

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2023 年 6 月 28 日 第 31 卷 第 12 期 (Volume 31 Number 12)



12 / 2023

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.



基础研究

- 477 白藜芦醇通过铁死亡途径逆转食管癌细胞Eca109/DDP化疗耐药
王陈等, 马柏强, 易弼顺
- 485 川芎嗪对胃癌细胞增殖、迁移、侵袭及糖酵解的调控作用
王韩英, 陈勇, 朱双媚

临床研究

- 492 VTIQ和SPECT首次通过法测定肝血流指数对乙肝纤维化的临床诊断价值
刘相艳, 鲁剑芳, 王立东, 王卓轶

临床实践

- 501 医联体模式对基层医生幽门螺杆菌感染规范化诊治的干预效果研究
赵振中, 沈靖, 华益波, 汪铁军, 郑元秀
- 508 丙泊酚联合不同麻醉药物对肠道内镜黏膜下剥离术患者呼吸循环功能及红细胞免疫的影响
徐军, 夏水风, 方建塔

病例报告

- 515 乌司奴单抗治疗老年难治性溃疡性结肠炎1例
萧绮莉, 徐钰婷

消 息

- 484 《世界华人消化杂志》正文要求
500 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
507 《世界华人消化杂志》参考文献要求
520 《代谢相关脂肪性肝病肝外并发症》书讯

封面故事

刘纯杰, 博士, 博士生导师, 军事科学院军事医学研究院生物工程研究所研究员. 长期从事病原微生物致病机制与基因工程疫苗研究, 作为课题负责人, 负责承担了国家863计划、支撑计划、重点研发计划、新药创制重大专项、重大传染病专项等各类课题十余项. 获军队科技进步奖8项, 其中一等奖2项、二等奖1项. 荣立个人二等功1次. 负责研制的幽门螺杆菌疫苗, 获得了国家预防用生物制品 I 类新药临床试验批件, 现正开展临床研究. 授权国家发明专利8项, 发表各类研究论文130余篇. 兼任国家科技项目评审专家等.

本期责任人

编务 张砚梁; 送审编辑 张砚梁; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇;
形式规范审核编辑部主任 郭旭; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2023-06-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

共同主编

党双锁, 博士, 教授, 研究员, 主任医师, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

郭晓钟, 博士, 教授, 110840, 辽宁省沈阳市, 北部战区总医院消化内科

霍丽娟, 博士, 主任医师, 030001, 山西省太原市, 山西医科大学第一医院消化内科

江学良, 博士, 教授, 250001, 山东省济南市, 山东中医药大学第二附属医院消化中心

田艳涛, 博士, 教授, 主任医师, 100021, 北京市, 国

家癌症中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院胰胃外科

王小众, 博士, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 博士, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 博士, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

[https://www.wjgnet.com/1009-3079/
editorialboard.htm](https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm)

编辑部

王金磊, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wcjd@wjgnet.com<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com<https://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路
62号, 远洋国际中心D座903室
电话: +86-10-85381901

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2023 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.



BASIC RESEARCH

- 477 Resveratrol reverses drug resistance of esophageal cancer cell line Eca109/DDP *via* regulating ferroptosis
Wang CD, Ma BQ, Yi BS
- 485 Regulatory effect of tetramethylpyrazine on cell proliferation, migration, invasion, and glycolysis in gastric cancer cells
Wang HY, Chen Y, Zhu SM

CLINICAL RESEARCH

- 492 Diagnostic value of shear wave velocity measured by virtual touch tissue imaging quantification combined with hepatic blood flow index measured by single-photon emission computed tomography first-pass method for hepatitis B fibrosis
Liu XY, Lu JF, Wang LD, Wang ZY

CLINICAL PRACTICE

- 501 Impact of medical conjoined mode on standardized diagnosis and treatment of *Helicobacter pylori* infection by primary doctors
Zhao ZZ, Shen J, Hua YB, Wang TJ, Zheng YX
- 508 Effect of propofol combined with different anesthetic drugs on respiratory circulation function and erythrocyte immunity in patients undergoing intestinal endoscopic submucosal dissection
Xu J, Xia SF, Fang JT

CASE REPORT

- 515 Ustekinumab for treatment of refractory ulcerative colitis in an elderly patient: A case report
Xiao QL, Xu YT

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 31 Number 12 June 28, 2023

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Chun-Jie Liu, PhD, Professor, Doctoral Supervisor. State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity, Institute of Biotechnology, Academy of Military Medical Sciences, No. 20 Dongda Street, Fengtai District, Beijing 100071, China. liucj@bmi.ac.cn

Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, CNKI, CSTJ and Superstar Journals Database.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Yan-Liang Zhang*

Review Editor: *Yan-Liang Zhang*

Production Editor: *Yan-Liang Zhang*

English Language Editor: *Tian-Qi Wang*

Proof Editor: *Xu Guo*

Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date June 28, 2023

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

CO-EDITORS-IN-CHIEF

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, The Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xiao-Zhong Guo, Professor, Department of Gastroenterology, North Theater General Hospital, Shenyang 110840, Liaoning Province, China

Li-Juan Huo, Chief Physician, Department of Gastroenterology, The First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Digestive Center of The Second Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250001, Shandong Province, China

Yan-Tao Tian, Professor, Chief Physician, National Cancer Center/Department of Pancreatic and Gastric Surgery, Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing

100021, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

EDITORIAL OFFICE

Jin-Lei Wang, Director

World Chinese Journal of Digestology

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381901

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2023 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

白藜芦醇通过铁死亡途径逆转食管癌细胞Eca109/DDP化疗耐药

王陈等, 马柏强, 易弼顺

王陈等, 马柏强, 易弼顺, 丽水市人民医院胃肠与疝外科、减重代谢外科、急诊创伤外科 浙江省丽水市 323000

王陈等, 住院医师, 主要从事普通外科与腹壁外科方面相关的研究.

