

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.10.003

特异性激活 G 蛋白偶联雌激素受体通过活性氧途径调控结直肠癌细胞迁移

刘巧^{1a,2}, 刘小东^{1a,2}, 张兵钱^{1b,2}, 谭娇^{1a,2} (1. 重庆医药高等专科学校 a. 药学院; b. 临床医学院, 重庆 401331; 2. 重庆市药物制剂工程技术研究中心, 重庆 401331)

[摘要] **目的:** 探讨特异性激活 G 蛋白偶联雌激素受体(GPER)对结直肠癌(CRC)细胞迁移的作用及其可能的机制。**方法:** 体外培养 CRC 细胞 RKO 和 SW480, 使用 0.5 或 1.0 $\mu\text{mol/L}$ 的 GPER 特异性激活剂(G-1)处理 CRC 细胞, 采用 CCK-8 法、划痕实验和 Transwell 实验分别检测 G-1 对 CRC 细胞增殖、迁移的影响。用 qPCR 和 WB 法分别检测 G-1 及 G-1+活性氧(ROS)清除剂 N-乙酰半胱氨酸(NAC)处理对 RKO 细胞 E-钙黏素(E-Cad)、纤连蛋白(FN)mRNA 和蛋白表达的影响, 用流式细胞术检测 RKO 细胞中 ROS 的水平。**结果:** 经 G-1 处理后 RKO 和 SW480 细胞的迁移能力均明显减弱(均 $P<0.05$), 能显著上调细胞中 E-cad mRNA 及蛋白表达、下调 FN mRNA 及蛋白表达(均 $P<0.05$)。G-1 处理能刺激 RKO 细胞 ROS 水平上升, 在 NAC 的作用下, 由 G-1 引起的 E-cad、FN 蛋白表达变化被部分逆转。**结论:** 特异性激活 GPER 通过上调 ROS 水平抑制 EMT 进程, 进而抑制 CRC 细胞的迁移。

[关键词] G 蛋白偶联雌激素受体; 活性氧; 结直肠癌; RKO 细胞; SW480 细胞; 迁移; 上皮间质转化

[中图分类号] R735.3⁺4; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2023)10-0868-06

Specific activation of G protein-coupled estrogen receptor regulates colorectal cancer cell migration through reactive oxygen species pathways

LIU Qiao^{1a,2}, LIU Xiaodong^{1a,2}, ZHANG Bingqian^{1b,2}, TAN Jiao^{1a,2} (1. a. Department of Pharmacy; b. Department of Clinical Medicine, Chongqing Medical and Pharmaceutical College, Chongqing 401331, China; 2. Chongqing Engineering Center of Pharmaceutical Sciences, Chongqing 401331, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the impact of specific activation of G protein-coupled estrogen receptors (GPER) on the migration of colorectal cancer (CRC) cells, and explore the potential underlying mechanism. **Methods:** CRC RKO and SW480 cells were cultured *in vitro* and treated with 0.5 or 1.0 $\mu\text{mol/L}$ GPER-specific activator (G-1). CCK-8 method, scratch test, and Transwell test were used to detect the effects of G-1 on CRC cell proliferation and migration. The impact of G-1/G-1+ reactive oxygen species (ROS) scavenger N-acetylcysteine (NAC) treatment on the mRNA and protein expressions of E-cadherin (E-Cad) and fibronectin (FN) in RKO cells was measured using qPCR and WB. The level of ROS in RKO cells was detected by flow cytometry. **Results:** The migration ability of RKO and SW480 cells after the treatment with G-1 was significantly reduced (all $P<0.05$). Additionally, G-1 treatment significantly increased the mRNA and protein expressions of E-cad and decreased the mRNA and protein expressions of FN in the cells (all $P<0.05$). G-1 treatment also stimulated the production of ROS in RKO cells. However, the protein expression changes of E-cad and FN caused by G-1 were partially reversed under the action of NAC. **Conclusion:** Specific activation of GPER inhibits the migration of CRC cells by suppressing epithelial-mesenchymal transition (EMT). This inhibitory effect is likely mediated through the upregulation of ROS levels in CRC cells.

