

综述

染料木素抗结直肠癌分子机制的研究进展

邱媛¹, 莫中成², 陈燕华¹, 卢恒哲¹, 于宗超¹, 刘引¹, 刘龙飞^{1*}⁽¹⁾南华大学附属南华医院普外科, 衡阳 421002;⁽²⁾桂林医学院基础医学院组织胚胎教研室, 基础医学研究所, 桂林 541199)

摘要: 结直肠癌是世界范围内的恶性肿瘤, 发病率逐年上升, 预后差且尚无有效治疗药物。迫切需要探索挖掘结直肠癌发生发展的机制及寻找新的治疗药物。染料木素已被大量研究证明可用于结直肠癌的治疗。它是一种多酚异黄酮化合物, 大量存在于大豆或大豆制品中, 在亚洲人群中被广泛食用。具有多种生物活性, 包括抗糖尿病、抗炎症、抗肥胖和抗血管生成、心脏保护功能及抗癌, 其中抗癌作用研究最为广泛。染料木素抗结直肠癌的分子机制涉及多个方面: 抑制肿瘤细胞增殖、侵袭及迁移, 抗凋亡、氧化应激和炎症等。本文将围绕以上几个方面展开论述, 将近年研究成果进行总结, 以开发具有良好抗癌潜力的新型治疗药物, 为结直肠癌的治疗提供理论基础。

关键词: 结直肠癌; 染料木素; 拓扑异构酶

Progress on the molecular mechanism of genistein against colorectal cancer

QIU Yuan¹, MO Zhongcheng², CHEN Yanhua¹, LU Hengzhe¹,
YU Zongchao¹, LIU Yin¹, LIU Longfei^{1*}⁽¹⁾Surgery Department of Nan Hua Hospital Affiliated to Nan Hua University, Hengyang 421002, China;⁽²⁾Organization and Embryology Teaching and Research Department, Basic Medical Research Institute,
School of Basic Medicine, Guilin Medical College, Guilin 541199, China)

Abstract: Colorectal cancer is a worldwide malignant tumor with increasing incidence, poor prognosis and no effective therapeutic agents. There is an urgent need to explore the mechanisms underlying the development of colorectal cancer and to find new therapeutic agents. Genistein has been shown in numerous studies to be used in the treatment of colorectal cancer. It is a polyphenol isoflavone compound found in large quantities in soybeans or soy products and is widely consumed in Asian populations. It has a variety of biological activities, including diabetic, anti-inflammatory, anti-obesity and anti-angiogenesis, cardioprotective function and anticancer, of which the anticancer effect has been most widely studied. The molecular mechanism of genistein against colorectal cancer involves several aspects: inhibition of tumor cell proliferation, invasion and migration, anti-apoptosis, oxidative stress and inflammation. This review will focus on the above aspects. The research results of recent years will be summarized in order to develop novel therapeutic drugs with good anticancer potential and provide a theoretical basis for the treatment of colorectal cancer.

收稿日期: 2023-05-18

基金项目: 湖南省自然科学基金项目(2020JJ4552)

第一作者: E-mail: 1271807616@qq.com

*通信作者: E-mail: 1987868044@qq.com

Key Words: colorectal cancer; genistein; topoisomerase

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)约占全球每年诊断的所有癌症和癌症相关死亡的10%,它是女性中第二常见的癌症,男性中第三常见的癌症^[1]。预计到2035年,全球CRC新发病例将增加到250万^[1,2]。由于CRC发病隐匿,早期症状不明显,大多数患者在CRC中晚期才被诊断^[3],此时通过手术完全切除肿瘤难以实现,而姑息性手术联合化疗已成为目前最为常见的治疗方法^[4]。在综合治疗中,化疗是首选方法^[5]。但现有的化疗方案对转移性CRC的疗效有限。因此,需要寻找更强大且更安全的化学预防或化疗方法来获得更好的疗效,以降低CRC患者的死亡率^[6]。近年来,膳食补充剂以号称“提高机体健康水平和降低疾病发生风险”走入大众视野^[7]。膳食补充剂是营养成分或其他具有营养或生理作用成分的浓缩来源,包括维生素、矿物质、植物或草药提取物、氨基酸、必需脂肪酸和纤维等,且具有抗氧化、抗炎、抗癌和免疫调节等特性,在癌症预防和预后中起重要作用。目前研究发现,膳食补充剂可以预防癌变、抑制CRC细胞生长,可能为CRC的治疗提供新方案^[8]。