作者贡献分布: 此课题由马柏强设计; 研究过程由王陈等及易弼顺操作完成; 研究所用试剂及分析工具由王陈等及马柏强提供; 数据分析由王陈等及易弼顺完成; 本论文写作由王陈等完成.

通讯作者: 王陈等, 本科, 323000, 浙江省丽水市莲都区岩泉街道丽阳街1188号, 丽水市人民医院东院区丽水市人民医院胃肠与疝外科、减重代谢外科、急诊创伤外科. wangchendeng522@tom.com

收稿日期: 2023-04-03

修回日期: 2023-04-28

接受日期: 2023-05-24

在线出版日期: 2023-06-28

Resveratrol reverses drug resistance of esophageal cancer cell line Eca109/DDP *via* regulating ferroptosis

Chen-Deng Wang, Bai-Qiang Ma, Bi-Shun Yi

Chen-Deng Wang, Bai-Qiang Ma, Bi-Shun Yi, Department of Gastrointestinal, Hernia, Bariatric metabolic, and Trauma Surgery, Lishui City People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Chen-Deng Wang, Bachelor, Department of Gastrointestinal, Hernia, Bariatric metabolic, and Trauma Surgery, Dongcheng Ward, Lishui City People's Hospital, No. 1188 Liyang Street, Yanquan Street, Liandu District, Lishui 323000, Zhejiang Province, China. wangchendeng522@tom.com

Received: 2023-04-03

Revised: 2023-04-28

Accepted: 2023-05-24

Published online: 2023-06-28

Abstract BACKGROUND

Resveratrol not only has anti-tumor effects, but also can enhance the chemosensitivity of tumor cells to a variety of chemotherapeutic agents. However, its effect on cisplatin sensitivity of drug-resistant esophageal cancer cells remains unclear.

AIM

To investigate whether resveratrol reverses the drug resistance of esophageal cancer Eca109/DDP cells and to explore the potential mechanism involved from the perspective of ferroptosis.

METHODS

The optimal treatment time and concentration of resveratrol and cisplatin were determined by MTT assay. Cell proliferation and the intracellular levels of malon-dialdehyde (MDA), glutathione (GSH), reactive oxygen species (ROS), and ferrous iron were detected. The protein expression of the ferroptosis-related molecules acyl coenzyme A synthetase long chain family member 4 (ACSL4), ferritin heavy chain (FTH), glutathione peroxidase 4 (GPX4), and tumor protein 53 (P53) was detected by Western blot assay.

RESULTS

MTT assay showed that compared with cisplatin alone, resveratrol combined with cisplatin significantly inhibited the growth of Eca109/DDP cells ($P < 0.05$). The combination of resveratrol and cisplatin not only reduced the number of colonies formed ($P < 0.05$), but also increased the levels of ferrous iron, MDA, and ROS ($P < 0.05$) and decreased the level of GSH ($P < 0.05$) in Eca109/DDP cells. The inhibitory

effect of resveratrol on Eca109/DDP cell proliferation was partially reversed by ferrostatin-1 (Fer-1) and deferoxamine (DFO) ($P < 0.05$). Western blot analysis showed that compared with other groups, the protein expression of FTH and GPX4 in the resveratrol and cisplatin combination group was significantly decreased ($P < 0.05$), and the protein expression of ACSL4 and P53 was significantly increased ($P < 0.05$).

CONCLUSION

Resveratrol can inhibit cell proliferation and reverse cisplatin resistance by regulating ferroptosis in Eca109/DDP cells.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Resveratrol; Esophageal cancer cell line Eca109/DDP; Cisplatin resistance; Ferroptosis

Citation: Wang CD, Ma BQ, Yi BS. Resveratrol reverses drug resistance of esophageal cancer cell line Eca109/DDP via regulating ferroptosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2023; 31(12): 477-484
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i12/477.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i12.477>

摘要

背景

白藜芦醇不仅具有抗肿瘤作用, 其还能增强多种化疗药物的化疗敏感性, 但其对食管癌耐药细胞的顺铂敏感性的作用尚不清楚。

目的

探讨白藜芦醇逆转食管癌细胞Eca109/DDP的耐药效应并从铁死亡的角度分析其潜在的作用机制。

方法

采用MTT法确定白藜芦醇和顺铂的最佳作用时间和浓度; 检测细胞增殖、细胞内丙二醛(malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)、活性氧(reactive oxygen species, ROS)及铁离子的水平; Western blot检测铁死亡相关调控因子酰基辅酶A合成酶长链家族成员4(acyl coenzyme A synthetase long chain family member 4, ACSL4)、铁蛋白重链(ferritin heavy chain, FTH)、谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4)和肿瘤蛋白53(tumor protein 53, P53)的蛋白表达情况。

结果

MTT检测结果显示, 相较于单用顺铂, 联用白藜芦醇对Eca109/DDP细胞的生长抑制作用较为显著($P < 0.05$)。此外, 白藜芦醇和顺铂联用可显著降低Eca109/DDP细胞克隆形成数($P < 0.05$), 增加细胞内铁离子、MDA和ROS水平($P < 0.05$), 降低GSH水平

($P < 0.05$)。铁死亡抑制剂(ferrostatin-1, Fer-1)和铁离子螯合剂(deferoxamine, DFO)可部分逆转白藜芦醇对细胞增殖的抑制作用($P < 0.05$)。Western blot的结果显示相较于其他组, 白藜芦醇和顺铂联用组的FTH和GPX4的蛋白表达显著降低($P < 0.05$), 而ACSL4和P53的蛋白表达显著增加($P < 0.05$)。

结论

白藜芦醇可通过铁死亡抑制Eca109/DDP细胞的增殖并逆转顺铂耐药。

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 白藜芦醇; 食管癌细胞Eca109/DDP; 顺铂耐药; 铁死亡

核心提要: 在食管癌细胞Eca109/DDP中, 白藜芦醇对顺铂化疗具有增敏效应, 这种增敏作用与其促进铁死亡有关。

文献来源: 王陈等, 马柏强, 易弼顺. 白藜芦醇通过铁死亡途径逆转食管癌细胞Eca109/DDP化疗耐药. *世界华人消化杂志* 2023; 31(12): 477-484
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i12/477.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i12.477>

