



· 论 著 ·

Tepoxalin通过ABCB1影响结直肠癌细胞生长及耐药的分子机制研究

何治军¹, 金丽雯², 郭端城³, 徐 继⁴

- 上海市浦东新区周浦医院普外科, 上海 201318;
- 上海市浦东新区周浦医院消化科, 上海 201318;
- 复旦大学附属肿瘤医院肿瘤研究所, 复旦大学上海医学院肿瘤学系, 上海 200032;
- 上海市浦东新区周浦医院肿瘤科, 上海 201318

[摘要] 背景与目的: 结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 作为全球第三大常见恶性肿瘤, 其高发病率和死亡率仍是严峻的公共卫生挑战。化疗是中晚期CRC的核心治疗手段, 但其疗效常因多药耐药性 (multidrug resistance, MDR) 的出现而严重受限。ABCB1介导的药物外排是导致化疗失败的关键机制。非甾体抗炎药替泊沙林 (tepoxalin) 虽具有潜在抗肿瘤活性, 但其是否通过靶向ABCB1影响CRC进展及耐药尚不明确。本研究旨在阐明tepoxalin通过调控ABCB1抑制CRC细胞生长及逆转化疗耐药的作用机制。方法: 本研究整合多维度研究策略: 通过DepMap、癌症基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA)、基因型-组织表达 (Genotype-Tissue Expression, GTEx) 及人类蛋白质图谱 (Human Protein Atlas, HPA) 数据库分析ABCB1表达谱及药物敏感性; 采用细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit-8, CCK-8) 法检测细胞增殖及化疗敏感性, 计算IC₅₀值; 建立裸鼠皮下移植瘤模型评估体内抑瘤效果; 运用药物亲和反应的靶点稳定性分析 (drug affinity responsive target stability, DARTS) 验证tepoxalin与ABCB1的直接结合; 通过转录组测序与基因集合富集分析 (gene set enrichment analysis, GSEA) 筛选下游信号通路; 采用蛋白质印迹法 (Western blot) 和免疫组织化学检测关键蛋白的表达变化; 使用PI3K-Akt通路抑制剂库潘尼西 (copanlisib) 进行反向验证。采用SPSS 20.0软件对数据进行统计学分析, 采用Graphpad Prism 8.0.1软件绘图, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。结果: ABCB1在CRC组织及细胞系中显著高表达 ($P < 0.05$), 且ABCB1高表达细胞对Tepoxalin的敏感性增强 ($R = -0.323$, $P < 0.001$)。Tepoxalin能直接结合ABCB1蛋白并促进其蛋白酶体降解。体内实验中, tepoxalin可显著抑制移植瘤的生长 ($P < 0.01$), 并下调肿瘤组织中的ABCB1表达和Ki-67增殖指数。转录组学分析表明, tepoxalin通过抑制PI3K-Akt信号通路 [GSEA, 错误发现率 (false discovery rate, FDR) < 0.05] 进而降低ABCB1的转录水平, 且PI3K-Akt通路抑制剂copanlisib可重复此效应。最终, tepoxalin通过上述作用协同增强5-氟尿嘧啶 (5-fluorouracil, 5-FU) 的疗效。结论: Tepoxalin通过双重机制靶向ABCB1: 一方面直接结合并破坏ABCB1蛋白的稳定性, 另一方面通过抑制PI3K-Akt通路下调其转录表达。该作用能够协同抑制CRC细胞生长并有效地逆转化疗耐药, 本研究结果有望为克服CRC耐药性提供新的线索。

[关键词] 结直肠癌; ABCB1; Tepoxalin; 细胞生长; 化疗耐药

中图分类号: R735.3 文献标志码: A

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2025.11.003

基金项目: 浦东新区卫生健康委员会卫生计生科研项目 (PW2022A-24)。

利益冲突: 作者声明无利益冲突。

伦理批件: FUSCC-IACUC-2025138。

知情同意: 不需要。

引用本文: 何治军, 金丽雯, 郭端城, 等. Tepoxalin通过ABCB1影响结直肠癌细胞生长及耐药的分子机制研究 [J]. 中国癌症杂志, 2025, 35(11): 1010-1018.

Funding: Health and Family Planning Scientific Research Project of Pudong New Area Health Committee (PW2022A-24).

Conflicts of interest: authors declare no conflicts of interest.

Ethical approval: FUSCC-IACUC-2025138.

Informed consent: not required.

Cite this article: HE Z J, JIN L W, GUO D C, et al. Mechanisms underlying tepoxalin-mediated regulation of cell growth and chemoresistance via ABCB1 in colorectal cancer [J]. Chin Oncol, 2025, 35(11): 1010-1018.

Mechanisms underlying tepoxalin-mediated regulation of cell growth and chemoresistance via ABCB1 in colorectal cancer HE Zhijun¹, JIN Liwen², GUO Duancheng³, XU Ji⁴ (1. Department of General Surgery, Shanghai Pudong New District Zhoupu Hospital, Shanghai 201318, China; 2. Department of Gastroenterology, Shanghai Pudong

New District Zhoupu Hospital, Shanghai 201318, China. 3. Cancer Institute, Fudan University Shanghai Cancer Center, Department of Oncology, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China; 4. Department of Oncology, Shanghai Pudong New District Zhoupu Hospital, Shanghai 201318, China)

