

牙龈卟啉单胞菌促进食管癌细胞 NLRX1 转位激活线粒体自噬的研究

孙玲云^{1,2} 原翔² 石林林² 张秀森² 孔金玉² 张顶彧^{2,3} 高社干²

摘要 目的 探讨牙龈卟啉单胞菌(Pg)与食管癌细胞线粒体自噬的相关性,挖掘食管癌治疗新靶点。方法 ①采用 Western blot 法检测 Pg 感染对食管癌细胞线粒体 UNC-51 样自噬激活激酶 1(ULK1)磷酸化影响,采用免疫组化法检测食管癌组织中 Pg 表达和 ULK1 磷酸化水平的相关性;②利用 Western blot、ICC、ELISA 等方法检测 Pg 感染对食管癌细胞 NOD 样受体家族成员 X1(NLRX1)由胞质向线粒体转位、线粒体自噬及白介素(IL)-6 和活性氧(ROS)分泌水平的影响;③通过 qPCR 及 RNAscope 分别检测线粒体自噬抑制剂及 ULK1 抑制剂处理对 C57 小鼠食管组织中和食管鳞状上皮细胞中 Pg 定植情况的影响。结果 与未处理组相比,食管癌细胞经 Pg 感染后,其线粒体 ULK1 的磷酸化水平升高($P < 0.01$)、NLRX1 表达升高($P < 0.001$)且自噬增强($P < 0.001$)。动物实验结果表明,与对照组相比,联合干预组可抑制 Pg 在小鼠食管组织及食管鳞状上皮细胞中的定植($P < 0.001$)。结论 Pg 通过上调食管癌细胞线粒体 ULK1 磷酸化水平,从而促进 NLRX1 由胞质向线粒体转位,进而诱导线粒体自噬,导致 IL-6 和 ROS 分泌减少,最终维持 Pg 定植。

关键词 食管癌; 牙龈卟啉单胞菌; ULK1; NLRX1; 线粒体自噬

中图分类号 R 735.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2022)12-1908-07

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.12.011

食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是最常见的恶性肿瘤之一^[1]。牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*, Pg)是重要牙周致病菌^[2]。Pg 感染与 ESCC 分化、淋巴结转移、TNM 分期和生存时间缩短呈正相关^[3]。线粒体是宿主防

御细菌感染的关键步骤,当病原体入侵时,线粒体可通过促进白介素(interleukin, IL)-6 等细胞因子以及活性氧(reactive oxygen species, ROS)的分泌,清除病原体^[4-5]。但某些病原体可通过诱导线粒体发生自噬而避免被清除,实现其在体内的定植和存活^[4]。然而, Pg 是否可引起食管癌细胞线粒体自噬目前尚未见报道。UNC-51 样自噬激活激酶 1(unc-51-like autophagy activating kinase 1, ULK1)常受磷酸化调控^[6],并参与线粒体自噬^[7]。核苷酸结合寡聚结构域样受体家族成员 X1(nucleotide binding domain and leucine rich repeat containing family member X1, NLRX1)是一种新型的线粒体自噬受体^[8]。然而,目前关于 NLRX1 如何被上游信号调节以激活受体介导的线粒体自噬作用以及 NLRX1 调控肿瘤发生发展的具体机制尚未明确。

该研究在课题组前期研究基础上,探讨 Pg 感染与食管癌细胞线粒体自噬之间的相关性,深入解析 Pg 通过上调食管癌细胞线粒体 ULK1 磷酸化,促进 NLRX1 由胞质向线粒体转位,进而诱导线粒体自噬,引起 IL-6 和 ROS 分泌减少从而维持 Pg 体内定植的分子机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 选用北京维通利华实验动物技术有限公司 SPF 级 C57BL/6 雄性小鼠,6~8 周龄(18~20 g),饲养于河南科技大学第一附属医院实验动物中心,室温(24.0 ± 0.8)℃,相对湿度 40%~60%,光照采用 12 h 明暗交替。经适应性喂养 1 周后,根据要求开展实验,许可证号:20211208AbZZ-0619000657。

1.2 主要试剂 人食管鳞癌细胞系 KYSE150, ULK1 抗兔一抗(美国 Cell Signaling 公司),p-ULK1 (Ser317)抗兔一抗(美国 Cell Signaling 公司),NLRX1 抗兔一抗(美国 Thermo Fisher Scientific 公司),线粒体红色荧光探针(上海翊圣生物科技有限公司),ULK1(WT)质粒、ULK1(S317D)质粒、ULK1(S317A)质粒(广州易锦生物技术有限公司),高纯

2022-09-20 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81702820)

作者单位:¹河南科技大学临床医学院,河南科技大学第一附属医院 检验科 洛阳 471003

²河南科技大学第一附属医院,河南省肿瘤表观遗传重点实验室 洛阳 471003

³河南科技大学基础医学院 洛阳 471003

作者简介:孙玲云,女,主管技师;

高社干,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者, E-mail: gsg112258@163.com

度线粒体提取试剂盒(德国 Qiagen 公司), SBI-0206965、Mdivi-1(美国 selleck 生物科技有限公司), ROS 检测试剂盒(上海东仁化学科技有限公司), Pg 引物和探针序列(苏州金唯智生物科技有限公司)。

