

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2023.02.004

· 基础研究 ·

芝麻酚通过 AMPK/SIRT1/NF- κ B 信号通路调控食管鳞状细胞癌 Eca109 细胞的自噬和凋亡

刘山^a, 王华兵^b, 刘冲^a, 张倬^a(武汉市第三医院 a. 胸外科; b. 重症监护室, 湖北 武汉 430060)

[摘要] **目的:** 探讨芝麻酚(SEM)通过腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)/沉默信息调节因子1(SIRT1)/核因子 κ B(NF- κ B)通路影响食管鳞状细胞癌(ESCC)Eca109细胞自噬和凋亡的机制。**方法:** 用不同浓度的SEM(0、1.562 5、3.125、6.25、12.5、25、50、100、200、400 μ mol/L)分别处理Eca109细胞、人食管上皮细胞HEEPiC 48 h, CCK-8法检测细胞增殖率, 筛选适宜的SEM浓度用于后续实验。将Eca109细胞分为对照组(CK组, 0 μ mol/L)、低剂量SEM组(SEM-L组, 25 μ mol/L)、中剂量SEM组(SEM-M组, 50 μ mol/L)、高剂量SEM组(SEM-H组, 100 μ mol/L)、高剂量SEM+Compound C(AMPK抑制剂)组(SEM-H+Compound C组, 100 μ mol/L+10 μ mol/L), 所有各组Eca109细胞在对应的药物浓度下处理48 h后, CCK-8法检测Eca109细胞增殖, 流式细胞术检测细胞凋亡, 透射电镜观察Eca109细胞内自噬小体, WB法检测Eca109细胞中微管相关蛋白1轻链3(LC3)-II/LC3-I、Beclin-1、B淋巴细胞瘤2(Bcl2)、Bcl2相关X蛋白(BAX)、p-AMPK、SIRT1、p-NF- κ B p65的表达。**结果:** 通过预实验选择SEM实验浓度为25、50、100 μ mol/L用于正式研究。在SEM处理下, 与CK组比较, SEM-L组、SEM-M组、SEM-H组Eca109细胞的增殖水平(24、48 h)和Bcl2、p-NF- κ B p65蛋白表达均显著降低, 细胞凋亡率和自噬小体数量、LC3-II/LC3-I、Beclin-1、BAX、p-AMPK、SIRT1蛋白表达显著升高, 且呈剂量依赖性(均 $P<0.05$); 与SEM-H组比较, SEM-H+Compound C组Eca109细胞增殖水平(24、48 h)和Bcl2、p-NF- κ B p65蛋白表达均显著升高, 细胞凋亡率和自噬小体数量、LC3-II/LC3-I、Beclin-1、BAX、p-AMPK、SIRT1蛋白表达均显著降低(均 $P<0.05$)。**结论:** SEM可能通过激活AMPK/SIRT1信号通路而抑制NF- κ B活性来促进Eca109细胞自噬与凋亡。

[关键词] 食管鳞状细胞癌; Eca109细胞; 芝麻酚; 腺苷酸活化蛋白激酶通路; 沉默信息调节因子1通路; 核因子 κ B通路; 细胞自噬; 凋亡

[中图分类号] R735.1; R730.2 [文献标识码] A [文章编号] 1007-385x(2023)02-0123-06

Sesamol regulates autophagy and apoptosis of esophageal squamous cell carcinoma Eca109 cells through AMPK/SIRT1/NF- κ B signal pathway

LIU Shan^a, WANG Huabing^b, LIU Chong^a, ZHANG Zhuo^a(a. Department of Thoracic Surgery; b. Intensive Care Unit, Wuhan Third Hospital, Wuhan 430060, Hubei, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of sesamol (SEM) on autophagy and apoptosis of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) Eca109 cells through adenylate activated protein kinase (AMPK)/silencing information regulator 1 (SIRT1)/nuclear factor κ B (NF- κ B) pathway. **Methods:** Eca109 cells of ESCC and HEEPiC of human esophageal epithelial cells were treated with different concentrations of SEM (0, 1.562 5, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200, and 400 μ mol/L) for 48 hours. Cell viability was detected by CCK-8 method and appropriate SEM concentrations were screened for subsequent experiments. Eca109 cells were grouped into control group (CK group, 0 μ mol/L), low-dose SEM group (SEM-L group, 25 μ mol/L), medium-dose SEM group (SEM-M group, 50 μ mol/L), high-dose SEM group (SEM-H group, 100 μ mol/L) and high-dose SEM+compound C (AMPK inhibitor) group (SEM-H+Compound C group, 100 μ mol/L+10 μ mol/L). All Eca109 cells were treated at the corresponding drug concentration for 48 hours. CCK-8 assay was applied to detect the proliferation of Eca109 cells; flow cytometry was applied to detect apoptosis; transmission electron microscopy was applied to observe autophagosomes in Eca109 cells and WB assay was applied to detect the protein expressions of microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3)-II/LC3-I, Beclin-1, B-lymphoma-2 (Bcl2), Bcl2-associated X protein (BAX), p-AMPK, SIRT1, p-NF- κ B p65 in Eca109 cells. **Results:** The SEM concentrations of 25, 50 and 100 μ mol/L selected through pre-experiment are used for formal research. Under SEM processing, compared with the CK group, the proliferation levels (24, 48 h) of Eca109 cells, protein expressions of Bcl2 and p-NF- κ B p65 in SEM-L group, SEM-M group and SEM-H group decreased significantly while the apoptosis rate, the number of autophagosomes, the protein expressions of LC3 II-/LC3-I,