染料木素(Genistein, Gen)是一种异黄酮,可从多种植物中提取^[9],于1899年首次从染木属金雀花中分离出来,属于天然化合物,应用于疾病治疗可极大避免不良反应^[10,11]。Gen具有多种生物活性,包括抗癌、抗糖尿病、抗炎症、抗氧化、抗血管生成等,还具有心脏保护功效。其中研究最多的是其抗癌活性^[12],包括乳腺癌、CRC、前列腺癌、胃癌和肝癌^[13]。有研究表明,饮食中的食用染料木素可将CRC的风险降低23%^[14]。由此可见,Gen针对CRC有较好的研究价值。本文将对近年来Gen在CRC中的抗癌机制进行综述,以期对CRC的治疗提供新型药物及理论基础。

1 Gen通过抑制肿瘤细胞增殖、侵袭及迁移影响CRC的发生发展

1.1 Gen通过抑制细胞增殖影响CRC的发生

TGF- β 1/Smad信号在癌症进展中具有双重作

用。在肿瘤起始阶段,转化生长因子- β 1(transforming growth factor-beta 1, TGF- β 1)可通过阻滞细胞周期、诱导细胞凋亡来抑制肿瘤发展;而在肿瘤发展的后期,TGF- β 1信号通路可以促进癌细胞增殖和转移,在肿瘤进展过程中TGF- β 1通路组分的突变积累可能是导致其从抑瘤转化为促瘤的关键^[15]。Gen在小鼠结肠MC-26细胞中可以正向调控TGF- β 1/Smad通路,诱导Smad-DNA复合物的形成和促进Smad2和Smad3的磷酸化,以达到抑瘤效果^[16]。也有文献报道,Gen可降低人CRC细胞TGF- β 1的表达量,从而降低细胞lncRNA TTTY18表达,下调内源SGK1Akt^{Ser473}、p38、MAPK^{Tyr323}表达,从而抑制细胞增殖^[17]。TGF- β 1是一种多功能蛋白质,介导细胞分化、增殖、黏附、迁移,并在相关生长因子中发挥作用。TGF- β 1激活后使其下游的Smad2和Smad3磷酸化,磷酸化的Smad2和Smad3与Smad4结合,形成一个异聚体复合体,然后转移到细胞核中并在细胞核中积累,在细胞核中它作为一个转录因子,参与调节上皮组织的促凋亡和抗有丝分裂活性^[18]。然而,到目前为止,TGF- β 1作为一把双刃剑,在CRC中发挥的抑瘤作用是如何转变成促瘤作用的机制仍不清楚。Gen作用于CRC同样出现了TGF- β 1不同的表达,说明Gen影响TGF- β 1差异表达的机制不同。是否可以以此为契机继续深入探讨,将TGF- β 1在各个时期的作用机制阐释清楚有待研究。

Gen是一种新型的拓扑异构酶 II (topoisomerase II, Topo II)抑制剂,通过间接抑制Topo II活性来抑制CRC细胞的增殖。而阿霉素、链霉素和蒽类素等抑制剂是通过一个稳定而紧密的Topo II蛋白质-DNA复合体(称为“可裂解复合体”)直接结合到DNA上来抑制由Topo II催化的DNA链连接反应的。通过测量dsDNA的T_m来验证Gen与DNA结合的可能性,没有发现Gen与dsDNA结合,所以这种化合物似乎不能稳定Topo II蛋白质-DNA复合物,因此,Gen被认为是一种拓扑功能的“抑制因子”^[19]。Gen通过影响Topo II的活性,抑制CRC细胞DNA复制从而达到抑制肿瘤细胞增殖的目的,

但它如何影响Topo II的活性仍需进一步验证。

Gen可通过减少多胺生物合成来影响人结肠腺癌细胞(DLD-1细胞)的生长。多胺、腐胺、亚精胺和精胺是普遍存在的短链脂肪胺,在细胞增殖和分化中起着重要作用。多胺在肿瘤和肿瘤前组织中能够通过与有机多阴离子结合形成络合物(如蛋白质和DNA等)并稳定染色质和核酶。CRC细胞利用多胺合成更多的DNA、RNA和蛋白质来维持细胞生长,因此CRC细胞对多胺的需求非常高^[20]。多胺的代谢始于鸟氨酸脱羧酶(ornithine decarboxylase, ODC),这是一种速率限制酶,在所有细胞中都受到高度调节,并对各种各样的生长促进刺激作出反应。已知ODC的高表达和多胺浓度的增加与细胞快速增殖相关,并且与正常和癌前组织相比,癌症中的多胺水平显著增加,而Gen处理后DLD-1细胞的多胺及ODC水平显著降低,明显抑制了肿瘤细胞的增殖^[21]。因此,降低多胺水平是抑制癌细胞增殖的有效靶点,同时多胺合成也是细胞周期G₁期的一个早期事件,减少多胺的合成也可以有效阻断细胞周期的进展。

