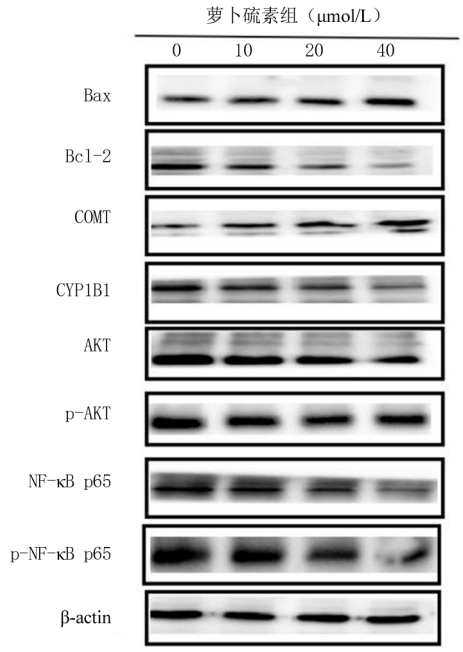


图2　SFN对Ishikawa细胞中Bax、Bcl-2、CYP1B1、COMT、AKT、p-AKT、NF-κB p65、p-NF-κB p65表达的影响.

Figure 2　Effects of SFN on the protein expressions of Bax, Bcl-2, CYP1B1, COMT, AKT, p-AKT, NF-κB p65 and p-NF-κB p65 in Ishikawa cells

裸鼠移植瘤组织结构致密，肿瘤细胞排列紧密，核大深染，异型性明显。SFN给药组肿瘤组织结构松散，细胞排列紊乱，核固缩及坏死区域增加，提示SFN可明显抑制肿瘤组织生长并诱导组织损伤。见图4。

2.5　SFN对移植瘤组织中蛋白表达的影响　SFN给药组Bcl-2、Ki67、AKT、p-AKT、NF-κB p65、p-NF-κB p65、CYP1B1免疫组织化学IRS评分均显著低于对照组，Bax、COMT免疫组织化学IRS评分均高于对照组，差异有统计学意义（$P<0.05$）。见表4、图5。

3　讨　论

近年来研究[12-13]发现，SFN可通过阻滞肿瘤细胞增殖、诱导细胞凋亡等途径，对多种恶性肿瘤产生抑制作用。SFN主要经硫醇尿酸途径在体内代谢，其结构中的异硫氰酸盐官能团（-N=C-S）含亲电性活性碳原子，可与谷胱甘肽（glutathione，GSH）共价结合生成SFN-GSH复合物；该复合物经胱硫醚酶、N-乙酰转移酶催化修饰后，生成主要代谢产物SFN-N-乙酰半胱氨酸，最终随尿液排出体外[14]。子宫内膜癌的发生发展依赖于子宫内膜细胞增殖与凋亡失衡，信号通路异常激活是肿瘤细胞恶性增殖的核心分子诱因[15]。本研究体外实验结果表明，不同浓度SFN处理能够抑制子宫内膜癌Ishikawa细胞增殖，且该抑制效应具有浓度及时间依赖性；体内裸鼠移植瘤实验亦证实，SFN可有效抑制移植瘤生长。综

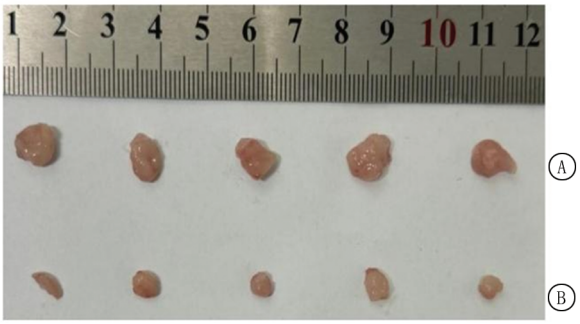


图3　裸鼠移植瘤代表性实物图

A. 对照组；B. SFN给药组

Figure 3　Representative photographs of xenograft tumors in nude mice

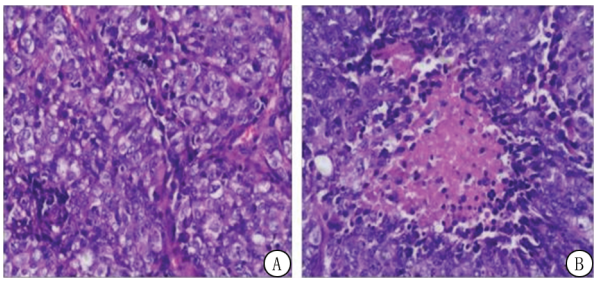


图4　SFN对裸鼠移植瘤组织形态学的影响（HE染色×200）

A. 对照组；B. SFN给药组

Figure 4　Effects of SFN on the histomorphology of xenograft tumor tissues in nude mice (HE staining ×200)

