



DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2022.06.08

文章编号: 2095-1264(2022)06-0727-09

基于 JAK-2/STAT3 信号通路观察维生素 D₃ 对炎症相关性结直肠癌的影响

程 杰¹, 龚航军^{2*}, 陈倩雯³

(¹上海中医药大学附属曙光医院(西院)药学部, 上海, 200021; ²上海中医药大学附属曙光医院(东院)胃肠外科, 上海, 201203; ³上海戴是凯康复医学门诊部心内科, 上海, 200060)

摘要: **目的** 基于 Janus 蛋白酪氨酸激酶 2(JAK2)/信号转导及转录激活因子 3(STAT3) 信号通路观察维生素 D₃(VitD₃) 对炎症相关性结直肠癌(CAC)的影响。**方法** 取 30 只雄性昆明小鼠给予葡聚糖硫酸钠(DSS)造模,并随机分为模型组、VitD₃低剂量组、VitD₃高剂量组,另取 10 只正常小鼠作为对照组。VitD₃低、高剂量组造模过程中分别给予 10 IU·g⁻¹、20 IU·g⁻¹的 VitD₃灌胃,灌胃体积 2 mL,连续给药 28 d;对照组和模型组均给予等体积花生油。造模第 7、14、21、28 d 称取小鼠重量;造模结束后,取出结直肠组织,计算成瘤数量;HE 染色、ELISA、免疫组化检测小鼠结直肠组织形态、组织匀浆液上清中炎症因子含量及上皮钙黏素(E-cadherin)和波形蛋白(vimentin)的表达;RT-qPCR 检测 H19、let-7a、c-Myc mRNA、HMGA2 mRNA 表达;Western blotting 检测 JAK2/STAT3 通路蛋白表达。**结果** 与对照组相比,模型组小鼠各时间点体重均明显减轻,且有肿瘤生成,结直肠组织中 H19、c-Myc mRNA、HMGA2 mRNA 表达水平, vimentin 蛋白评分及 p-JAK2、p-STAT3 蛋白表达水平明显上升, let-7a 表达水平及 E-cadherin 蛋白评分明显下降,血清 TNF-α、IL-1β、IL-6 表达水平明显升高, IL-10 表达水平明显下降(P<0.05);与模型组相比, VitD₃低、高剂量组小鼠各时间点体重均明显升高,肿瘤数量明显减少,结直肠组织中 H19、c-Myc mRNA、HMGA2 mRNA 表达水平, vimentin 蛋白评分及 p-JAK2、p-STAT3 蛋白表达水平明显下降, let-7a 表达水平及 E-cadherin 蛋白评分明显升高,血清 TNF-α、IL-1β、IL-6 表达水平明显下降, IL-10 表达水平明显升高(P<0.05),且 VitD₃高剂量组变化更为明显。**结论** VitD₃可能通过调控 JAK2/STAT3 信号通路减轻炎症反应,并影响上皮间质转化(EMT),对 CAC 小鼠发挥保护作用。

关键词: 维生素 D₃; 炎症相关性结直肠癌; 炎症; 上皮间质转化

中图分类号: R735.3 **文献标识码:** A

Effects of vitamin D₃ on colitis-associated colorectal cancer based on JAK-2/STAT3 signal pathway

CHENG Jie¹, GONG Hangjun^{2*}, CHEN Qianwen³

(¹Department of Pharmacy, Shuguang Hospital (Western), Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, 200021, China; ²Gastrointestinal Surgical Department, Shuguang Hospital (Eastern), Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, 201203, China; ³Department of Cardiology, Daishikai Rehabilitation Medicine Outpatient Department, Shanghai, 200060, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of vitamin D₃ (VitD₃) on the colitis-associated colorectal cancer (CAC) based on the signal pathway of Janus kinase 2 (JAK2)/signal transduction and transcription activator of transcription 3 (STAT3). **Methods** Thirty male Kunming mice were given dextran sodium sulfate (DSS) and randomly divided into model group, VitD₃ low-dose and high-dose groups, and 10 normal mice were used as control group. The mice in VitD₃ low-dose

作者简介:程杰,男,主管药师,研究方向:药学和药事管理。

*通信作者:龚航军,男,主任医师,研究方向:消化道肿瘤和微创外科治疗。

and high-dose groups were respectively given $10 \text{ IU} \cdot \text{g}^{-1}$ and $20 \text{ IU} \cdot \text{g}^{-1}$ of VitD_3 by gavage at a dose of 2 mL for 28 consecutive days. The mice in the control group and model group were given the same volume of peanut oil. The weight of mice was weighed on the 7th, 14th, 21st, and 28th day of modeling. After the modeling, the colon tissue was removed and the number of tumors was calculated. HE staining, ELISA, and immunohistochemistry were used to detect the colonic tissue morphology, the content of inflammatory factors in the tissue homogenate supernatant, and the expression of epithelial cadherin (E-cadherin) and vimentin. The expressions of H19, let-7a, c-Myc mRNA and HMGA2 mRNA were detected by RT-qPCR. The protein expression of JAK2/STAT3 pathway was detected by Western blotting. **Results** Compared with the control group, the weight of mice in the model group was significantly reduced at each time point, and there was tumor in the colon. The expression levels of H19, c-Myc mRNA, HMGA2 mRNA, p-JAK2 and p-STAT3 protein, and the score of vimentin protein in colon tissue all were significantly increased, and so were the serum $\text{TNF-}\alpha$, IL-1 β , IL-6 expression levels ($P < 0.05$). The let-7a expression level, E-cadherin protein score, and serum IL-10 expression level were significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the weight of mice in VitD_3 low and high dose groups was increased significantly at each time point. The expression levels of H19, c-Myc mRNA, HMGA2 mRNA, the score of vimentin protein, and the expression levels of p-JAK2 and p-STAT3 protein in colon tissue were decreased significantly, while the let-7a expression and E-cadherin protein score were significantly increased ($P < 0.05$). The $\text{TNF-}\alpha$, IL-1 β , IL-6 expression levels in serum were decreased, while the IL-10 expression level was increased ($P < 0.05$). Changes were more obvious in VitD_3 high-dose group. **Conclusion** VitD_3 may play a protective role in CAC mice by regulating JAK2/STAT3 signal pathway, reducing inflammatory response and affecting EMT process.