[Key words] G protein-coupled estrogen receptor (GPER); reactive oxygen species (ROS); colorectal cancer (CRC); RKO cell; SW480 cell; migration; epithelial-interstitial transformation (EMT)

[Chin J Cancer Biother, 2023, 30(10): 868-873. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.10.003]

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是消化系统中最常见的恶性肿瘤,其发病率和病死率呈上升趋势,严重威胁人民生命健康,急需寻找新的干预或治疗方法。临床研究数据表明,男性CRC发病率高于女性,与两者的雌激素水平相关^[1]。绝经后妇女在接受雌激素替代疗法后能显著降低患CRC的风险^[2]。同时,细胞和动物实验研究也表明,雌激素可以降低患CRC的风险^[3],说明CRC发病与性别及雌激素的相关

性。雌激素作用通过雌激素受体介导,雌激素受体可分为经典的核受体和膜受体。膜受体位于细胞

[基金项目] 重庆市自然科学基金项目(No. cstc2020jcyj-msxmX0117); 重庆市教委科学技术研究项目(No. KJQN202102802); 重庆医药高等专科学校自然科学技术研究项目(No. ygz2018107, ygz2021123)

[作者简介] 刘巧(1991—),女,博士生,讲师,主要从事肿瘤药理学研究, E-mail: 911250394@qq.com

[通信作者] 谭娇, E-mail: 15736197910@163.com

膜,介导雌激素的快速非基因型效应,只需要数秒或几分钟即可产生效应^[4]。越来越多的证据^[5]表明,G蛋白偶联雌激素受体(G protein-coupled estrogen receptor,GPER)为雌激素膜受体,在多种雌激素相关肿瘤(如乳腺癌、卵巢癌、CRC等)细胞中广泛表达,其表达与乳腺癌的进展显著相关^[6];GPER在CRC中扮演着一个抑癌因子的角色,并且与癌细胞迁移、侵袭能力有关^[7]。CRC肝转移是病情恶化的标志^[8],然而GPER对CRC转移恶化进程的作用及其机制尚不明确,因此,本课题主要探讨特异性激活GPER对CRC细胞迁移的影响及其作用机制,以期对CRC的治疗提供新的靶点。

1 材料与方法

1.1 细胞及主要试剂

人CRC细胞RKO、SW480购自海星生物科技有限公司,置于含10%胎牛血清、1%青/链霉素DMEM培养基,在37℃、5%CO₂培养箱中培养,待细胞汇合度达85%~90%时进行传代,取对数生长期、状态良好的细胞进行实验。

DMEM培养基、0.25%胰蛋白酶、胎牛血清均购自Hyclone公司,GPER特异性激活剂(G-1)、活性氧(reactive oxygen species,ROS)清除剂N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine,NAC)、ROS检测所需DCFH-DA购自中国MCE公司,CCK-8试剂盒、BCA蛋白浓度测定试剂盒、抗体稀释液、超敏ECL化学显色剂、辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗小鼠/兔IgG、Transwell小室均购自上海碧云天生物技术公司,E-钙黏素(E-cadherin,E-Cad)、纤连蛋白(fibronectin, FN)、GAPDH的抗体均购自Abclonal公司,E-cad、FN、GAPDH的引物均购自上海生工公司。

1.2 CCK-8法检测不同浓度G-1对CRC细胞增殖能力的影响

取对数生长期RKO、SW480细胞以每孔 2×10^3 个接种于96孔板中,待细胞贴壁后,将培养基更换为200 μ L含不同浓度G-1(终浓度为0.078 125、0.156 25、0.312 5、0.625、1.25、2.5、5、10 μ mol/L)的新鲜培养基,设置对照组和调零组。培养48 h后,每孔加入20 μ L CCK-8溶液,继续反应1 h,酶标仪检测各孔在450 nm波长的光密度(D)值。细胞增殖率=[(处理组D-调零组D)/(对照组D-调零组D)] $\times 100\%$ 。

