·论著·

依托咪酯调节 SPHK1/S1P/S1PR3 通路对食管癌细胞恶性生物学行为的影响*

杨丽娜 姬雅君 崔文斌 李玲 郭洋洋

(沧州市中心医院麻醉医学中心,河北 沧州 061000)

【摘要】 目的 探讨依托咪酯(ETO)是否可调控 SPHK1/S1P/S1PR3 信号通路影响食管癌(EC)细胞恶性生物学行为。**方法** 将 EC 细胞 KYSE30 分为 NC 组、ETO 组、PC-NC 组、PC-SPHK1 组、ETO+PC-NC 组、ETO+PC-SPHK1 组;检测 KYSE30 细胞 SPHK1 mRNA 表达、增殖、凋亡、迁移和侵袭、CXCL-2 和 CXCL-8 水平、B7H1、E-cadherin、N-cadherin、vimentin、PCNA、cleaved caspase-3、SPHK1、S1P、S1PR3 蛋白表达水平;建立裸鼠移植瘤模型,观察 ETO 对移植瘤生长的影响。**结果** 与 NC 组比较,ETO 组 KYSE30 细胞 SPHK1 mRNA 表达水平、OD_{490}(24、48 h)值、细胞迁移和侵袭细胞数量、CXCL-2 和 CXCL-8 水平、B7H1、N-cadherin、vimentin、PCNA、SPHK1、S1P 和 S1PR3 蛋白表达水平降低,凋亡率、E-cadherin、cleaved caspase-3 蛋白表达水平升高($P<0.05$);与 PC-NC 组比较,PC-SPHK1 组 KYSE30 细胞 SPHK1 mRNA 表达水平、OD_{490}(24、48 h)值、细胞迁移和侵袭细胞数量、CXCL-2 和 CXCL-8 水平、B7H1、N-cadherin、vimentin、PCNA、SPHK1、S1P 和 S1PR3 蛋白表达水平升高,凋亡率、E-cadherin、cleaved caspase-3 蛋白表达水平降低($P<0.05$);过表达 SPHK1 可减弱 ETO 对 KYSE30 细胞恶性生物学行为的抑制作用($P<0.05$);裸鼠移植瘤实验结果显示,ETO 可抑制肿瘤生长,促进肿瘤组织细胞凋亡($P<0.05$)。**结论** ETO 可抑制 KYSE30 细胞恶性生物学行为,可能与抑制 SPHK1/S1P/S1PR3 信号通路有关。

【关键词】 依托咪酯;SPHK1/S1P/S1PR3 信号通路;食管癌;增殖;凋亡

【中图分类号】 R735.1 **【文献标志码】** A **DOI**:10.3969/j.issn.1672-3511.2026.09.005

ETOmidate inhibits malignant biological behaviors of esophageal cancer cells via regulating the SPHK1/S1P/S1PR3 signaling pathway

YANG Lina, JI Yajun, CUI Wenbin, LI Ling, GUO Yangyang

(*Anesthesia Medical Center, Cangzhou Central Hospital, Cangzhou* 061000, *Hebei, China*)

【Abstract】 Objective To investigate whether etomidate (ETO) affects the malignant biological behaviors of esophageal cancer (EC) cells by regulating the sphingosine kinase 1/sphingosine-1-phosphate/sphingosine-1-phosphate receptor 3 (SPHK1/S1P/S1PR3) signaling pathway. **Methods** EC cells KYSE30 were divided into NC group, ETO group, pc-NC group, pc-SPHK1 group, ETO+pc-NC group, and ETO+pc-SPHK1 group. The SPHK1 mRNA expression, proliferation, apoptosis, migration, invasion, CXCL-2 and CXCL-8 levels, B7H1, E-cadherin, N-cadherin, vimentin, PCNA, cleaved caspase-3, SPHK1, S1P, S1PR3 proteins in KYSE30 cells were detected. A nude mouse transplant tumor model was established, and the effect of ETO on transplant tumor growth was observed. **Results** Compared with the NC group, the ETO group exhibited significantly decreased mRNA expression of SPHK1, OD490 values at 24 h and 48 h, numbers of migratory and invasive cells, levels of CXCL-2 and CXCL-8, and protein expressions of B7H1, N-cadherin, vimentin, PCNA, SPHK1, S1P and S1PR3 in KYSE30 cells, while significantly increased apoptosis rate and protein expressions of E-cadherin and cleaved caspase-3 ($P<0.05$). Compared with the pc-NC group, the pc-SPHK1 group showed increased SPHK1 mRNA, OD_{490}(24h, 48h) values, cell migration and invasion numbers, CXCL-2 and CXCL-8 levels, B7H1, N-cadherin, vimentin, PCNA, SPHK1, S1P, and S1PR3 proteins in KYSE30 cells, while decreased apoptosis rate, E-cadherin and cleaved caspase-3 proteins ($P<0.05$). Overexpression of SPHK1 was able to weaken the inhibitory effect

基金项目:河北省医学科学研究课题计划项目(20211257)

引用本文:杨丽娜,姬雅君,崔文斌,等.依托咪酯调节 SPHK1/S1P/S1PR3 通路对食管癌细胞恶性生物学行为的影响[J].西部医学,2026,38(9):1277-1283.DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2026.09.005

of ETO on the malignant biological behaviors of KYSE30 cells ($P<0.05$). Nude mouse xenograft experiments confirmed that ETO inhibited tumor growth and promoted apoptosis of tumor tissue cells($P<0.05$). **Conclusion**　ETO can inhibit the malignant biological behaviors of KYSE30 cells, which may be related to the inhibition of the SPHK1/S1P/S1PR3 signaling pathway.