Correspondence to: XU Ji E-mail: xj202508@163.com

[**Abstract**] **Background and purpose:** Colorectal cancer (CRC), ranking as the third most common malignant tumor globally, continues to pose a significant public health challenge due to its high incidence and mortality rates. Chemotherapy remains a cornerstone treatment for advanced CRC. However, its efficacy is often severely limited by the emergence of multidrug resistance (MDR). The drug efflux mediated by ABCB1 is a key mechanism underlying chemotherapeutic failure. Although the non-steroidal anti-inflammatory drug tepoxalin exhibits potential antitumor activity, it remains unclear whether it influences CRC progression and chemoresistance by targeting ABCB1. This study aimed to elucidate the mechanism by which tepoxalin suppresses CRC cell growth and reverses chemoresistance through the regulation of ABCB1. **Methods:** This study employed a multifaceted research strategy: Bioinformatics analysis was conducted using the DepMap, The Cancer Genome Atlas (TCGA), Genotype-Tissue Expression (GTEx) and Human Protein Atlas (HPA) databases to analyze ABCB1 expression profiles and drug sensitivity. *In vitro*, the cell counting kit-8 (CCK-8) assay was used to assess cell proliferation and chemosensitivity, and IC_{50} values were calculated. A subcutaneous xenograft model in nude mice was established to evaluate the antitumor efficacy *in vivo*. The drug affinity responsive target stability (DARTS) assay was performed to validate the direct binding between tepoxalin and ABCB1 protein. Transcriptome sequencing and gene set enrichment analysis (GSEA) were utilized to identify downstream signaling pathways. Western blot and immunohistochemistry were applied to detect the expression changes of key proteins. The PI3K-Akt pathway inhibitor copanlisib was used for reverse validation. Statistical analysis was performed using SPSS 20.0 software, and graphs were generated using GraphPad Prism 8.0.1. A value of $P < 0.05$ was considered statistically significant. **Results:** ABCB1 was significantly overexpressed in CRC tissues and cell lines ($P < 0.05$). Cells with high ABCB1 expression exhibited increased sensitivity to tepoxalin ($R = -0.323$, $P < 0.001$). Tepoxalin directly bound to the ABCB1 protein and promoted its proteasomal degradation. *In vivo*, tepoxalin significantly inhibited the growth of xenograft tumors ($P < 0.01$) and downregulated the expression of ABCB1 and Ki-67 proliferation index in tumor tissues. Transcriptomic analysis revealed that tepoxalin suppressed the PI3K-Akt signaling pathway [GSEA, false discovery rate (FDR) < 0.05], leading to reduced transcriptional expression of ABCB1. This effect was replicated using the PI3K-Akt pathway inhibitor copanlisib. Ultimately, tepoxalin synergistically enhanced the efficacy of 5-fluorouracil (5-FU) through the aforementioned actions. **Conclusion:** Tepoxalin targets ABCB1 through a dual-track mechanism: it directly binds to and destabilizes the ABCB1 protein while simultaneously downregulating its transcriptional expression via inhibition of the PI3K-Akt pathway. This coordinated action can synergistically inhibit CRC cell growth and effectively reverse chemoresistance, offering a novel potential therapeutic strategy for overcoming drug resistance in CRC.

[**Key words**] Colorectal cancer; ABCB1; Tepoxalin; Cell growth; Chemoresistance

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 作为全球第三大常见恶性肿瘤及癌症相关死亡的主要原因之一, 其高发病率和耐药性复发仍是临床面临的严峻挑战^[1-2]。化疗作为中晚期CRC的核心治疗手段, 常因多药耐药性 (multidrug resistance, MDR) 的出现而失效, 其中ABCB1介导的药物外排被公认为关键耐药因子^[3]。ABCB1在CRC细胞中过表达可显著降低细胞内化疗药物 [如奥沙利铂、5-氟尿嘧啶 (5-fluorouracil, 5-FU)] 的有效浓度, 进而促进肿瘤存活和进展^[4-5]。因此, 靶向ABCB1以逆转MDR已成为改善CRC疗效的重要策略。非甾体抗炎药 (nonsteroidal anti-inflammatory drug, NSAID) 因其潜在的化学预防与抗肿瘤活性受到广泛关注。替泊沙林 (tepoxalin) 作为一类兼具环氧合酶 (cyclooxygenase, COX) 与5-脂氧合酶 (5-lipoxygenase, 5-LOX) 双重抑制作用的

NSAID, 临床前研究^[6-7]提示其可通过抑制炎症通路及诱导凋亡抑制CRC细胞增殖。然而, 其是否通过调控ABCB1功能影响CRC的恶性进展及耐药表型, 尚缺乏系统性研究。近年来研究^[8]表明, 部分NSAID可通过干预转运蛋白活性调节药物敏感性, 但tepoxalin与ABCB1的相互作用机制及其在CRC微环境中的生物学效应仍未可知。

本研究旨在阐明tepoxalin是否通过靶向ABCB1调控CRC细胞生长及化疗耐药性, 结合体外细胞模型 (ABCB1高表达CRC细胞系) 与体内移植瘤模型, 采用分子对接、荧光底物蓄积实验、蛋白质印迹法 (Western blot) 及功能回复实验, 探究tepoxalin对ABCB1转运活性的抑制作用; 进一步通过转录组学、靶向抑制实验揭示其调控ABCB1表达的机制; 最终评估tepoxalin在逆转5-FU耐药、抑制细胞增殖等方面的效能。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

10只4周龄无特定病原体 (specific pathogen-free, SPF) 级BALB/c nude雌鼠 [体重: (20±2) g] 由江苏集萃药康生物科技股份有限公司提供。环境温度为22~26 °C, 相对湿度为40%~60%, 12 h/12 h昼夜交替, 将所有裸鼠饲养在SPF的条件下, 提供充足的食物和水。

1.1.2 细胞

人CRC细胞系LS1034、SW480、HCT116、HT29、DLD1细胞通过中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库完成标准化质控采购。将细胞置于CO₂体积分数为5%、相对饱和湿度的37 °C恒温细胞培养箱内。

1.2 药物和试剂

胎牛血清和RPMI-1640、DMEM高糖培养基购自美国Gibco公司。细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit-8, CCK-8)、库潘尼西 (copanlisib) 购自美国Selleck公司, 5-FU和tepoaxalin购自美国Targetmol公司。ABCB1重组蛋白、ABCB1、PI3K、pPI3K、AKT、pAKT及β-actin抗体均购自武汉三鹰生物技术有限公司, 链霉蛋白酶、蛋白酶抑制剂及考马斯亮蓝染液等均购自生工生物工程(上海)股份有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 在线预测网站

通过DepMap数据库分析CRC细胞系中ABCB1基因的依赖性及其表达与tepoaxalin敏感性的关联; 基于癌症基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 数据库、基因型-组织表达 (Genotype-Tissue Expression, GTEx) 数据库探究ABCB1在CRC组织中的表达差异; 借助人蛋白图谱 (Human Protein Atlas, HPA) 数据库在蛋白质水平验证ABCB1在正常结肠和癌组织中的表达定位。

1.3.2 CCK-8实验

向96孔板中分别注入对数生长期的细胞悬液, 各孔细胞计数约为2 000个细胞, 并在培养箱中进行培养。参照操作说明, 每隔24 h于孔内注入10 μL CCK-8溶液, 暗环境下培养2 h, 测定450 nm波长处的吸光度 (D) 值并绘制细胞增殖曲线。实验独立重复3次。加药组于24 h接种细胞后以不同浓度的tepoaxalin处理细胞, 24 h后加CCK-8溶液测定D值。