[基金项目] 湖北省科技厅科研计划项目(No.2019CFB789)

[作者简介] 刘山(1982—),男,硕士,主治医师,主要从事食管癌的基础和临床研究, E-mail: hnlxiw@163.com

[通信作者] 张倬, E-mail: 2489036557@qq.com

Beclin-1, BAX, p-AMPK and SIRT1 increased significantly, in a dose-dependent manner (all $P < 0.05$); compared with the SEM-H group, the proliferation level (24, 48 h) of Eca109 cells, protein expressions of Bcl2 and p-NF- κ B p65 in SEM-H+Compound C group increased significantly while the apoptosis rate, the number of autophagosomes, the protein expressions of LC3 II-/LC3-I, Beclin-1, BAX, p-AMPK and SIRT1 decreased significantly (all $P < 0.05$). **Conclusion:** SEM may promote autophagy and apoptosis of Eca109 cells by activating AMPK/SIRT1 signaling pathway and inhibiting NF- κ B vitality.

[Key words] esophageal squamous cell carcinoma (ESCC); Eca109 cell; sesamol; AMP-activated protein kinase pathway; silent information regulator 1 pathway; nuclear factor kappa-B pathway; cell autophagy; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2023, 30(2): 123-128. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.02.004]

食管鳞状细胞癌(esophagealsquamous cell carcinoma, ESCC)作为食管癌的一种主要亚型,是一种侵袭性和致死性的恶性肿瘤,在中国发病率很高^[1]。尽管针对特定分子的药物及其和化疗联合已被开发用于治疗ESCC,但由于淋巴转移或耐药性,晚期患者的5年生存率仍低于20%^[2]。因此,迫切需要开发新的ESCC的治疗药物。芝麻酚(sesamol, SEM)是一种从芝麻和芝麻油中分离出来的天然化合物,已被证明具有潜在的抗癌活性^[3]。据报道^[4], SEM可通过调节肝癌细胞自噬和凋亡来抑制肝癌进展。相关研究^[5]表明,自噬能力不足以及凋亡能力失调是导致ESCC恶性进展的原因之一。而关于SEM对ESCC细胞自噬和凋亡的影响尚未见报道。最近的研究^[6]显示, SEM可通过激活腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)/沉默信息调节因子1(silent information regulator 1, SIRT1)/核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)通路减轻脊髓损伤小鼠神经炎症。SEM能否通过调控AMPK/SIRT1/NF- κ B信号通路影响ESCC细胞自噬和凋亡尚不明确。因此,本研究主要探究SEM对ESCC细胞自噬和凋亡的影响及其作用机制,为将SEM转化应用于ESCC的临床治疗提供有价值的实验资料。

1 材料与方法

1.1 细胞、主要试剂及仪器

人食管上皮细胞HEEpiC及人ESCC细胞Eca109均购自中国科学院上海细胞库。

SEM(货号:SS9090,规格20 mg,纯度 $\geq 98\%$)购自北京索莱宝科技有限公司, AMPK抑制剂Compound C(货号:B3252)购自上海伟寰生物公司, CCK-8试剂盒(货号:R-315)购自上海广锐生物公司, Annexin V-FITC/PI荧光双染细胞凋亡检测试剂盒(货号:FY-PLS5835)购自上海富雨生物公司, BCA蛋白质浓度测定试剂盒(货号:QYK-17609)购自上海齐源生物公司, 兔源一抗Beclin1(货号:ab118148)、微管相关蛋白1轻链3(microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3)(货号:ab128025)、Bcl2相关X蛋白(Bcl2 associated X

protein, BAX)(货号:ab32503)、B淋巴细胞瘤-2基因(B-cell lymphoma-2, Bcl2)(货号:ab32124)、p-AMPK(货号:ab92701)、SIRT1(货号:ab110304)、p-NF- κ B p65(货号:ab239882)、AMPK(货号:ab32112)、NF- κ B p65(货号:ab207297)、 β -actin(货号:ab6276)及辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔二抗(货号:ab205718)均购自英国Abcam公司。HBS-1096A酶标仪购自上海研卉生物科技有限公司, CytoFLEX SRT型流式细胞仪购自贝克曼库尔特商贸(中国)有限公司, HT7800透射电子显微镜购自广州东锐科技有限公司, 蛋白电泳仪购自北京六一仪器厂。