Sekar等^[22]在一项1,2-二甲基胍诱导的大鼠CRC微环境实验中发现,Gen通过改变CRC微环境对大鼠发挥保护作用,它可以下调I型胶原蛋白水平。I型胶原蛋白可以促进人结肠癌干细胞增殖,与正常结肠黏膜细胞相比,CRC细胞中以I型胶原蛋白增加为主,Gen可以通过下调I型胶原蛋白水平来抑制CRC细胞增殖。因此,有效地改善肿瘤组织微环境中的胶原蛋白水平也可以达到抑制肿瘤细胞过度增殖的效果。

1.2 Gen阻滞细胞周期来影响CRC的发生

长时间摄入Gen可能通过防止Wnt/ β -catenin信号的过度激活而保护机体不受致癌负荷的影响,从而降低结肠肿瘤发生的风险^[23]。Wnt/ β -catenin信号通路是上皮细胞更新过程中的主要驱动力,它的过度激活以 β -catenin的异常积累为标志,会破坏正常的细胞活动并导致癌症的发生^[24]。Wnt信号通过GSK3b、Axin1和APC等细胞质成分将信号传递给 β -catenin,再通过与细胞核中的T细胞因子/淋巴样增强因子(TCF/LEF)形成复合物,触发Wnt靶基因的表达,如*Cyclin D1*和*c-Myc*,这些基因激活后可促进细胞周期进展。CRC细胞经Gen长期处理

后,Wnt/ β -catenin通路下游基因*Cyclin D1*和*c-Myc*的表达均受到抑制^[23]。Gen也可通过表观遗传学修饰,调控Wnt/ β -catenin信号通路。Gen通过去甲基化分泌型卷曲相关蛋白2(secreted frizzled-related protein 2, sFRP2)启动子区域的CpG岛来恢复sFRP2的表达^[25]、通过诱导分泌性蛋白DKK1(dickkopf 1)启动子区域的组蛋白乙酰化而增加DKK1的表达^[26]、通过去甲基化Wnt抑制因子1(Wnt inhibitory factor 1, WIF1)以增加WIF1的表达来抑制 β -catenin介导的Wnt信号^[27]。Wnt/ β -catenin信号通路是正常细胞维持增殖的关键通路之一,它的过度激活是CRC发生发展的关键步骤,防止其过度激活便成为抑制肿瘤形成的关键靶点,Gen能够防止其过度激活,说明Gen有成为CRC靶向药物的潜力。

Gen通过ATM/p53-p21交感信号通路以p53依赖的方式诱导人结直肠腺癌细胞(HCT116细胞)G₂/M期细胞周期阻滞。真核细胞的细胞周期进程是由细胞周期蛋白、细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)和细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂之间的相互作用控制的^[28]。在Gen暴露后,细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子1B(cyclin-dependent kinase inhibitor 1B, CDKN1B)、乳腺癌1号基因(breast cancer 1, *BRCA1*)、乳腺癌2号基因(breast cancer 2, *BRCA2*)等几个参与细胞周期的基因被检测到发生转录激活,说明Gen通过调控细胞周期蛋白家族的多种调控因子,参与细胞周期进程。Gen在G₂/M期以剂量依赖性的方式阻滞HCT116细胞周期进展,Gen暴露后,ATM、p53和CDK抑制剂p21^{waf1/cip1}上调,细胞分裂周期蛋白2(cell division cycle protein 2, Cdc2)和细胞分裂周期蛋白25A(cell division cycle protein 25A, Cdc25A)的表达减少进一步证实了这一观点^[29]。Gen也可通过减弱表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)对肿瘤抑制因子叉头框蛋白O3(forkhead box O3, FOXO3)活性的负面影响,促进FOXO3与突变的p53相互作用,导致p27^{kip1}表达和细胞周期阻滞,从而抑制结肠癌细胞增殖^[30]。

1.3 Gen抑制细胞侵袭及迁移来影响CRC的发展

Gen通过抑制血管生成相关因子抑制肿瘤侵袭及迁移。Gen可下调CRC细胞血管内皮生长因子

(vascular endothelial growth factor, VEGF)、Fms相关酪氨酸激酶4(Fms-related tyrosine kinase 4, FLT4)、CD34和激酶插入结构域受体(kinase insert domain receptor, KDR)的表达,使刺激肿瘤血管生成功能减弱,肿瘤细胞的生长受到抑制^[31-33]。另外,Gen可诱导人CRC细胞中激活转录因子3(activating transcription factor 3, ATF3)过表达,从而使分化抑制因子1(inhibitor of DNA binding 1, Id1)被抑制而发挥抗肿瘤活性。ATF3在CRC细胞中过表达时具有抗侵袭活性,是ATF/循环AMP响应元件结合蛋白家族的成员,是参与细胞生长、凋亡和侵袭的一种转录因子^[34]。Id1是ATF3的下游靶点,Id1属于分化家族基因的抑制剂,其蛋白产物已被证明在细胞生长、分化、增殖、侵袭和血管生成中发挥作用,因此抑制Id1有抗癌活性^[35]。晚期CRC的可怕之处就在于发生全身多器官的转移,导致器官功能受损,而转移的源头便是为之提供营养的血管,有效地抑制血管的新生能够很好地抑制肿瘤细胞发生转移,Gen能够抑制多种血管内皮生长因子,也能发挥较好的抑瘤效果。