表4　SFN对移植瘤组织相关蛋白免疫组织化学IRS评分

Table 4　Immunohistochemical IRS scores of related proteins in xenograft tumor tissues after SFN treatment

（n=5，$\bar{x}\pm s$，分）

组别	IRS评分								
	Bax	Bcl-2	Ki-67	COMT	CYP1B1	AKT	p-AKT	NF-κB p65	p-NF-κB p65
对照组	2.0±0.5	8.0±0.7	9.0±0.4	3.0±0.6	8.0±0.5	7.0±0.8	8.0±0.3	8.0±0.6	8.0±0.5
SFN给药组	7.0±0.8	2.0±0.6	3.0±0.2	7.0±0.9	2.0±0.4	2.0±0.5	3.0±0.2	3.0±0.8	2.0±0.4
t值	14.550	44.770	144.000	13.110	47.560	42.370	180.000	29.090	72.980
P值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

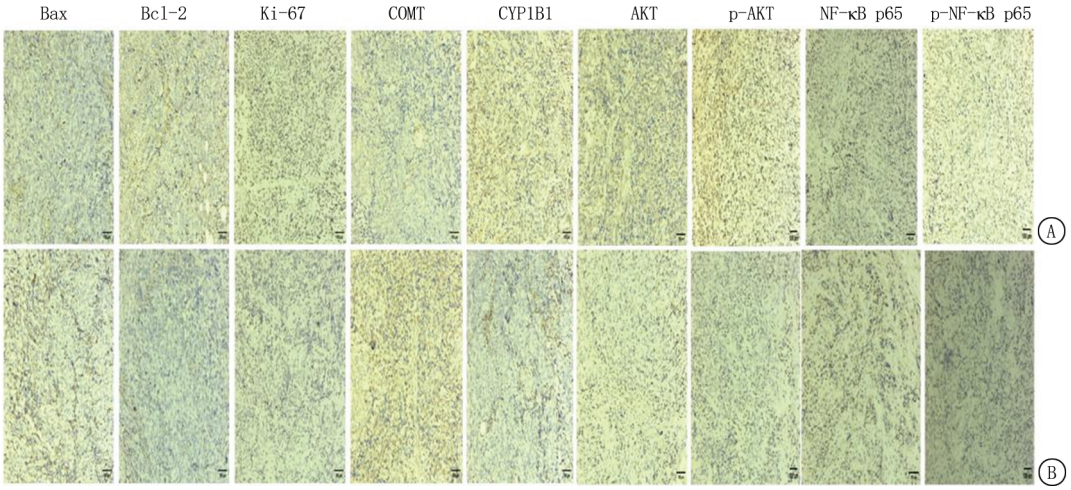


图5　Bax、Bcl-2、Ki-67、CYP1B1、COMT、AKT、p-AKT、NF-κB p65、p-NF-κB p65在移植瘤组织中的表达（×200）

A. 对照组；B. SFN给药组

Figure 5　Expressions of Bax, Bcl-2, Ki-67, CYP1B1, COMT, AKT, p-AKT, NF-κB p65 and p-NF-κB p65 in transplanted tumor tissues（×200）

合体内外实验结果，提示SFN对子宫内膜癌具有一定的抑瘤作用，具备潜在的研究开发价值。

细胞凋亡的调控失衡与肿瘤的发生发展密切相关[16-17]。Bax作为经典的促凋亡蛋白，其表达水平升高可促进线粒体凋亡通路的激活，进而启动细胞凋亡程序[18-19]；而Bcl-2作为抗凋亡蛋白，可通过抑制Bax的促凋亡作用阻断细胞凋亡[20-21]。本研究结果显示，当细胞中Bax表达上调且Bcl-2表达下调时，可显著诱导肿瘤细胞发生程序性凋亡，体内实验免疫组织化学结果提示，SFN组Bax上调与Bcl-2下调，这提示凋亡通路的激活或许构成了SFN发挥抗子宫内膜癌活性的关键分子基础。