1.2 SEM及Compound C对细胞的处理

将HEEpiC、Eca109细胞置于含有10%胎牛血清的DMEM培养基中,在37 $^{\circ}$ C、5% CO₂条件下进行常规传代培养。将处于对数生长期的Eca109细胞、HEEpiC细胞分别以 1×10^5 个/孔的密度接种于96孔板中,用不同浓度的SEM(0、1.562 5、3.125、6.25、12.5、25、50、100、200、400 μ mol/L)分别处理Eca109细胞、HEEpiC细胞48 h,再向每孔中加入10 μ L CCK-8试剂,反应2 h后用酶标仪测量450 nm处的光密度(D)值,分别计算Eca109细胞、HEEpiC细胞的存活率。细胞存活率=(实验组D值-空白组D值)/(CK组D值-空白组D值) $\times 100\%$ (CK组为0 μ mol/L的对照组)。根据细胞存活率筛选适宜的SEM浓度用于后续实验。每个SEM处理浓度设立6个复孔。

将处于对数生长期的Eca109细胞分为CK组(0 μ mol/L)、低剂量SEM组(SEM-L组, 25 μ mol/L)、中剂量SEM组(SEM-M组, 50 μ mol/L)、高剂量SEM组(SEM-H组, 100 μ mol/L)、高剂量SEM+Compound C(AMPK抑制剂)组^[7](100 μ mol/L SEM-H+10 μ mol/L Compound C组),所有Eca109细胞在对应的药物浓度下处理48 h后,用于后续实验。

1.3 CCK-8法检测药物处理对Eca109细胞增殖的影响

将Eca109细胞以 1×10^4 个/孔的密度接种在96孔板中,每组设立6个复孔。分别按照1.2中的分组进行药物处理,分别在药物处理的0、24、48 h时,向各孔加入10 μ L CCK-8试剂,反应2 h后,用酶标仪测量

450 nm 处的 D 值。

1.4 流式细胞术检测药物处理对 Eca109 细胞凋亡的影响

收集 1.2 中的各组 Eca109 细胞,用 1×结合缓冲液将细胞密度调整为 5×10^5 个/mL,取 100 μL 细胞悬液,并向细胞悬液中加入 5 μL V-FITC 和 10 μL PI,利用流式细胞仪检测细胞凋亡情况,细胞凋亡率=(凋亡细胞数目/总细胞数目)×100%。每组设立 6 个复孔。

1.5 透射电镜观察药物处理对 Eca109 细胞内自噬小体的影响

收集 1.2 中的各组 Eca109 细胞,调整细胞密度为 5×10^5 个/管,并接种于 1 mL 离心管中,经离心富集后加热至 50 °C,再加入 2% 琼脂糖包裹成细胞团块,将细胞团块用 2.5% 戊二醛固定,随后脱水、包埋、切片、染色,通过透射电镜观察 Eca109 细胞中自噬小体(由双层膜结构包围的细胞质或细胞器的结构)的形成情况,并统计自噬小体数量。每组设立 6 个复孔。

1.6 WB 法检测药物处理后的 Eca109 细胞中 LC3-II/LC3-I、Beclin-1、BAX、Bcl2、p-AMPK、SIRT1、p-NF-κB p65 等蛋白的表达

用 RIPA 裂解缓冲液裂解并提取 Eca109 细胞中的总蛋白,BCA 蛋白质浓度测定试剂盒测定提取的蛋白质浓度。将 50 μg 总蛋白以 10% SDS-PAGE 分离,将蛋白条带转移到聚偏二氟乙烯膜上。用 5% 脱脂牛奶封闭 2 h 后,加入一抗 LC3 (1:2 000)、Beclin-1 (1:2 000)、BAX (1:1 000)、Bcl2 (1:1 000)、p-AMPK (1:2 000)、AMPK (1:1 000)、SIRT1 (1:2 000)、p-NF-κB p65 (1:1 000)、NF-κB p65 (1:2 000)、β-actin (1:2 000) 抗体,在 4 °C 下过夜;然后加入二抗 (1:3 000) 在常温下处理 2 h。利用 ECL 试剂显色蛋白条带,Image J 软件分析蛋白质条带灰度值。每组设立 6 个复孔。

1.7 统计学处理

使用 SPSS 19.0 统计软件进行统计分析。以上实验均独立重复 3 次,符合正态分布的定量数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。单因素方差分析用于多组之间的比较,进一步两组间比较采用 SNK-q 检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度 SEM 对 Eca109 及 HEEpiC 细胞存活率的影响