0 引言

食管癌是常见的消化系统恶性肿瘤之一, 根据国家癌症中心发布的最新数据显示, 食管癌的发病率在恶性肿瘤中排第六位, 而死亡率居第四位^[1]; 其中约90%的食管癌属于食管鳞癌, 由于早期症状不明显, 很多患者均存在诊断晚、治疗效果差的现象。辅助化疗在食管癌的治疗中仍有着不可替代的作用, 获得性耐药的产生则成为影响化疗效果及患者长期生存的主要因素^[2,3]。肿瘤细胞获得性耐药的发生机制以及逆转耐药的新型药物研发依旧是目前的研究热点和重点^[3]; 大量的临床实践表明中药在改善化疗药物的多药耐药现象, 缓解化疗所致的不良反应, 提升患者化疗完成度及治疗效果上具有明显的优势^[3-5]。白藜芦醇是一种非黄酮多酚类化合物, 广泛存在于天然植物及传统中药中; 作为一种天然的抗毒素, 白藜芦醇具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等多种药理学功效^[6-8]。早期有研究显示, 白藜芦醇可通过调节PI3K/AKT/mTOR信号通路逆转卵巢癌细胞化疗耐药^[7]。此外, 白藜芦醇可靶向miR-122-5p增加乳腺癌细胞MCF-7对阿霉素的敏感性^[8]。由此可见, 白藜芦醇可与多种化疗药物联用, 增加药物疗效; 然而目前并未有关于白藜芦醇对人食管癌细胞Eca109化疗耐药的影响及相关机制的报道。本研究以人食管癌细胞Eca109及其顺铂耐药细胞系Eca109/DDP为观察对象, 评估白藜芦醇

干预后Eca109/DDP细胞顺铂耐药性的变化, 并从细胞铁死亡的角度初步探究其可能的作用机制, 为白藜芦醇在食管癌化疗中的实践应用提供一定的理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料 人食管癌细胞Eca109及其顺铂耐药细胞系Eca109/DDP购自中科院上海生物化学与细胞生物学研究所; RPMI1640液体细胞培养基购自美国Hyclone公司; 白藜芦醇、铁死亡抑制剂(ferrostatin-1, Fer-1) 和铁离子螯合剂(deferoxamine, DFO)购自Sigma公司; 注射用顺铂购自齐鲁制药有限公司; 铁分析试剂盒购自美国Abnova公司; 酰基辅酶A合成酶长链家族成员4(acyl coenzyme A synthetase long chain family member 4, ACSL4)、铁蛋白重链(ferritin heavy chain, FTH)、谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4)、肿瘤蛋白53(tumor protein 53, P53)和肌动蛋白(β -actin)抗体均购自美国Abcam公司; 噻唑蓝(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)细胞增殖检测试剂盒以及丙二醛(malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)、活性氧(active oxygen species, ROS)检测试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司; 其余试剂均为国产市售分析纯。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 食管癌细胞Eca109及其顺铂耐药细胞系Eca109/DDP常规培养于含10%胎牛血清和1%青-链霉素的RPMI1640液体细胞培养基中, 定期换液和传代。为保证细胞的耐药性, Eca109/DDP细胞培养基中需间断性加入顺铂。培养环境为: 37 °C, 50 mL/L CO₂。

1.2.2 MTT检测: 采用MTT法检测细胞经处理后增殖情况的变化, 将细胞接种至96孔板中(2×10^4 个/mL), 给予相应的药物处理后, 加入MTT试剂, 培养箱中继续孵育4 h。最后用酶标仪检测各孔在490 nm波长处的吸光度值(OD), 分析细胞的增殖情况。每次实验设三个复孔取平均值, 同时设不含细胞的单孔作为空白对照。实验重复三次。不同实验分组设置如下:

检测顺铂对Eca109及Eca109/DDP细胞的半数抑制浓度(IC₅₀), 顺铂的浓度梯度设置为0、3.125 μ M、6.25 μ M、12.5 μ M、25 μ M和50 μ M。

检测白藜芦醇对食管癌耐药细胞Eca109/DDP的毒性作用, 白藜芦醇的浓度设置为0、15 μ M、30 μ M、60 μ M、120 μ M和240 μ M。

1.2.3 细胞集落形成检测: 采用细胞集落形成实验评估细胞的增殖情况。将细胞铺板于6孔板(1000个/孔), 依据下述实验分组分别加药处理, 置于细胞培养箱继续培养2 wk。吸弃培养液, PBS清洗后加多聚甲醛固定细胞集落, 而后加结晶紫染液染色, 将染色结果置于显微

镜下拍照观察并计算细胞的集落形成数。

实验分组如下: 对照组(不加顺铂及白藜芦醇; Ctrl); 白藜芦醇组(白藜芦醇浓度为30 μ M; Res); 顺铂组(顺铂浓度为12.5 μ M; DDP); 顺铂及白藜芦醇联用组(顺铂浓度为12.5 μ M, 白藜芦醇浓度为30 μ M; Res+DDP)。

1.2.4 细胞内MDA、GSH检测: 依据实验分组分别处理各组细胞, 按照试剂盒提供的操作说明书进行如下操作: 首先离心收集各组细胞经PBS清洗后, 重悬细胞。超声破碎细胞并离心收集上清液, 依据说明加入相应的工作液孵育, 酶标仪检测450 nm波长处的吸光度值。绘制标准曲线并分析相应的检测指标。实验分组同2.3。

1.2.5 二价铁离子(Fe²⁺)含量检测: 依据实验分组分别处理各组细胞, 按照试剂盒提供的操作说明书进行如下操作: 胰酶消化收集各组细胞, 离心后加Assay buffer重悬细胞。涡旋化冰后再次离心收集上清液待检, 向待检样品中依次加入铁还原剂和探针, 孵育后经酶标仪检测593 nm波长处的吸光度值。绘制标准曲线并分析各实验组铁离子的浓度。实验分组同2.3。