Gen对HCT116细胞的膜流动性及表面电荷密度有明显的降低作用。细胞膜的流动性和表面带有的负电荷是细胞功能的重要组成部分。一般来说,肿瘤细胞的膜流动性及表面电荷密度比正常细胞大得多,细胞表面电荷密度越大、排斥力越大,肿瘤细胞越容易分散和转移^[36]。这种差异可能解释了肿瘤细胞和正常细胞之间信号通路的差异。Gen通过降低细胞的膜流动性和表面电荷密度,改善细胞膜功能,加强与其调节剂的正常反应,来达到抑制肿瘤细胞侵袭和转移的目的。

2 Gen通过促进细胞凋亡影响CRC的发生发展

抑制磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol-3-kinase/automatischer kassentresor, PI3K/Akt)信号通路可以抑制癌细胞生长。Gen通过抑制Akt磷酸化诱导HCT116细胞线粒体凋亡途径,通过抑制Akt、上调Bax,促进细胞凋亡,Akt是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,是PI3K的主要下游效应因子,它在调控多种细胞过程中起着关键作用,包括细胞生存、生长、增殖、血管

生成、代谢和迁移。Bax作为Bcl-2家族成员,与通透性过渡孔相互作用,降低线粒体膜电位,释放细胞色素c,诱导线粒体凋亡途径的发生^[37]。非甾体抗炎药物基因-1(NSAIDs activity gene-1, NAG-1)是一个在CRC和其他细胞系中具有抗肿瘤活性并刺激细胞凋亡的超家族成员,Gen可通过p53介导NAG-1表达上调,促进CRC细胞凋亡,以达到抑制CRC细胞生长的目的^[38]。凋亡是癌症治疗最常见的治疗靶点,Gen同样具有促凋亡作用,反应了其作用机制的多样性。

Gen通过抑制Notch1/核因子- κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)/Slug/N-cadherin通路诱导EMT逆转,导致E-cadherin上调和N-cadherin下调,促进细胞凋亡^[39]。上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是肿瘤发展过程中的一个重要过程,是指将上皮细胞类型转化为具有间充质属性细胞的过程,是影响肿瘤形态发生的关键步骤^[40]。NF- κ B转录因子家族在调节基因转录和调控细胞凋亡和增殖方面起着关键作用,可以通过抑制E-cadherin的表达和调节Snail和ZEB的mRNA表达来增强EMT。Gen处理降低了NF- κ B和几个间充质细胞标记物,如Slug、ZEB1、FOXC1等的mRNA表达,说明CRC细胞EMT表型的逆转阻碍了其下游靶点NF- κ B、p65的表达,从而逆转了EMT并诱导细胞凋亡^[39]。CRC的发生机制是复杂的,这就要求治疗CRC的药物作用机制不能过于单一。Gen不仅能诱导细胞凋亡,而且能逆转细胞的EMT来发挥抗癌作用,说明Gen能够通过多种途径发挥抗肿瘤特性,符合治疗CRC药物作用机制的复杂性。

3 Gen通过氧化应激和炎症反应影响CRC的发生发展

Gen可通过激活Nrf-2/HO-1信号通路,发挥抗癌活性。一项1,2-二甲基胍诱发大鼠结肠癌的动物实验发现,Gen可通过激活Nrf-2、调节增殖和癌症干细胞标记物的表达,发挥抗癌作用^[22]。Gen是Nrf-2的有效诱导剂,Gen处理后激活了Nrf-2及其下游靶点HO-1,以保持细胞的抗氧化状态,清除氧自由基,通过防止组织微环境中的生物氧化损伤来抑制癌变。