人食管上皮细胞 HEEpiC 在各浓度 SEM 处理下细胞存活率差异无统计学意义(均 $P > 0.05$);随着 SEM 浓度的升高,Eca109 细胞存活率逐渐降低($P < 0.05$),25、50、100 μmol/L SEM 处理下 Eca109 细胞存活率高于 50%,故选择 SEM 处理浓度为 25、50、100 μmol/L

用于后续研究,见表 1。

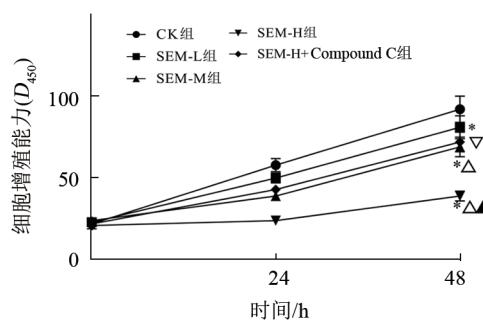
表 1 不同浓度 SEM 处理 48 h 对 Eca109 细胞及 HEEpiC 细胞存活的影响($n=6, \bar{x} \pm s; \%$)

SEM/(μmol·L ⁻¹)	HEEpiC 细胞存活	Eca109 细胞存活
0	99.94±0.03	99.92±0.06
1.562	99.86±0.11	99.89±0.10
3.125	99.87±0.10	99.85±0.10
6.25	99.88±0.09	99.83±0.09
12.5	99.92±0.04	84.43±4.15*
25	99.91±0.06	79.63±2.24*
50	99.89±0.05	71.15±2.05*
100	99.90±0.07	63.37±1.45*
200	98.27±0.67	42.56±2.57*
400	98.14±0.72	31.18±1.33*

与 0 μmol/L SEM 比较,* $P < 0.05$

2.2 SEM 对 Eca109 细胞增殖能力的影响

与 CK 组比较,SEM-L 组、SEM-M 组、SEM-H 组 Eca109 细胞增殖能力(24、48 h)显著减弱,且呈剂量依赖性(均 $P < 0.05$);与 SEM-H 组比较,SEM-H+Compound C 组 Eca109 细胞增殖能力(24、48 h)重又增强(均 $P < 0.05$),见图 1。



与 CK 组比较,* $P < 0.05$;与 SEM-L 组比较,[△] $P < 0.05$;与 SEM-M 组比较,[▲] $P < 0.05$;与 SEM-H 组比较,[▽] $P < 0.05$

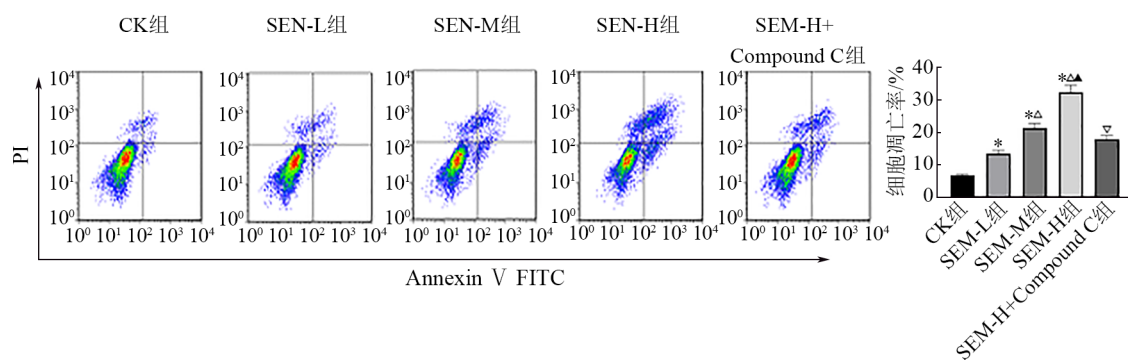
图 1 SEM 对 Eca109 细胞增殖能力的影响

2.3 SEM 对 Eca109 细胞凋亡能力的影响

与 CK 组比较,SEM-L 组、SEM-M 组、SEM-H 组 Eca109 细胞凋亡率升高,且呈剂量依赖性($P < 0.05$);与 SEM-H 组比较,SEM-H+Compound C 组 Eca109 细胞凋亡率降低($P < 0.05$),见图 2。

