

# 不同性别大鼠 NMBA 致食管癌前病变成模及肠道菌群和代谢组学分析

张晨辰<sup>1</sup>, 刘亚平<sup>2</sup>, 高晓璐<sup>2</sup>, 王志超<sup>2</sup>, 李胜超<sup>2</sup>, 史会娟<sup>2\*</sup>

(1.河北医科大学研究生学院,河北石家庄 050017;2.河北医科大学第四医院中医科,河北石家庄 050011)

**[摘要]** 目的 探讨雌鼠与雄鼠制备食管癌前病变模型中肠道菌群及代谢组学的差异。方法 给予雌鼠模型组大鼠及雄鼠模型组大鼠皮下注射 N-亚硝基甲基氨基丁酸(N-Nitrosos-N-methyl-4-aminobutyric Acid, NMBA)溶液(0.30 mg/kg, 3 d/次);对照组大鼠不予诱导;应用 HE 染色观察各组大鼠食管黏膜病理组织学情况;从大鼠盲肠内容物中提取总 DNA,应用 16S rRNA 基因测序和生物信息学分析进行肠道菌群  $\alpha$  和  $\beta$  多样性分析,获取组间的差异菌;应用非靶向代谢组学检测血浆代谢产物。结果 大鼠食管上皮 HE 染色结果显示,大鼠经 NMBA 处理 40 周后,雄鼠造模较雌鼠更为稳定;16S rRNA 基因测序结果显示,2 组样品中物种丰度以及均匀度差异无统计学意义,而各个群落的数量和分布的差异性较大,在属水平,雌鼠模型组与雄鼠模型组的肠道菌群表达有明显不同;代谢组学结果显示雄鼠模型组与雌鼠模型组大鼠血液代谢明显不同,其差异明显的代谢物主要集中在氧化脂质及胆汁酸。结论 雌鼠与雄鼠制备食管癌前病变模型中肠道菌群及代谢组学存在明显不同。

**[关键词]** 食管肿瘤;大鼠;成瘤率;肠道菌群;代谢组学 doi:10.3969/j.issn.1007-3205.2025.03.008

**[中图分类号]** R735.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-3205(2025)03-0291-07

## Modeling of precancerous esophageal lesions induced by NMBA in rats of different genders and analysis of intestinal microbiota and metabolomics

ZHANG Chen-chen<sup>1</sup>, LIU Ya-ping<sup>2</sup>, GAO Xiao-lu<sup>2</sup>,  
WANG Zhi-chao<sup>2</sup>, LI Sheng-chao<sup>2</sup>, SHI Hui-juan<sup>2\*</sup>

(1. Graduate School of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China; 2. Department of Traditional Chinese Medicine, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the difference of intestinal microbiota and metabonomics between male and female rats in the preparation of precancerous esophageal lesion models. **Methods** N-Nitrosos-N-methyl-4-aminobutyric Acid (NMBA) solution (0.30 mg/kg) was subcutaneously injected into female rats and male rats every 3 days. The rats in the control group were not induced, and HE staining was used to observe the pathological histology of esophageal mucosa in each group. Total DNA was extracted from the contents in the cecum of rats, and 16S rRNA gene sequencing and bioinformatics analysis were used to analyze the  $\alpha$  and  $\beta$  diversity and then obtain the different bacteria between groups. Non-targeted metabonomics was used to detect metabolites of plasma. **Results** The HE staining results of rat esophageal epithelium showed that after 40 weeks of treatment with NMBA, male rats showed more stable modeling compared with female rats. The 16S rRNA gene sequencing results showed that there was no significant

[收稿日期]2024-06-20

[基金项目]河北省自然科学基金(H2021206010)

[作者简介]张晨辰(2000-),女,河北沧州人,河北医科大学研

究生学院医学硕士研究生,从事肿瘤的中西医结合诊治研究。

\* 通信作者。E-mail:run0163@163.com

difference in species abundance and evenness of the samples between the two groups, while there were significant differences in the number and distribution of each community. At the genus level, there were significant differences in the expression of intestinal microbiota between the female and male mouse model groups. The metabolomics results showed that there were significant differences in blood metabolism between the male and female mouse model groups, and the metabolites with significant differences were mainly concentrated in oxidized lipids and bile acids. **Conclusion** There are significant differences in intestinal microbiota and metabolomics between female and male mice in the preparation of esophageal precancerous lesion models.