Keywords: Vitamin D_3 ; Colitis-associated colorectal cancer; Inflammation; Epithelial to mesenchymal transformation

前言

炎性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种以腹痛、腹泻等肠道症状为主要临床表现的慢性肠道炎症性疾病,病情加重者会出现黏液脓血便,患者因此会出现高热、体重减轻等症状。作为IBD的主要类型之一,溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种容易引起肠道中结肠黏膜层病变的疾病,在我国的发病率逐年升高^[1]。UC会引起肠道黏膜层变薄甚至消失,破坏肠黏膜屏障,导致有害物质直接作用于肠黏膜,从而引起肠道炎症反应及一系列肠道症状。已有的研究认为,环境、遗传及系统异常等是导致UC的主要因素^[2]。据报道,结直肠癌(colorectal cancer, CRC)的发生发展与UC密切相关,区别于散发型CRC,由结肠炎引起的CRC被称为炎症相关性结直肠癌(colitis-associated CRC, CAC)^[3]。研究^[4]显示,UC逐渐发展为CAC的过程中涉及多种炎症通路,其中,Janus蛋白酪氨酸激酶2(Janus kinase 2, JAK2)/信号转导及转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)通路已经被证实参与了这一癌变过程。有学者通过检测JAK2磷酸化水平发现,CAC患者血清中JAK2磷酸化水平高于正常人,进一步统计结果显示,JAK2磷酸化与患者预后转移及死亡有关^[5]。STAT3在JAK2信号通路下游发挥重要的调

节作用。有研究发现,STAT3是一种致癌基因,且在CAC小鼠中表达水平明显升高^[6]。维生素 D_3 (vitamin D_3 , VitD_3)又称胆钙化醇,属于固醇类脂溶性维生素。近年来研究发现,CAC患者血清25-(OH)- VitD_3 水平与CRC风险呈负相关性^[7]。体外实验表明, VitD_3 可影响肠上皮癌细胞的增殖、分化、凋亡,并可抑制JAK2/STAT3信号通路,减少IL-6、Chemerin等细胞因子的产生,从而参与炎症反应^[8]。本研究旨在从JAK2/STAT3信号通路探讨 VitD_3 对CAC的干预作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF级雄性昆明小鼠[体重(20 ± 2) g]购自北京维通利华实验动物技术有限公司[许可证号:SYXK(京)2017-0033],饲养于我院动物实验中心饲养室,首先饲养1周适应周围环境,饲养条件为:温度(25 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 、湿度(50 ± 10)%、12 h循环光照、通风良好,于饲养第2周开始进行实验。

1.2 药品与主要试剂 VitD_3 (商品名:英康利,生产批号:938900296)购自上海信谊金朱药业有限公司;葡聚糖硫酸钠(dextran sodium sulfate, DSS)(批号:SJA22561475)购自北京诺博莱德科技有限公司;反转录试剂盒(批号:R0256485)购自美国Sigma公司;IL-6(批号:D201830092)、 $\text{TNF-}\alpha$ (批号:A20189883)、IL-1 β (批号:S201820945)和IL-10(批

号:S201839853)ELISA 试剂盒购自上海酶联生物技术有限公司;上皮钙黏素(epithelia calcium, E-cadherin)一抗(批号:ab185335)、波形蛋白(vimentin)一抗(批号:ab362254)、JAK2 一抗(批号:ab4828245)、p-JAK2 一抗(批号:ab6532514)、STAT3 一抗(批号:ab877445)、p-STAT3 一抗(批号:ab6264515)购自美国 Abcam 公司;二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)(批号:SEF22365)购自美国 BD 公司。

1.3 动物模型建立及分组 造模^[9]:取 33 只小鼠,在造模过程中的前 7 d 给予 2% DSS 水溶液,后 14 d 自由饮用普通水,造模过程中无小鼠死亡。随机选取 3 只小鼠,取结直肠组织标本,按照 Girardi 等^[10]的方法判断模型构建成功;将其余 30 只小鼠随机分为三组,分别为模型组、VitD₃低剂量组、VitD₃高剂量组;另取 10 只正常小鼠,连续 21 d 给予普通饮水,作为对照组。VitD₃低、高剂量组造模后分别给予 10 IU·g⁻¹和 20 IU·g⁻¹的 VitD₃(溶于花生油)连续灌胃 28 d,灌胃体积 2 mL。对照组和模型组给予等体积花生油。在造模的第 7、14、21、28 d 称取小鼠重量。实验结束第 2 d 引颈处死各组实验小鼠,取结直肠组织,以直径(D)≥1 mm 作为成瘤标准,计算各组成瘤数量,用游标卡尺测定肿瘤平均直径,计算瘤负荷(即所有肿瘤的平均直径之和)。

1.4 HE 染色检测小鼠结直肠组织形态 取各组小鼠结直肠组织,多聚甲醛溶液处理 48 h 后石蜡包埋,制成 4 μm 切片,经脱蜡、HE 染色、脱水、清洗、透明、封片,显微镜下观察组织病变。

1.5 ELISA 检测 TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-10 含量 取各组小鼠结直肠组织,制备匀浆,4 °C 离心 15 min,转速 4 000 r·min⁻¹,留取上清待测。依据 ELISA 试剂盒说明书测定 TNF-α、IL-1β、IL-6 和 IL-10 的含量,首先制备各待测物的标准曲线,各组反应中止后,采用酶标仪测量 450 nm 波长处光密度(optical density, OD)值。