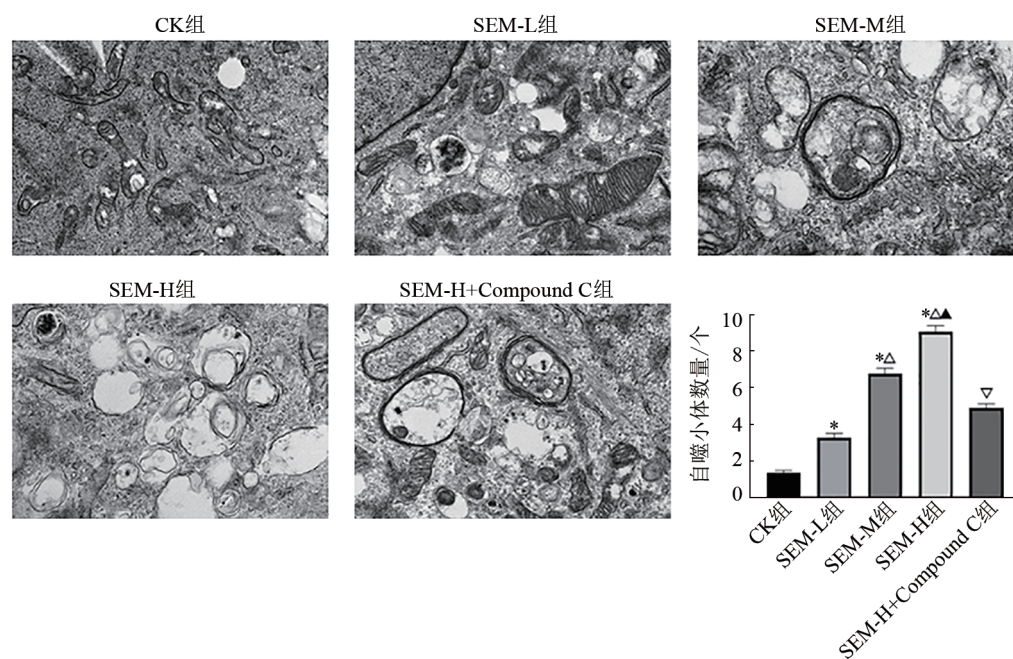
2.4 SEM 对 Eca109 细胞自噬的影响

与 CK 组比较,SEM-L 组、SEM-M 组、SEM-H 组 Eca109 细胞内自噬小体数量升高,且呈剂量依赖性(均 $P < 0.05$);与 SEM-H 组比较,SEM-H+compound C 组 Eca109 细胞内自噬小体数量降低($P < 0.05$),见图 3。



与CK组比较, * $P < 0.05$; 与SEM-L组比较, [△] $P < 0.05$; 与SEM-M组比较, [▲] $P < 0.05$; 与SEM-H组比较, [▽] $P < 0.05$

图2 流式细胞术检测SEM和Compound C处理的各组Eca109细胞的凋亡水平



与CK组比较, * $P < 0.05$; 与SEM-L组比较, [△] $P < 0.05$; 与SEM-M组比较, [▲] $P < 0.05$; 与SEM-H组比较, [▽] $P < 0.05$

图3 透射电镜观察SEM和Compound C处理的Eca109细胞内自噬小体数量($\times 15\ 000$)

2.5 SEM对Eca109细胞中凋亡和自噬相关蛋白及AMPK/SIRT1/NF- κ B信号通路相关蛋白表达的影响

WB检测Eca109细胞中自噬相关蛋白结果显示,与CK组比较,SEM-L组、SEM-M组、SEM-H组Eca109细胞中LC3-II/LC3-I、Beclin-1蛋白表达升高且呈剂量依赖性(均 $P < 0.05$);与SEM-H组比较,SEM-H+Compound C组Eca109细胞中LC3-II/LC3-I、Beclin-1表达重又降低(均 $P < 0.05$)。WB法检测Eca109细胞中凋亡相关蛋白结果显示,与CK组比较,SEM-L组、SEM-M组、SEM-H组Eca109细胞中BAX蛋白表达升高,Bcl2蛋白表达降低,且呈剂量依赖性(均 $P < 0.05$);与SEM-H组比较,SEM-H+Compound C组Eca109细胞中BAX蛋白表达降低,Bcl2蛋白表达升高($P < 0.05$)。WB法检测Eca109细胞中AMPK/SIRT1/NF- κ B信号通路相关蛋白结果显示,与CK组比较,SEM-L组、SEM-M组、SEM-H

组Eca109细胞中p-AMPK、SIRT1蛋白表达升高,p-NF- κ B p65蛋白表达降低,且呈剂量依赖性(均 $P < 0.05$);与SEM-H组比较,SEM-H+Compound C组Eca109细胞中p-AMPK、SIRT1蛋白表达降低,p-NF- κ B p65蛋白表达升高($P < 0.05$)。见图4。结果表明,Compound C部分逆转了高剂量SEM对Eca109细胞中AMPK/SIRT1信号通路的激活以及NF- κ B通路的抑制作用,同时逆转了对细胞自噬与凋亡相关蛋白表达的促进作用。