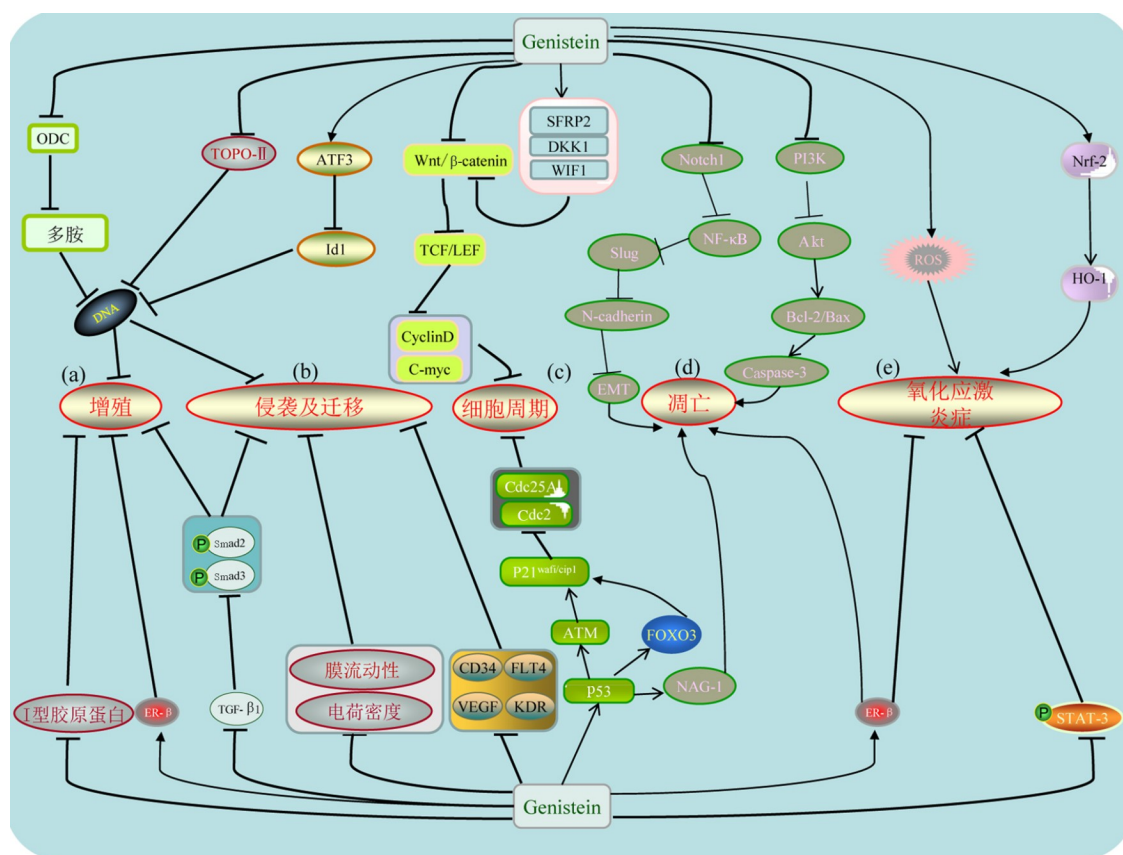
众所周知, Gen在氧化应激中起到抗氧化剂的作用, 会增加抗氧化酶的表达。但新的研究发现, 当浓度较高时, Gen发挥的是促进氧化应激的作用, 高浓度Gen处理下的SW620细胞内源性活性氧(reactive oxygen species, ROS)显著升高^[41]。由此可见, Gen在氧化应激面前具有双重作用。氧化应激是ROS产生和抗氧化防御之间失衡的结果, 线粒体是细胞中电子传递链ROS的主要生产者, 通过分子氧的还原形成自由基, 形成超氧化物和羟基自由基。同时ROS可以直接激活炎症途径和炎症小体, 这是一种释放促炎细胞因子的多蛋白复合体, 引起炎症反应, 并最终诱导细胞死亡。综上, Gen浓度的不同引发的反应机制也不同, 低浓度时抗氧化, 高浓度时促氧化。这说明药物作用的多重性产生的反应也不同, 如氧化应激和炎症

反应, 它们相互独立却又联系十分紧密, 这也是Gen作用机制更加复杂及更具可挖掘性的原因之一。Gen可能与氧化应激密切相关的铁死亡有关, 也可能与炎症相关的细胞焦亡有关。

Gen处理CRC细胞可抑制pSTAT-3的活性。STAT家族成员参与炎症和癌症的发病机制, 激活的STAT-3是致癌的, 并可调节几种类型实体瘤的进展。pSTAT-3的活性是由PI3K/Akt/ERK诱导的, 这不同于传统的JAK/STAT信号通路^[42]。具体的影响机制目前仍未阐述清楚, 需进一步研究以明确两条通路之间的具体关系以及STAT-3在两者之间扮演的角色。