1.2.6 ROS检测: 将细胞铺板于24孔板(2×10^4 个/孔), 依据实验分组分别处理各组细胞, 并增加空白对照孔(仅溶剂)和阳性对照孔(加ROS对照试剂5 mg/mL Rosup), 更换细胞培养液, 避光加DCFH-DA染液染色30 min。消化收集细胞, PBS洗涤并重悬, 于荧光显微镜下拍照观察并分析荧光强度。实验分组同2.3。

1.2.7 western blot蛋白表达水平检测: 细胞经冰PBS洗涤后, 加RIPA裂解液收集各组细胞蛋白。参考BCA蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度, 而后上样进行SDS-PAGE凝胶电泳和电转, 将分离的目的蛋白转移至PVDF膜。加入5%的脱脂乳粉于室温下封闭90 min。依据说明书要求加入相应比例的一抗4 °C孵育过夜, TBST洗涤后加入相对应的二抗室温孵育2 h。TBST洗涤, 暗室中经ECL化学发光法检测目的蛋白的表达情况并行灰度半定量分析。实验分组同2.3。

统计学处理 所得数据录入GraphPad8.3软件中进行统计学分析。实验结果以均数 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)表示, 多组间的比较采用方差分析, 各组均数间的两两比较用Bonferroni校正的 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有显著性。

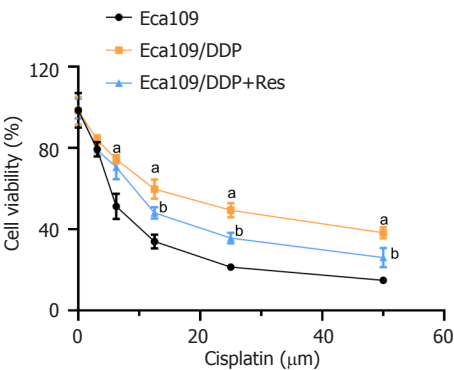
2 结果

2.1 白藜芦醇及顺铂在食管癌化疗中的协同增敏作用 本研究首先采用MTT法确定Eca109/DDP细胞对顺铂的耐药性。结果如图1所示, 顺铂可浓度依赖性抑制Eca109及Eca109/DDP细胞的增殖, 其中顺铂对Eca109细胞和Eca109/DDP细胞的IC₅₀分别为(7.70 ± 1.18) μ M和

表 1 白藜芦醇对Eca109/DDP细胞活力的影响

时间	白藜芦醇(μM)					
	0	15	30	60	120	240
24 h	100 $\pm$ 0.63	94.67 $\pm$ 3.85	92.33 $\pm$ 6.06	87.93 $\pm$ 4.71	72.99 $\pm$ 5.09 ^a	61.47 $\pm$ 4.55 ^a
48 h	97.32 $\pm$ 5.26	92.81 $\pm$ 3.1	88.46 $\pm$ 5.53	56.98 $\pm$ 5.63 ^a	48.88 $\pm$ 4.1 ^a	36.02 $\pm$ 6.34 ^a

^a $P < 0.05$ vs 0 μM , $n = 3$, mean $\pm$ SD.



DOI: 10.11569/wjcd.v31.i12.477 Copyright ©The Author(s) 2023.

图 1 白藜芦醇及顺铂联用对Eca109/DDP细胞活力的影响. $n = 3$, ^a $P < 0.05$ vs Eca109细胞, ^b $P < 0.05$ vs Eca109/DDP细胞. Res: 白藜芦醇.

(24.73 $\pm$ 4.45) μM ; Eca109/DDP细胞对顺铂具有明显的耐药性, 可用于后续实验分析.

CCK-8细胞活力检测的结果显示(表1), Eca109/DDP细胞经不同浓度的白藜芦醇处理24 h后, 细胞活力随白藜芦醇浓度的增加有所降低, 其中120 μM 及240 μM 的白藜芦醇可显著抑制细胞活力($P < 0.05$); 处理48 h后, 白藜芦醇浓度在60 μM 、120 μM 及240 μM 时的作用较为显著($P < 0.05$). 选取无细胞毒性作用的浓度为白藜芦醇的耐药逆转浓度, 即30 μM .

为进一步验证白藜芦醇是否可逆转Eca109/DDP细胞的耐药性, 本研究采用MTT法检测30 μM 白藜芦醇预孵之后, 顺铂对Eca109/DDP细胞的杀伤作用. 结果图1所示; 30 μM 白藜芦醇预孵后, Eca109/DDP细胞对顺铂的敏感性显著增强, 且在顺铂浓度为12.5 μM 时, 差异较为显著($P < 0.05$), 故而后续实验选用此浓度进行处理.

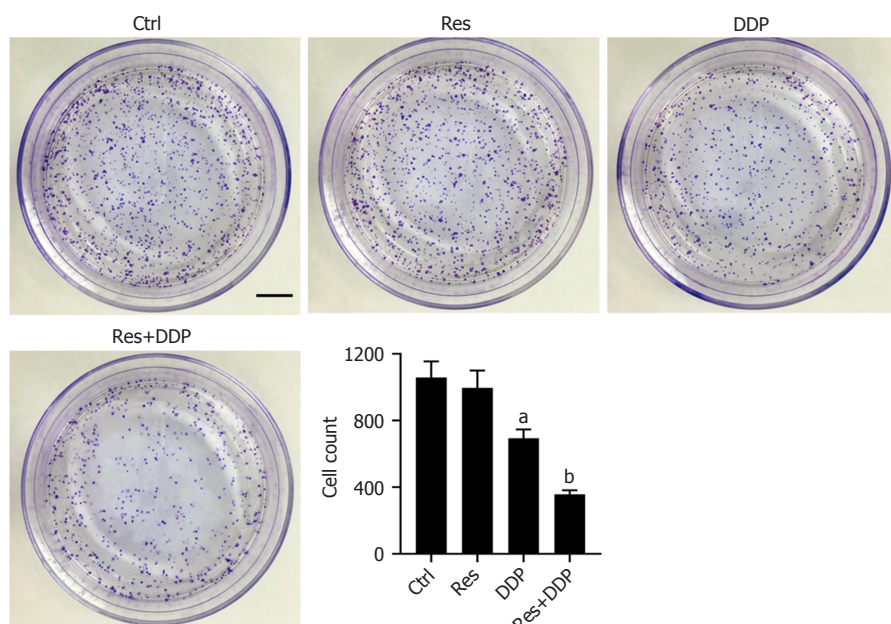
2.2 白藜芦醇和顺铂联用对细胞集落形成的影响 细胞克隆形成实验检测结果显示(图2), 相比于对照组, 单用顺铂处理(DDP组)细胞集落形成数由1058.27 $\pm$ 95.82减少至693.69 $\pm$ 53.25($P < 0.05$), 而白藜芦醇和顺铂联合处理组(Res+DDP组)细胞集落形成数进一步减少至357.78 $\pm$ 23.24. 结果表明在Eca109/DDP细胞中, 白藜芦醇和顺铂联用可进一步增强顺铂对细胞的杀伤力.