1.3 划痕和Transwell实验检测G-1对CRC细胞迁移能力的影响

划痕实验:将RKO细胞和SW480细胞以每孔 1×10^5 个接种于6孔板中,待细胞汇合度达100%时,用10 μ L无菌移液器吸头在培养板底部划痕,PBS清

洗3次后,加入0.5或1.0 μ mol/L的G-1处理,并设置对照组。处理0、48 h后,在光学显微镜下观察、拍照,并依据公式“划痕愈合率=(48 h划痕宽度/0 h划痕宽度) $\times 100\%$ ”计算细胞划痕愈合率。

Transwell实验:将对数生长期的RKO细胞以每孔 2×10^4 个接种在Transwell小室中。加入G-1(1.0 μ mol/L)处理,设置空白对照组。处理48 h后,将迁移到下室的细胞进行固定、染色、拍照,光学显微镜下观察、统计穿膜细胞数。

1.4 WB法检测G-1及NAC对CRC细胞中E-cad、FN蛋白表达的影响

将对数生长期的RKO细胞接种在6孔板(4×10^4 个/孔)中。待细胞贴壁后,加入1.0 μ mol/L的G-1分别处理12、24、36、48、60 h,并设置对照组。用RIPA裂解液裂解细胞,提取细胞的总蛋白质,用BCA法测定蛋白浓度。每孔上样30 μ g蛋白质进行SDS-PAGE,湿转法将蛋白质泳带转移至PVDF膜上,5% BSA中封闭2 h,加入稀释比例均为1:1 000的抗E-cad、FN和GAPDH一抗,4℃下处理过夜。TBST洗涤3次(10 min/次),加入稀释比例为1:1 000的HRP标记的山羊抗小鼠/兔IgG二抗,室温下反应2 h,TBST洗涤3次(10 min/次),滴加ECL发光液并于化学成像仪中显影,拍照,用Image J软件分析蛋白质条带的灰度值,计算蛋白的相对表达量。

将对数生长期的RKO细胞(4×10^4 个/孔)接种在6孔板中。待细胞贴壁后,设置对照组,分别加入0.5、1.0 μ mol/L的G-1及G-1(0.5、1.0 μ mol/L)+NAC(20 mmol/L)处理。后续按前述WB法检测各组细胞中E-cad、FN蛋白表达水平。

1.5 qPCR法检测G-1对CRC细胞中FN、E-cad mRNA表达的影响

将对数生长期的RKO细胞接种在6孔板(4×10^4 个/孔)中。待细胞贴壁后,加入1.0 μ mol/L的G-1处理6、9、12 h,设置对照组。用TRIzol提取各组细胞的总RNA,检测其RNA浓度和纯度,按反转录试剂盒操作流程将其反转录成cDNA。按照SYBR Green qPCR Master Mix试剂盒说明书配制20 μ L反应液,qPCR采用三步法扩增,95℃预变性2 min;95℃变性10 s、55℃退火30 s、72℃延伸30 s,共计40个循环,设置55℃~98℃为溶解曲线,以GAPDH为内参,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因mRNA的相对表达量。所用引物序列:FN1正向引物为CCCAGACTTATGGTGGCAATTC,反向引物为AATTTCCGCCTCGAGTCTGA;CDH1(E-Cad的基因)正向引物为CGTCCTGCCAATCCTGATGA,反向引物为ACCACTGCCCTCGTAATCGAAC;GAPDH

正向引物为 GCACCGTCAAGGCTGAGAAC, 反向引物为 TGGTGAAGACGCCAGTGGA。

1.6 流式细胞术检测 RKO 细胞中 ROS 水平

将对数生长期的 RKO 细胞接种在 6 孔板 (4×10^4 个/孔) 中。待细胞贴壁后, 对照组加入含 0.1% DMSO 的培养基, 处理组加入 0.5、1.0、2.0 $\mu\text{mol/L}$ 的 G-1 刺激 3 h, 收集细胞, PBS 清洗 2 次, 加入 500 μL 含 0.5 $\mu\text{mol/L}$ DCFH-DA 染料的 PBS 中染色 20 min, 上流式细胞仪检测细胞中 ROS 水平。