1.6 免疫组化检测 E-cadherin、Vimentin 表达 取小鼠结直肠组织切片,经脱蜡、水化后,磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)冲洗 2 min,再经柠檬酸盐缓冲液高压修复,用 3% 双氧水抑制内源性过氧化物酶,封闭, PBS 冲洗 2 min, E-cadherin、vimentin 一抗用稀释液稀释(1:1 200), 37 °C 孵育 1 h, PBS 冲洗 2 min, 加入二抗, 室温孵育 30 min, PBS 冲洗 2 min。加入 DAB 显色 5 min, 苏木素复染 5 min, 1% 盐酸乙醇分化 5 s。用去离子水终

止反应,然后进行梯度乙醇脱水和二甲苯透明,中性胶封片,在光镜下观察组织形态并拍照。每张切片随机选取 10 个视野,在 400 倍光镜下连续观察,记录视野中的阳性细胞数。染色强度计分标准:无着色=0 分、淡黄色=1 分、棕黄色=2 分、棕褐色=3 分。阳性细胞数计分标准:无=0 分、<25%=1 分、25%~50%=2 分、51%~75%=3 分、>75%=4 分。以上两项评分相加作为评判结果,最低 0 分,最高 7 分。

1.7 RT-qPCR 检测 mRNA 的表达 使用 mirVana miRNA 分离试剂盒提取各组总 RNA,用 All-in-One miRNA qRT-PCR 试剂盒进行检测。使用引物如下: H19(上游:5'-CTCGCACATGGTACTCAATTC-GC-3',下游:5'-ACGCTTTGATTGCGTCACGATC-3'); let-7a(上游:5'-GCTCCACTTTGCCCTTCAATAA-3',下游:5'-ATTGTAGGGGATCTAGGATCG-3'); c-Myc mRNA(上游:5'-ATGCATCGCATAACC-GAGAGC-3',下游:5'-GTCACACCGCATTTCGACCGGT-3'); 高迁移率族蛋白 A2(high mobility group protein A2, HMGA2) mRNA(上游:5'-AGCAC-GCCTAATGCAGTCCCA-3',下游:5'-ACGGTCCCA GAAGTTGACTAGT-3')。反应体系为 20 μL,反应条件:94 °C 预变性 5 min, 94 °C 40 s, 60 °C 40 s, 72 °C 延伸 60 s, 72 °C 延伸 10 min, 循环 40 次。使用 ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪完成 RT-qPCR 操作,应用 2^{-ΔΔC_t}法计算 mRNA 的相对表达水平。

1.8 Western blotting 检测 JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3 蛋白表达 分别收集各组样本,提取组织匀浆中的总蛋白,BCA 法测定其浓度,取 50 μg 进行凝胶电泳分离样品蛋白,转膜,截取目的条带浸于 5% 脱脂奶粉制成的封闭液中,置于摇床上室温封闭 1 h,加入 JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3 一抗,稀释比例均为 1:1 500, 4 °C 过夜,第二天取出膜洗涤,加入二抗孵育液孵育 2 h,显色后,以 GAPDH 作为内参进行灰度分析^[11]。

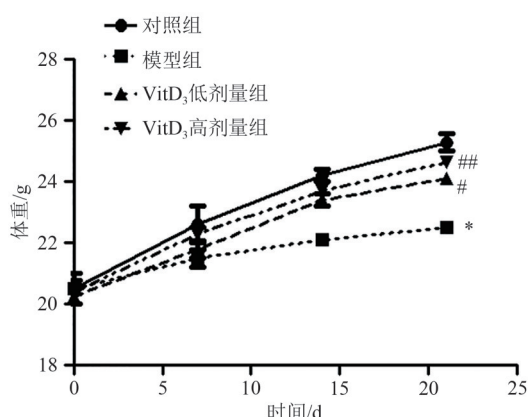
1.9 统计学分析 数据统计采用 SPSS 19.0 软件,作图工具采用 GraphPad Prism 5.01,两组间比较采用 *t* 检验, *P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 VitD₃ 对小鼠体重的影响 与对照组相比,模型组小鼠在第 7、14、21 d 体重明显减轻(*P* < 0.001);与模型组相比, VitD₃低、高剂量组小鼠第 7、14、21 d 体重明显增加(*P*_{低剂量组} = 0.032; *P*_{高剂量组} = 0.002), 且

VitD₃ 高剂量组小鼠体重增加更明显, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 1)。

2.2 VitD₃ 对小鼠结直肠组织形态的影响 对照组小鼠结直肠外观光滑, 肠壁纹理清晰, 黏膜完整无



注: 与对照组相比, * $P < 0.05$; 与模型组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

Note: Compared with the control group, * $P < 0.05$; Compared with the model group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

图 1 VitD₃ 对 CAC 小鼠体重的影响

Fig. 1 Effects of VitD₃ on body weight in CAC mice

充血水肿; 模型组结直肠组织出现充血水肿及组织增生, 且有肿瘤产生 ($P = 0.012$); 与模型组相比, VitD₃ 低、高剂量组结直肠充血水肿及组织增生明显改善, 肿瘤数量明显减少 ($P_{\text{低剂量组}} = 0.024$; $P_{\text{高剂量组}} = 0.001$)。HE 染色结果显示, 对照组小鼠结直肠黏膜完整, 肠上皮细胞及腺体规则排列, 无炎症浸润; 模型组结直肠黏膜大部分细胞紊乱, 肠腺溃破及坏死, 结肠腺及肌层结构被破坏, 出现严重炎症反应; 与模型组比较, VitD₃ 低、高剂量组结直肠组织可见完整的上皮细胞, 结肠腺及肌层结构损伤减轻, 炎症细胞浸润明显减轻, 且 VitD₃ 高剂量组改善更为明显 (图 2)。

2.3 VitD₃ 对 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-10 表达的影响 与对照组相比, 模型组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 表达水平明显升高 ($P < 0.001$), IL-10 表达水平明显下降 ($P < 0.001$)。与模型组相比, VitD₃ 低、高剂量组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 表达水平均有不同程度下降 ($P_{\text{低剂量组}} = 0.033, 0.022, 0.015$; $P_{\text{高剂量组}} = 0.003, 0.001, 0.000$), IL-10 表达水平明显升高 ($P_{\text{低剂量组}} = 0.021$; $P_{\text{高剂量组}} = 0.001$), 且高剂量组变化更明显 (图 3)。