CYP1B1在肿瘤的发生发展中发挥重要作用。CYP1B1在子宫内膜癌、乳腺癌等多种激素相关性肿瘤组织中表达水平与肿瘤的临床分期、病理分级呈正相关[22-23]。子宫内膜癌患者的肿瘤组织中CYP1B1的表达水平显著高于正常子宫内膜组织，而COMT的表达水平明显低于正常子宫内膜组织[24-25]。本研究结果显示，SFN体外干预Ishikawa细胞后，可显著下调细胞中CYP1B1的蛋白表达水平，同时显著上调COMT的蛋白表达水平，体内实验免疫组织化学结果提示，SFN组COMT蛋白的表达水平升高，CYP1B1蛋白表达水平显著下降，这提示SFN通过抑制CYP1B1的表达减少致癌性雌激素代谢产物的生成，同时通过增强COMT的表达提升机体对雌激素毒性代谢产物的解毒能力，从而阻断CYP1B1介导的雌激素致癌途径，进而抑制子宫内膜癌细胞的异常增殖。

AKT/NF-κB信号通路是细胞内调控生长、增殖、凋亡等生物学行为的核心信号通路。并参与癌症的发生与发展[8]。本研究同步检测通路相关蛋白表达，结果显示，经SFN干预后，p-AKT、p-NF-κB p65表达下调，通路磷酸化蛋白表达变化趋势与抗凋亡蛋白Bcl-2下调趋势相吻合。结合既往SFN在胰腺癌、结直肠癌中的作用机制研究结果，初步推测SFN或可通过抑制AKT、NF-κB p65磷酸化水平，调控下游凋亡相关蛋白表达，进而参与子宫内膜癌细胞凋亡过程。但本研究仅完成上述通路核心蛋白表达水平检测，未开展通路阻断、过表达等功能性验证实验，通路上下游具体调控关系尚未明确，尚不足以明确阐明其完整作用机制。由此仅可初步认为，抑制AKT/NF-κB信号通路活化，或为SFN发挥广谱抗肿瘤效应的潜在共有作用途径。

综合以上实验结果，证实SFN可在体外诱导子宫内膜癌Ishikawa细胞凋亡，在体内抑制裸鼠移植瘤生长，初步推测SFN的抑瘤作用可能与调控CYP1B1/COMT雌激素代谢通路、抑制AKT/NF-κB通路磷酸化活化存在一定关联。本研究仅从蛋白表达水平初步探讨相关通路变化，尚未检测代谢酶活性及体内雌激素代谢产物含量，两条通路之间是否存在交叉调控关系仍需进一步验证。后续研究可进一步从酶活性层面分析SFN对CYP1B1、COMT的调控作用，检测体内儿茶酚雌激素代谢水平，进一步阐明其对雌激素代谢网络的调控规律。SFN作为天然植物活性成分，具有低毒、生物相容性良好的特点，相较于传统化

疗药物不良反应更小。本研究初步证实，SFN可通过多靶点途径抑制子宫内膜癌进展，现阶段仅提示其具备潜在的药用研究价值，有望为子宫内膜癌的药物研发提供实验参考，其临床转化应用仍需大量基础试验及临床研究进一步佐证。

[参考文献]

[1] Pados G, Zouzoulas D, Tsolakidis D. Recent management of endometrial cancer: A narrative review of the literature[J]. Front Med (Lausanne), 2023, 10: 1244634.

[2] Zhao H, Jiang Y, Liu Y, et al. Endogenous estrogen metabolites as biomarkers for endometrial cancer via a novel method of liquid chromatography-mass spectrometry with hollow fiber liquid-phase microextraction [J]. Horm Metab Res. 2015, 47(2): 158-164.

[3] Janacova L, Stenckova M, Lapcik P, et al. Catechol-O-methyl transferase suppresses cell invasion and interplays with MET signaling in estrogen dependent breast cancer[J]. Sci Rep, 2023, 13(1): 1285.

[4] Li HL, Wei D, Gao XQ, et al. COPB2 drives gastric cancer progression via PI3K/AKT/NF-κB signaling: A multi-omics and functional study[J]. Cell Adhes Migr, 2026, 20(1): 2620945.

[5] Feng SR, Zhang C, Chen Y, et al. AFP promotes cancer multidrug resistance through activating PI3K/Akt/NF-κB signaling pathway[J]. Sci Rep, 2025, 16(1): 590.

[6] Zhu YQ, Lu YX, Zhu YF, et al. ST2L promotes VEGFA-mediated angiogenesis in gastric cancer by activating TRAF6/PI3K/Akt/NF-κB pathway via IL-33[J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 26393.

[7] Chen XB, Li HZ, Wei XY, et al. SERPINA1 promotes the invasion, metastasis, and proliferation of pancreatic ductal adenocarcinoma via the PI3K/Akt/NF-κB pathway [J]. Biochem Pharmacol, 2024, 230(Pt 2): 116580.