2.3 白藜芦醇和顺铂联用对细胞铁死亡的影响 细胞铁死亡相关指标的检测结果显示(图3), 相比于对照组, 顺铂处理组(DDP组)细胞内二价铁离子的含量有所升高,

同时MDA和ROS水平显著升高($P < 0.05$), 而GSH水平显著降低. 加入30 μM 的白藜芦醇预孵后, 细胞内二价铁离子的含量以及MDA和ROS水平显著高于DDP组; GSH水平则显著低于DDP组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$). 结果说明白藜芦醇联用顺铂可显著促进Eca109/DDP细胞内铁离子的蓄积, 并诱导细胞铁死亡.

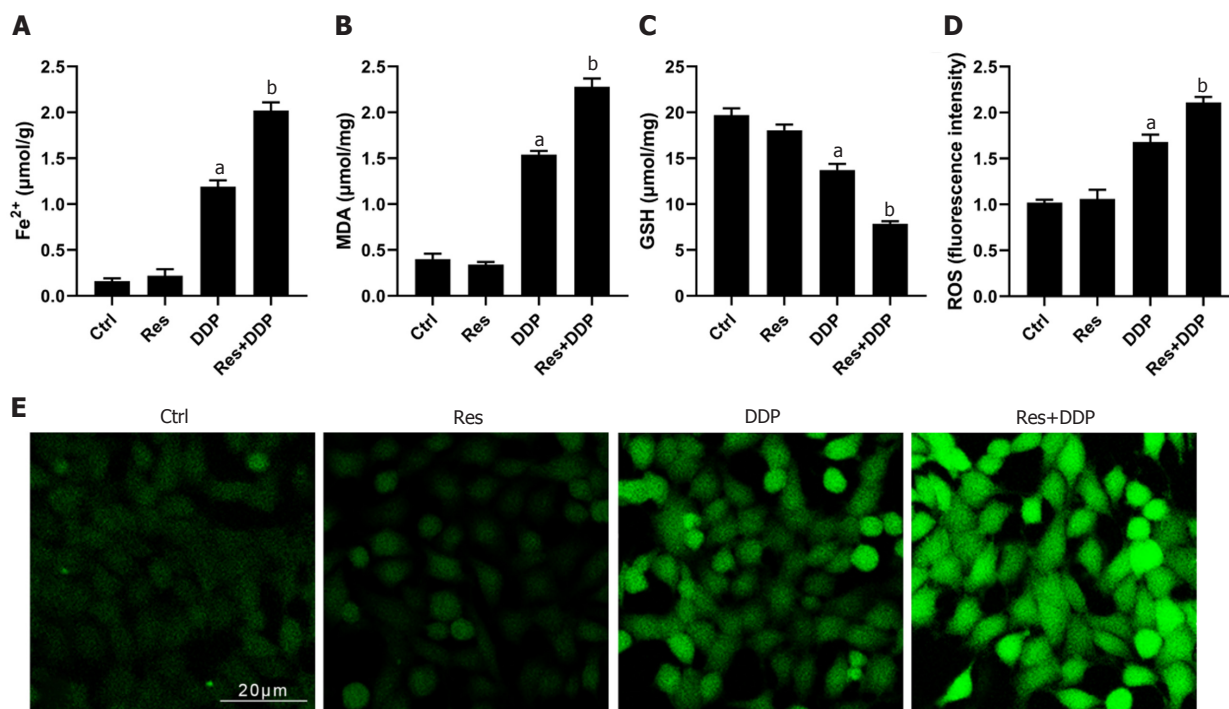
2.4 白藜芦醇和顺铂联用逆转耐药性与铁死亡的相关性 本部分实验通过Fer-1和DFO进一步验证白藜芦醇和顺铂联用逆转耐药性与铁死亡的相关性(图4), MTT细胞毒性检测结果显示Fer-1和DFO对Eca109/DDP细胞无明显损伤; 白藜芦醇和顺铂联用组(Res+DDP)细胞活力为(48.05 $\pm$ 2.83)%, 加2.5 μM 铁死亡抑制剂Fer-1或者2.5 μM 铁离子螯合剂DFO干预, 细胞活力分别回升至(60.36 $\pm$ 2.87)%和(57.70 $\pm$ 2.74)%, 差异具有统计学意义($P < 0.05$). 结果表明, 白藜芦醇和顺铂联用所致的Eca109/DDP细胞增殖抑制作用可被铁死亡抑制剂Fer-1和铁离子螯合剂DFO部分逆转.