1.3.3 靶点稳定性分析 (drug affinity responsive target stability, DARTS) 实验

用tepoaxalin (5 μmol/L) 或DMSO处理ABCB1蛋白 (0.03 μg/μL, 50 μL) 1 h后, 以链霉蛋白酶 (0.025 μg) 于37 °C消化1 h后, 用蛋白酶抑制剂终止反应, 加入5×蛋白质上样缓冲液于70 °C加热10 min。然后进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecylsulphate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE), 结束后用考马斯亮蓝染色30 min后进行洗脱直至背景干净。分别在tepoaxalin处理组和对照组中检测ABCB1蛋白条带是否有差异。

1.3.4 裸鼠皮下移植瘤实验

将LS1034细胞系接种到裸鼠皮下, 每只小鼠接种10⁶个细胞, 从接种后第7天开始, 将小鼠分为对照组 (n=5) 和实验组 (n=5, tepoaxalin处理), 每天下午3点灌胃给予小鼠tepoaxalin (50 mg/kg) 及阴性对照, 每天1次。观察小鼠肿瘤的生长速度和生存率情况, 如小鼠毛色、饮食、活动和体重等指标。小鼠给药后定期监测肿瘤生长情况, 待肿瘤生长3周后, 收集肿瘤组织进行免疫组织化学 (immunohistochemistry, IHC) 染色, 肿瘤体积按公式 $V=(L \times W^2)/2$ 计算, 组间比较采用单因素方差分析。本实验经复旦大学附属肿瘤医院实验动物中心伦理委员会批准, 批件号为FUSCC-IACUC-2025138。

1.3.5 转录组测序

取上述对照组和给药组的皮下瘤各3组, 加入TRIzol裂解, 提取RNA后送至上海三渗生物科技公司进行转录组测序。通过基因本体论 (Gene Ontology, GO) 富集分析、京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 及基因集合富集分析 (gene set enrichment analysis, GSEA) 等, 深入分析在CRC发生、发展过程中, tepoaxalin对ABCB1影响的机制。

1.3.6 IHC实验

取甲醛溶液固定的小鼠肿瘤组织经切片 (4~5 μm)、脱蜡水化后, 采用柠檬酸钠缓冲液 (pH=6.0) 进行高压热修复以暴露抗原表位。依次经3% H₂O₂阻断内源性过氧化物酶、5%山羊血清封闭非特异性位点, 随后于4 °C下过夜温育抗人ABCB1一抗。第2天复温, 磷酸缓冲盐溶液 (phosphate-buffered saline, PBS) 漂洗后滴加HRP标记的相应种属二抗室温温育30~60 min。DAB显色液显色, 苏木精复染核, 梯度乙醇脱

水、二甲苯透明后采用中性树脂封固。阳性细胞判定标准：细胞膜/细胞质（ABCB1）或细胞核（Ki-67）出现淡黄色及以上染色，计算单个视野阳性细胞比例=（阳性肿瘤细胞数/总肿瘤细胞数） \times 100%，取5个视野的平均值作为单张切片的阳性细胞比例，再取3张连续切片的平均值作为该移植瘤组织的最终阳性细胞比例。

1.3.7 Western blot实验

样品制备：①取各实验组（含ABCB1重组蛋白或药物处理组的反应液），加入5 \times SDS上样缓冲液，100 $^{\circ}$ C煮沸5~10 min使蛋白质变性；②电泳分离，配制10%SDS-PAGE凝胶，每孔加20 μ L处理后样品，80 V恒压跑浓缩胶，120 V恒压跑分离胶至溴酚蓝达凝胶底部；③转膜，采用湿转法，将凝胶上蛋白转移至PVDF膜，350 mA恒流转膜90 min，转膜后5%脱脂牛奶封闭1.5 h；④温育抗体，分别加入ABCB1等其他一抗（1:1 000稀释），4 $^{\circ}$ C温育过夜，用含有吐温-20三乙醇胺缓冲盐溶液（tris-buffered saline Tween, TBST）洗膜3次（每次10 min），再加入HRP标记二抗（1:5 000稀释），室温温育1 h，TBST洗膜3次（每次10 min）；⑤显影与定量，滴加增强化学发光（enhanced chemiluminescence, ECL）液，曝光成像。

1.4 统计学处理

所有实验均独立重复3次。采用SPSS 20.0软件对数据进行统计学分析，实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。采用Shapiro-Wilk检验对数据进行正态性检验，若数据符合正态分布，两组间比较采用独立样本 t 检验，多组间比较采用单因素方差分析，若方差分析结果显示差异有统计学意义，则进一步采用LSD法进行两两比较。若数据不符合正态分布，则两组间比较采用Mann-Whitney U 检验，多组间比较采用Kruskal-Wallis检验。采用Graphpad Prism 8.0.1软件绘图。所有统计均为双侧检验， $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Tepoxalin可能靶向抑制高表达ABCB1的CRC细胞

Tepoxalin是COX和5-LOX的抑制剂（图1A），有研究^[9-10]发现tepoaxalin的杀伤活性与ABCB1的表达有关，高表达ABCB1基因的细胞对tepoaxalin可能更敏感。我们通过DepMap数据库进行大规模药物敏感性分析，发现tepoaxalin的剂量与ABCB1的表达呈负相关关系（ $P<0.001$ ， $R=-0.323$ ，图1B）。筛选发现CRC细胞系中ABCB1的表达量较其他癌种高（图1C），同时