1.3 Western blot 实验 将细胞沉淀或提取的线粒体或胞质加入配置好的蛋白裂解液、吹打均匀后冰上裂解、用 BCA 法进行蛋白定量,电泳,转膜,脱脂奶粉封闭, TBST 洗膜,加入一抗 4 °C 过夜孵育, TBST 清洗,加入二抗室温孵育, TBST 洗膜,采用 ECL 检测目的蛋白条带,凝胶成像系统采集图像并进行定量分析。

1.4 免疫组化实验 将组织进行包埋、切片、烤片、脱蜡、水化、抗原修复,使用过氧化物酶阻断剂封闭,加入一抗孵育, PBS 冲洗,二抗孵育,使用辣根酶标记链霉卵白素工作液封闭,使用 DAB 显色试剂盒进行显色,将显色后的组织进行苏木精衬染,脱水,透明,中性树脂封片。

1.5 免疫荧光实验 培养细胞,加入线粒体红色荧光探针孵育, PBS 洗涤,甲醛固定, Triton X-400 透化, BSA 封闭,加入一抗 4 °C 过夜孵育,加入荧光二抗孵育,加入 DAPI 染液孵育,共聚焦显微镜下观察。

1.6 ROS 的检测 细胞在结束前期预处理后,去除细胞培养液,加入稀释好的 DCFH-DA,孵育 30 min,使用流式细胞仪检测不同处理组 DCF 荧光信号。

1.7 动物实验 将 C57 小鼠分为对照组和实验组,每组 6 只,对照组正常饲养,实验组每天 Pg 灌胃 1 次,灌注 30 d,建立 Pg 感染食管模型。在此基础上,分别设置腹腔注射 Mdivi-1(线粒体自噬抑制剂)组、SBI-0206965(ULK1 抑制剂)组及二者联合注射给药组。在治疗终点,剥离各组小鼠食管组织,进行后续实验。

1.8 qPCR 检测实验小鼠食管组织中 Pg 定植情况

将实验各组小鼠食管黏膜组织剪成绿豆大小,使用 TIANamp Genomic DNA Kit 组织基因组提取试剂盒提取 DNA, Pg 特异性引物探针物序列参考 Kubonawa et al^[9] 文献,反向引物序列为: 5'-CAACCAT-GCAGCACCTACATAGAA-3',正向引物序列为: 5'-ACCTTACCCGGGATTGAAATG-3'。对标准品及受测样本进行 qPCR 扩增,利用 CFX Maestro™ software 软件分析扩增结果。

1.9 RNAscope 检测实验小鼠食管鳞状上皮细胞中 Pg 定植情况 将使用 Pg 灌胃的小鼠安乐死后

进行食管剥离,组织食管石蜡包埋,以 2 μm 连续切片;烤片后二甲苯脱蜡。靶标修复试剂及 RNAscope 双氧水处理,画疏水圈, RNAscope 蛋白酶 Plus 处理,进行 RNAscope 显色检测(含 Pg 特异性探针杂交)。

1.10 统计学处理 应用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析, ESCC 中 P-ULK1 表达与 Pg 的相关性采用 χ^2 检验,以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Pg 感染对食管癌细胞线粒体 ULK1 磷酸化水平的影响 在 Pg 感染 24 h 后, KYSE150 细胞线粒体 ULK1 磷酸化水平(即 P-ULK1 和 ULK1 的比值)高于未感染组($t = 3.962, P < 0.01$) (图 1)。通过免疫组化分析 ESCC 中 Pg 与 P-ULK1 的表达水平,使用 χ^2 检验分析二者相关性。结果如图 2 所示, ESCC 中 P-ULK1 表达与 Pg 的表达水平呈正相关($\chi^2 = 24.09, P < 0.01$)。

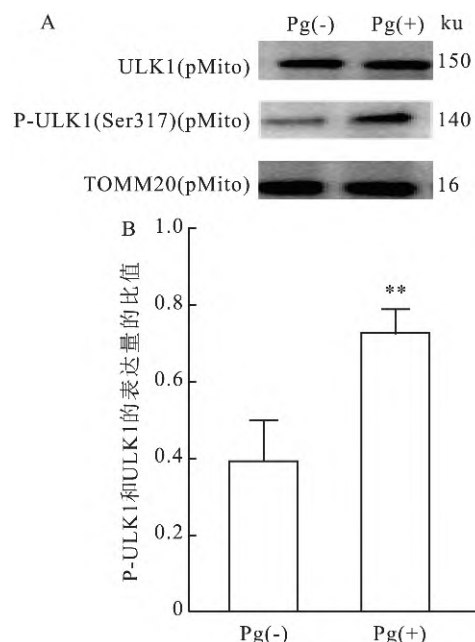


图 1 Pg 感染对食管癌细胞线粒体 ULK1 磷酸化水平的影响

A: Western blot 检测 Pg 感染前后 KYSE150 细胞线粒体 ULK1 磷酸化水平; B: Pg 感染前后 KYSE150 细胞线粒体 ULK1 磷酸化水平定量分析; 与未感染 Pg 组比较: ** $P < 0.01$