【Key words】 ETOmidate; SPHK1/S1P/S1PR3 signaling pathway; Esophageal cancer; Proliferation; Apoptosis

食管癌(Esophageal cancer,EC)是我国高发恶性肿瘤,以食管鳞状细胞癌(Esophageal squamous cell carcinoma,ESCC)为主,占比超 90%[1-2]。由于 ESCC 的早期症状不典型、缺乏有效的诊断和治疗靶点,大多数患者在诊断时已经发生转移[3-5]。手术是食管癌的核心根治手段,但术后肿瘤复发转移率高,患者 5 年生存率仍偏低[6-8]。值得注意的是,手术麻醉作为肿瘤手术不可或缺的环节,麻醉药物的选择不仅关乎手术安全,更可能通过调控癌细胞生物学行为影响患者预后,部分麻醉药物可通过调节肿瘤相关信号通路,干预癌细胞增殖、迁移及免疫逃逸,为临床优化麻醉方案、改善患者远期结局提供了新方向[9]。依托咪酯(ETOmidate,ETO)是临床常用静脉麻醉药,具有起效快、对循环呼吸抑制轻等优势,广泛应用于肿瘤手术诱导麻醉[10]。近年研究证实,ETO 兼具潜在抑癌活性,可抑制子宫内膜癌、EC 等多种肿瘤细胞的恶性生物学行为[11-12]。ETO 对食管癌细胞的抑制作用也已被初步证实[12],但具体分子机制尚未明确,尤其在手术麻醉场景下,其是否通过调控关键信号通路实现抑癌效应,仍需深入探究。SPHK1/S1P/S1PR3 信号通路在癌细胞增殖和凋亡过程中发挥重要的调控作用[13-14]。研究显示,抑制该通路可抑制卵巢癌细胞增殖、细胞上皮间质转化(Epithelial-mesenchymal transition,EMT)、迁移和侵袭,促进细胞凋亡,裸鼠移植瘤实验中可抑制肿瘤生长[15]。抑制该通路可提高肺癌细胞对吉非替尼的敏感性,促进癌细胞凋亡[16]。推测抑制 SPHK1/S1P/S1PR3 通路抑制癌症进展。ETO 是否可调节该信号通路影响 EC 细胞恶性生物学行为尚不明确。基于此,本研究就 ETO 是否可调节 SPHK1/S1P/S1PR3 信号通路来抑制 EC 细胞恶性生物学行为进行探讨。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　细胞和动物　KYSE30 细胞(广州赛库生物技术有限公司)。BALB/c 裸鼠,20 只,SPF 级,体重(20±2)g,赛业(固安)生物科技有限公司,许可证号:SCXK(冀)2021-003。饲养条件[温度(22±2)℃,湿度(60±5)%,自然光照 12 h]。本研究已获得赛业(固安)生物科技有限公司动物伦理委员会批准(批号:2024-10164)。

1.1.2　主要试剂　PC-NC 和 PC-SPHK1 质粒(广州易锦生物技术有限公司);ETO(江苏恩华药业股份有限公司);Transwell 小室、细胞凋亡、RT-PCR 和 RNA 试剂盒、MTT 试剂和 BCA 试剂盒(上海泽叶生物科技有限公司);B7H1、PCNA、cleaved caspase-3、E-cadherin、N-cadherin、vimentin、SPHK1、S1P、S1PR3 和 β-ACTIN 一抗及二抗(英国 Abcam 公司);HM-96A 酶标仪(山东恒美电子科技有限公司);WY-3230 显微镜(广东创新仪器科技有限公司)。

1.2　方法

1.2.1　分组与干预　将 KYSE30 细胞分为 NC 组、PC-NC 组、PC-SPHK1 组、ETO 组、ETO + PC-NC 组、ETO+PC-SPHK1 组;NC 组(不干预),PC-NC 组(转染 PC-NC)、PC-SPHK1 组(转染 PC-SPHK1)、ETO 组(30 μmol/L 的 ETO 干预)[12]、ETO+PC-NC 组(转染 PC-NC 后用 30 μmol/L 的 ETO 干预)、ETO+PC-SPHK1 组(转染 PC-SPHK1 后用 30 μmol/L 的 ETO 干预),干预培养 48 h 后进行后续试验。

1.2.2　RT-PCR 检测 SPHK1 mRNA 表达表达水平　提取细胞总 RNA 并逆转录为 CDNA,对 CDNA 进行 RT-PCR 扩增。引物:SPHK1 mRNA 正向:5′-TCTATAGTGCTGTTGTCACACC-3′;反向:5′-CAAGCTCCTCCGGCTACTGAGTC-3′;GAPDH 正向:5′-GAGTCAACGGATTTGGTCGTT-3′;反向:5′-TTGATTTTGGAGGGATCTCG-3′。以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算 SPHK1 mRNA 表达水平。

1.2.3　MTT 试验　1 000 rpm 离心 5 min 各组 KYSE30 细胞培养液 5 min,收集细胞重悬至 5×10^6 个/mL。取 100 μL 细胞悬液接种于 96 孔板中培养,分别在 24 h 和 48 h 时加入 20 μL 的 MTT,再加入 150 μL 的 DMSO,酶标仪检测 490 nm 处吸光值,以评估细胞增殖能力。