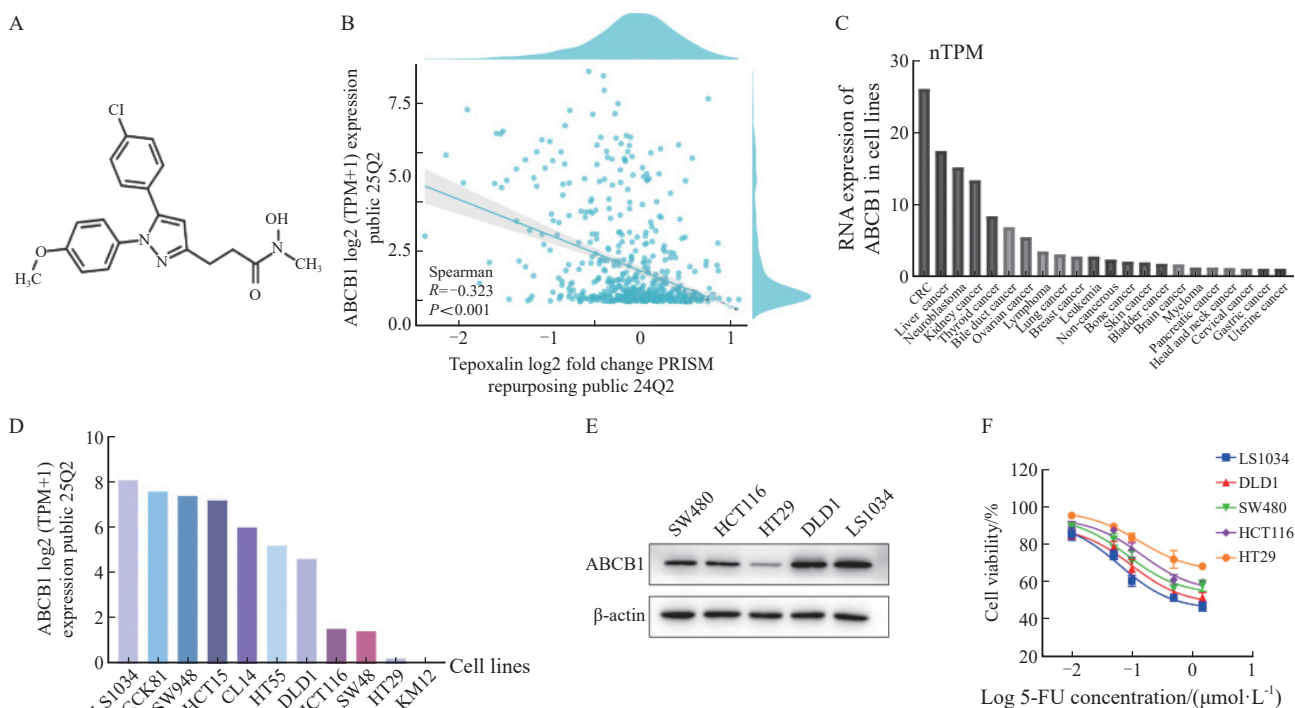


图1 Tepoxalin对ABCB1高表达CRC细胞的敏感性

Fig. 1 Sensitivity of ABCB1-high CRC cells to tepoxalin

A: Chemical structure of tepoxalin (dual COX/5-LOX inhibitor); B: DepMap database analysis [negative correlation between ABCB1 expression and tepoxalin sensitivity in colon cancer cell lines ($P<0.001$, $R=-0.323$)]; C: ABCB1 mRNA expression in colon cancer cell lines is significantly higher than in other cancer types; D: High ABCB1 expression in LS1034 cells among colon cancer cell lines; E: Protein expression level of ABCB1 in CRC cell lines; F: Drug sensitivity assay of 5-FU in 5 CRC cell lines.

在CRC细胞系中LS1034细胞的ABCB1表达量排在前列。进一步在几种CRC细胞系中进行了ABCB1表达的验证,也证实了LS1034细胞系的ABCB1水平较其他细胞系高(图1D~1E),同时也验证了这5个细胞系对5-FU的药物敏感性(图1F)。因此后续选择CRC LS1034细胞作为研究对象。

2.2 ABCB1在CRC组织中呈高表达

为探究ABCB1在CRC组织中的表达情况,本研究整合TCGA、GTEx数据库的CRC数据,选取ABCB1基因表达情况,发现ABCB1在CRC中的表达高于正常组织(图2A)。同时借助HPA数据

库,选取IHC染色结果,发现在CRC临床样本中ABCB1的表达同样高于正常组织(图2B)。以上结果表明,ABCB1在CRC组织中表达升高。

2.3 Tepoxalin抑制CRC的增殖,增强化疗敏感性

CRC LS1034细胞系作为高表达ABCB1的细胞系之一,CCK-8实验证实tepoxalin可以显著抑制其增殖(图3A),同时发现tepoxalin可以增强5-FU对CRC细胞的敏感性,降低LS1034细胞的IC₅₀(图3B)。以上结果表明,tepoxalin也许可以作为抑制CRC的药物。

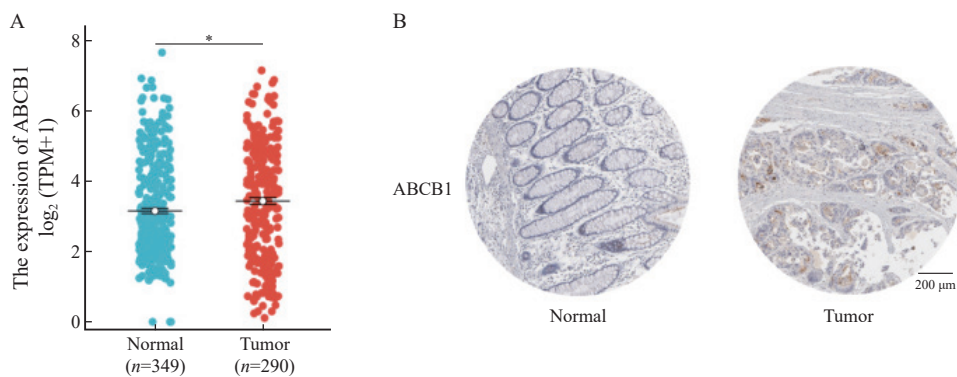


图2 ABCB1在CRC组织中的异常高表达

Fig. 2 Aberrant high expression of ABCB1 in CRC tissues

A: TCGA-GTEx integrated analysis (elevated ABCB1 mRNA expression in CRC tissues); B: HPA immunohistochemistry (high ABCB1 protein expression in clinical CRC samples). *: $P < 0.05$, compared with normal tissues.