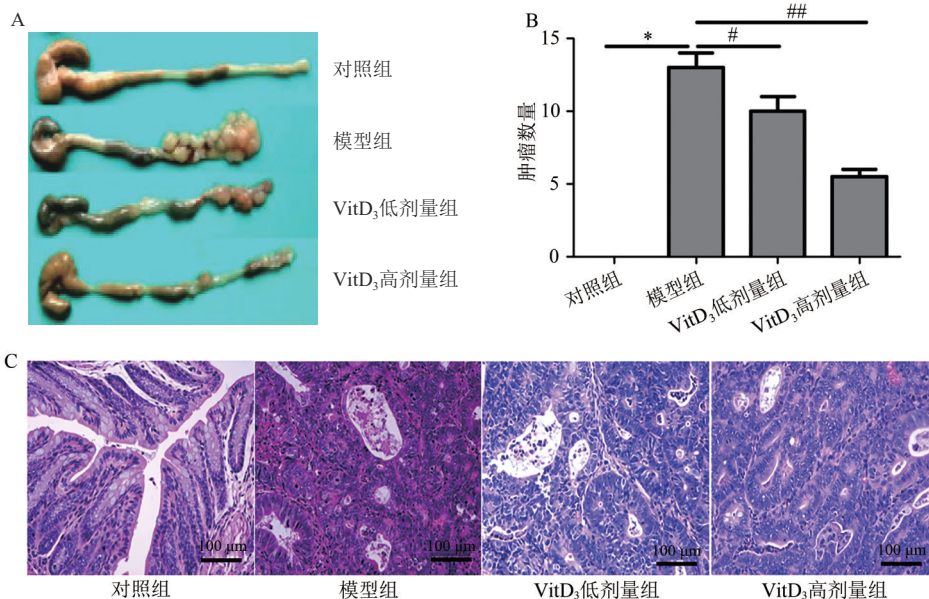


图 2 VitD₃ 对小鼠结直肠组织形态的影响 (×400)

Fig. 2 Effects of VitD₃ on the morphology of mice colorectal tissue (×400)

2.4 VitD₃ 对 H19、let-7a、c-Myc mRNA、HMGA2 mRNA 表达的影响 与对照组相比, 模型组中 H19、c-Myc mRNA、HMGA2 mRNA 表达水平明显上升 ($P = 0.000, 0.000, 0.000$), let-7a 表达水平明显下降 ($P = 0.000$); 与模型组相比, VitD₃ 低、高剂量组

H19、c-Myc mRNA、HMGA2 mRNA 表达水平明显下降 ($P_{\text{低剂量组}} = 0.021, 0.032, 0.019$; $P_{\text{高剂量组}} = 0.001, 0.004, 0.000$), let-7a 表达水平明显升高 ($P_{\text{低剂量组}} = 0.018$; $P_{\text{高剂量组}} = 0.000$), 且高剂量组变化更明显 (图 4)。

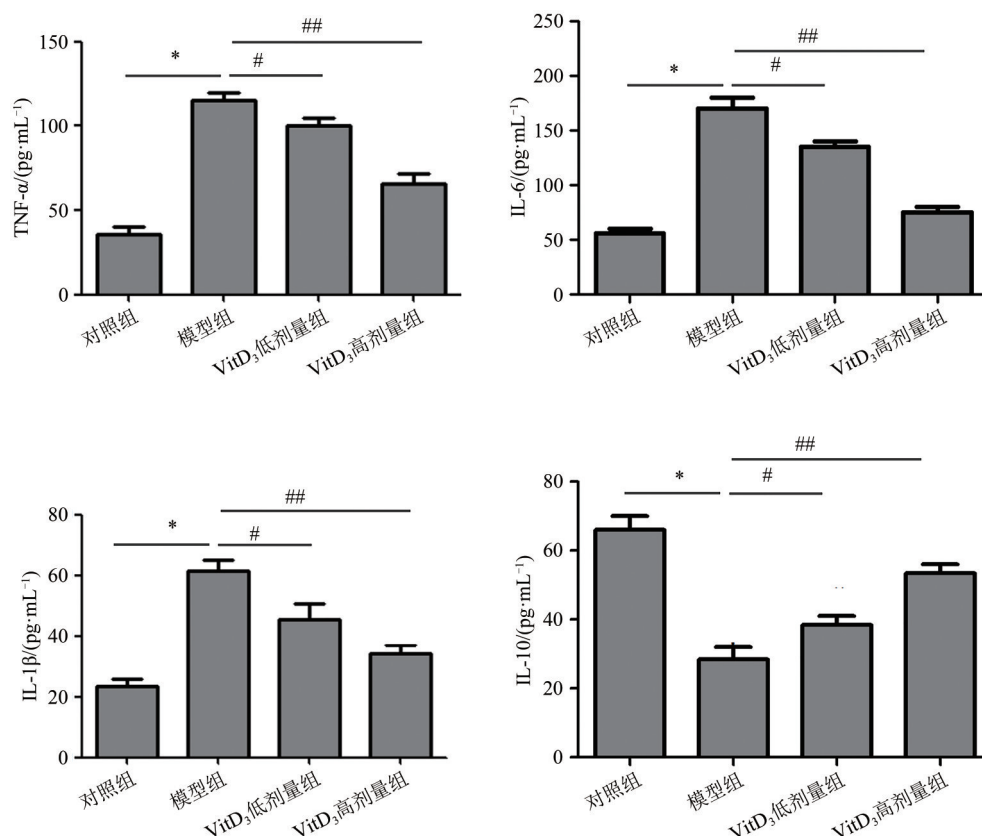


图3 ELISA 检测 VitD₃ 对 TNF-α、IL-1β、IL-6 和 IL-10 表达的影响

Fig. 3 The effects of VitD₃ on the expressions of TNF-α, IL-1β, IL-6 and IL-10 detected by ELISA