1.2.4　细胞凋亡分析　收集各组离心的 KYSE30 细胞,重悬至 1×10^6 个/mL,取 200 μL 接种于 24 孔板,依次加入 5 μL 的 ANNEXIN V-FITC 和 5 μL 的 PI 试剂进行染色,无光照条件下孵育 15 min 后,用预热 30 min 的流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.2.5　细胞迁移和侵袭分析　将各组离心收集的 KYSE30 细胞重悬为 1×10^5 个/mL,取 200 μL 加入 Transwell 上室,下室加入 600 μL 含血清培养基,培养 24 h,4%的多聚甲醛固定 10 min,结晶紫染色后用显微镜观察分析细胞迁移数量。侵袭实验中 Tran-

swell 上室用 Matrigel 基质胶包被，后续步骤同上。

1.2.6 CXCL-2 和 CXCL-8 水平分析 1 000 rpm 离心 5 min 各组细胞并收集细胞培养液，取 100 μL 加入酶标板，再加入 ELISA 试剂盒中预先稀释的反应试剂和显色试剂，终止液终止反应，酶标仪测定吸光值，根据标准品吸光值绘制的标准曲线计算 CXCL-2 和 CXCL-8水平。

1.2.7 Western blot 检测细胞相关蛋白表达 提取各组 KYSE30 细胞总蛋白后，用 BCA 法检测蛋白浓度，95 ℃热水处理蛋白样品 5 min 使其变性，取 10 μL 样品加入电泳槽电泳，转至 PVDF 膜，封闭 2 h，加入 B7H1、PCNA、cleaved caspase-3、E-cadherin、N-cadherin、vimentin、SPHK1、S1P、S1PR3 和 β-ACTIN 兔抗4 ℃孵育过夜，再加入二抗孵育 2 h，ECL 显色后用 Image-Pro Plus 6.0 分析蛋白灰度值。

1.2.8 裸鼠移植瘤模型建立 将收集的 KYSE30 细胞浓度调整为 5×10^6 个/mL，将 100 μL 细胞悬液注射于 BALB/c 裸鼠右侧腋窝皮下，当肿瘤长至体积约 100 mm^3 时开始给药[6]，将裸鼠随机分为对照组和药物组，每组 10 只。药物组腹腔注射 5 mg/kg 的 ETO[6]，对照组用等量生理盐水代替，1 次/d，持续 21 d，颈椎脱臼法处死裸鼠，切下肿瘤，测量肿瘤体积并称重。

1.2.9 TUNEL染色 肿瘤组织用多聚甲醛固定 24 h后，清洗，梯度乙醇脱水，二甲苯透明后浸蜡包埋，切片(4 μM)，烤片固定，脱蜡至水，蛋白酶 K 室温孵育 10 min，然后加入 TUNEL 反应混合液，37 ℃避光孵育 60 min 后，DAPI 染色 10 min。PBS 清洗后用抗荧光淬灭剂封片，荧光显微镜观察分析细胞凋亡情况。

1.3 统计学分析 采用 Graphpad Prism 8.0.1 软件进行统计学分析，数据以($\bar{x}\pm s$)表示，单因素方差分析和 SNK-q 检验分析多组间差异和组内两两差异；$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ETO 对 KYSE30 细胞 SPHK1 mRNA 表达的影响 SPHK1 mRNA 表达水平比较：ETO 组低于 NC 组($P<0.05$)，PC-SPHK1 组高于 PC-NC 组($P<0.05$)，ETO＋PC-SPHK1 组高于 ETO＋PC-NC 组($P<0.05$)，见表 1。

表 1 ETO 对 KYSE30 细胞 SPHK1 mRNA 表达的影响($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Table 1 Effect of ETO on SPHK1 mRNA expression in KYSE30 cells

组别	SPHK1 mRNA
NC 组	1.00±0.00
ETO 组	0.35±0.02①
PC-NC 组	1.01±0.02
PC-SPHK1 组	1.82±0.07②
ETO+PC-NC 组	0.36±0.02
ETO+PC-SPHK1 组	0.73±0.04③

注：与 NC 组比较，①$P<0.05$；与 PC-NC 组比较，②$P<0.05$；与 ETO+PC-NC 组比较，③$P<0.05$。

2.2 ETO 对各组 KYSE30 细胞增殖和凋亡的影响 ETO 组 KYSE30 细胞 OD_{490}(24 h、48 h)值低于 NC 组，凋亡率高于 NC 组($P<0.05$)，PC-SPHK1 组 OD_{490}(24 h、48 h)值高于 PC-NC 组，凋亡率低于 PC-NC 组($P<0.05$)，ETO＋PC-SPHK1 组 OD_{490}(24、48 h)值高于 ETO＋PC-NC 组，凋亡率低于 ETO＋PC-NC 组($P<0.05$)，见图 1、表 2。