[8] Liu RJ, Yang QY, Fan SS, et al. PFOS promotes lung adenocarcinoma cell proliferation through PI3K/AKT/NF-κB mediated EMT[J]. Food Chem Toxicol, 2025, 205: 115714.

[9] Solarska-Ściuk K, Kapavarapu R, Poliszak Z, et al. Sulforaphane promotes the removal of doxorubicin-induced senescent epithelial and breast cancer cells and activates AhR/CYP1A1-based adaptive response in vitro[J]. Chem-Biol Interact, 2026, 432: 112033.

[10] Angarita-Planchez ME, Leiva-Castro C, Múnera-Rodríguez AM, et al. Monovalent mannose-glycoconjugates of sulforaphane reprogram human dendritic cells via NFATc1 to induce immune tolerance under inflammatory conditions[J]. Br J Pharmacol, 2026, 183(9): 1993-2008.

[11] Dumitriu A, Wen W, Yan J, et al. Therapeutic potential of baicalein in endometrial cancer: Suppression of mTOR signaling and synergy with metformin[J]. Int J Mol Sci, 2025, 26(22): 11061.

[12] Mitsos P, Anastasiou I, Constantinides C, et al. Clinical importance of Focal Adhesion Kinase (FAK)-src and paxillin expression in renal cell carcinoma[J]. Cureus, 2024, 16(6): e62706.

[13] Baralić K, Živanović J, Marić Đ, et al. Sulforaphane-A compound with potential health benefits for disease prevention and treatment: Insights from pharmacological and toxicological experimental studies[J]. Antioxidants (Basel), 2024, 13(2): 147.

[14] Iahtisham-Ul-Haq, Khan S, Awan KA, et al. Sulforaphane as a potential remedy against cancer: Comprehensive mechanistic review[J]. J Food Biochem, 2022, 46(3): e13886.

[15] Zhao XY, Yin XB. The expression of SIRT3 in endometrial carcinoma and its effect on promoting apoptosis of ishikawa cells[J]. Biochem Genet, 2025, 63(6): 5432-5446.

[16] Kumari A, Kumar A, Xu G, et al. Confinement suppresses mechanical force-mediated cancer cell apoptosis[J]. Small, 2025, 21(34): e2504261.

[17] Abuhassan Q, Oriquat G, Roopashree R, et al. Pyroptosis-inducing nanomedicines: A dual-mode therapeutic framework for apoptosis-resistant lung cancer[J]. Tissue Cell, 2026, 100: 103361.

[18] Gong DJ, Chen XB, Dong ZQ, et al. Resveratrol inhibits renal ischemia and reperfusion injury in diabetes via reducing oxidative stress, inflammation, and apoptosis [J]. Renal Failure, 2026, 48(1): 2652103.

[19] Wei SH, Dai TS, Song W, et al. RFRP-3 suppresses ovarian granulosa cell function in Tan sheep via dual signaling pathways: PI3K/AKT/mTOR and MAPK/ERK1/2 [J]. Theriogenology, 2026, 260: 117909.

[20] Iksen, Witayateeraporn W, Hardianti B, et al. Comprehensive review of Bcl-2 family proteins in cancer apoptosis: Therapeutic strategies and promising updates of natural bioactive compounds and small molecules[J]. Phytother Res, 2024, 38(5): 2249-2275.

[21] Akcakavak G, Akcakavak FK, Karatas O, et al. Quercetin alleviates vancomycin-induced renal damage by modulating the TLR4/MyD88/NF-κB, Bax/Bcl-2/Caspase-3, Nrf2/Keap1/HO1, and PPARγ pathways[J]. Tissue Cell, 2026, 100: 103396.

[22] Chun YJ, Kwon YJ, Kwon TU. Human CYP1B1 enhances cancer progression through induction of Sp1 via DNMT-mediated epigenetic regulation of miR-375[J]. Cancer Res, 2024, 84(7_Supple): lb296.

[23] Mokhosoev IM, Astakhov DV, Terentiev AA, et al. Human cytochrome P450 cancer-related metabolic activities and gene polymorphisms: A review[J]. Cells, 2024, 13(23): 1985.

[24] 王瑾，笪纪平，徐培培，等. 细胞色素P4501B1在子宫内膜癌组织中的表达与ER相关[J]. 河北医科大学学报，2012，33(11)：1241-1244.

[25] Zamulaeva IA, Mkrtchian LS, Krikunova LI, et al. Prediction of the efficacy of adjuvant radiotherapy for early endometrioid uterine cancer based on polymorphism of genes affecting oxidative stress[J]. Rad Risk, 2025, 34(3): 86-97.

（本文编辑：赵丽洁）