2.2 Pg 感染对食管癌细胞 NLRX1 由细胞质向线粒体转位的影响 将 KYSE150 细胞分别设置对照

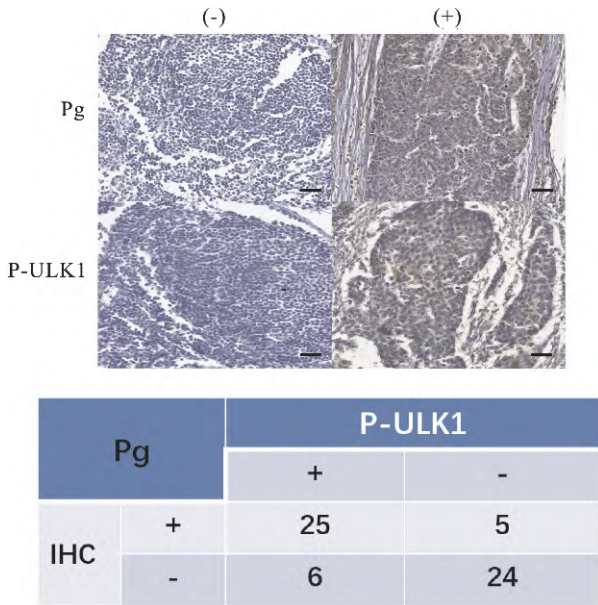


图2 ESCC中Pg与P-ULK1表达水平的免疫组化分析

A: ESCC患者肿瘤组织中Pg和P-ULK1表达的代表性图片×400; B: P-ULK1表达与Pg表达水平的相关性分析

组、Pg感染组、转染ULK1野生型质粒ULK1(WT)组、转染模拟ULK1317位点磷酸化质粒ULK1(S317D)组、Pg感染并转染ULK1317位点磷酸化突变体质粒ULK1(S317A)组。结果如图3所示,与未处理组相比,经Pg感染的KYSE150细胞,其线粒体和细胞质中NLRX1表达量比值升高($P < 0.001$)。与转染ULK1(WT)质粒组相比,转染ULK1(S317D)质粒组细胞线粒体和细胞质中NLRX1表达量比值升高($P < 0.001$) (图3)。激光共

聚焦结果显示,与未处理组相比,经Pg感染的KYSE150细胞NLRX1(绿色荧光)与线粒体特异性红色荧光探针的共定位增加(图4)。

2.3 Pg感染对食管癌细胞线粒体自噬的影响 结果如图5所示,与转染ULK1(WT)质粒组细胞相比,转染ULK1(S317D)质粒组线粒体自噬特异性荧光染料Mphagy Dye荧光强度增强($P < 0.001$),而转染ULK1(S317A)质粒组荧光强度则无明显变化。

2.4 Pg感染对食管癌细胞抑制IL-6分泌的影响 与Pg感染的转染ULK1(WT)质粒细胞相比,转染ULK1(S317A)质粒组细胞IL-6分泌增加($P < 0.01$);而转染ULK1(S317D)质粒组细胞经Pg感染后,IL-6分泌降低($P < 0.01$) (图6)。

2.5 Pg感染对食管癌细胞ROS分泌的影响 与未感染Pg组相比,感染Pg组ROS分泌降低($P < 0.001$);与Pg感染的转染ULK1(WT)质粒细胞相比,转染ULK1(S317A)质粒组细胞ROS分泌增加($P < 0.001$);而转染ULK1(S317D)质粒组细胞经Pg感染后,ROS分泌降低($P < 0.01$) (图7)。

2.6 线粒体自噬抑制剂Mdivi-1联合ULK1抑制剂SBI-0206965对Pg在体内定植的影响 利用qPCR检测各组小鼠食管组织中Pg的定植情况。结果显示,与对照组相比,腹腔注射Mdivi-1或SBI-0206965可降低Pg的定植($P < 0.001$) (图8);而二者联合用药组与单独处理组相比,食管组织中Pg定植量进一步下降($P < 0.05$) (图8)。进一步采用RNAscope检测Pg在小鼠食管鳞状上皮细胞内定植情况,与对照组相比,腹腔注射Mdivi-1或