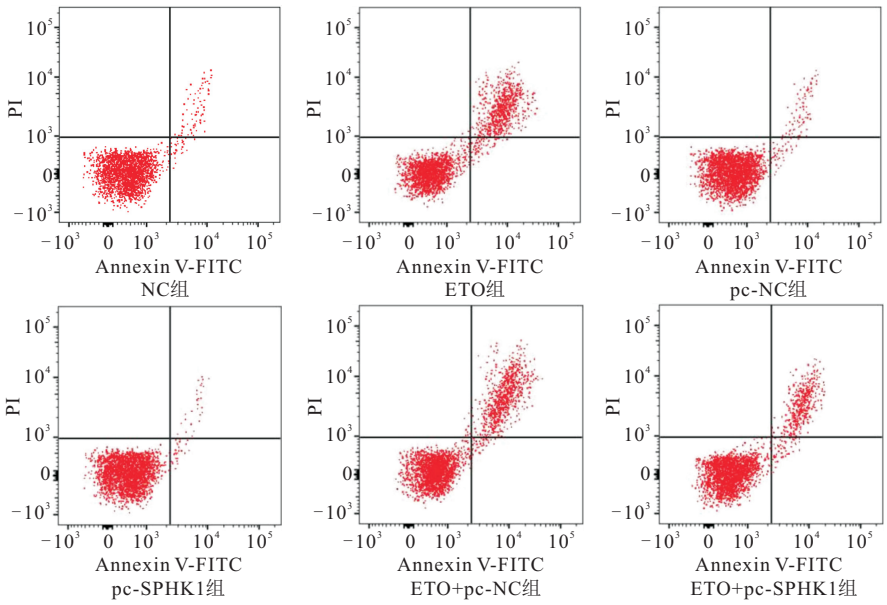

图 1 流式细胞术检测细胞凋亡

Figure 1 Apoptosis detected by flow cytometry

表 2　各组 KYSE30 细胞增殖能力和凋亡率比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Table 2　Comparison of proliferation ability and apoptosis rate of KYSE30 cells in each group

组别	OD_{490}		凋亡率(%)
	24 h	48 h	
NC 组	0.40±0.03	0.82±0.05	5.27±0.68
ETO 组	0.21±0.02①	0.43±0.03①	43.58±4.92①
PC-NC 组	0.39±0.03	0.81±0.05	5.62±0.74
PC-SPHK1 组	0.54±0.03②	1.04±0.06②	0.75±0.12②
ETO+PC-NC 组	0.22±0.00	0.45±0.04	44.89±5.31
ETO+PC-SPHK1 组	0.31±0.02③	0.63±0.04③	23.46±2.87③

注：与 NC 组比较，①$P<0.05$；与 PC-NC 组比较，②$P<0.05$；与 ETO+PC-NC 组比较，③$P<0.05$。

2.3　ETO 对各组 KYSE30 细胞迁移和侵袭能力的影响　KYSE30 细胞迁移和侵袭细胞数量比较：ETO 组低于 NC 组($P<0.05$)，PC-SPHK1 组高于 PC-NC 组($P<0.05$)，ETO+PC-SPHK1 组高于 ETO+PC-NC 组($P<0.05$)，见表 3、图 2、3。

表 3　各组 KYSE30 细胞迁移和侵袭能力比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$, 个)

Table 3　Comparison of migration and invasion abilities of KYSE30 cells in different groups

组别	迁移数量	侵袭数量
NC 组	194.86±25.74	167.54±21.36
ETO 组	83.54±12.42①	65.47±8.92①
PC-NC 组	197.32±26.83	171.25±21.67
PC-SPHK1 组	278.49±31.56②	254.83±30.48②
ETO+PC-NC 组	81.73±11.95	62.96±8.65
ETO+PC-SPHK1 组	145.67±18.38③	123.72±16.81③

注：与 NC 组比较，①$P<0.05$；与 PC-NC 组比较，②$P<0.05$；与 ETO+PC-NC 组比较，③$P<0.05$。

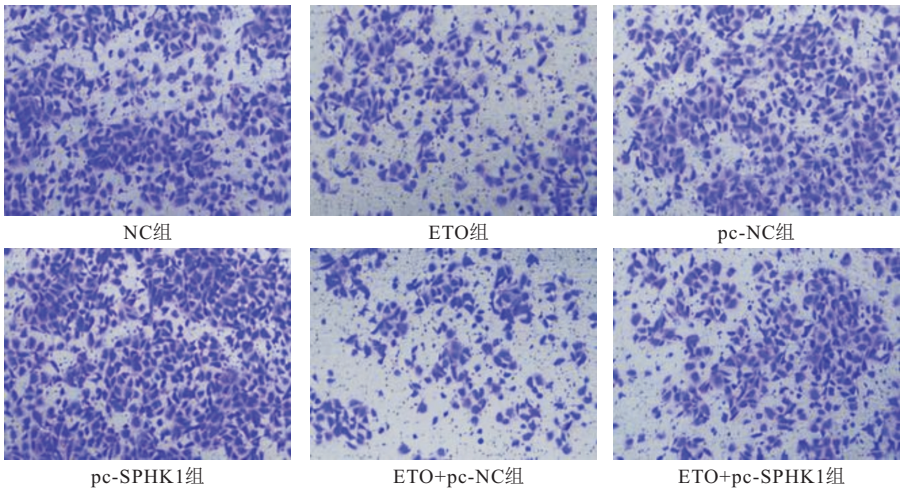

图 2　细胞迁移结果图(200×)

Figure 2　Images of cell migration

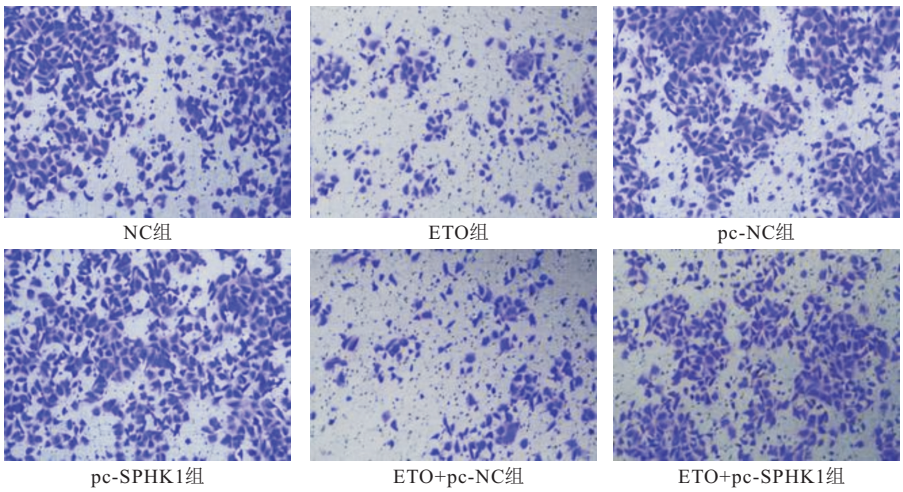

图 3　细胞侵袭结果图(200×)