2.5 白藜芦醇和顺铂联用对细胞中铁死亡相关调控因子的影响 Western blot检测结果如图5所示, 相比于对照组, 顺铂处理组(DDP组)细胞内FTH及GPX4的蛋白表达有所降低($P < 0.05$); ACSL4及P53的蛋白表达则呈增加趋势($P < 0.05$). 白藜芦醇和顺铂联合处理组(Res+DDP组)细胞内FTH及GPX4的蛋白表达相比于DDP组显著降低($P < 0.05$); ACSL4及P53的蛋白表达相比于DDP组则进一步增加($P < 0.05$). 结果说明白藜芦醇可影响Eca109/DDP



DOI: 10.11569/wjcd.v31.i12.477 Copyright ©The Author(s) 2023.

图 2 白藜芦醇及顺铂联用对Eca109/DDP细胞集落形成的影响(比例尺 = 5 mm). Ctrl: 对照组; Res: 白藜芦醇组; DDP: 顺铂组; Res+DDP: 顺铂及白藜芦醇联用组. $n = 3$, ^a $P < 0.05$ vs Ctrl组, ^b $P < 0.05$ vs DDP组.



DOI: 10.11569/wjcd.v31.i12.477 Copyright ©The Author(s) 2023.

图 3 白藜芦醇及顺铂联用对Eca109/DDP细胞铁死亡的影响. A: 二价铁离子含量; B: MDA水平; C: GSH水平; D和E: ROS水平, 放大倍数 400 ×, 比例尺 = 20 μm. $n = 3$, ^a $P < 0.05$ vs Ctrl组, ^b $P < 0.05$ vs DDP组. MDA: 丙二醛; GSH: 谷胱甘肽; ROS: 活性氧; Ctrl: 对照组; Res: 白藜芦醇组; DDP: 顺铂组; Res+DDP: 顺铂及白藜芦醇联用组.

细胞内铁死亡相关调控因子的蛋白表达.

3 讨论

中药往往具有多种药理学功效, 且自身毒副作用较小,

在应对复杂疾病上具有天然的优势. 本研究探究了白藜芦醇对食管癌顺铂耐药细胞Eca109/DDP化疗耐药性的影响. MTT药敏实验结果显示白藜芦醇自身对食管癌细胞Eca109和Eca109/DDP的毒性较小, 联合应用白藜芦醇

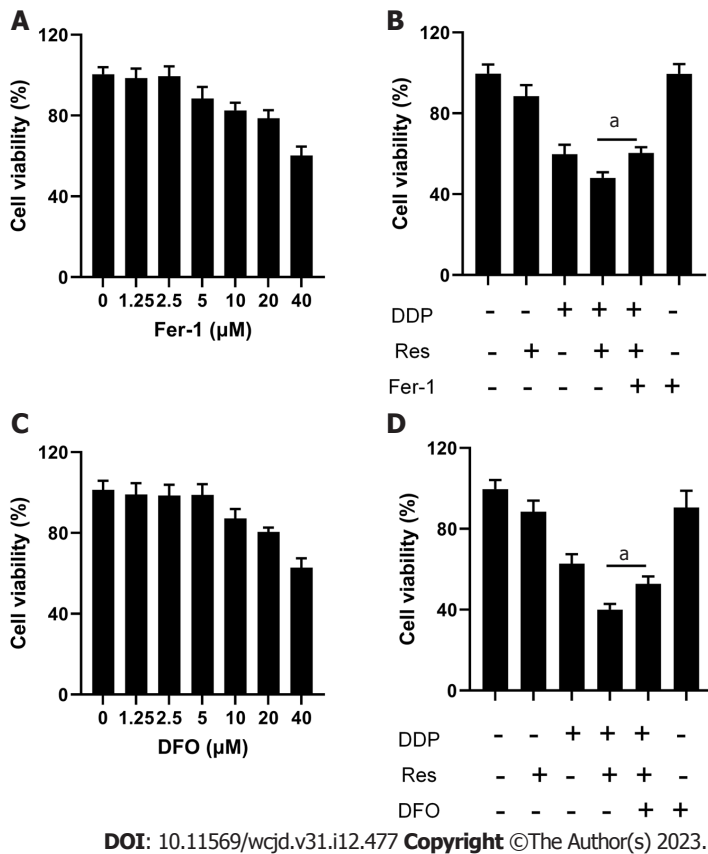


图 4 铁死亡抑制剂Fer-1和铁离子螯合剂DFO对Eca109/DDP细胞活力的影响. A: Fer-1的细胞毒性检测; B: MTT检测Fer-1、Res和DDP对Eca109/DDP细胞活力的影响; C: DFO的细胞毒性检测; D: MTT检测DFO、Res和DDP对Eca109/DDP细胞活力的影响. Res: 白藜芦醇; DDP: 顺铂. $n = 3$, $^aP < 0.05$ vs Res+DDP组.

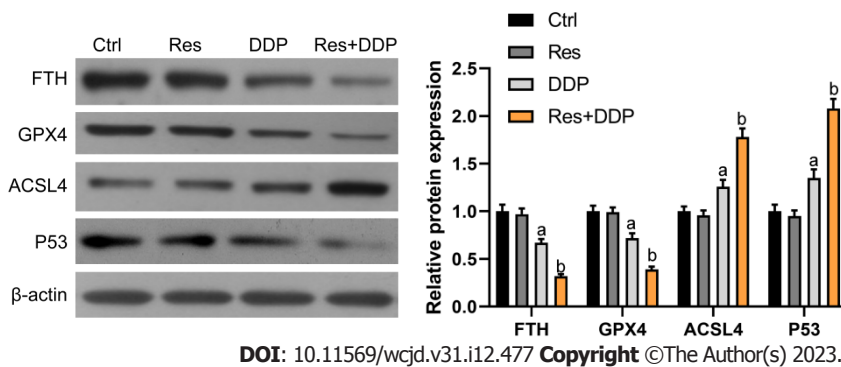


图 5 白藜芦醇及顺铂联用对Eca109/DDP细胞铁死亡相关调控因子的影响. $n = 3$, $^aP < 0.05$ vs Ctrl组, $^bP < 0.05$ vs DDP组. FTH: 丙二醛; GPX4: 谷胱甘肽; ACSL4: 活性氧; Ctrl: 对照组; Res: 白藜芦醇组; DDP: 顺铂组; Res+DDP: 顺铂及白藜芦醇联用组.