2.5 免疫组化检测 E-cadherin、vimentin 在小鼠结肠组织中的表达变化 与对照组相比,模型组 E-cadherin 蛋白评分明显降低($P=0.000$),vimentin 蛋白评分明显升高($P=0.000$);与模型组相比,VitD₃低、高剂量组 E-cadherin 蛋白评分明显升高($P_{\text{低剂量组}}=0.026$; $P_{\text{高剂量组}}=0.000$),vimentin 蛋白评分明显下降($P_{\text{低剂量组}}=0.032$; $P_{\text{高剂量组}}=0.004$),且高剂量组下降更明显(图5)。

2.6 VitD₃ 对 p-JAK2、p-STAT3 蛋白表达的影响 与对照组相比,模型组 p-JAK2 和 p-STAT3 蛋白表达水平明显升高($P<0.001$);与模型组相比,VitD₃低、高剂量组 p-JAK2 和 p-STAT3 蛋白表达水平明显下降($P_{\text{低剂量组}}=0.026$; $P_{\text{高剂量组}}=0.008$),且高剂量组下降更显著;各组 JAK2 和 STAT3 蛋白表达水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)(图6)。

3 讨论

CRC 的发病率居高不下,排在肺癌和乳腺癌之后,已经成为世界范围内的第三大恶性肿瘤,且近年来呈年轻化趋势。研究发现,CRC 好发于患有 UC

的人群,且发病率与病程呈正相关,说明 UC 患者若不及时治疗,肠道在持续的炎症刺激下可能增加癌变风险。由肠道炎症发展为 CRC 的患者比例在所有病例中仅占 2%,但其致死率更高^[12]。CAC 是由炎症引起异性增生及腺瘤病变,最终引起癌变的组织学病变,该过程步骤复杂,由众多基因参与。已有的研究证明,VitD₃可有效预防 CAC。流行病学调查显示,与正常人相比,CAC 患者血清 25(OH)D 水平明显降低。周颖等^[13]对患有结肠炎及 CAC 的小鼠进行研究,与安慰剂相比,预防性补充 VitD₃可有效缓解炎症状态,并对 CAC 病理状态有明显的改善作用,然而其作用机制目前尚无报道。本研究通过构建 CAC 小鼠模型,探讨 VitD₃对 CAC 的影响及可能机制,结果显示,VitD₃低、高剂量组小鼠造模期间体重增长明显优于模型组;病理结果同样显示,经 VitD₃治疗后,小鼠肠道炎症状态明显减轻,结直肠肿瘤数量明显减少,且呈剂量依赖性,表明 VitD₃对 CAC 小鼠具有较好的保护作用。

机体的炎症反应及免疫调节伴随着肿瘤的发生、发展,并且在此过程中释放大量细胞因子^[14]。

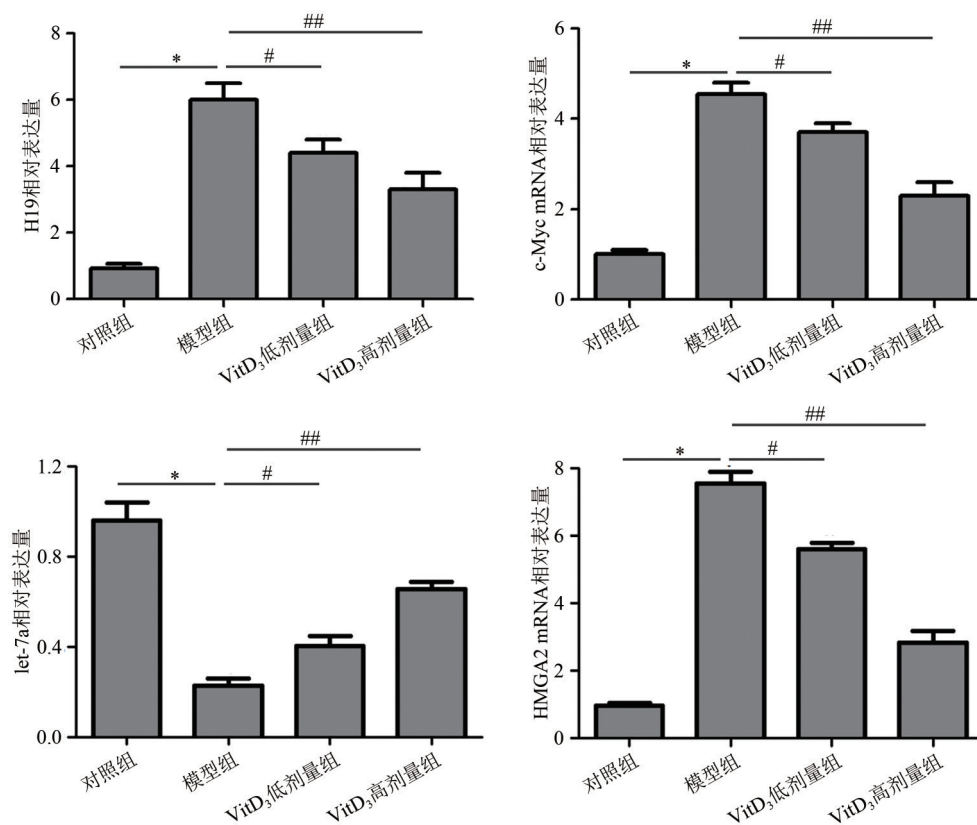


图 4 RT-qPCR 检测 VitD₃ 对 H19、let-7a、c-Myc mRNA、HMGA2 mRNA 表达的影响

Fig. 4 The effects of VitD₃ on the expression of H19, let-7A, c-Myc mRNA and HMGA2 mRNA by RT-qPCR