1.7 统计学处理

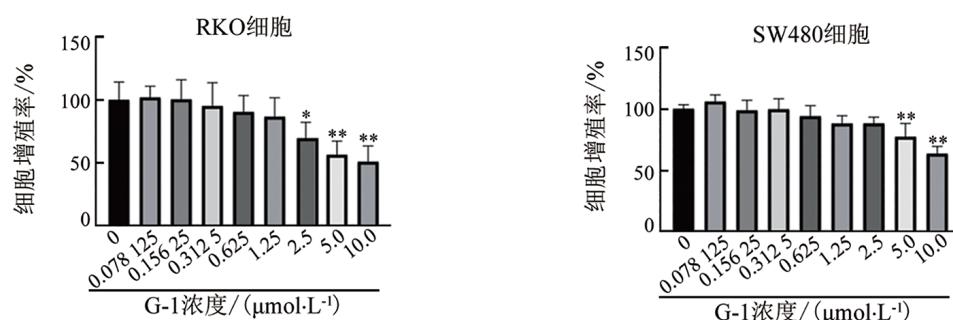
以上所有实验均独立重复 3 次。用 Graphpad Prism8 统计软件进行分析, 呈正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 t 检验, 多组间比较采用单

因素方差分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 特异性激活 GPER 抑制 CRC 细胞的增殖能力

CCK-8 法检测不同浓度 G-1 对 CRC 细胞增殖影响的结果 (图 1) 显示, G-1 在浓度为 2.5 $\mu\text{mol/L}$ 及以上时对 RKO 细胞有明显的增殖抑制作用, G-1 在浓度为 5 $\mu\text{mol/L}$ 及以上时对 SW480 细胞有明显的增殖抑制作用 (均 $P < 0.05$)。G-1 浓度为 0.5、1.0 $\mu\text{mol/L}$ 对 RKO、SW480 细胞增殖活力均无明显影响, 故选取这两个浓度的 G-1 进行后续实验。



与 0 $\mu\text{mol/L}$ (对照) 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图1 CCK-8法检测不同浓度G-1对RKO、SW480细胞增殖的影响

2.2 特异性激活 GPER 抑制 CRC 细胞的迁移能力

划痕实验结果 (图 2A) 显示, 经 G-1 处理 48 h 后, RKO 和 SW480 细胞的划痕愈合率均较对照组显著降低 (均 $P < 0.05$)。Transwell 实验结果 (图 2B) 显示, 经 G-1 处理后 RKO 细胞的迁移能力显著降低 ($P < 0.05$)。结果表明, 特异性激活 GPER 能够显著抑制 RKO 细胞的迁移能力。

2.3 特异性激活 GPER 抑制 RKO 细胞的 EMT 进程

荧光显微镜观察结果 (图 3A) 显示, 经 G-1 处理后的 RKO 细胞失去了梭形纤维细胞的形态, 变成了偏圆的上皮细胞的形态。

qPCR 法检测结果 (图 3B) 显示, 与对照组比较, RKO 细胞中 FN mRNA 表达在 G-1 处理后 6、9、12 h 时明显下调 (均 $P < 0.05$)、E-cad mRNA 表达在 G-1 处理后 9 h 时明显升高 ($P < 0.05$)。WB 法检测结果 (图 3C) 显示, 随着 G-1 作用时间的延长, FN 蛋白表达量逐渐降低, 在 48、60 h 时的表达水平显著低于对照组 (均 $P < 0.05$); 随着 G-1 作用时间延长, E-cad 蛋白表达量逐渐升高, 在 60 h 时的表达水平显著高于对照组 ($P < 0.05$)。结果均表明, 特异性激活 GPER 能显著抑制 CRC 细胞的 EMT 进程。