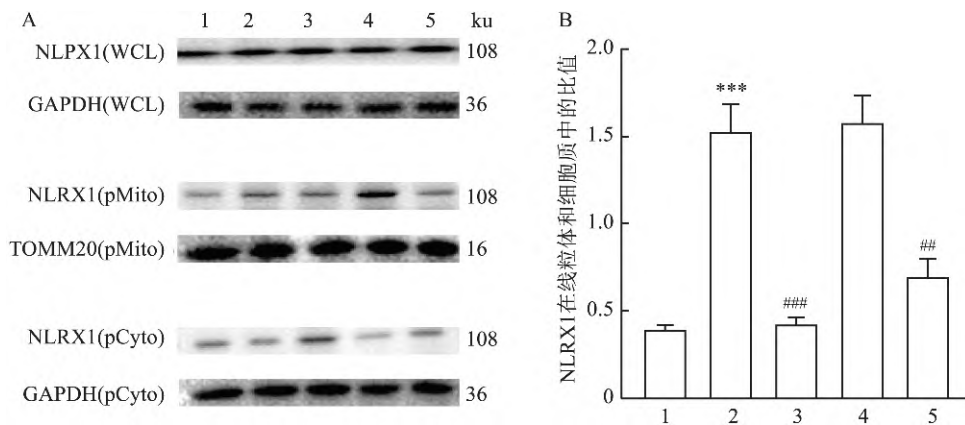


图3 Pg感染对KYSE150细胞NLRX1由细胞质向线粒体转位的影响

A: Western blot法检测不同处理组细胞裂解液、细胞质、线粒体中NLRX1的表达量; B: 不同处理组NLRX1在线粒体和细胞质中表达量的比值分析; 1: 对照组; 2: Pg感染组; 3: 转染ULK1(WT)质粒组; 4: 转染ULK1(S317D)质粒组; 5: Pg感染并转染ULK1(S317A)质粒组; 与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与转染ULK1(S317D)质粒组比较: ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$

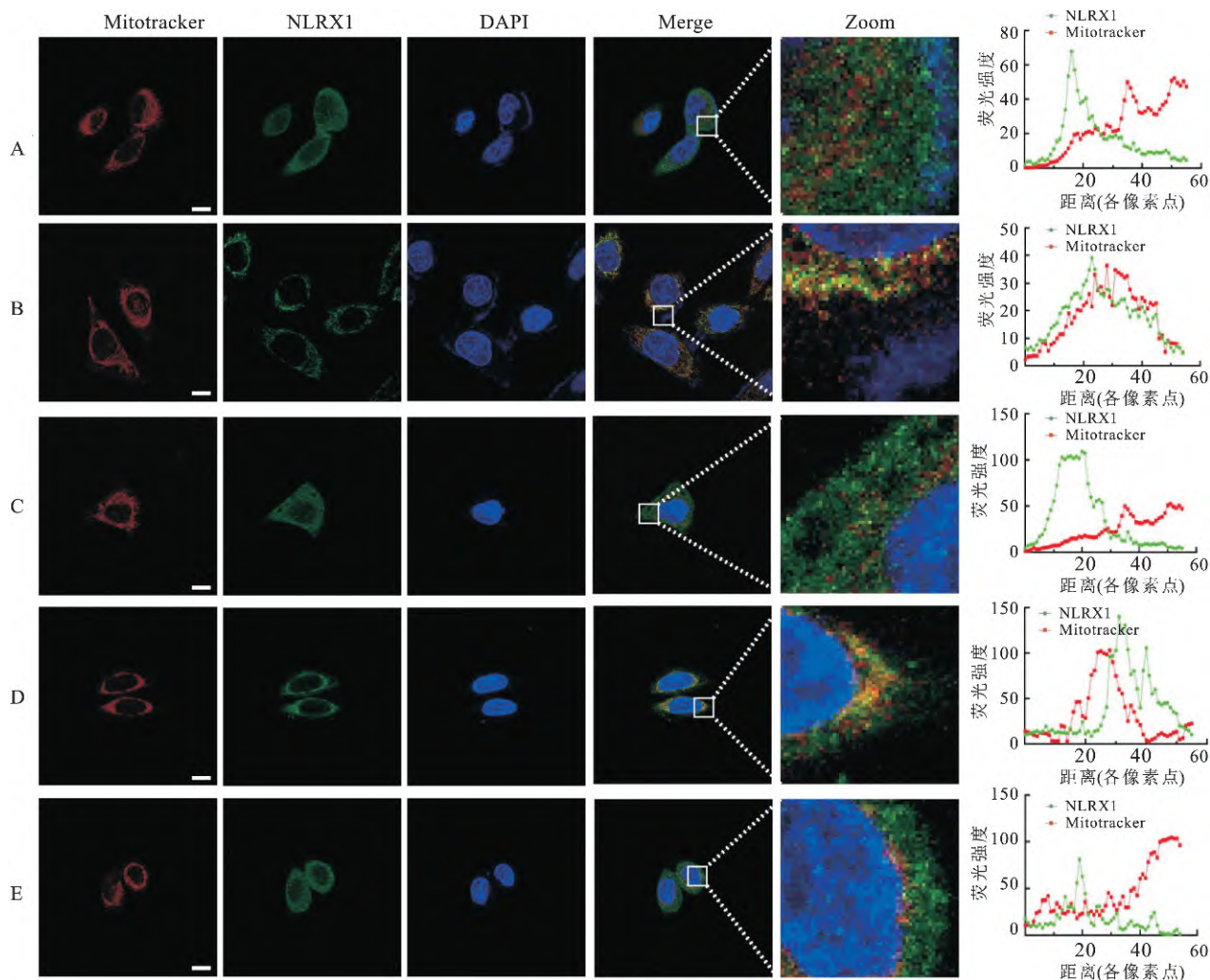


图4 细胞免疫荧光法检测Pg对NLRX1线粒体转位的影响 ×630

A: 对照组; B: Pg 感染组; C: 转染 ULK1(WT) 质粒组; D: 转染 ULK1(S317D) 质粒组; E: Pg 感染并转染 ULK1(S317A) 质粒组