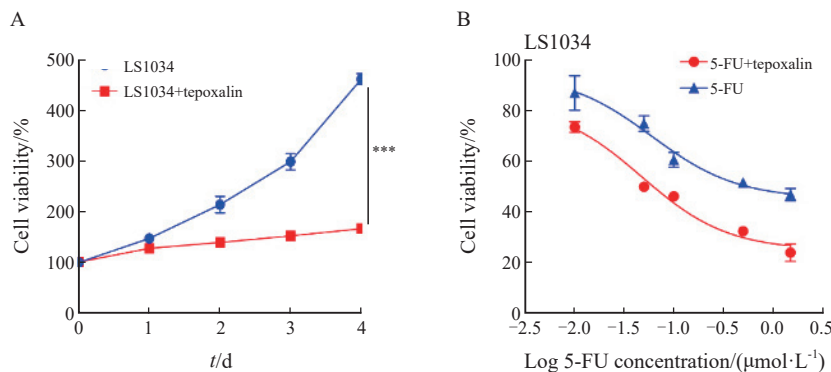


图3 Tepoxalin抑制细胞增殖并增敏5-FU

Fig. 3 Tepoxalin inhibits cell proliferation and sensitizes cells to 5-FU

A: Dose-dependent suppression of LS1034 cell proliferation by tepoxalin; B: Tepoxalin synergistically reduces the IC₅₀ of 5-FU. ***: $P < 0.001$, compared with LS1034+tepoxalin.

2.4 Tepoxalin靶向ABCB1抑制CRC进展

为进一步验证tepoxalin对CRC的影响,本研究通过体内实验进行验证。结果显示,应用tepoxalin后,小鼠皮下移植瘤的生长受到显著抑制,加药组的肿瘤大小、质量与对照组存在显著差异(图4A~4B)。对小鼠肿瘤组织进行IHC染色后发现,加药组的ABCB1表达、Ki-67增殖指数显著降低,阳性细胞比例降低(图

4C~4D)。DARTS实验直接证实tepoxalin与ABCB1蛋白相互作用:经tepoxalin(5 μmol/L)预处理后,ABCB1的降解效率提高($P < 0.001$,图5A~5B),同时单用链霉蛋白酶处理ABCB1蛋白未发生变化(图5C),也排除了链霉蛋白酶对ABCB1的影响,进一步验证表明tepoxalin通过结合ABCB1促进蛋白质水解。这些结果都证实tepoxalin通过靶向ABCB1影响CRC的进展。

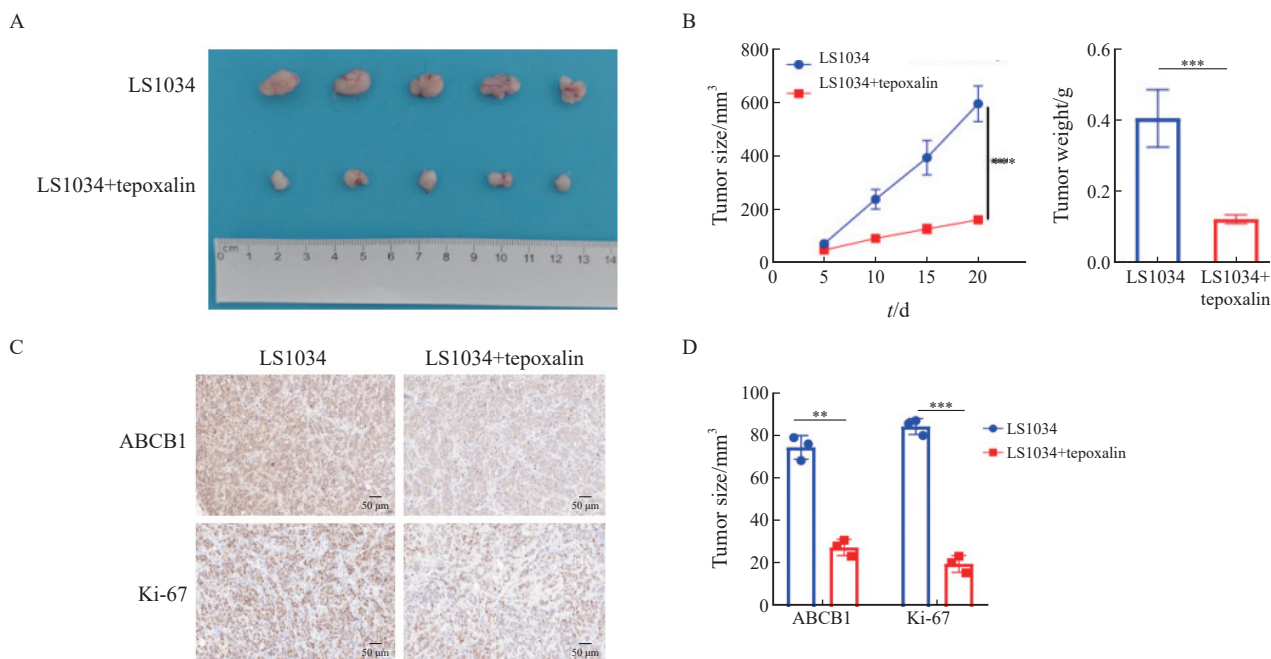


图4 Tepoxalin抑制移植瘤生长、ABCB1表达及Ki-67增殖指数

Fig. 4 Tepoxalin suppresses xenograft growth, ABCB1 expression and Ki-67 proliferation index

A: Representative images of subcutaneous tumors; B: Tumor weight and volume curve after 3 weeks of treatment; C, D: Immunohistochemistry (reduced positivity rates of ABCB1 and Ki-67 in tepoxalin group). **: $P < 0.01$, compared with LS1034+tepoaxin; ***: $P < 0.001$, compared with LS1034+tepoaxin.

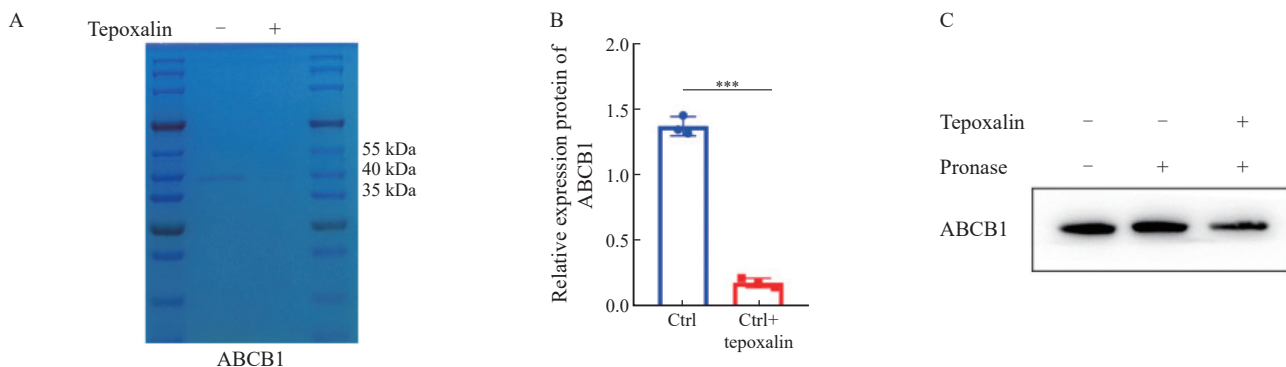


图5 Tepoxalin直接结合并降解ABCB1蛋白

Fig. 5 Tepoxalin directly binds and degrades ABCB1 protein

A, B: Coomassie blue staining in DARTS assay (weakened ABCB1 band intensity in tepoxalin group); C: Changes in ABCB1 protein levels with or without pronase or tepoxalin treatment. ***: $P < 0.001$, compared with Ctrl.