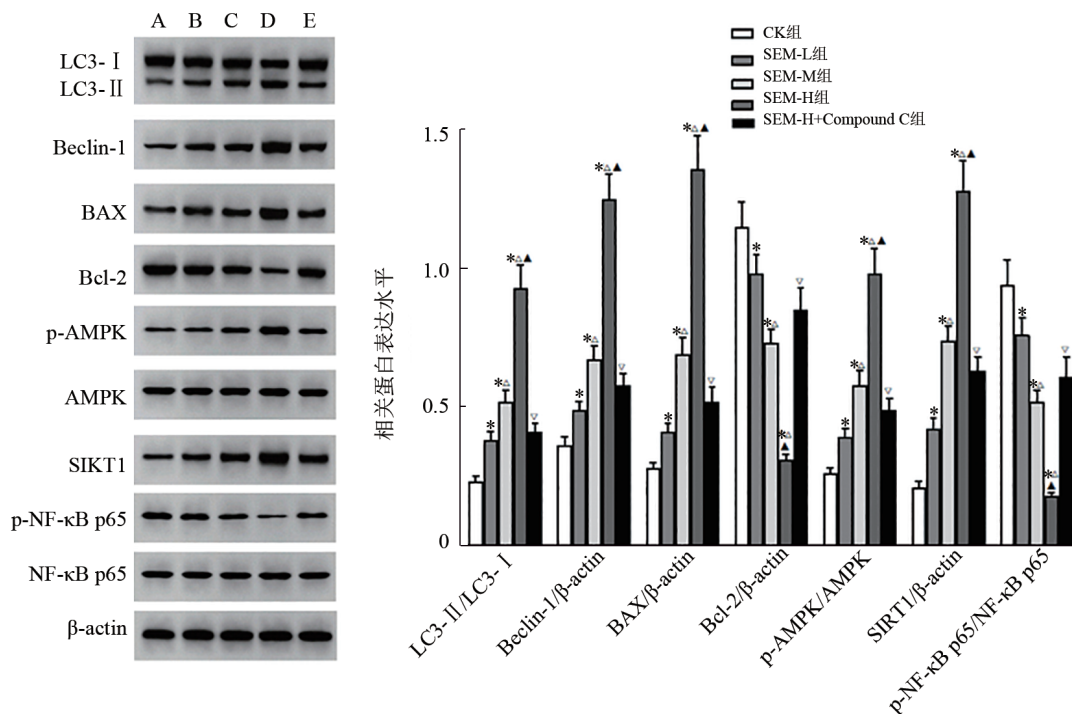
3 讨论

3.1 SEM促进Eca109细胞凋亡

SEM是芝麻油的主要活性成分,其具有抗癌、抗炎、抗衰老等作用^[8]。据报道,SEM可诱导口腔鳞状细胞癌细胞凋亡^[9];SEM处理增强了宫颈癌HeLa细胞的凋亡率^[10];SEM诱导杜氏利什曼原虫细胞凋亡

样细胞死亡^[11]。以上研究表明, SEM 具有诱导细胞凋亡的作用。本研究结果与其是一致的。本研究显示, 与 CK 组比较, SEM-L 组、SEM-M 组、SEM-H 组 Eca109 细胞凋亡率升高, 细胞增殖能力降低, 且呈剂量依赖性, 表明 SEM 可促进 Eca109 细胞凋亡。BAX、Bcl2 作为评估细胞凋亡常见的蛋白分子, BAX

具有促进细胞凋亡的作用, 而 Bcl2 则对细胞凋亡发挥抑制作用^[12]。本研究显示, 与 CK 组比较, SEM-L 组、SEM-M 组、SEM-H 组 Eca109 细胞中 BAX 蛋白表达升高, Bcl2 蛋白表达降低, 且呈剂量依赖性, 再次从凋亡机制上证实了 SEM 对 Eca109 细胞凋亡的促进作用。



与 CK 组比较, * $P < 0.05$; 与 SEM-L 组比较, ^ $P < 0.05$; 与 SEM-M 组比较, ^ $P < 0.05$; 与 SEM-H 组比较, ∇ $P < 0.05$

A: CK 组; B: SEM-L 组; C: SEM-M 组; D: SEM-H 组; E: SEM-H+Compound C 组

图4 WB法检测SEM和Compound C处理后的Eca109细胞中LC3-II/LC3-I、Beclin-1、BAX、Bcl2、p-AMPK、SIRT1、p-NF-κB p65等蛋白的表达