Figure 3　Images of cell invasion

2.4　ETO 对 KYSE30 细胞 CXCL-2 和 CXCL-8 水平的影响　KYSE30 细胞 CXCL-2 和 CXCL-8 水平比较：ETO 组低于 NC 组($P<0.05$)，PC-SPHK1 组高于 PC-NC 组($P<0.05$)，ETO+PC-SPHK1 组高于 ETO+PC-NC 组($P<0.05$)，见表 4。

表 4　各组 KYSE30 细胞 CXCL-2 和 CXCL-8 水平比较($\bar{x}\pm s$, n=6)

Table 4　Comparison of CXCL-2 and CXCL-8 levels in KYSE30 cells among different groups

组别	CXCL-2(pg/mL)	CXCL-8(pg/mL)
NC 组	156.47±9.18	108.76±7.24
ETO 组	71.28±5.63①	53.41±4.72①
PC-NC 组	154.39±10.27	106.53±7.86
PC-SPHK1 组	218.63±14.92②	137.24±9.38②
ETO+PC-NC 组	73.56±6.14	52.18±4.49
ETO+PC-SPHK1 组	119.72±8.51③	84.61±6.57③

注：与 NC 组比较，①$P<0.05$；与 PC-NC 组比较，②$P<0.05$；与 ETO+PC-NC 组比较，③$P<0.05$。

2.5　ETO 对 KYSE30 细胞 B7H1、E-cadherin、N-cadherin 和 vimentin 蛋白表达的影响　ETO 组 KYSE30 细胞 B7H1、N-cadherin 和 vimentin 蛋白表达水平低于 NC 组，E-cadherin 蛋白表达水平高于 NC 组($P<0.05$)，PC-SPHK1 组 B7H1、N-cadherin 和 vimentin 蛋白表达水平高于 NC 组，E-cadherin 蛋白表达水平低于 PC-NC 组($P<0.05$)；ETO+PC-SPHK1 组 B7H1、N-cadherin 和 vimentin 蛋白表达水平高于 ETO+PC-NC 组，E-cadherin 蛋白表达水平低于 ETO+PC-NC 组($P<0.05$)，见图 4、表 5。

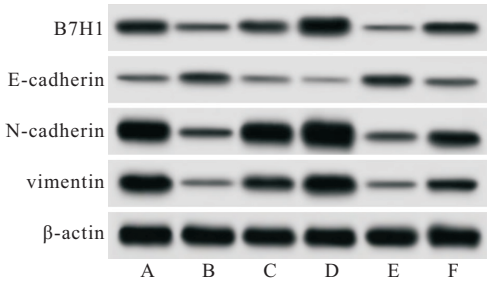

图 4　各组 KYSE30 细胞中 B7H1、E-cadherin、N-cadherin 和 vimentin 蛋白表达

Figure 4　Protein expressions of B7H1, E-cadherin, N-cadherin and vimentin in KYSE30 cells in different groups

注：A. NC 组；B. ETO 组；C. PC-NC 组；D. PC-SPHK1 组；E. ETO+PC-NC 组；F. ETO+PC-SPHK1 组。

表 5　各组 KYSE30 细胞 B7H1、E-cadherin、N-cadherin 和 vimentin 蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Table 5　Comparison of protein expressions of B7H1, E-cadherin, N-cadherin and vimentin in KYSE30 cells among different groups

组别	B7H1	E-cadherin	N-cadherin	vimentin
NC 组	0.83±0.10	0.21±0.03	1.16±0.14	0.92±0.13
ETO 组	0.32±0.05①	0.75±0.09①	0.47±0.06①	0.25±0.04①
PC-NC 组	0.81±0.10	0.20±0.03	1.18±0.15	0.94±0.13
PC-SPHK1 组	1.07±0.13②	0.13±0.02②	1.62±0.19②	1.37±0.16②
ETO+PC-NC 组	0.34±0.05	0.76±0.10	0.48±0.07	0.27±0.04
ETO+PC-SPHK1 组	0.65±0.08③	0.43±0.06③	0.87±0.11③	0.71±0.09③

注：与 NC 组比较，①$P<0.05$；与 PC-NC 组比较，②$P<0.05$；与 ETO+PC-NC 组比较，③$P<0.05$。

2.6　各组 KYSE30 细胞 PCNA、cleaved caspase-3、SPHK1、S1P 和 S1PR3 蛋白表达比较　ETO 组 KYSE30 细胞 PCNA、SPHK1、S1P 和 S1PR3 蛋白表达水平低于 NC 组，cleaved caspase-3 蛋白表达水平高于 NC 组($P<0.05$)，PC-SPHK1 组 PCNA、SPHK1、S1P 和 S1PR3 蛋白表达水平高于 NC 组，cleaved caspase-3 蛋白表达水平低于 PC-NC 组($P<0.05$)；ETO+PC-SPHK1 组 PCNA、SPHK1、S1P 和 S1PR3 蛋白表达水平高于 ETO+PC-NC 组，cleaved caspase-3 蛋白表达水平低于 ETO+PC-NC 组($P<0.05$)，见图 5、表 6。