2.5 Tepoxalin通过PI3K-Akt通路影响CRC进展

本研究通过对tepoaxin处理后的小鼠肿瘤及对照组进行转录组学测序，tepoaxin处理组中有1 030个差异表达基因 [$|\log_2FC| > 1$, 错误发现率 (false discovery rate, FDR) < 0.05]，发现影响细胞增殖、转移的通路存在显著差异，GSEA后发现，PI3K-Akt通路存在显著差异，同时细胞黏附相关通路也存在显著差异 (图6A~6C)，提示tepoaxin可能通过阻断PI3K-Akt通路介导的生存信号及细胞迁移能力，协同ABCB1靶向作用抑制CRC进展。进一步通过Western blot验证发现，tepoaxin处理LS1034细胞后，PI3K-Akt信号通路

明显受到抑制 (图6D)。同时应用PI3K-Akt通路抑制剂copanlisib处理LS1034细胞，发现随着copanlisib浓度升高，ABCB1的蛋白水平和mRNA表达随之降低 (图6E~6F)。这些实验进一步证实tepoaxin可以靶向PI3K-Akt信号通路影响CRC的进展。

3 讨论

CRC是全球癌症相关死亡的主要原因之一，其发病率和死亡率居高不下^[11-12]。尽管手术切除是早期CRC的主要根治手段，但晚期或转移性CRC患者主要依赖系统性化疗 (如基于5-FU、

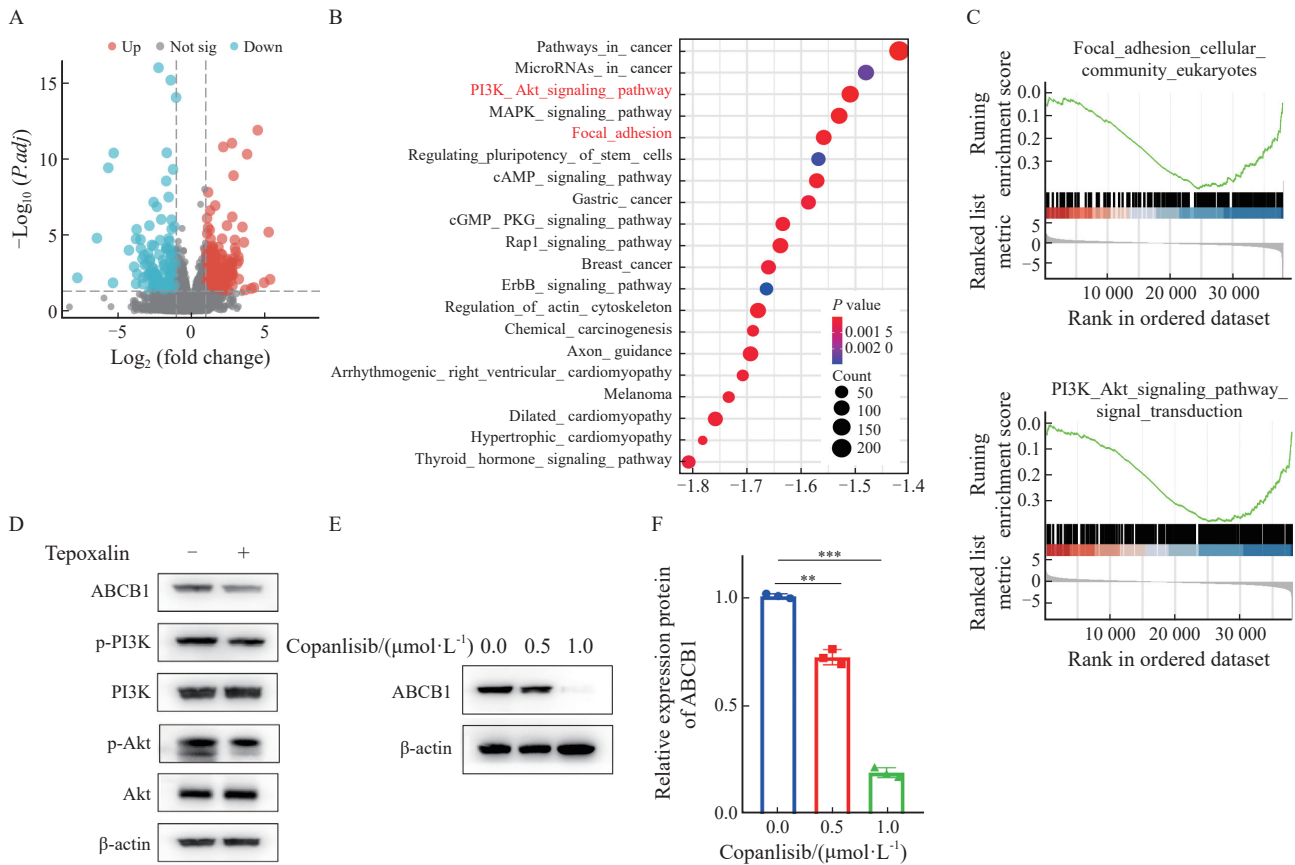


图6 Tepoxalin通过PI3K-Akt通路调控ABCB1转录

Fig. 6 Tepoxalin regulates ABCB1 transcription via PI3K-Akt pathway

A: Volcano plot of differentially expressed genes ($|\log_2\text{FC}| > 1$, $\text{FDR} < 0.05$). B, C: GSEA (significant alterations in PI3K-Akt and cell adhesion pathways). D: Changes in the levels of ABCB1 and PI3K-Akt signaling pathway-related proteins after treating cells with tepoxalin; E, F: Changes in the mRNA and protein expression levels of ABCB1 after treating cells with PI3K-Akt signaling pathway inhibitors. **: $P < 0.01$, compared with 0 $\mu\text{mol/L}$ copanlisib; ***: $P < 0.001$, compared with 0 $\mu\text{mol/L}$ copanlisib.