3.2 SEM 促进 Eca109 细胞自噬

除细胞凋亡外, 细胞自噬在调节细胞死亡方面也发挥着重要作用。自噬被认为在癌症中发挥双重作用, 它可以通过过度的自我消化促进细胞死亡, 以防止氧化应激和基因组不稳定, 而自噬的高活性也有助于癌细胞应对高蛋白毒性和代谢应激, 因此促进细胞存活^[13]。当自噬被触发时, LC3 从其水溶性 LC3-I 形式转变为脂溶性 LC3-II 形式并与自噬囊泡结合形成自噬体^[14]; Beclin-1 是一种衔接蛋白, 在自噬起始阶段发挥重要作用^[15]。因此, LC3-II/LC3-I、Beclin-1 水平的升高可作为衡量自噬激活的重要指标。本研究显示, SEM 可促进 Eca109 细胞内自噬小体数量的增加以及 LC3-II/LC3-I、Beclin-1 表达的上升, 且呈剂量依赖性, 表明 SEM 可促进 Eca109 细胞自噬, 进而促进 Eca109 细胞死亡。有研究显示, SEM 通过调控细胞自噬对环磷酸腺苷诱导的肺损伤提供保护作用^[16]; SEM 通过调控细胞自噬抑制肝癌进

展^[17]。本研究与上述研究结果是一致的, 表明 SEM 通过调控细胞自噬的方式来调节细胞死亡, 进而抑制疾病的进展。提示 SEM 可能成为临床上治疗 ESCC 的潜在有效药物。

3.3 SEM 通过激活 AMPK/SIRT1 信号通路促进 Eca109 细胞自噬与凋亡

AMPK 是多种癌症中细胞能量状态的主要传感器, 活化的 AMPK 会提高细胞内 NAD⁺ 浓度并激活 SIRT1, 激活的 SIRT1 会抑制 NF-κB 的表达, 进而在包括肿瘤在内的多种疾病中发挥重要调控作用^[18]。据报道, 激活 AMPK/SIRT1 信号通路可促进神经细胞自噬进而对脊髓损伤神经元发挥保护作用^[19]; 激活 AMPK/SIRT1 通路介导的自噬可减轻骨关节炎小鼠软骨降解^[20]; 抑制 NF-κB 通路可促进宫颈癌细胞凋亡^[21]。本研究结果与其是一致的。本研究显示, 与 CK 组比较, SEM-L 组、SEM-M 组、SEM-H 组 Eca109 细胞中 p-AMPK、SIRT1 蛋白表达升高, p-NF-κB p65

蛋白表达降低,且呈剂量依赖性,推测SEM可能通过激活AMPK/SIRT1信号通路抑制NF- κ B活性来促进Eca109细胞自噬与凋亡。为了验证该推测,本研究在高剂量SEM作用的基础上再加上AMPK抑制剂Compound C来干预Eca109细胞,结果显示,Compound C减弱了高剂量SEM对Eca109细胞自噬与凋亡的促进作用,证实了SEM是通过激活AMPK/SIRT1信号通路抑制NF- κ B活性来促进Eca109细胞自噬与凋亡的。

综上所述,SEM可能通过激活AMPK/SIRT1信号通路抑制NF- κ B活性来促进Eca109细胞自噬与凋亡,该研究为将SEM应用于ESCC的临床治疗提供了实验依据。然而,本研究尚存在不足之处,SEM对Eca109细胞自噬与凋亡的促进作用可能还涉及其他通路,但本研究尚未涉及,这将是后续探究的重点。

[参考文献]