和顺铂可增加Eca109/DDP细胞对顺铂的敏感性, 具有一定的耐药逆转效应. 同时克隆形成实验的结果显示相较于单用顺铂, 白藜芦醇和顺铂联用可进一步抑制Eca109/DDP细胞克隆形成, 提升顺铂的作用效果. 结果提示, 白藜芦醇可逆转食管癌顺铂耐药细胞Eca109/DDP对顺铂的耐药性.

化疗药物对肿瘤细胞的杀伤作用主要体现在抑制肿瘤细胞的无限增殖, 诱导其多种模式的死亡上^[9]. 细胞

死亡的方式主要包括: 细胞凋亡、细胞焦亡、坏死性凋亡、铁死亡以及自噬等, 它们具有不同的形态和生化特征^[9-11]. 本研究从铁死亡的角度初步探究了白藜芦醇逆转Eca109/DDP细胞顺铂耐药性的作用机制. 铁死亡是一种铁和脂质过氧化依赖性的细胞死亡模式, 其主要特征表现为细胞内铁离子蓄积通过芬顿反应生成大量的ROS, 同时伴随GSH耗竭, 导致细胞内脂质过氧化物水平升高, 最终诱发细胞死亡^[12]. 目前有大量的文献报道, 在

包括胃癌^[13]、结直肠癌^[14]以及食管癌^[15]中, 诱导细胞铁死亡是改善肿瘤细胞化疗耐药的重要策略。本研究的检测结果显示, 白藜芦醇联用顺铂可促进Eca109/DDP细胞内铁离子的蓄积, 并诱导细胞铁死亡; 同时白藜芦醇和顺铂联用所致的Eca109/DDP细胞增殖抑制作用可被铁死亡抑制剂Fer-1和铁离子螯合剂DFO部分逆转。结果表明, 白藜芦醇可通过铁死亡途径逆转食管癌顺铂耐药细胞Eca109/DDP的耐药性。

铁离子依赖性脂质过氧化是铁死亡发生的关键特征, 故而细胞内调节脂质过氧化和铁代谢的相关因子也是调节铁死亡的关键因子^[12]。GPX4是含硒GPX家族的成员之一, 可通过催化谷胱甘肽还原反应, 抑制脂质过氧化物的蓄积, 是抵抗铁死亡的核心因素^[16]; ACSL4则是长链脂酰CoA合成酶家族的成员之一, 可通过参与合成易被氧化的膜磷脂诱发铁死亡^[17]。另一方面, 铁蛋白则是胞内铁的主要储存形式, 由铁蛋白重链1和轻链组成, 对防止铁超载进而产生ROS具有重要的意义^[18]。除了依赖于GPX4的铁死亡途径外, P53信号也被证明通过SLC7A11以及ALOX12等途径参与调控铁死亡^[19]。本实验的检测结果显示, 白藜芦醇联用顺铂可显著降低Eca109/DDP细胞内FTH和GPX4的蛋白表达, 而增加ACSL4以及P53的蛋白表达水平, 这可能是其促进铁死亡的调控机制之一。

4 结论

综上所述, 白藜芦醇联合顺铂使用可显著提高食管癌细胞Eca109/DDP对顺铂的敏感性, 其作用机制可能是通过影响细胞铁死亡相关调控因子FTH、GPX4、ACSL4和P53的表达, 促进细胞内二价铁离子的蓄积, 进而诱导细胞铁死亡。

文章亮点

实验背景

诱导癌细胞铁死亡是改善包括食管癌在内的多种肿瘤细胞化疗耐药的重要策略。

实验动机

白藜芦醇被报道其可作为多种化疗药的增敏剂, 但其在食管癌耐药细胞的顺铂化疗中的作用以及其中是否涉及铁死亡途径并不清楚。

实验目标

探讨白藜芦醇对食管癌耐药细胞的顺铂敏感性的影响, 并验证铁死亡途径在此过程中所起的作用。

实验方法

白藜芦醇+顺铂处理Eca109/DDP细胞后, 检测细胞活性和集落形成以验证白藜芦醇对顺铂的增敏作用, 并检测铁死亡关键表征和调控因子的水平。用铁死亡抑制剂和铁离子螯合剂处理细胞, 观察是否消除了白藜芦醇对顺铂的增敏作用。