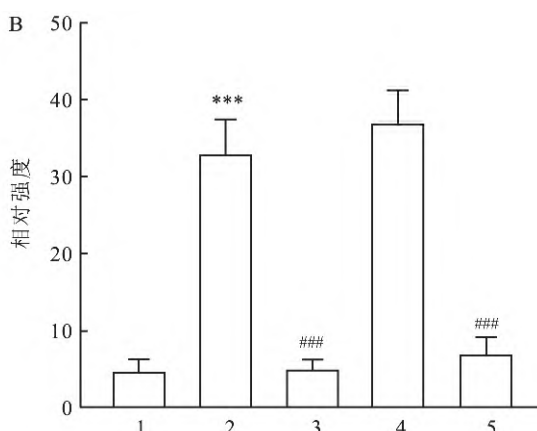
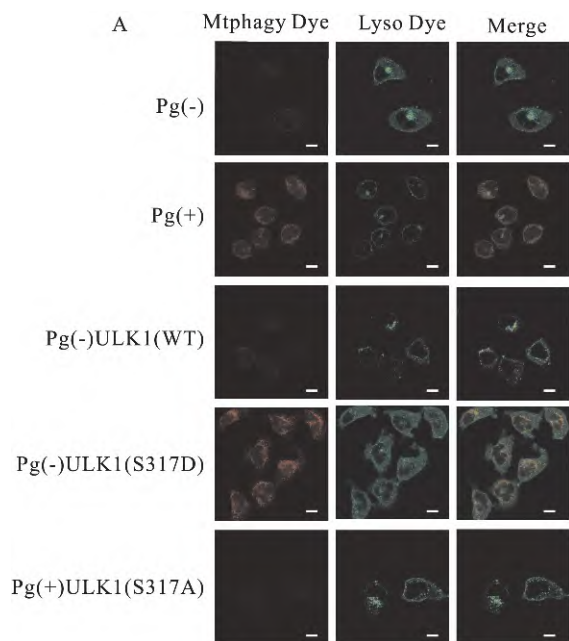


图5 细胞免疫荧光法检测Pg对KYSE150细胞线粒体自噬的影响

A: 不同分组 KYSE150 细胞线粒体自噬情况的免疫荧光图 ×630;
B: 免疫荧光相对强度定量分析; 1: 对照组; 2: Pg 感染组; 3: 转染 ULK1 (WT) 质粒组; 4: 转染 ULK1 (S317D) 质粒组; 5: Pg 感染并转染 ULK1 (S317A) 质粒组; 与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与转染 ULK1(S317D) 质粒组比较: ### $P < 0.001$

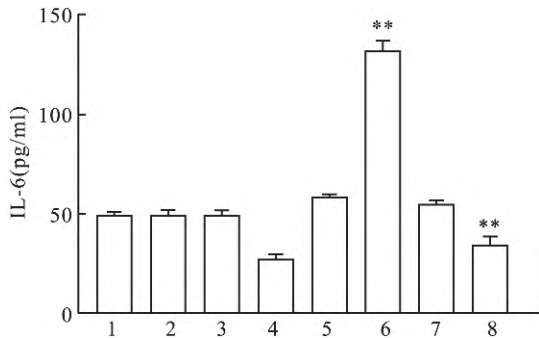


图6 ELISA 法检测 Pg 对 KYSE150 细胞上清液 IL-6 分泌量的影响
1: 对照组; 2: 转染 ULK1(S317A) 质粒组; 3: 转染 ULK1(WT) 质粒组; 4: 转染 ULK1(S317D) 质粒组; 5: Pg 感染组; 6: Pg 感染并转染 ULK1(S317A) 质粒组; 7: Pg 感染并转染 ULK1(WT) 质粒组; 8: Pg 感染并转染 ULK1(S317D) 质粒组; 与 Pg 感染并转染 ULK1(WT) 质粒组比较: ** $P < 0.01$

SBI-0206965 可降低 Pg 的胞内定植量 ($F = 38.746$, $P < 0.001$) (图9); 而二者联合用药组与单独处理组相比, Pg 定植量进一步下降 ($F = 15.116$, $P < 0.05$) (图9)。

3 讨论

食管癌具有早诊率低、预后差、致死率高等特点, 因其病因及演进机制尚不明确, 导致目前国内外在食管癌早期诊疗及精准防控方面并未取得突破性进展。此外, Pg 感染作为 ESCC 的重要危险因素之一, 可促进 ESCC 的恶性进展^[10]。该研究旨在探究 Pg 磷酸化食管癌细胞线粒体 ULK1 从而介导线粒体自噬的分子机制, 挖掘食管癌治疗的新靶点。