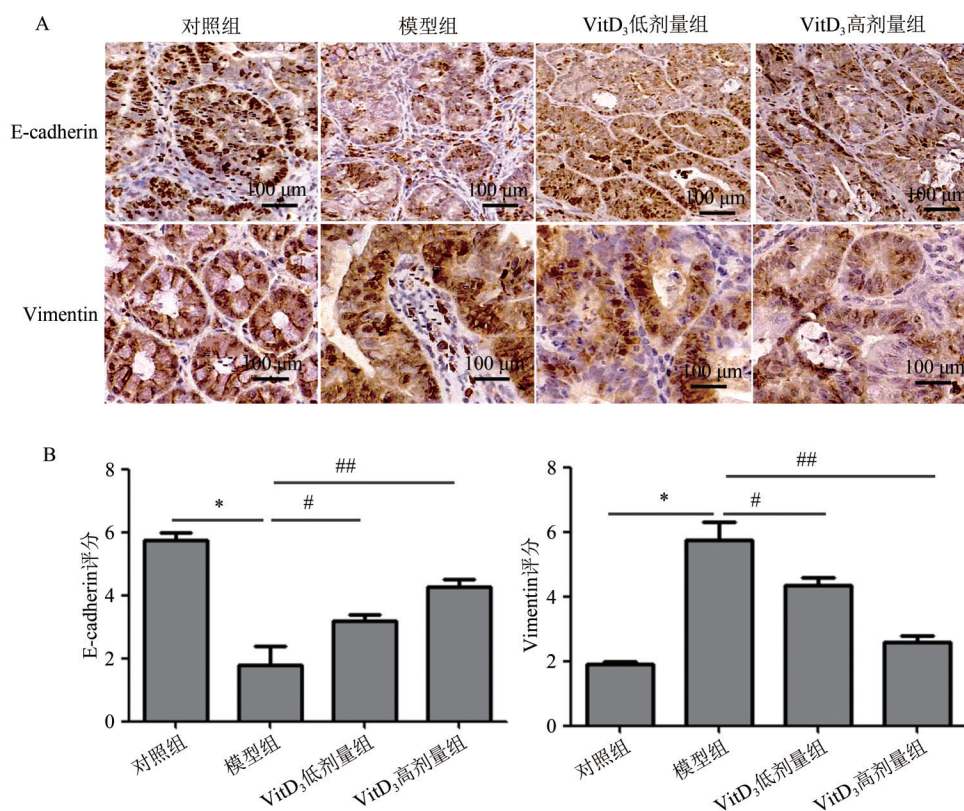


图 5 免疫组化检测 VitD₃ 对 E-cadherin、vimentin 表达的影响(×400)

Fig. 5 The effects of VitD₃ on the expression of E-cadherin and vimentin detected by immunohistochemistry (×400)

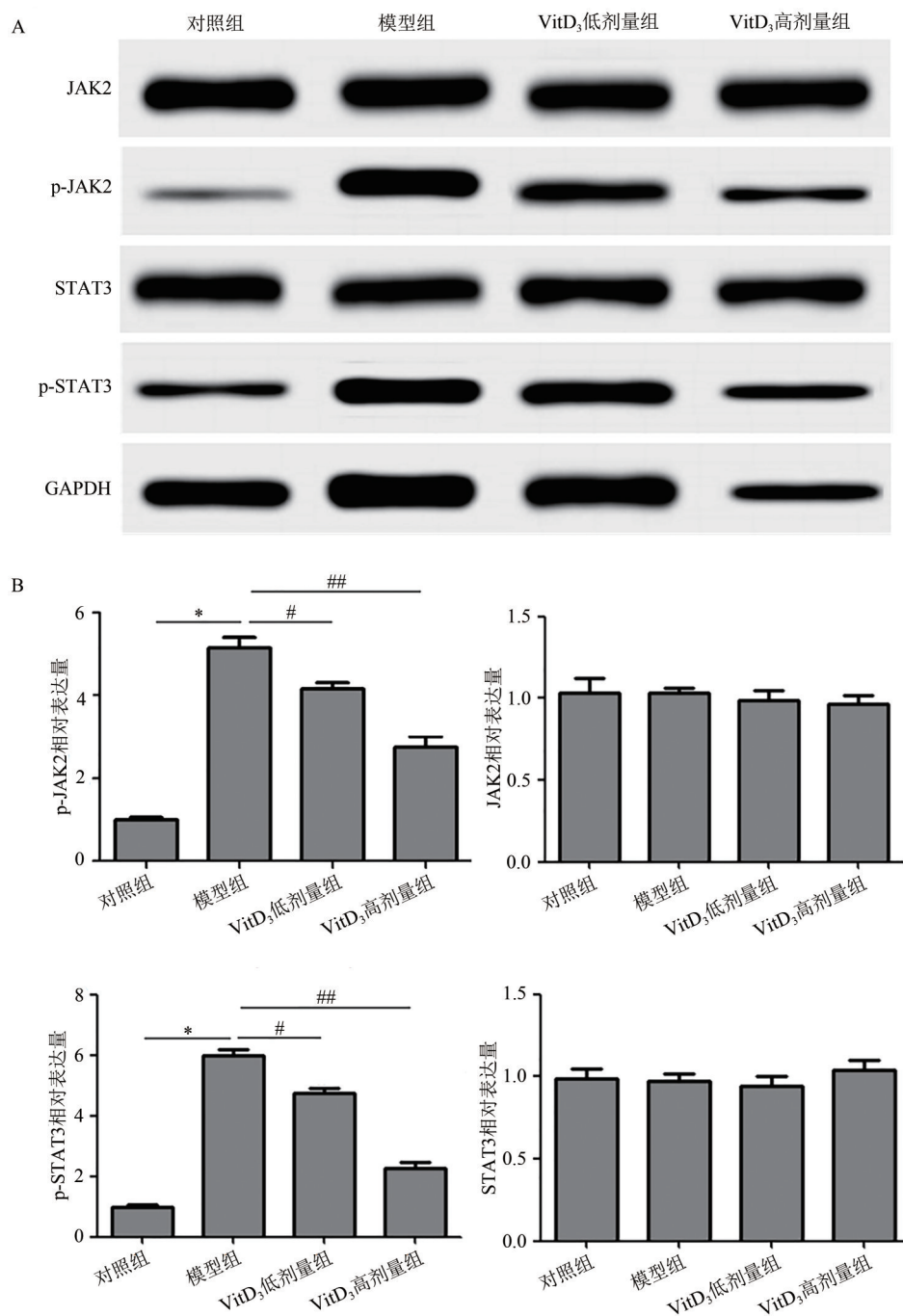


图 6 Western blotting 检测 VitD₃ 对 p-JAK2、p-STAT3 蛋白表达的影响

Fig. 6 The effects of VitD₃ on the expressions of p-JAK2 and p-STAT3 proteins detected by Western blotting