实验结果

白藜芦醇在增强Eca109/DDP细胞对顺铂敏感过程中伴随促进铁死亡, 抑制铁死亡能在一定程度上消除白藜芦醇对顺铂的增敏作用。

实验结论

白藜芦醇可通过诱导细胞铁死亡来恢复食管癌顺铂耐药细胞Eca109/DDP对顺铂的敏感性。

展望前景

白藜芦醇可能是改善食管癌耐药的潜在药剂。

5 参考文献

- 1 Qiu H, Cao S, Xu R. Cancer incidence, mortality, and burden in China: a time-trend analysis and comparison with the United States and United Kingdom based on the global epidemiological data released in 2020. *Cancer Commun (Lond)* 2021; 41: 1037-1048 [PMID: 34288593 DOI: 10.1002/cac2.12197]
- 2 Demarest CT, Chang AC. The Landmark Series: Multimodal Therapy for Esophageal Cancer. *Ann Surg Oncol* 2021; 28: 3375-3382 [PMID: 33629251 DOI: 10.1245/s10434-020-09565-5]
- 3 Mwachiro M, White R. Management of Esophageal Cancer Treatment in Resource-Limited Settings. *Thorac Surg Clin* 2022; 32: 397-404 [PMID: 35961747 DOI: 10.1016/j.thorsurg.2022.04.007]
- 4 Lohan-Codeço M, Barambo-Wagner ML, Nasciutti LE, Ribeiro Pinto LF, Meireles Da Costa N, Palumbo A Jr. Molecular mechanisms associated with chemoresistance in esophageal cancer. *Cell Mol Life Sci* 2022; 79: 116 [PMID: 35113247 DOI: 10.1007/s00018-022-04131-6]
- 5 Tang KY, Du SL, Wang QL, Zhang YF, Song HY. Traditional Chinese medicine targeting cancer stem cells as an alternative treatment for hepatocellular carcinoma. *J Integr Med* 2020; 18: 196-202 [PMID: 32067923 DOI: 10.1016/j.joim.2020.02.002]
- 6 Ren B, Kwah MX, Liu C, Ma Z, Shanmugam MK, Ding L, Xiang X, Ho PC, Wang L, Ong PS, Goh BC. Resveratrol for cancer therapy: Challenges and future perspectives. *Cancer Lett* 2021; 515: 63-72 [PMID: 34052324 DOI: 10.1016/j.canlet.2021.05.001]
- 7 Muhanmode Y, Wen MK, Maitinuri A, Shen G. Curcumin and resveratrol inhibit chemoresistance in cisplatin-resistant epithelial ovarian cancer cells via targeting P13K pathway. *Hum Exp Toxicol* 2022; 41: 9603271221095929 [PMID: 35722665 DOI: 10.1177/09603271221095929]
- 8 Zhang W, Jiang H, Chen Y, Ren F. Resveratrol chemosensitizes adriamycin-resistant breast cancer cells by modulating miR-122-5p. *J Cell Biochem* 2019; 120: 16283-16292 [PMID: 31155753 DOI: 10.1002/jcb.28910]
- 9 Zhao S, Tang Y, Wang R, Najafi M. Mechanisms of cancer cell death induction by paclitaxel: an updated review. *Apoptosis* 2022; 27: 647-667 [PMID: 35849264 DOI: 10.1007/s10495-022-01750-z]
- 10 Das S, Shukla N, Singh SS, Kushwaha S, Shrivastava R.

- Mechanism of interaction between autophagy and apoptosis in cancer. *Apoptosis* 2021; 26: 512-533 [PMID: 34510317 DOI: 10.1007/s10495-021-01687-9]
- 11 王婷安, 吴留成, 韦尉元, 凌通, 黄名威, 覃宇周. 铁死亡调控通路及其在肿瘤放化疗和免疫治疗抵抗中的研究进展. *中国癌症防治杂志* 2022; 14: 682-686 [DOI: 10.3969/j.issn.1674-5671.2022.06.15]
 - 12 Valashedi MR, Najafi-Ghalehlou N, Nikoo A, Bamshad C, Tomita K, Kuwahara Y, Sato T, Roushandeh AM, Roudkenar MH. Cashing in on ferroptosis against tumor cells: Usher in the next chapter. *Life Sci* 2021; 285: 119958 [PMID: 34534562 DOI: 10.1016/j.lfs.2021.119958]
 - 13 Ouyang S, Li H, Lou L, Huang Q, Zhang Z, Mo J, Li M, Lu J, Zhu K, Chu Y, Ding W, Zhu J, Lin Z, Zhong L, Wang J, Yue P, Turkson J, Liu P, Wang Y, Zhang X. Inhibition of STAT3-ferroptosis negative regulatory axis suppresses tumor growth and alleviates chemoresistance in gastric cancer. *Redox Biol* 2022; 52: 102317 [PMID: 35483272 DOI: 10.1016/j.redox.2022.102317]
 - 14 Zhang Q, Deng T, Zhang H, Zuo D, Zhu Q, Bai M, Liu R, Ning T, Zhang L, Yu Z, Zhang H, Ba Y. Adipocyte-Derived Exosomal MITF Suppresses Ferroptosis and Promotes Chemoresistance in Colorectal Cancer. *Adv Sci (Weinh)* 2022; 9: e2203357 [PMID: 35978266 DOI: 10.1002/advs.202203357]
 - 15 Yao W, Wang J, Meng F, Zhu Z, Jia X, Xu L, Zhang Q, Wei L. Circular RNA CircPVT1 Inhibits 5-Fluorouracil Chemosensitivity by Regulating Ferroptosis Through MiR-30a-5p/FZD3 Axis in Esophageal Cancer Cells. *Front Oncol* 2021; 11: 780938 [PMID: 34966683 DOI: 10.3389/fonc.2021.780938]
 - 16 Wang Z, Wu S, Zhu C, Shen J. The role of ferroptosis in esophageal cancer. *Cancer Cell Int* 2022; 22: 266 [PMID: 35999642 DOI: 10.1186/s12935-022-02685-w]
 - 17 Doll S, Proneth B, Tyurina YY, Panzilius E, Kobayashi S, Ingold I, Imler M, Beckers J, Aichler M, Walch A, Prokisch H, Trümbach D, Mao G, Qu F, Bayir H, Füllekrug J, Scheel CH, Wurst W, Schick JA, Kagan VE, Angeli JP, Conrad M. ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition. *Nat Chem Biol* 2017; 13: 91-98 [PMID: 27842070 DOI: 10.1038/nchembio.2239]
 - 18 Hu W, Zhou C, Jing Q, Li Y, Yang J, Yang C, Wang L, Hu J, Li H, Wang H, Yuan C, Zhou Y, Ren X, Tong X, Du J, Wang Y. FTH promotes the proliferation and renders the HCC cells specifically resist to ferroptosis by maintaining iron homeostasis. *Cancer Cell Int* 2021; 21: 709 [PMID: 34965856 DOI: 10.1186/s12935-021-02420-x]
 - 19 Liu Y, Gu W. p53 in ferroptosis regulation: the new weapon for the old guardian. *Cell Death Differ* 2022; 29: 895-910 [PMID: 35087226 DOI: 10.1038/s41418-022-00943-y]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2023 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空 1 格写标题; 2 级标题后空 1 格接正文. 以下逐条陈述: (1) 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2) 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3) 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4) 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图 1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ... 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 第 3 套为 ^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P < 0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条黏贴在正文内, 不能使用浆糊黏贴. (5) 志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com



ISSN 1009-3079