奥沙利铂的FOLFOX方案)和靶向治疗^[13]。然而,化疗耐药性的普遍发生是导致治疗失败、疾病复发和患者预后不良的关键因素^[14]。在众多耐药机制中,由ABCB1基因编码的P糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)介导的药物外排扮演着核心角色^[15]。P-gp作为ABC转运蛋白超家族的重要成员,广泛表达于肠道上皮细胞顶端膜,生理学功能是保护机体免受外源毒素侵害。然而,在CRC中,ABCB1/P-gp常异常高表达,其利用ATP水解产生的能量,主动将多种结构不相关的疏水性化疗药物(包括5-FU的某些活性代谢物、伊立替康的活性代谢物SN-38及紫杉醇类等)从肿瘤细胞内泵出,显著降低细胞内药物浓度,从而削弱其细胞毒性作用^[16]。大量临床前研究和临床试验^[17-19]表明,ABCB1/P-gp的高表达与CRC患者对化疗的反应差、无进展生存期短及总生存期降低显著相关。

本研究首次揭示非甾体抗炎药tepoaxalin可通过靶向ABCB1蛋白抑制CRC进展并逆转化疗耐药。通过DepMap数据库分析发现,ABCB1高

表达的CRC细胞对tepoaxalin敏感性显著增强,这一现象在ABCB1高表达的LS1034细胞系中得到验证:tepoaxalin不仅单药即可抑制细胞增殖,也可协同5-FU降低 IC_{50} 。结合TCGA与HPA数据,ABCB1在CRC组织中的异常高表达进一步提示其作为治疗靶点的潜力。DARTS实验证实tepoaxalin直接结合ABCB1蛋白并诱导其构象改变,导致蛋白酶降解敏感性增加,这一蛋白相互作用层面的发现揭示了tepoaxalin下调ABCB1的表达的分子机制。

在体内模型中,tepoaxalin治疗显著抑制移植瘤生长,并同步降低肿瘤组织内ABCB1表达及Ki-67增殖指数,表明其通过靶向ABCB1阻断肿瘤增殖。值得注意的是,转录组分析显示,tepoaxalin可显著抑制PI3K-Akt信号通路,而该通路已知可正向调控ABCB1转录表达^[6]。我们由此提出双重作用模型:tepoaxalin一方面直接结合并促进ABCB1蛋白降解,另一方面通过抑制PI3K-Akt信号通路间接降低ABCB1基因转录,形成对ABCB1功能的协同抑制网络。Tepoxalin与

传统的ABC1抑制剂相比有显著优势，可通过“双重调控”靶向ABC1，既直接结合ABC1蛋白促进其蛋白酶降解（蛋白水平），又通过抑制PI3K-Akt信号通路下调其转录表达（基因水平），能更有效地逆转耐药，在靶向ABC1逆转耐药、协同增强5-FU疗效的同时，直接抑制CRC细胞增殖和肿瘤血管生成，同时可通过“老药新用”策略跳过早期筛选和安全性评估，缩短研发周期、降低成本，后续研究可进一步开展相关体外实验和动物实验，为验证tepoxalin的优势提供更直接的证据。同时，tepoxalin降解ABC1蛋白的特性可减少代偿性耐药，既可降低ABC1总量避免其相关代偿通路激活，又因对其他ABC转运蛋白特异性高而减少其代偿性上调，还能协同抑制PI3K-Akt信号通路多层次阻止耐药。但本研究未深入探讨长期使用tepoxalin后，肿瘤细胞是否会通过激活非ABC转运蛋白相关通路产生代偿性耐药，后续将通过长期药物干预实验结合转录组测序等技术，全面分析tepoxalin对CRC代偿性耐药的影响，为其临床应用提供更全面的理论依据。本研究的临床转化价值在于：① tepoxalin与5-FU的协同效应为ABC1高表达CRC患者提供了化疗增敏方案；② 利用已上市NSAID的成熟安全性数据，可加速其“老药新用”的临床实践；③ 靶向ABC1蛋白降解的策略，有望避免长期用药导致的转运蛋白代偿性上调。

尽管本研究系统性地揭示了tepoxalin通过靶向ABC1抑制CRC进展及逆转化疗耐药的双重机制，但仍存在一些局限性。首先，本研究主要依赖于LS1034这一高表达ABC1的细胞系及其对应的移植瘤模型，虽然具有代表性，但未能广泛涵盖所有不同ABC1表达水平的CRC亚型，未来需要在更多元化的细胞系和患者来源的类器官模型中进行验证，以评估tepoxalin疗效的普适性。其次，虽然DARTS实验证实了tepoxalin与ABC1蛋白的直接结合，但其精确的结合位点及由此引发的构象变化细节尚未阐明，后续可通过分子动力学模拟或点突变等技术进行深入探索。再次，本研究证实了PI3K-Akt信号通路参与ABC1的转录调控，但该通路与ABC1启动子区域之间具体的转录因子中介尚未明确。最后，本研究聚焦于tepoxalin的短期疗效与急性耐药逆转，尚未评估长期用药背景下肿瘤细胞是否可能通过激活其他代偿性通路（如其他ABC转运蛋白的上调或凋亡通路改变）而产生继发性耐药，这对其潜在的临床应用至关重要。解决这些局限性将为拓展

tepoxalin逆转结直肠癌化疗耐药的新用途提供更坚实的基础，确立精准治疗策略。

第一作者：

何治军（ORCID: 0009-0002-6997-8675）硕士，副主任医师。

通信作者：

徐继（ORCID: 0009-0009-5890-5148）硕士，副主任医师，E-mail: xj202508@163.com。

作者贡献声明：

何治军：文章撰写及研究实施；金丽雯：实施研究及数据分析；郭端城，数据分析及文章撰写；徐继：设计研究思路及方案，审核文章。

[参 考 文 献]