作为细胞内重要的炎症信号转导通路之一，JAK2/STAT3 通路在多种肿瘤中表达异常，并可介导多种细胞因子的释放，如促炎因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 以及相对应的抑炎因子 IL-10，两种因子的平衡被打破是诱发肿瘤的重要机制之一^[15]。TNF- α 是导致机体器官及多系统损伤的炎性因子，可破坏肠道黏膜屏障，使肠道失去对有害物质的防护作用^[16]。IL-6 具有多种生理功能，在肿瘤细胞中表达

明显升高，可促进肿瘤细胞的分裂；此外，IL-6 在炎症侵袭中是肠道急性期炎症反应的关键因子之一，可使肠道炎症反应级联放大，从而破坏机体的免疫平衡^[17]。IL-1 β 是一种促炎活性较高的炎症因子，可刺激肠道黏膜的炎性浸润，介导肠黏膜上皮的异型增生^[18]。与促炎因子功能相反，IL-10 在炎症反应过程中起到重要的抗炎作用，可缓解或逆转机体在炎症压力作用下出现的病理反应。据报道，IL-10

可降低直肠炎患者血清中炎性介质 TNF- α 和 IL-6 的水平,激活体液免疫应答反应;此外,IL-10 还可改善 Th1/Th2 通路中的细胞活化反应,从而修复受损的肠黏膜^[19]。本研究结果显示,VitD₃低、高剂量组小鼠 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 表达水平与模型组相比均明显降低,IL-10 表达水平则明显升高,说明 VitD₃可能通过改善 CAC 小鼠的炎症状态起到治疗作用。

活化的 JAK2 可激活下游蛋白 STAT3,磷酸化的 STAT3 在肿瘤细胞增殖、分化、迁移及凋亡等过程中均发挥重要作用^[20]。研究表明^[21],p-STAT3 在细胞内可以发生核位移,转位至细胞核内的 p-STAT3 可直接作用于靶基因,从而发挥其生物学功能。在 p-STAT3 可调控的基因中,c-Myc 是调节细胞周期的重要基因,其作为原癌基因,在伴有炎症浸润的组织中高表达,可以通过改变细胞周期活动抑制细胞凋亡,最终引起细胞癌变。c-Myc 还可作为转录因子与 H19 基因启动子结合,调节 H19 在细胞中的表达水平。在 CRC 细胞中,miRNA let-7a 的表达与 H19 的调控密切相关,而 let-7a 是调控哺乳动物细胞周期及细胞增殖的重要基因^[22]。有学者通过对 CRC 细胞进行研究发现,过表达 let-7a-1 可明显促进肿瘤细胞凋亡,由此揭示了 let-7a 对 CRC 细胞的抑制作用^[23]。本研究结果显示,c-Myc、H19、let-7a 在模型组小鼠中的表达水平均明显改变,其中 c-Myc、H19 表达明显升高,let-7a 表达明显下降。另有研究发现,let-7a 可调控下游靶蛋白 HMGA2 的表达,下调 let-7a 后 HMGA2 的表达明显增加,而 HMGA2 高度参与了上皮间质转化(epithelial to mesenchymal transition, EMT)过程^[24]。EMT 不仅是胚胎形成、组织再生等生理过程的重要环节,在肿瘤增殖、转移等过程中同样发挥重要作用^[25]。E-cadherin 和 vimentin 是 EMT 的重要标志物,通过观察 E-cadherin 和 vimentin 在肿瘤细胞中表达水平的变化,可以了解肿瘤细胞的增殖和迁移能力。研究发现,EMT 是 CAC 发生、发展过程中的重要环节,炎症相关细胞因子在此环节中也发挥了重要作用^[26]。本研究结果显示,VitD₃低、高剂量组小鼠 JAK2、p-STAT3 蛋白, HMGA2 mRNA 表达水平及 vimentin 蛋白评分较模型组明显降低,而 E-cadherin 蛋白评分明显升高,且均呈浓度依赖性,表明 VitD₃对 CAC 小鼠的保护作用可能与调控 JAK2/STAT3 信号通路影响 EMT 有关。