通常当细菌入侵人体时, 机体会启动免疫监视机制杀伤细菌, 并且通过自噬途径保护自己, 杀伤异己。然而 Pg 侵入人体后, 可迅速穿透胞膜进入细胞内, 从而在体内长期存活并且引起多种慢性疾病, 其潜在的分子机制仍有待进一步探究。相关研究^[11]表明, Pg 可促进人主动脉内皮细胞自噬, 同时 Pg 通过颠覆宿主细胞自噬途径从而在体内持续存活被认为是其逃避宿主先天免疫系统的一种细菌策略。然而, 关于 Pg 如何介导食管癌细胞线粒体自噬的研究

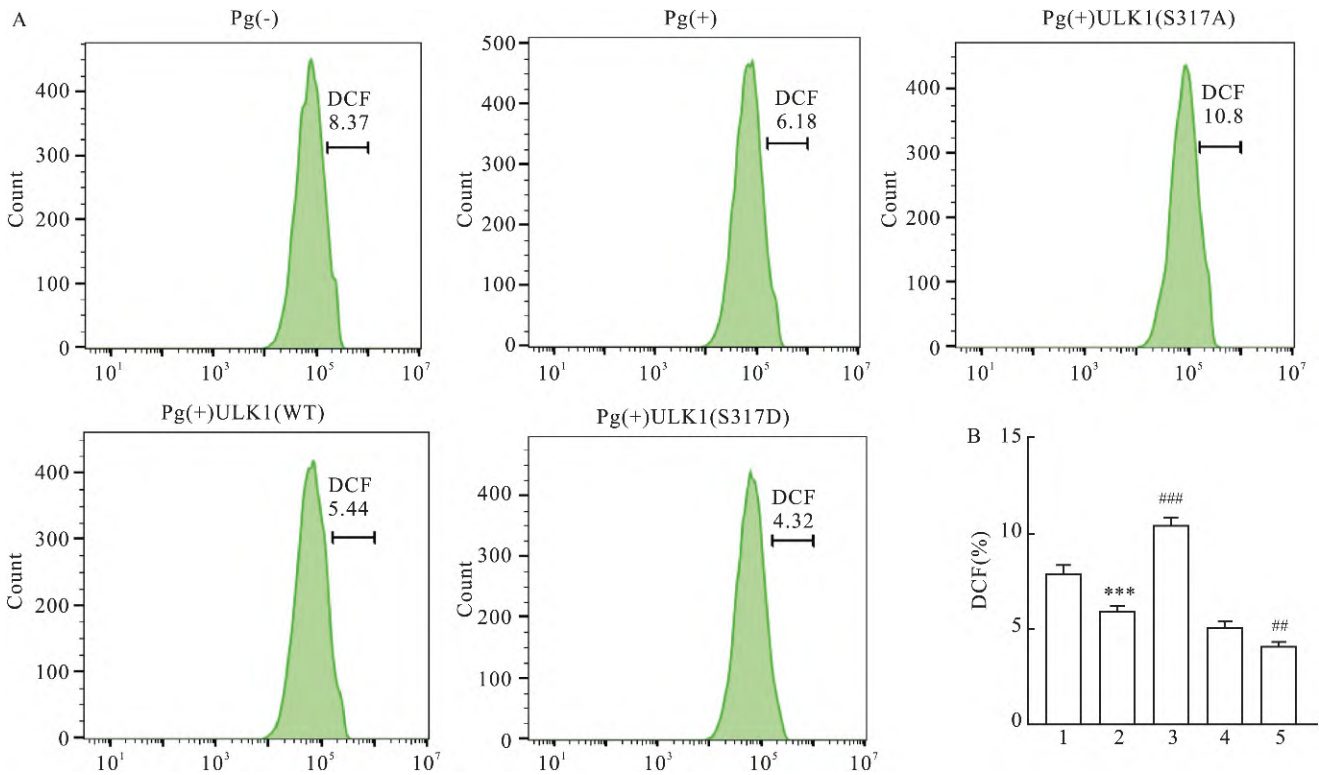


图7 流式细胞术检测 Pg 对 KYSE150 细胞 ROS 分泌量的影响

A: 不同分组 KYSE150 细胞中 ROS 分泌的流式分析; B: DCF 荧光强度定量分析; 1: 对照组; 2: Pg 感染组; 3: Pg 感染并转染 ULK1(S317A) 质粒组; 4: Pg 感染并转染 ULK1(WT) 质粒组; 5: Pg 感染并转染 ULK1(S317D) 质粒组; 与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与 Pg 感染并转染 ULK1(WT) 质粒组比较: ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$

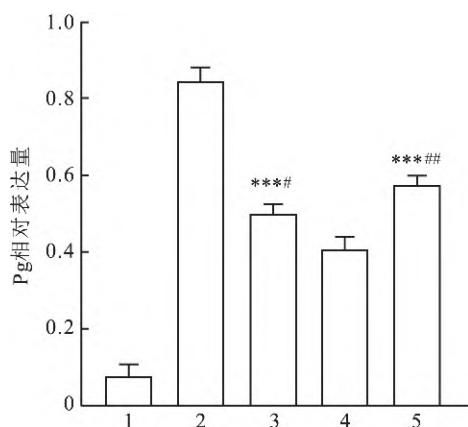


图8 qPCR 法测量 Mdivi-1 和 SBI-0206965

对 C57 小鼠食管组织 Pg 载菌量的影响

1: 对照组; 2: 口腔灌注 Pg 并腹腔注射生理盐水稀释的等比例 DMSO 稀释液组; 3: 口腔灌注 Pg 并腹腔注射 Mdivi-1 组; 4: 口腔灌注 Pg 并腹腔注射 Mdivi-1 和 SBI-0206965 组; 5: 口腔灌注 Pg 并腹腔注射 SBI-0206965 组; 与口腔灌注 Pg 并腹腔注射生理盐水稀释的等比例 DMSO 稀释液组比较: *** $P < 0.001$; 与口腔灌注 Pg 并腹腔注射 Mdivi-1 和 SBI-0206965 组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