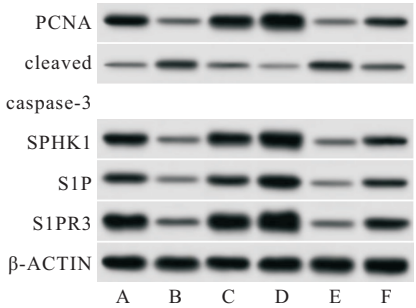

图 5　各组 KYSE30 细胞中 PCNA、cleaved caspase-3、SPHK1、S1P 和 S1PR3 蛋白表达

Figure 5　Protein expressions of PCNA, cleaved caspase-3, SPHK1, S1P and S1PR3 in KYSE30 cells in different groups

注：A. NC 组；B. ETO 组；C. PC-NC 组；D. PC-SPHK1 组；E. ETO+PC-NC 组；F. ETO+PC-SPHK1 组。

表 6　各组 KYSE30 细胞 PCNA、cleaved caspase-3、SPHK1、S1P 和 S1PR3 蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Table 6　Comparison of protein expressions of PCNA, cleaved caspase-3, SPHK1, S1P and S1PR3 in KYSE30 cells among different groups

组别	PCNA	cleaved caspase-3	SPHK1	S1P	S1PR3
NC 组	0.89±0.12	0.20±0.03	0.96±0.13	0.78±0.10	1.09±0.14
ETO 组	0.27±0.04①	0.64±0.08①	0.31±0.05①	0.22±0.03①	0.34±0.05①
PC-NC 组	0.91±0.13	0.21±0.03	0.98±0.13	0.76±0.09	1.12±0.15
PC-SPHK1 组	1.24±0.15②	0.11±0.02②	1.31±0.15②	1.03±0.14②	1.43±0.17②
ETO+PC-NC 组	0.28±0.04	0.65±0.08	0.32±0.05	0.23±0.04	0.35±0.05
ETO+PC-SPHK1 组	0.69±0.08③	0.39±0.05③	0.74±0.09③	0.59±0.08③	0.86±0.11③

注：与 NC 组比较，①$P<0.05$；与 PC-NC 组比较，②$P<0.05$；与 ETO+PC-NC 组比较，③$P<0.05$。

2.7　ETO 对裸鼠移植瘤体积、质量和组织细胞凋亡率的影响　与对照组比较，药物组裸鼠肿瘤体积和肿瘤质量降低，肿瘤组织细胞凋亡率升高($P<0.05$)，见图 6，图 7，表 7。

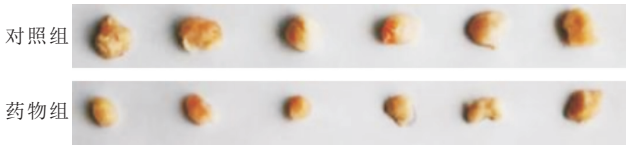

图 6　裸鼠肿瘤

Figure 6　Xenograft tumors in nude mice

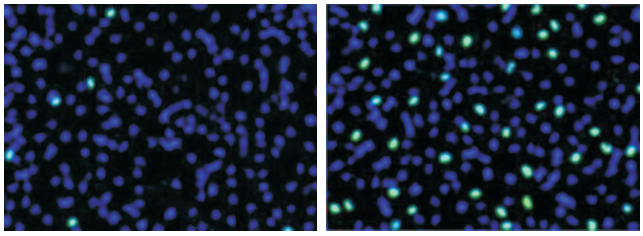

图 7　TUNEL 染色检测细胞凋亡(200×)

Figure 7　Apoptosis detected by TUNEL staining

表 7　各组裸鼠肿瘤相关指标比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Table 7　Comparison of tumor-related indexes in nude mice among different groups

组别	肿瘤体积(mm^3)	肿瘤质量(g)	组织细胞凋亡率(%)
对照组	1 283.57±247.61	1.14±0.18	2.25±0.27
药物组	624.39±71.52①	0.56±0.09①	24.78±3.19①

注:与对照组比较,①$P<0.05$。

3　讨论

EC 手术的核心目标是根治肿瘤,而围术期麻醉药物的选择可能通过调控癌细胞生物学行为,影响术后复发转移风险,成为优化治疗结局的关键环节[17-19]。依托咪酯因安全性高,是 EC 手术诱导麻醉的常用药物,有研究发现其具有一定抑癌效果[20]。Gao 等[10]研究显示 ETO 可抑制胶质瘤细胞增殖,抑制裸鼠移植瘤肿瘤生长。Xu 等[21]研究显示 ETO 可抑制肝细胞癌细胞增殖和迁移。推测 ETO 可抑制癌细胞恶性生物学行为。本研究中,ETO 干预后可抑制 KYSE30 细胞增殖、迁移和侵袭,促进癌细胞凋亡,抑制 EC 细胞恶性生物学行为,与上述研究结果一致。