4 Gen通过调控雌激素受体影响CRC的发生发展

人体内雌激素受体(estrogen receptor, ER)主要



a: Gen通过减少I型胶原蛋白, 激活雌激素受体, 抑制多胺合成, 抑制TGFβ1/Smad信号通路来抑制CRC细胞增殖; b: Gen通过降低膜的流动性、电荷密度和多胺合成, 抑制血管相关生长因子及Topo II的活性, 促进ATF3从而抑制Id1来抑制CRC的侵袭及迁移; c: Gen抑制Wnt/β-catenin信号通路, 以p53依赖的方式激活ATM、FOXO3, 进一步激活p21来抑制CRC细胞的细胞周期进展; d: Gen激活雌激素受体及p53/NAG-1, 抑制PI3K/Akt, Notch1/NF-κB/Slug/N-cadherin通路促进CRC细胞发生凋亡; e: Gen激活雌激素受体, 抑制pSTAT-3促进炎症的发生; 激活Nrf-2/HO-1信号通路发挥抗氧化作用, 抑制癌变; 高浓度Gen可以促进CRC细胞ROS的产生, 诱发细胞发生氧化死亡

图1 Gen抗CRC的分子机制信号通路图

包括两种亚型。ER- α 是主要表达的受体亚型；而消化道上皮细胞主要表达ER- β ，ER- β 主要参与细胞抗炎途径和结肠组织稳态。人结肠癌细胞系HT29、Colo320、Lovo、SW480和HCT116表达ER- β ，缺乏ER- α ，暗示了ER- β 亚型在肠道组织的重要作用。Gen是一种源自大豆的天然代谢提取物，又叫植物雌激素，与雌激素化学结构极其相似，能在体内发挥类雌激素的效果。Gen作为ER- β 特异性激动剂，在回肠和结肠黏膜中具有抗增殖和促凋亡作用。Gen作用于CRC细胞可通过ER- β 介导，使增殖标志物增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)蛋白表达减少，细胞凋亡标记物caspase-3表达增加。但值得注意的是，ER- β 表达的缺失是雌激素依赖性肿瘤在多个器官部位进展的一个常见步骤，包括乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌和CRC。CRC分别在疾病晚期和Dukes晚期失去ER- β ，因此Gen不能有效缓解晚期CRC，这是由于ER- β 配体缺失导致的^[43]。所以通过特定的食源性ER配体(如大豆异黄酮、Gen、大豆苷元和糖苷等)上调ER- β 状态可能是结肠癌的一种潜在的饮食预防或治疗策略。因为CRC的早期症状多是隐匿的，所以大多数CRC患者在临床上被诊断时已是中晚期，我们可以通过在患癌高风险人群中提前食用富含Gen的食品来上调ER- β 状态，降低其患癌风险。

5 总结与展望

Gen在高浓度引入时对CRC细胞才具有化疗特性。然而，这些浓度很难在血清中达到和维持。生物利用度低的问题目前仍在攻坚阶段。有文献报道，开发了一种免疫偶联物(Gen-17.A)，由Gen和单克隆抗体17.A组成，可以一定程度上维持Gen的浓度使其发挥抗肿瘤活性^[44]。CHI-En/Gen(壳聚糖包被的Gen)也是一种很有前途的Gen结肠输送载体^[45]。Gen-PEG-SiHNM(Gen负载聚乙二醇化二氧化硅杂化纳米材料)通过调节内源性抗氧化酶和H₂O₂的产生，增强了其对HT29人结肠癌细胞的抗氧化和抗增殖作用，同时激活了两个不同的细胞死亡过程(凋亡和自噬)。最关键的是，合成的Gen-PEG-Si HNM除了具有诱导细胞凋亡和自噬导致的细胞死亡的能力外，还降低了不良反应的发生

率^[46]，这表明Gen-PEG-Si HNM或将成为替代化疗方案的优质备选者。目前为止，研究Gen抗CRC作用机制方面的文献多集中在体外实验，其作用机制极为复杂；但可以确定的是，Gen具有良好的抗癌作用，所以下一步的研究重点则要把它放到体内实验以及如何提高Gen的体内浓度方面。

Gen的作用机制极为复杂，不仅有以上提及的抗癌方式，还可能与自噬、焦亡、铁死亡等有关，但仍需要进一步验证。此外，Gen男性使用可能会诱导睾丸细胞凋亡，降低生育能力；妊娠期给予高剂量的Gen可能会导致婴儿白血病、甲状腺肿大等不良反应^[42]。但可以通过针对不同人群设置用药准则，或者开发新的纳米合成材料去减轻这些不良反应。毋庸置疑的是，Gen在CRC治疗中能发挥良好的抗癌效果，因此我们相信在广大科研人员的努力下，在不久的将来，Gen将会被应用到人类CRC的临床治疗中。