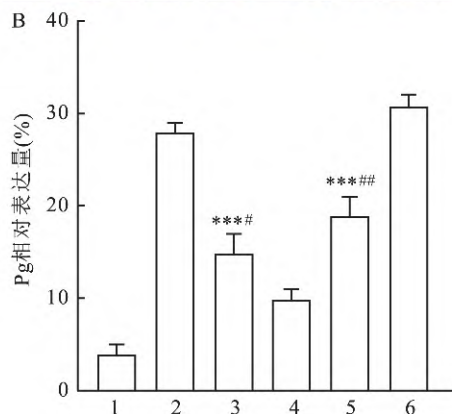
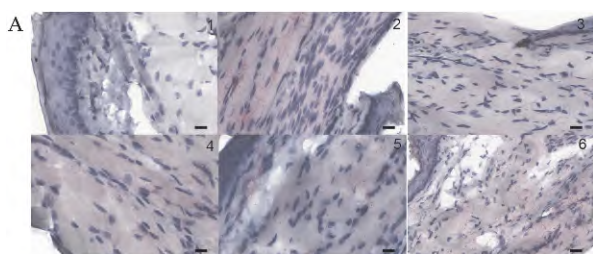


图9 不同分组小鼠食管黏膜鳞状上皮 RNAscope

检测及 Pg 的定量统计图

A: RNAscope 检测 Pg 在小鼠食管鳞状上皮细胞内定植情况 $\times 400$; B: Pg 表达的相对定量分析; 1: 对照组; 2: 口腔灌注 Pg 并腹腔注射生理盐水稀释的等比例 DMSO 稀释液组; 3: 口腔灌注 Pg 并腹腔注射 Mdivi-1 组; 4: 口腔灌注 Pg 并腹腔注射 Mdivi-1 和 SBI-0206965 组; 5: 口腔灌注 Pg 并腹腔注射 SBI-0206965 组; 6: 阳性对照组; 与口腔灌注 Pg 并腹腔注射生理盐水稀释的等比例 DMSO 稀释液组比较: *** $P < 0.001$; 与口腔灌注 Pg 并腹腔注射 Mdivi-1 和 SBI-0206965 组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

目前尚未见报道。

相关研究^[12-13]表明线粒体可以通过产生 ROS 抑制细菌生长, 从而阻止其在体内定植, 但是细菌可以通过引起线粒体自噬而减少 ROS 产生, 从而维持自身定植。该研究表明 Pg 可以显著抑制 ROS 产生, 在进一步探究 Pg 抑制 ROS 产生的分子机制的过程中, 表明 Pg 感染可诱导食管癌细胞线粒体自噬。为了深入探究 Pg 引起线粒体自噬的分子机制, 该研究首先采用线粒体提取和 Western blot 实验证实 Pg 感染可上调食管癌细胞线粒体 ULK1 Ser317 位点磷酸化水平。根据文献^[14]报道, 将某位点 S 突变成 D 可以模拟该位点的磷酸化, 将某位点 S 突变成 A, 即可变为该位点磷酸化突变体。该研究通过构建和转染模拟 ULK1 317 位点磷酸化质粒 ULK1 (S317D) 和 ULK1 317 位点磷酸化突变体质粒 ULK1 (S317A) 进一步证实 Pg 通过磷酸化食管癌细胞线粒体 ULK1 促进 NLRX1 由胞质向线粒体转位, 诱导线粒体自噬, 引起 IL-6 和 ROS 分泌减少, 从而维持其在体内的定植。

有研究^[8, 15]表明 NLRX1 可以和线粒体上的微管相关蛋白轻链 3 结合进而促进线粒体自噬, Pg 通过磷酸化食管癌细胞线粒体 ULK1 促进 NLRX1 由胞质向线粒体转位后通过何种途径引起线粒体自噬仍需进一步研究。该研究初步在线粒体自噬层面揭示了 Pg 在体内定植的机制, Pg 在食管上皮细胞内能长期定植, 是否是多种因素和机制共同作用的结果, 有待进一步分析。

参考文献

- [1] 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 [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] Huang C, Shih C, Tsao N, et al. The groel protein of *Porphyromonas gingivalis* regulates atherogenic phenomena in endothelial cells mediated by upregulating toll-like receptor 4 expression [J]. Am J Transl Res, 2016, 8(2): 384-404.
- [3] Gao S G, Yang J Q, Ma Z K, et al. Preoperative serum immunoglobulin G and A antibodies to *Porphyromonas gingivalis* are potential serum biomarkers for the diagnosis and prognosis of esophageal squamous cell carcinoma [J]. BMC cancer, 2018, 18(1): 17.
- [4] Zhang Y, Yao Y, Qiu X, et al. Listeria hijacks host mitophagy through a novel mitophagy receptor to evade killing [J]. Nat Immunol, 2019, 20(4): 433-46.
- [5] Lin Q, Li S, Jiang N, et al. PINK1-parkin pathway of mitophagy protects against contrast-induced acute kidney injury via decreasing mitochondrial ROS and NLRP3 inflammasome activation [J].