- [1] JIANG Y N, ZHANG J, ZHAO J M, *et al.* TOPK promotes metastasis of esophageal squamous cell carcinoma by activating the Src/GSK3 β /STAT3 signaling pathway via γ -catenin[J/OL]. BMC Cancer, 2019, 19(1): 1264[2022-11-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31888532/>. DOI: 10.1186/s12885-019-6453-z.
- [2] LU Z, REN Y, YANG L, *et al.* Inhibiting autophagy enhances sulforaphane-induced apoptosis via targeting NRF2 in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Acta Pharm Sin B, 2021, 11(5): 1246-1260. DOI: 10.1016/j.apsb.2020.12.009.
- [3] MA X, WANG J H, HU G F, *et al.* Sesamol epigenetically induces estrogen receptor α re-expression by upregulating miR-370-3p in estrogen receptor α -negative breast cancer[J]. J Agric Food Chem, 2021, 69(31): 8737-8746. DOI: 10.1021/acs.jafc.1c03159.
- [4] LIU Z G, REN B, WANG Y H, *et al.* Sesamol induces human hepatocellular carcinoma cells apoptosis by impairing mitochondrial function and suppressing autophagy[J/OL]. Sci Rep, 2017, 7: 45728 [2022-11-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28374807/>. DOI: 10.1038/srep45728.
- [5] LI M L, MENG X L, LI M X. MiR-126 promotes esophageal squamous cell carcinoma via inhibition of apoptosis and autophagy[J]. Aging, 2020, 12(12): 12107-12118. DOI: 10.18632/aging.103379.
- [6] FENG X C, CHEN X H, ZAEEM M, *et al.* Sesamol attenuates neuroinflammation by regulating the AMPK/SIRT1/NF- κ B signaling pathway after spinal cord injury in mice[J/OL]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 8010670[2022-11-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35035666/>. DOI: 10.1155/2022/8010670.
- [7] WU Y, YAN B H, XU W Q, *et al.* Compound C enhances the anticancer effect of aspirin in HER-2-positive breast cancer by regulating lipid metabolism in an AMPK-independent pathway[J]. Int J Biol Sci, 2020, 16(4): 583-597. DOI: 10.7150/ijbs.39936.
- [8] WANG J S, TSAI P H, TSENG K F, *et al.* Sesamol ameliorates renal injury-mediated atherosclerosis via inhibition of oxidative stress/IKK α /p53[J/OL]. Antioxidants (Basel), 2021, 10(10): 1519[2022-11-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC8532890/>. DOI: 10.3390/antiox10101519.
- [9] EZHILARASAN D, ALI D, VARGHESE R. Sesamol induces cytotoxicity via mitochondrial apoptosis in SCC-25 cells[J]. Hum Exp Toxicol, 2021, 40(12_suppl): S423-S433. DOI: 10.1177/096032712111047926.
- [10] XIONG J Y, SHENG J J, WEI Y, *et al.* Sesamol augments paclitaxel-induced apoptosis in human cervical cancer cell lines[J]. Nutr Cancer, 2022, 74(10): 3692-3700. DOI: 10.1080/01635581.2022.2079684.
- [11] ALI R, TABREZ S, AKAND S K, *et al.* Sesamol induces apoptosis-like cell death in *Leishmania donovani*[J/OL]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11: 749420[2022-11-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34778106/>. DOI: 10.3389/fcimb.2021.749420.
- [12] LIU L B, HUANG S H, XU M, *et al.* Isoquercitrin protects HUVECs against high glucose-induced apoptosis through regulating p53 proteasomal degradation[J/OL]. Int J Mol Med, 2021, 48(1): 122[2022-11-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33982778/>. DOI: 10.3892/ijmm.2021.4955.
- [13] LI Y Q, LU X L, TIAN P Y, *et al.* Procyanidin B2 induces apoptosis and autophagy in gastric cancer cells by inhibiting Akt/mTOR signaling pathway[J/OL]. BMC Complement Med Ther, 2021, 21(1): 76[2022-11-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33627124/>. DOI: 10.1186/s12906-021-03225-1.
- [14] ONORATI A V, DYCZYNSKI M, OJHA R, *et al.* Targeting autophagy in cancer[J]. Cancer, 2018, 124(16): 3307-3318. DOI: 10.1002/cncr.31335.
- [15] XU T H, GUO J L, WEI M Z, *et al.* Aldehyde dehydrogenase 2 protects against acute kidney injury by regulating autophagy via the Beclin-1 pathway[J/OL]. JCI Insight, 2021, 6(15): e138183[2022-11-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34228649/>. DOI: 10.1172/jci.insight.138183.
- [16] EL-EMAM S Z. Sesamol alleviates the cytotoxic effect of cyclophosphamide on normal human lung WI-38 cells via suppressing RAGE/NF- κ B/autophagy signaling[J]. Nat Prod Bioprospect, 2021, 11(3): 333-343. DOI: 10.1007/s13659-020-00286-6.
- [17] 刘志刚. 食品危害物丙烯酰胺及食品功能因子芝麻酚对细胞线粒体功能调控的分子机制[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2015.
- [18] ZHANG F W, FENG J, ZHANG J Y, *et al.* Quercetin modulates AMPK/SIRT1/NF- κ B signaling to inhibit inflammatory/oxidative stress responses in diabetic high fat diet-induced atherosclerosis in the rat carotid artery[J/OL]. Exp Ther Med, 2020, 20(6): 280 [2022-11-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33200005/>. DOI: 10.3892/etm.2020.9410.
- [19] 闫鹏. AMPK-SIRT1信号通路在脊髓损伤后神经细胞自噬和细胞凋亡调节中的作用[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2018.
- [20] WANG C Z, YAO Z J, ZHANG Y Q, *et al.* Metformin mitigates cartilage degradation by activating AMPK/SIRT1-mediated autophagy in a mouse osteoarthritis model[J/OL]. Front Pharmacol, 2020, 11: 1114[2022-11-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32792951/>. DOI: 10.3389/fphar.2020.01114.
- [21] 祁海云, 王荣兰, 聂伟. SGK1调控NF- κ B通路影响宫颈癌细胞增殖和凋亡的机制研究[J]. 河北医药, 2021, 43(20): 3069-3072, 3077. DOI: 10.3969/j.issn.1002-7386.2021.20.006.

[收稿日期] 2022-11-12

[修回日期] 2023-02-11

[本文编辑] 黄静怡,沈志超