综上所述,VitD₃可能通过对 JAK2/STAT3 信号通路进行调控,降低炎症反应并影响 EMT 过程,发挥对 CAC 小鼠的保护作用。

参考文献

- [1] 孙钦娟,李琴,宛东,等. 细胞因子在炎症性肠病患者肠黏膜中表达的分析[J]. 胃肠病学, 2018, 23(1): 13-17. DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2018.01.004.
- [2] 高娃,曹春莉. 胃乐新颗粒联合美沙拉嗪治疗重度溃疡性结肠炎的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2019, 34(12): 3634-3637.
- [3] BAKER A M, CROSS W, CURTIUS K, et al. Evolutionary history of human colitis-associated colorectal cancer [J]. Gut, 2019, 68(6): 985-995. DOI: 10.1136/gutjnl-2018-316191.
- [4] MCDOUGALL J A, BANEGAS M P, WIGGINS C L, et al. Rural disparities in treatment-related financial hardship and adherence to surveillance colonoscopy in diverse colorectal cancer survivors [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2018, 27(11): 1275-1282. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-17-1083.
- [5] SOLIMAN D S, AMER A, IBRAHIM F, et al. JAK-2-positive latent myeloproliferative neoplasms with splanchnic vein thrombosis: from the hematopathology perspective [J]. Blood, 2019, 134: 5381. DOI: 10.1182/blood-2019-128421.
- [6] 陈曦,程博,宋宁,等. 长梗冬青苷对 CAC 模型小鼠结肠 miR-29a/TET3 及 STAT3 的作用[J]. 中药药理与临床, 2019, 35(5): 39-42. DOI: 10.13412/j.cnki.zyy.2019.05.009.
- [7] BELLAR D, MURPHY K, DAVIS G R, et al. Supplemental vitamin D3 does not affect musculoskeletal or psychomotor performance in college aged males [J]. Int J Vitam Nutr Res, 2021, 91(3/4): 287-292. DOI: 10.1024/0300-9831/a000631.
- [8] 周雪,杨孟雪,杨波,等. 活性维生素 D 通过维生素 D 受体调控细胞因子信号转导抑制分子、酪氨酸激酶 2/信号转导和转录激活因子 3 通路在糖尿病肾脏疾病中作用的研究[J]. 中国糖尿病杂志, 2020, 28(11): 852-860. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6187.2020.11.011.
- [9] 王磊,时军利,李炳庆. 炎症相关性结直肠癌小鼠模型建立及血管生成抑制因子 1 在结直肠癌中的表达[J]. 中国医药导报, 2017, 14(36): 17-20.
- [10] GIRARDI B, PRINCIPI M, PRICCI M, et al. Chemoprevention of inflammation-related colorectal cancer by silymarin-, acetyl-11-keto-beta-boswellic acid-, curcumin- and maltodextrin-enriched dietetic formulation in animal model [J]. Carcinogenesis, 2018, 39(10): 1274-1282. DOI: 10.1093/carcin/bgy104.
- [11] 李媛媛,张恒,王笑,等. 温阳通脉方通过 JAK2/STAT3 信号通路保护大鼠心肌缺血再灌注损伤[J]. 中国动脉硬化杂志, 2019, 27(6): 468-474. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3949.2019.06.003.
- [12] 武雪亮,王立坤,黄先涛,等. 结直肠癌流行病学特征回顾性研究[J]. 中国医药导报, 2019, 16(20): 60-63.
- [13] 周颖,吕红,汪红英,等. 维生素 D3 对小鼠实验性结肠炎和炎症相关结直肠癌的保护作用[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2016, 25(10): 1101-1105. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2016.10.007.
- [14] 黄玉英,柯莹. 结直肠癌小鼠肠道菌群变化及其对血清 CD40L、炎症因子水平的影响[J]. 热带医学杂志, 2019, 19(12): 1515-1518. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3619.2019.12.014.

- [15] WU D, WANG X P, ZHANG W. Sesamol exerts anti-proliferative and apoptotic effect on human colorectal cancer cells via inhibition of JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. *Cell Mol Biol (Noisy-Le-Grand)*, 2019, 65(6): 96-100.
- [16] VIEIRA E F, VAN CAMP J, FERREIRA I M P L V O, et al. Protein hydrolysate from canned sardine and brewing by-products improves TNF- α -induced inflammation in an intestinal-endothelial co-culture cell model [J]. *Eur J Nutr*, 2018, 57(6): 2275-2286. DOI: 10.1007/s00394-017-1503-2.
- [17] GHASEMI H. Roles of IL-6 in ocular inflammation: a review [J]. *Ocul Immunol Inflamm*, 2018, 26(1): 37-50. DOI: 10.1080/09273948.2016.1277247.
- [18] 黄成宝, 张斐, 陈丹, 等. 二陈汤对高脂饮食与 AOM/DSS 诱导的肠道炎症模型大鼠的血清及大肠组织 IL-1 β , IL-6, CRP 的影响[J]. *时珍国医国药*, 2019, 30(5): 1105-1107.
- [19] 赵书刚. 皮内针联合中药灌肠治疗溃疡性结肠炎脾虚湿热的临床疗效及对细胞因子的影响[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2017, 25(9): 686-689.
- [20] HOU Y Y, WANG K, WAN W J, et al. Resveratrol provides neuroprotection by regulating the JAK2/STAT3/PI3K/AKT/mTOR pathway after stroke in rats [J]. *Genes Dis*, 2018, 5(3): 245-255. DOI: 10.1016/j.gendis.2018.06.001.
- [21] 刘丽, 王莹, 桑建中. p-Stat3 及其下游靶基因 c-myc 在喉鳞癌组织和细胞中的表达及意义[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2016, 30(2): 123-125. DOI: 10.13201/j.issn.1001-1781.2016.02.009.
- [22] SUN W F, LV J Y, DUAN L R, et al. Long noncoding RNA H19 promotes vascular remodeling by sponging let-7a to up-regulate the expression of cyclin D1 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 508(4): 1038-1042. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.11.185.
- [23] YANG Z Y, WANG Y, LIU Q, et al. microRNA cluster MC-let-7a-1~let-7d promotes autophagy and apoptosis of glioma cells by down-regulating STAT3 [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2020, 26(3): 319-331. DOI: 10.1111/cns.13273.
- [24] 符亮, 潘锐, 陈钊. HMGA2 在胃癌细胞上皮-间充质转化中的作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2019, 35(4): 606-613.
- [25] KAWASAKI N, MIWA T, HOKARI S, et al. Long noncoding RNA NORAD regulates transforming growth factor- β signaling and epithelial-to-mesenchymal transition-like phenotype [J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(7): 2211-2220. DOI: 10.1111/cas.13626.
- [26] ZHOU L, YANG X M, HUANG H, et al. Nicotine downregulates microRNA-200c to promote metastasis and the epithelial-mesenchymal transition in human colorectal cancer cells [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(2): 1369-1379. DOI: 10.1002/jcp.26933.

校稿: 李征 王娟

本文引用格式: 程杰, 龚航军, 陈倩雯. 基于 JAK-2/STAT3 信号通路观察维生素 D₃ 对炎症相关性结直肠癌的影响[J]. *肿瘤药 学*, 2022, 12(6): 727-735. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2022.06.08.

Cite this article as: CHENG Jie, GONG Hangjun, CHEN Qianwen. Effects of vitamin D₃ on colitis-associated colorectal cancer based on JAK-2/STAT3 signal pathway [J]. *Anti-tumor Pharmacy*, 2022, 12(6): 727-735. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2022.06.08.