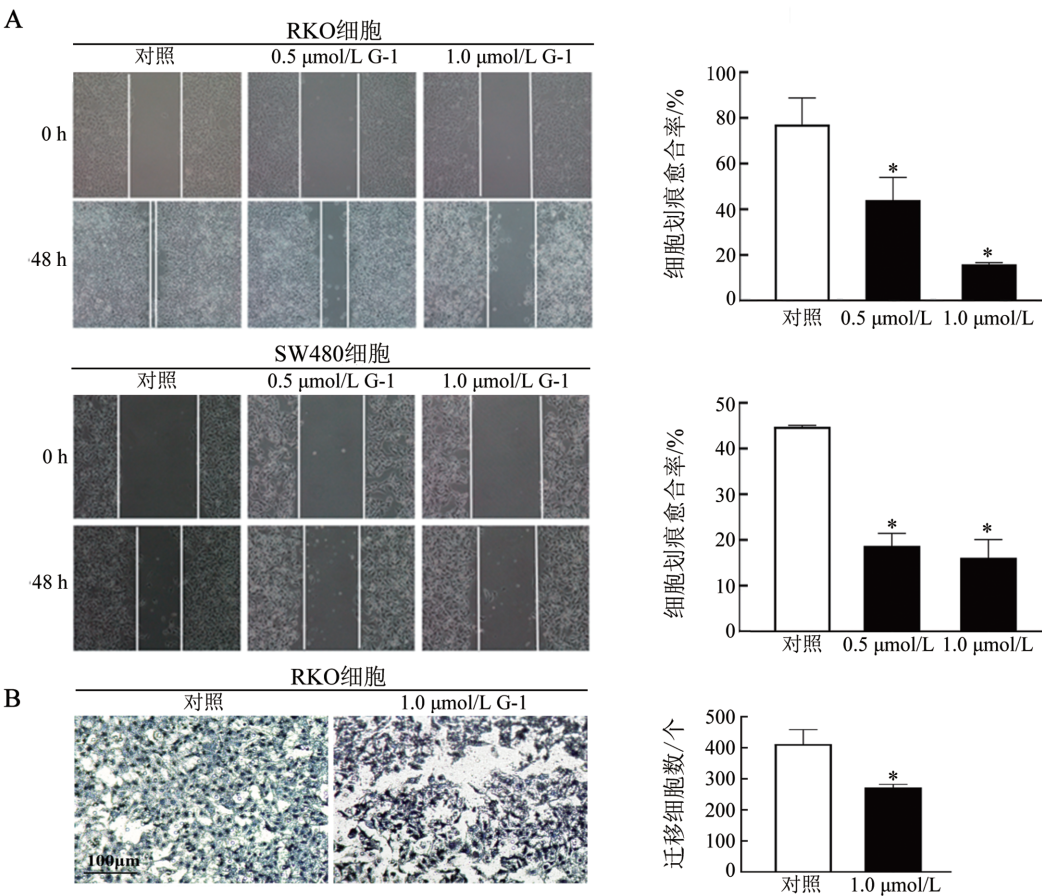
2.4 特异性激活 GPER 通过上调 ROS 水平抑制 RKO 细胞的 EMT 进程

DCFH-DA 染色流式细胞术检测结果 (图 4A) 显示, 0.5、1.0 $\mu\text{mol/L}$ G-1 均可以引起 RKO 细胞中 ROS 水平上升。WB 法检测结果 (图 4B) 显示, 使用 NAC 处理后, RKO 细胞中 G-1 刺激引起的 FN、E-cad 蛋白表达变化被部分逆转 (均 $P < 0.05$)。结果表明, 特异性激活 GPER 通过上调 ROS 水平, 从而抑制 CRC 细胞的 EMT 进程。