参考文献

- [1] Dekker E, Tanis PJ, Vleugela JLA, et al. Colorectal cancer. *Lancet*, 2019, 394(10207): 1467-1480
- [2] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424
- [3] Zheng R, Zhang K, Tan S, et al. Exosomal circLPAR1 functions in colorectal cancer diagnosis and tumorigenesis through suppressing BRD4 via METTL3-eIF3h interaction. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 49
- [4] Biller LH, Schrag D. Diagnosis and treatment of metastatic colorectal cancer. *JAMA*, 2021, 325(7): 669-685
- [5] Liang H, Xu Y, Zhang Q, et al. MiR-483-3p regulates oxaliplatin resistance by targeting FAM171B in human colorectal cancer cells. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47(1): 725-736
- [6] Hu J, Li J, Yue X, et al. Targeting BCRP/ABCG2 by RNA interference enhances the chemotherapy sensitivity of human colon cancer side population cells. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci*, 2017, 37(2): 231-236
- [7] Tan S, Meng Q, Jiang Y, et al. Impact of oral nutritional supplements in post-discharge patients at nutritional risk following colorectal cancer surgery: a randomised clinical trial. *Clin Nutr*, 2021, 40(1): 47-53
- [8] Johal J, Han CY, Joseph R, et al. Dietary supplements in people with metastatic cancer who are experiencing

- malnutrition, cachexia, sarcopenia, and frailty: a scoping review. *Nutrients*, 2022, 14(13): 2642
- [9] Wei TT, Chandy M, Nishiga M, et al. Cannabinoid receptor 1 antagonist genistein attenuates marijuana-induced vascular inflammation. *Cell*, 2022, 185(10): 1676-1693
- [10] Mas-Bargues C, Borrás C, Viña J. Genistein, a tool for geroscience. *Mech Ageing Dev*, 2022, 204: 111665
- [11] Garbiec E, Cielecka-Piontek J, Kowalówka M, et al. Genistein-opportunities related to an interesting molecule of natural origin. *Molecules*, 2022, 27(3): 815
- [12] Sharifi-Rad J, Quispe C, Imran M, et al. Genistein: an integrative overview of its mode of action, pharmacological properties, and health benefits. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 3268136
- [13] Thomasset SC, Berry DP, Garcea G, et al. Dietary polyphenolic phytochemicals—promising cancer chemopreventive agents in humans? A review of their clinical properties. *Int J Cancer*, 2007, 120(3): 451-458
- [14] Rasheed S, Rehman K, Shahid M, et al. Therapeutic potentials of genistein: New insights and perspectives. *J Food Biochem*, 2022, 46(9): e14228
- [15] Stolfi C, Troncone E, Marafini I, et al. Role of TGF- β and smad7 in gut inflammation, fibrosis and cancer. *Biomolecules*, 2020, 11(1): 17
- [16] Yu Z, Tang Y, Hu D, et al. Inhibitory effect of genistein on mouse colon cancer MC-26 cells involved TGF- β 1/Smad pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 333(3): 827-832
- [17] Chen X, Wu Y, Gu J, et al. Anti-invasive effect and pharmacological mechanism of genistein against colorectal cancer. *BioFactors*, 2020, 46(4): 620-628
- [18] Sasaki N, Shinji S, Shichi Y, et al. TGF- β 1 increases cellular invasion of colorectal neuroendocrine carcinoma cell line through partial epithelial-mesenchymal transition. *Biochem Biophys Res*, 2022, 30: 101239
- [19] Salti GI, Grewal S, Mehta RR, et al. Genistein induces apoptosis and topoisomerase II-mediated DNA breakage in colon cancer cells. *Eur J Cancer*, 2000, 36(6): 796-802
- [20] Corral M, Wallace HM. Upregulation of polyamine transport in human colorectal cancer cells. *Biomolecules*, 2020, 10(4): 499
- [21] Linsalata M, Russo F, Notarnicola M, et al. Effects of genistein on the polyamine metabolism and cell growth in DLD-1 human colon cancer cells. *Nutr Cancer*, 2005, 52(1): 84-93
- [22] Sekar V, Anandasadagopan SK, Ganapasam S. Genistein regulates tumor microenvironment and exhibits anticancer effect in dimethyl hydrazine-induced experimental colon carcinogenesis. *BioFactors*, 2016, 42(6): 623-637
- [23] Zhang Y, Li Q, Zhou D, et al. Genistein, a soya isoflavone, prevents azoxymethane-induced up-regulation of WNT/ β -catenin signalling and reduces colon pre-neoplasia in rats. *Br J Nutr*, 2013, 109(1): 33-42
- [24] Bian J, Dannappel M, Wan C, et al. Transcriptional regulation of Wnt/ β -catenin pathway in colorectal cancer. *Cells*, 2020, 9(9): 2125
- [25] Zhang Y, Chen H. Genistein attenuates WNT signaling by up-regulating sFRP2 in a human colon cancer cell line. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2011, 236(6): 714-722
- [26] Wang H, Li Q, Chen H. Genistein affects histone modifications on Dickkopf-related protein 1 (DKK1) gene in SW480 human colon cancer cell line. *PLoS One*, 2012, 7(7): e40955
- [27] Zhu J, Ren J, Tang L. Genistein inhibits invasion and migration of colon cancer cells by recovering WIF1 expression. *Mol Med Rep*, 2018, 17(5): 7265-7273
- [28] Bian Y, Yang L, Sheng W, et al. Ligustrazine induces the colorectal cancer cells apoptosis via p53-dependent mitochondrial pathway and cell cycle arrest at the G₀/G₁ phase. *Ann Palliat Med*, 2021, 10(2): 1578-1588
- [29] Zhang Z, Wang CZ, Du GJ, et al. Genistein induces G₂/M cell cycle arrest and apoptosis via ATM/p53-dependent pathway in human colon cancer cells. *Int J Oncol*, 2013, 43(1): 289-296
- [30] Qi W, Weber CR, Wasland K, et al. Genistein inhibits proliferation of colon cancer cells by attenuating a negative effect of epidermal growth factor on tumor suppressor FOXO3 activity. *BMC Cancer*, 2011, 11(1): 219
- [31] Fan YZ, Li GH, Wang YH, et al. Effects of genistein on colon cancer cells *in vitro* and *in vivo* and its mechanism of action. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, 2010, 32(1): 4-9
- [32] Xiao X, Liu Z, Wang R, et al. Genistein suppresses FLT4 and inhibits human colorectal cancer metastasis. *Oncotarget*, 2015, 6(5): 3225-3239
- [33] Zhang L, Zhang J, Gong Y, et al. Systematic and experimental investigations of the anti-colorectal cancer mediated by genistein. *BioFactors*, 2020, 46(6): 974-982
- [34] Yoo KH, Kim DH, Oh S, et al. Transcriptome analysis upon potassium usnate exposure reveals ATF3-induced apoptosis in human gastric and colon cancer cells. *Phytomedicine*, 2021, 91: 153655
- [35] Bottone JR, Alston-Mills B. The dietary compounds resveratrol and genistein induce activating transcription factor 3 while suppressing inhibitor of DNA binding/differentiation-1. *J Medicinal Food*, 2011, 14(6): 584-593
- [36] Yu J, Cheng Y, Xie L, et al. Effects of genistein and daidzein on membrane characteristics of HCT cells. *Nutr Cancer*, 1999, 33(1): 100-104
- [37] Qin J, Teng JA, Zhu Z, et al. Genistein induces activation