- Redox Biol, 2019, 26: 101254.
- [6] Yan J, Kuroyanagi H, Kuroiwa A, et al. Identification of mouse ULK1, a novel protein kinase structurally related to *C. elegans* UNC-51 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 246(1): 222–7.
- [7] Wu W, Tian W, Hu Z, et al. ULK1 translocates to mitochondria and phosphorylates FUNDC1 to regulate mitophagy [J]. *EMBO Rep*, 2014, 15(5): 566–75.
- [8] Chu X, Wu S, Raju R. NLRX1 regulation following acute mitochondrial injury [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2431.
- [9] Kubonwa M, Amano A, Kimura K R, et al. Quantitative detection of periodontal pathogens using real-time polymerase chain reaction with TaqMan probes [J]. *Oral Microbiol Immunol*, 2004, 19(3): 168–76.
- [10] Gao S, Liu Y, Duan X, et al. *Porphyromonas gingivalis* infection exacerbates oesophageal cancer and promotes resistance to neoadjuvant chemotherapy [J]. *Br J Cancer*, 2021, 125(3): 433–44.
- [11] Rodrigues P H, Belanger M, Dunn W, et al. *Porphyromonas gingivalis* and the autophagic pathway: an innate immune interaction [J]. *Front Biosci*, 2008, 13(1): 178–87.
- [12] Van A H, Coenye T. The role of reactive oxygen species in antibiotic-mediated killing of bacteria [J]. *Trends Microbiol*, 2017, 25(6): 456–66.
- [13] Zhang Y, Yao Y, Qiu X, et al. *Listeria* hijacks host mitophagy through a novel mitophagy receptor to evade killing [J]. *Nat Immunol*, 2019, 20(4): 433–46.
- [14] 潘林鑫, 徐涛, 范礼斌, 等. RB1-C 磷酸化位点突变体与 Sedlin 的共定位研究 [J]. *安徽医科大学学报*, 2021, 56(6): 839–44.
- [15] Li S, Zhou Y, Gu X, et al. NLRX1/FUNDC1/NIPSNAP1-2 axis regulates mitophagy and alleviates intestinal ischaemia/reperfusion injury [J]. *Cell Prolif*, 2021, 54(3): e12986.

***Porphyromonas gingivalis* promotes NLRX1 translocation to activate mitophagy in esophageal carcinoma cells**

Sun Lingyun^{1,2}, Yuan Xiang², Shi Linlin², Zhang Xiuse², Kong Jinyu², Zhang Dingyu^{2,3}, Gao Shegan²
 (¹*Dept of Clinical Laboratory of The First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, College of Clinical Medicine of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003;*
²*Henan Key Laboratory of Cancer Epigenetics, The First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003;* ³*College of Basic Medicine of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003*)

Abstract Objective To explore the relationship between *Porphyromonas gingivalis* (Pg) and mitophagy in esophageal cancer cells, and to explore new therapeutic targets for esophageal cancer. **Methods** ① Western blot was used to detect the phosphorylation of unc-51-like autophagy activating kinase1 (ULK1) in mitochondria of the Pg infected cells and immunohistochemical method was used to detect the correlation between the expression of Pg and the phosphorylation status of ULK1 in esophageal cancer tissues. ② Western blot, ICC and ELISA were used to detect the transfer of nucleotide binding domain and leucine rich repeat containing family member X1 (NLRX1) from cytoplasm to mitochondria, mitophagy, and the secretion levels of interleukin (IL)-6 and reactive oxygen species (ROS) under Pg infection. ③ Pg colonization in esophageal tissues of mice in each group was detected by qPCR and Pg colonization in esophageal squamous epithelial cells of mice by RNAscope. **Results** Compared with the untreated group, the phosphorylation level of mitochondrial ULK1 ($P < 0.01$), NLRX1 expression ($P < 0.001$) and mitophagy ($P < 0.001$) of esophageal cancer cells increased after Pg infection. Compared with the control group, the combined intervention group could inhibit Pg colonization in esophageal tissue and esophageal squamous epithelial cells of mice ($P < 0.001$). **Conclusion** Pg promotes the translocation of NLRX1 from cytoplasm to mitochondria by up-regulating the phosphorylation level of ULK1 in the mitochondria of esophageal cancer cells, and then induces mitophagy, leading to the reduction secretion of IL-6 and ROS, and ultimately maintaining Pg colonization. **Key words** esophageal cancer; *Porphyromonas gingivalis*; ULK1; NLRX1; mitophagy