- [1] NAPOLITANO S, MARTINI G, CIARDIELLO D, et al. Targeting the EGFR signalling pathway in metastatic colorectal cancer [J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2024, 9(7): 664–676.
- [2] YU T, GUO F F, YU Y N, et al. *Fusobacterium nucleatum* promotes chemoresistance to colorectal cancer by modulating autophagy [J]. *Cell*, 2017, 170(3): 548–563.e16.
- [3] YANG Y, YUAN H Y, ZHAO L M, et al. Targeting the miR-34a/LRPPRC/MDR1 axis collapse the chemoresistance in P53 inactive colorectal cancer [J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(11): 2177–2189.
- [4] LEI Z N, ALBADARI N, TENG Q X, et al. ABCB1-dependent collateral sensitivity of multidrug-resistant colorectal cancer cells to the survivin inhibitor MX106-4C [J]. *Drug Resist Updat*, 2024, 73: 101065.
- [5] DE GROOT R A, REEDIJK D, FAUCHER Q, et al. Strategies for overcoming ABC transporter-mediated multidrug resistance in colorectal cancer [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2025, 329(3): C699–C717.
- [6] LU X Y, HUANG L H, ZHANG W, et al. Tepoxalin a dual 5-LOX-COX inhibitor and erlotinib an EGFR inhibitor halts progression of gastric cancer in tumor xenograft mice [J]. *Am J Transl Res*, 2018, 10(11): 3847–3856.
- [7] LIU H, DENG R, ZHU C W, et al. Rosmarinic acid in combination with ginsenoside Rg1 suppresses colon cancer metastasis via co-inhibition of COX-2 and PD1/PD-L1 signaling axis [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2024, 45(1): 193–208.
- [8] PROFT F, TORGUTALP M, MUCHE B, et al. Comparison of the effect of treatment with NSAIDs added to anti-TNF therapy versus anti-TNF therapy alone on the progression of structural damage in the spine over 2 years in patients with radiographic axial spondyloarthritis from the randomised-controlled CONSUL trial [J]. *Ann Rheum Dis*, 2024, 83(5): 599–607.
- [9] CORSELLO S M, NAGARI R T, SPANGLER R D, et al. Discovering the anti-cancer potential of non-oncology drugs by systematic viability profiling [J]. *Nat Cancer*, 2020, 1(2): 235–248.
- [10] MCQUERRY J A, CHEN J F, CHANG J T, et al. Tepoxalin increases chemotherapy efficacy in drug-resistant breast cancer cells overexpressing the multidrug transporter gene *ABCB1* [J]. *Transl Oncol*, 2021, 14(10): 101181.
- [11] CAÑELLAS-SOCIAS A, SANCHO E, BATLLE E. Mechanisms of metastatic colorectal cancer [J]. *Nat Rev Gastroenterol*

- Hepatol, 2024, 21(9): 609–625.
- [12] LI Q, GENG S, LUO H, et al. Signaling pathways involved in colorectal cancer: pathogenesis and targeted therapy [J] . Signal Transduct Target Ther, 2024, 9(1): 266.
- [13] GANDINI A, TAIEB J, BLONS H, et al. Early-Onset colorectal Cancer: from the laboratory to the clinic [J] . Cancer Treat Rev, 2024, 130: 102821.
- [14] ABEDIZADEH R, MAJIDI F, KHORASANI H R, et al. Colorectal cancer: a comprehensive review of carcinogenesis, diagnosis, and novel strategies for classified treatments [J] . Cancer Metastasis Rev, 2024, 43(2): 729–753.
- [15] WANG B, LU F Y, SHI R H, et al. miR-26b regulates 5-FU-resistance in human colorectal cancer *via* down-regulation of Pgp [J] . Am J Cancer Res, 2018, 8(12): 2518–2527.
- [16] BEKLEN H, GULFIDAN G, ARGA K Y, et al. Drug repositioning for P-glycoprotein mediated co-expression networks in colorectal cancer [J] . Front Oncol, 2020, 10: 1273.
- [17] TAN P, XU M, NIE J J, et al. LncRNA SNHG16 promotes colorectal cancer proliferation by regulating ABCB1 expression through sponging miR-214-3p [J] . J Biomed Res, 2022, 36(4): 231–241.
- [18] BADIC B, DURAND S, EL KHOURY F, et al. Prognostic impact of cancer stem cell markers ABCB1, NEO1 and HIST1H2AE in colorectal cancer [J] . Am J Transl Res, 2020, 12(9): 5797–5807.
- [19] LI Y C, XIONG Y M, LONG Z P, et al. ML210 antagonizes ABCB1- not ABCG2-mediated multidrug resistance in colorectal cancer [J] . Biomedicines, 2025, 13(5): 1245.
- (收稿日期: 2025-08-11 修回日期: 2025-11-01)
(责任编辑: 李广涛)

编者·作者·读者

《中国癌症杂志》2026年征订启事

《中国癌症杂志》1991年创刊,是由中华人民共和国教育部主管、复旦大学附属肿瘤医院主办的全国性肿瘤类学术期刊。名誉主编为汤钊猷、曹世龙、沈镇宙教授,主编为邵志敏教授。旨在传播肿瘤学领域前沿研究成果,注重肿瘤临床、基础、转化等最新研究成果,促进我国肿瘤领域研究成果的交流,提高肿瘤防治水平,服务健康中国战略。

《中国癌症杂志》为中文核心期刊(《中文核心期刊要目总览(2023年版)》收录)、中国科技核心期刊、中国科学引文数据库(CSCD)收录期刊、“中国精品科技期刊顶尖学术论文(F5000)”项目来源期刊,并被国内多家大型数据库收录。国际上,《中国癌症杂志》目前被Scopus数据库及EMBASE数据库、DOAJ数据库、《化学文摘》(CA)、《乌利希期刊指南》(Ulrich's Periodical Directory)、EBSCO数据库、日本科学技术振兴机构数据库(JST)、《哥白尼索引》以及《WHO西太平洋地区医学索引》(WPRIM)收录。

《中国癌症杂志》主要报道国内外肿瘤学领域前沿的研究内容,包括肿瘤的临床医学、基础医学、流行病学等。开设栏目包括专家述评与论著、论著、综述、论著选登、个案报道、指南与共识等。

《中国癌症杂志》为月刊,A4开本,80页,铜版纸(随文彩图),每月30日出版,单价30元,全年360元。国际标准连续出版物号(ISSN)1007-3639,国内统一连续出版物号(CN)31-1727/R,邮发代号4-575,读者可在当地邮政局订阅。

联系地址:上海市东安路270号复旦大学附属肿瘤医院10号楼415室。

邮编:200032

电话:021-64188274; 021-64175590-83574

网址:www.china-oncology.com

E-mail:zgazz@china-oncology.com

《中国癌症杂志》编辑部