- of the mitochondrial apoptosis pathway by inhibiting phosphorylation of Akt in colorectal cancer cells. *Pharm Biol*, 2016, 54(1): 74-79
- [38] Wilson LC, Baek SJ, Call A, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drug-activated gene (NAG-1) is induced by genistein through the expression of p53 in colorectal cancer cells. *Int J Cancer*, 2003, 105(6): 747-753
- [39] Zhou P, Wang C, Hu Z, et al. Genistein induces apoptosis of colon cancer cells by reversal of epithelial-to-mesenchymal via a Notch1/NF- κ B/sluc/E-cadherin pathway. *BMC Cancer*, 2017, 17(1): 813
- [40] Yang M, Sun M, Zhang H. The interaction between epigenetic changes, emt, and exosomes in predicting metastasis of colorectal cancers (CRC). *Front Oncol*, 2022, 12: 879848
- [41] Alorda-Clara M, Torrens-Mas M, Morla-Barcelo PM, et al. High concentrations of genistein decrease cell viability depending on oxidative stress and inflammation in colon cancer cell lines. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(14): 7526
- [42] Dariya B, Muppala S, Srivani G, et al. Targeting STAT proteins via computational analysis in colorectal cancer. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476(1): 165-174
- [43] Bielecki A, Roberts J, Mehta R, et al. Estrogen receptor- β mediates the inhibition of DLD-1 human colon adenocarcinoma cells by soy isoflavones. *Nutr Cancer*, 2011, 63(1): 150-12
- [44] Gentile MS, Vasu C, Green A, et al. Targeting colon cancer cells with genistein-17.1A immunoconjugate. *Int J Oncol*, 2003, 22(5): 955-959
- [45] Rahmani F, Karimi E, Oskoueian E. Synthesis and characterisation of chitosan-encapsulated genistein: its anti-proliferative and anti-angiogenic activities. *J Microencapsulation*, 2020, 37(4): 305-313
- [46] Pool H, Campos-Vega R, Herrera-Hernandez MG, et al. Development of genistein-PEGylated silica hybrid nanomaterials with enhanced antioxidant and antiproliferative properties on HT29 human colon cancer cells. *Am J Transl Res*, 2018, 10(8): 2306-2323