3 讨论

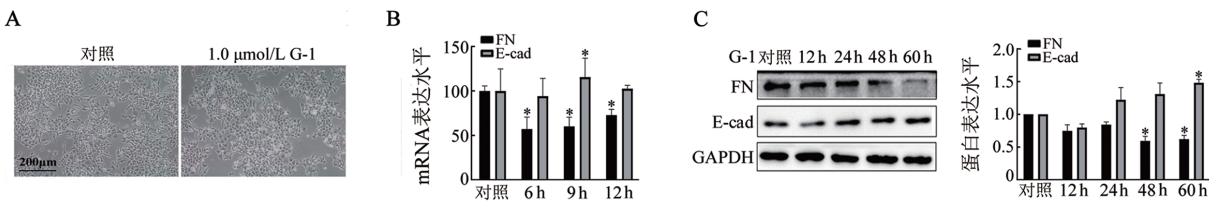
雌激素膜受体 GPER 在 CRC 的进展中介导雌激素信号, 但其在 CRC 转移中的作用尚不清楚。本研究通过体外细胞实验, 发现特异性激活 GPER 能上调 CRC 细胞中 ROS 水平从而抑制 CRC 细胞的 EMT 进程, 最终使 CRC 细胞的迁移能力变弱。前期大量研究结果表明, GPER 激活能抑制雌激素相关肿瘤的转移。本研究结果发现, 特异性激活 GPER 能显著减弱 CRC 细胞的迁移能力, 使癌细胞中 E-Cad 表达上调、FN 表达下降, 首次证明了 G-1 抑制 CRC 细胞迁移及其抑制 EMT 进程的作用, 这与在乳腺癌^[9-10]和卵巢

癌^[11-12]模型中的观察结果一致。但也有研究^[13-14]表明, 特异性激活 GPER 能促进乳腺癌和卵巢癌细胞的转 移。此与本研究的结果相反, 究其原因, 可能是使用了不同激活剂即雌激素、他莫昔芬或双酚 A 所造成。



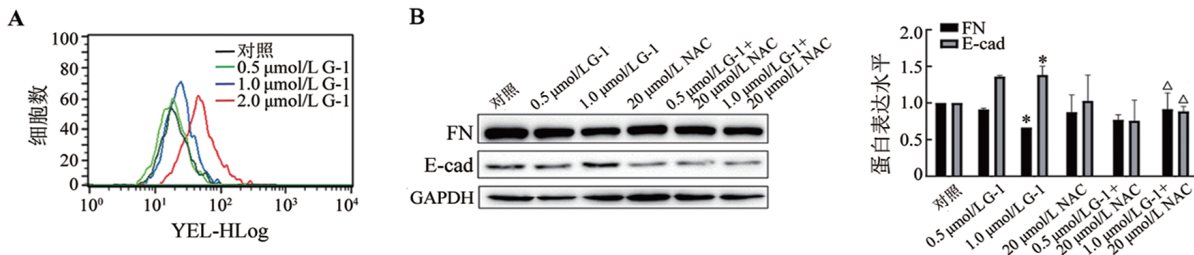
A: 划痕实验检测 CRC 细胞的迁移能力; B: Transwell 实验检测 CRC 细胞的迁移能力(结晶紫染色)。与对照组比较, $P < 0.05$ 。

图 2 G-1 对 RKO 和 SW480 细胞迁移能力的影响



A: 显微镜下 RKO 细胞的形态; B: qPCR 法检测 FN、E-cad mRNA 表达; C: WB 法检测 FN、E-cad 蛋白表达。与对照组比较, $P < 0.05$ 。

图 3 G-1 (1.0 $\mu\text{mol/L}$) 对 RKO 细胞形态及 FN、E-cad mRNA 和蛋白表达的影响



A: DCFH-DA 染色流式细胞术检测 ROS 水平; B: WB 法检测 FN、E-cad 蛋白表达。与对照组比较, $P < 0.05$, 与 1.0 $\mu\text{mol/L}$ G-1 组比较, $^{\Delta}P < 0.05$ 。