EMT 是癌细胞提高迁移和侵袭能力的重要因素,EMT 发生后,细胞极性逐渐消失,细胞间连接能力降低,钙黏蛋白 E-Cadherin 表达水平降低,细胞间黏附能力减弱[22]。同时,细胞会获得间质细胞的特性,间质细胞标志蛋白 N-cadherin 和 Vimentin 表达水平升高,抑制细胞迁移能力减弱,从而使细胞获得更强的迁移和侵袭能力[23]。本研究中,ETO 干预后可提高 KYSE30 细胞 E-cadherin 蛋白表达水平,降低 N-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达水平,抑制 EMT 进程。癌细胞具有免疫逃逸能力,其可通过多种机制逃避机体免疫系统的识别和攻击,从而得以在体内生存和增殖的现象[24]。B7H1 在肿瘤细胞免疫逃逸过程中发挥重要作用,B7H1 与 T 细胞表面的 PD-1 结合后,可抑制 T 细胞对肿瘤细胞的识别和杀伤,帮助肿瘤细胞逃避机体免疫识别系统的供给,促进癌细胞生存和增殖[25-26];CXCL-2 和 CXCL-8 可招募免疫抑制细胞,进而抑制 T 细胞活性,使 T 细胞无法识别肿瘤细胞,进而帮助肿瘤细胞逃避免疫细胞攻击[27]。本研究中,ETO 干预后可降低 KYSE30 细胞 B7H1 蛋白表达水平、CXCL-2 和 CXCL-8 水平,抑制 KYSE30 细胞免疫逃逸。进一步检测增殖促进蛋白 PCNA 和凋亡促进蛋白 cleaved caspase-3 表达水平发现,ETO 干预后可提高 cleaved caspase-3 蛋白表达水平,降低 PCNA 蛋白表达水平,抑制 KYSE30 细胞增殖,促进细胞凋亡。裸鼠移植瘤实验结果也显示,ETO 可抑制 KYSE30 细胞肿瘤生长,促进肿瘤组织细胞凋亡。提示 ETO 可抑制 KYSE30 细胞恶性生物学行为。

SPHK1/S1P/S1PR3 信号通路细胞信号转导中的重要通路,参与调控细胞增殖、存活和迁移等生理过程。SPHK1 被激活后可催化鞘氨醇生成 S1P,S1P 被转运到细胞外后与细胞表面的 S1PR3 结合,进而引起 S1PR3 的构象变化,从而激活下游的信号通路,发挥生物学调控作用[13]。李丽品等[28]研究显示抑制该通路可降低宫颈癌细胞增殖和迁移能力,抑制 EMT 进展。Yao 等[29]研究显示抑制 SPHK1/S1P 通路可抑制三阴性乳腺癌细胞生长和淋巴结转移。

本研究中,过表达 SPHK1 可促进 KYSE30 细胞恶性生物学行为,表明激活该通路可促进癌症进展。ETO 干预后 SPHK1、S1P 和 S1PR3 蛋白表达水平明显低于 NC 组,该通路被抑制。

本研究在 ETO 干预的同时过表达 SPHK1,结果发现,过表达 SPHK1 可减弱 ETO 对 KYSE30 细胞恶性生物学行为的抑制作用。提示 ETO 可能通过抑制 SPHK1/S1P/S1PR3 信号通路来抑制 KYSE30 细胞恶性生物学行为。

4　结论

ETO 可能通过抑制 SPHK1/S1P/S1PR3 信号通路来降低 KYSE30 细胞增殖、迁移和侵袭能力,促进细胞凋亡。ETO 抑制 EC 细胞恶性生物学行为的靶点不唯一,可能还存在其他通路,后续还需进一步探究。

【参考文献】

[1]　Guo H Y, Shu J H, Hu G B, *et al*. Downregulation of RCN1 inhibits esophageal squamous cell carcinoma progression and M2 macrophage polarization [J]. PLoS One, 2024, 19(5):

e0302780. doi: 10.1371/journal.pone.0302780. PMID: 38713738.

[2] Yuan L G, Ji H R, Cao Y, *et al*. Exosomes in esophageal cancer: promising nanocarriers in cancer progression, diagnosis, prognosis, and therapy[J]. WIREs Nanomed Nanobiotechnol, 2024, 16(5): e1989. doi: 10.1002/wnan.1989.

[3] Sihag S. Advances in the surgical management of esophageal cancer[J]. Hematol Clin N Am, 2024, 38(3): 559-568.

[4] Hoeppner J, Brunner T, Schmoor C, *et al*. Perioperative chemotherapy or preoperative chemoradiotherapy in esophageal cancer [J]. N Engl J Med, 2025, 392(4): 323-335.

[5] Jiang W, Zhang B, Xu J Q, *et al*. Current status and perspectives of esophageal cancer: a comprehensive review[J]. Cancer Commun (Lond), 2025, 45(3): 281-331.

[6] Almars I, Shaheen S, Ghouth N M, *et al*. Harnessing biomarkers to guide immunotherapy in esophageal cancer: toward precision oncology[J]. Clin Transl Oncol, 2026, 28(3): 757-776.

[7] Tong X, Jin M Y, Wang L L, *et al*. Prognostic biomarkers for immunotherapy in esophageal cancer[J]. Front Immunol, 2024, 15: 1420399. doi: 10.3389/fimmu.2024.1420399.

[8] Eisner D C. Esophageal cancer: treatment advances and need for screening[J]. JAAPA, 2024, 37(4): 19-24.

[9] Raigon Ponferrada A, Molina Ruiz J C, Romero Molina S, *et al*. The role of anesthetic drugs and statins in prostate cancer recurrence: starting at the actual knowledge and walking through a new paradigm[J]. Cancers, 2023, 15(11): 3059. doi: 10.3390/cancers15113059. PMID: 37297021.

[10] Gao C Y, Nie Y. Etomidate inhibits tumor growth of glioblastoma by regulating M1 macrophage polarization[J]. Metab Brain Dis, 2024, 39(4): 569-576.