图 4 G-1 和 G-1+NAC 处理对 RKO 细胞中 ROS 与 FN、E-cad 蛋白表达的影响

本研究结果表明,特异性激活 GPER 能引起 CRC 细胞产生 ROS。使用 ROS 清除剂 NAC 后,观察 G-1 刺激对 EMT 相关蛋白 FN、E-cad 等表达的影响,发现 NAC 能逆转 G-1 抗 EMT 的抑制作用,说明特异性激活 GPER 可通过调节 ROS 水平起到抑制 CRC 细胞转移的作用。ROS 是一种重要的细胞信号分子,对于肿瘤细胞的生长、转移等过程具有重要的调节作用^[15]。研究表明 ROS 的上调能抑制肾上腺皮质癌^[16]和乳腺癌^[17]的转移,这与本研究的结果一致。然而,也有大量研究证据^[18-19]表明,ROS 水平上升会促进肿瘤细胞转移,这种差异可能是由于处理的药物作用靶点不同引起的。本研究^[20-21]表明,特异性激活 GPER 可通过提高 ROS 水平来抑制 CRC 细胞的转移,但这只是其作用途径之一。大量研究表明,通过 GPER 的激活可以调节多个下游信号的活性,包括 PKA、PKC、MAPK 和 PI3K/Akt 等,并且通过这些途径调节肿瘤细胞的增殖和迁移。因此,本研究存在一定的局限性,特异性激活 GPER 的抗 CRC 细胞转移的机制仍需进一步研究。

综上所述,本研究发现特异性激活 GPER 能抑制 CRC 细胞迁移,发现抑制 ROS 水平是其抑制 CRC 转移的机制之一,实验结果为寻找临床 CRC 治疗的新靶点提供了有力的依据。

【参 考 文 献】

- [1] BARAIBAR I, ROS J, SAOUDI N, *et al.* Sex and gender perspectives in colorectal cancer[J/OL]. *ESMO Open*, 2023, 8(2): 101204[2023-07-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/3084/>. DOI: 10.1016/j.esmoop.2023.101204.
- [2] SIMON M S, CHLEBOWSKI R T, WACTAWSKI-WENDE J, *et al.* Estrogen plus progestin and colorectal cancer incidence and mortality[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(32): 3983-3990. DOI: 10.1200/JCO.2012.42.7732.
- [3] HARTMAN J, EDVARDSSON K, LINDBERG K, *et al.* Tumor repressive functions of estrogen receptor beta in SW480 colon cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(15): 6100-6106. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-0506.
- [4] REVANKAR C M, BOLOGA C G, PEPERMANS R A, *et al.* A selective ligand for estrogen receptor proteins discriminates rapid and genomic signaling[J/OL]. *Cell Chem Biol*, 2019, 26(12): 1692-1702. e5[2023-07-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6925632/>. DOI: 10.1016/j.chembiol.2019.10.009.
- [5] ARTERBURN J B, PROSSNITZ E R. G protein-coupled estrogen receptor gper: molecular pharmacology and therapeutic applications [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2023, 63:295-320. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-031122-121944.
- [6] PROSSNITZ E R, BARTON M. The G-protein-coupled estrogen receptor GPER in health and disease[J/OL]. *Nat Rev Endocrinol*, 2011, 7(12): 715-726[2023-07-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3474542/>. DOI: 10.1038/nrendo.2011.122.
- [7] LIU Q, CHEN Z J, JIANG G M, *et al.* Epigenetic down regulation of G protein-coupled estrogen receptor (GPER) functions as a tumor suppressor in colorectal cancer[J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 1-14. DOI: 10.1186/s12943-017-0654-3.
- [8] 褚雪镭, 侯成志, 毛昀, 等. 结直肠癌肝转移差异表达基因与信号通路分析[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2020, 27(7): 787-793. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.07.011.
- [9] CHEN Z J, WEI W, JIANG G M, *et al.* Activation of GPER suppresses epithelial mesenchymal transition of triple negative breast cancer cells via NF- κ B signals[J/OL]. *Mol Oncol*, 2016, 10(6): 775-788[2023-07-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5423167/>. DOI: 10.1016/j.molonc.2016.01.002.
- [10] HUANG R Y, LI J B, PAN F, *et al.* The activation of GPER inhibits cells proliferation, invasion and EMT of triple-negative breast cancer via CD151/miR-199a-3p bio-axis[J/OL]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(1): 32-44[2023-07-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7013229/>.
- [11] HENIC E, NOSKOVA V, HØYER-HANSEN G, *et al.* Estradiol attenuates EGF-induced rapid uPAR mobilization and cell migration via the G-protein-coupled receptor 30 in ovarian cancer cells[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2009, 19(2): 214-222. DOI: 10.1111/IGC.0b013e31819bcb75.
- [12] SCHÜLER-TOPRAK S, SKRZYPCZAK M, IGNATOV T, *et al.* G protein-coupled estrogen receptor 1 (GPER-1) and agonist G-1 inhibit growth of ovarian cancer cells by activation of anti-tumoral transcriptome responses: impact of GPER-1 mRNA on survival[J/OL]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2020, 146(12): 3175-3188[2023-07-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/1794240/>. DOI: 10.1007/s00432-020-03333-4.
- [13] YANG H C, WANG C Y, LIAO H Q, *et al.* Activation of GPER by E2 promotes proliferation, invasion and migration of breast cancer cells by regulating the miR-124/CD151 pathway[J/OL]. *Oncol Lett*, 2021, 21(6): 432[2023-07-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8045164/>. DOI: 10.3892/ol.2021.12693.
- [14] PARK S H, CHEUNG L W, WONG A S, *et al.* Estrogen regulates Snail and Slug in the down-regulation of E-cadherin and induces metastatic potential of ovarian cancer cells through estrogen receptor alpha[J/OL]. *Mol Endocrinol*, 2008, 22(9): 2085-2098[2023-07-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5419456/>. DOI: 10.1210/me.2007-0512.
- [15] 刘天宇, 唐铖铖, 冯光, 等. 成纤维细胞生长因子 13 通过 ROS/Caspase-3 通路调控非小细胞肺癌 A549 细胞的凋亡[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2021, 28(5): 451-459. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2021.05.005.
- [16] CASABURI I, AVENA P, DE LUCA A, *et al.* GPER-independent inhibition of adrenocortical cancer growth by G-1 involves ROS/Egr-1/BAX pathway[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(70): 115609-115619[2023-07-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5777797/>. DOI: 10.18632/oncotarget.23314.
- [17] ZHU Y, YIN W F, YU P, *et al.* Meso-Hannokinol inhibits breast cancer bone metastasis via the ROS/JNK/ZEB1 axis[J]. *Phytother Res*, 2023, 37(6): 2262-2279. DOI: 10.1002/ptr.7732.
- [18] HENNEQUART M, PILLEY S E, LABUSCHAGNE C F, *et al.* ALDH1L2 regulation of formate, formyl-methionine, and ROS controls cancer cell migration and metastasis[J/OL]. *Cell Rep*,

- 2023, 42(6): 112562[2023-07-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37245210/>. DOI: 10.1016/j.celrep.2023.112562.
- [19] HAN B, WANG T, XUE Z G, *et al.* Elemene nanoemulsion inhibits metastasis of breast cancer by ROS scavenging[J/OL]. *Int J Nanomedicine*, 2021, 16: 6035-6048[2023-07-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8418379/>. DOI: 10.2147/IJN.S327094.
- [20] HERNÁNDEZ-SILVA C D, VILLEGAS-PINEDA J C, PEREIRA-SUÁREZ A L. Expression and role of the G protein-coupled estrogen receptor (GPR30/GPER) in the development and immune response in female reproductive cancers[J/OL]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2020, 11: 544[2023-07-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32973677/> DOI: 10.3389/fendo.2020.00544.
- [21] HUANG M Q, LI X J, JIA S J, *et al.* Bisphenol AF induces apoptosis via estrogen receptor beta (ER β) and ROS-ASK1-JNK MAPK pathway in human granulosa cell line KGN[J/OL]. *Environ Pollut*, 2021, 270: 116051[2023-07-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33189448/> DOI: 10.1016/j.envpol.2020.116051.
- [收稿日期] 2023-07-06 [修回日期] 2023-08-17
[本文编辑] 党瑞山, 沈志超