[11] 陈垂凯，王庆，王小花. 依托咪酯调节 cGAS-STING 信号通路对子宫内膜癌细胞增殖、迁移和免疫逃逸的影响[J]. 中国细胞生物学学报，2023，45(6)：865-872.

[12] Zhang X C, Li Z J, Wang T. Etomidate suppresses proliferation, migration, invasion, and glycolysis in esophageal cancer cells via PI3K/AKT pathway inhibition[J]. Cytotechnology, 2024, 77(1): 4. doi: 10.1007/s10616-024-00661-y.

[13] 马爱北，李彦儒，齐少霞，等. 瑞马唑仑调节 SPHK1/S1P/S1PR3 信号通路对肝癌细胞增殖和迁移及侵袭的影响[J]. 中国现代普通外科进展，2025，28(9)：680-685.

[14] 王鹏，陈慧，代喆颖，等. 党参炔苷调节 SPHK1/S1P/S1PR3 信号通路对口腔鳞状细胞癌 CAL 27 细胞恶性进展的影响[J]. 中国免疫学杂志，2026，42(2)：341-347，355.

[15] 钟明艳，杨帆，李海珍，等. 鸦胆子苦醇调节 SPHK1/S1P/S1PR3 信号通路对卵巢癌细胞恶性生物学行为的影响[J]. 中国药房，2024，35(16)：1991-1997.

[16] Zhang J, Wang Z Q, Wei X H, *et al*. The suppression of the SPHK1/S1P/S1PR3 signaling pathway diminishes EGFR activation and increases the sensitivity of non-small cell lung cancer to gefitinib[J]. Curr Res Pharmacol Drug Discov, 2025, 8: 100212. doi: 10.1016/j.crphar.2024.100212. PMID: 39896887.

[17] 欧小田，陈巧玲，彭晓琴，等. 食管癌新辅助免疫治疗的进展及挑战[J]. 西部医学，2025，37(6)：932-936.

[18] Shen W Z, Li L L, Zhang Z Y, *et al*. Effects of remimazolam vs. an etomidate-propofol mixture on postoperative cognitive function in elderly female patients undergoing radical mastectomy for breast cancer: a randomized controlled trial[J]. Front Med, 2026, 12: 1699225. doi: 10.3389/fmed.2025.1699225.

[19] Xu J L, Ji Q, Chen Y N, *et al*. Etomidate improves antitumor immunity by suppressing PD-L1 expression in hepatocellular carcinoma cells[J]. Cell Mol Gastroenterol Hepatol, 2026, 20(2): 101652. doi: 10.1016/j.jcmgh.2025.101652. PMID: 41033440.

[20] 陈果，黄葱葱，徐珊，等. 依托咪酯调节 HMGB1-RAGE 信号通路对宫颈癌细胞增殖凋亡及上皮间质转化的影响[J]. 中国妇幼保健，2024，39(20)：4053-4057.

[21] Xu J L, Zhang L R, Li N N, *et al*. Etomidate elicits anti-tumor capacity by disrupting the JAK2/STAT3 signaling pathway in hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Lett, 2023, 552: 215970. doi: 10.1016/j.canlet.2022.215970. PMID: 36265652.

[22] Ma X C, He Y L, Yang Y, *et al*. YY1-induced DDX18 modulates EMT via the AKT/mTOR pathway in esophageal cancer: a novel therapeutic target[J]. J Transl Med, 2025, 23(1): 562. doi: 10.1186/s12967-025-06555-7. PMID: 40394670.

[23] Guo J Y, Song Z Y, Muming A, *et al*. Cysteine protease inhibitor S promotes lymph node metastasis of esophageal cancer cells via VEGF-MAPK/ERK-MMP9/2 pathway [J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2024, 397(8): 6051-6059.

[24] Wei J R, Zhang B F, Zhang Y, *et al*. QSOX1 facilitates dormant esophageal cancer stem cells to evade immune elimination via PD-L1 upregulation and CD8 T cell exclusion[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2024, 121(44): e2407506121. doi: 10.1073/pnas.2407506121. PMID: 39432781.

[25] Rostami F, Tavakol Hamedani Z, Sadoughi A, *et al*. PDL1 targeting by miR-138-5p amplifies anti-tumor immunity and Jurkat cells survival in non-small cell lung cancer[J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 13542. doi: 10.1038/s41598-024-62064-5. PMID: 38866824.

[26] Yu Z Z, Liu Y Y, Zhu W, *et al*. ANXA1-derived peptide for targeting PD-L1 degradation inhibits tumor immune evasion in multiple cancers[J]. J Immunother Cancer, 2023, 11(3): e006345. doi: 10.1136/jitc-2022-006345. PMID: 37001908.

[27] 王芳，胡洁琼，冯彦虎，等. 次乌头碱通过 CGAS/STING 通路调节胃癌细胞增殖、迁移、侵袭和免疫逃逸[J]. 中国免疫学杂志，2023，39(10)：2178-2183.

[28] 李丽品，马素艳，安入征. 槐耳多糖调节 SPHK1/S1P/S1PR3 信号通路对宫颈癌细胞恶性生物学行为的影响[J]. 河北医学，2024，30(3)：411-416.

[29] Xing Y, Tan Y E, Chen Q C, *et al*. Melanophilin inhibit the growth and lymph node metastasis of triple negative breast cancer via the NONO-SPHK1-S1P axis[J]. J Transl Med, 2025, 23(1): 284. doi: 10.1186/s12967-025-06240-9. PMID: 40050909.

（收稿日期：2025-11-27；修回日期：2026-03-26；编辑：张翰林）