[ **Key words** ] esophageal neoplasms; rats; tumorigenesis rate; gut microbiota; metabolomics

随着肿瘤研究的不断深入,动物模型已成为探索肿瘤的发生、发展机制及治疗策略的重要工具<sup>[1]</sup>。然而,在实验中选择雌鼠还是雄鼠进行模型制备,一直是研究者面临的关键问题。雌鼠因其性情温和,在模型制备过程中能够显著减少因打斗导致的动物伤亡,从而提高实验的可操作性。然而,已有研究<sup>[2]</sup>表明,雄鼠的成瘤率可能高于雌鼠,这种差异可能与性别相关的激素水平、免疫调节能力或代谢特征有关。为了系统评估性别对肿瘤模型制备的影响,本研究采用雄鼠和雌鼠共同构建食管癌前病变模型,旨在比较两种性别在模型成功率上的差异。通过对比分析,明确性别因素在模型制备中的影响,为后续研究提供更科学的依据。此外,本研究还结合肠道菌群与代谢组学,进一步研究雄鼠和雌鼠在模型状态下的生物学差异。通过多组学联合分析,以揭示性别差异对肿瘤模型的影响机制,为肿瘤研究提供新的理论支持和实验依据。

## 1 材料与 方法

1.1 实验动物 采用 SPF 级 4~5 周龄 F344 大鼠 24 只购自维通利华[SCXK(京)2019-0717],雌雄各半,体重(200±20)g。合格证编号雄鼠:1100111911076398,雌鼠:1100111911076399。饲养和实验于河北医科大学第四医院动物实验中心[SYXK(冀)2018-001],标准鼠饲料喂养,自由饮水。

本实验符合 3R 原则,经河北医科大学第四医院实验动物伦理委员会审核通过(IACUC-4th Hos Hebmu-2019016)。

1.2 主要试剂与仪器 HiPure 粪便 DNA 试剂盒购于中国广州美基生物科技有限公司、VAHTSTM DNA 清洁珠购于中国南京维信生物科技有限公司。高效液相色谱仪(德国,Thermo Scientific),Chromeleon 7 色谱工作站;Waters 对称 C18 色

柱(5 μm,4.6×250 mm),用于代谢组学和肠道菌群分析的超高效液相色谱法(ultra high performance liquid chromatography, UPLC)(ExionLC AD, <https://sciex.com.cn/>);用于代谢组学检测的串联质谱(MS/MS)(QTRAP <https://sciex.com.cn/>)。Ag135 分析天平(瑞士,Mettler Toledo);KQ5200B 超声波清洗机(中国昆山超声波仪器厂)。TD6001 数字天平(美国,Sigma);普通切片机(德国,Leica);正置显微镜(德国,Leica);D3024R 台式高速冷冻微型离心机(美国,Scilogex)。

### 1.3 实验方法

1.3.1 食管癌前病变大鼠模型的制备、分组和给药 应用 4~5 周龄 F344 大鼠 24 只(雌性和雄性各 12 只),其中雄鼠模型组、雌鼠模型组及对照组(其中对照组雌雄各半)各 8 只。给每只大鼠编号 1~24,记录性别。雄性大鼠随机排序,选取前 8 只进入雄鼠模型组,剩余 4 只进入对照组。雌性大鼠随机排序,选取前 8 只进入雌鼠模型组,剩余 4 只进入对照组。自实验开始雌鼠模型组和雄鼠模型组均给予皮下注射 N-亚硝基甲基氨基丁酸(N-Nitrosos-N-methyl-4-aminobutyric Acid, NMBA)溶液(0.30 mg/kg),1 次/3 d;对照组大鼠不予诱导。于造模开始后 24 周处死雌鼠模型组及雄鼠模型组大鼠各 2 只,其余大鼠均于造模开始后 40 周处死,给予食管 HE 染色观察造模情况。

1.3.2 样本采集和处理 造模 40 周,称量大鼠体重,1%异氟醚氧气混合物中麻醉,腹主动脉采血至肝素钠抗凝管中,直到血液采尽,迅速取出食管,用 10%福尔马林固定,大鼠躯体尚未僵硬时,取盲肠内容物检测肠道菌群;将采集的全血立即分离血浆,与盲肠内容物于-80℃保存,干冰填埋转运至广州博狮生物科技有限公司进行检测。

1.3.3 HE 染色 食管组织包埋后,连续切片 5 张,进行 HE 染色,光学显微镜下观察各组大鼠食管黏

膜病理组织学情况。请病理科主任医师进行诊断。

1.3.4 16S rRNA 基因测序和生物信息学分析 从大鼠盲肠内容物中提取总 DNA, 定量。扩增 DNA 样本中 16S rDNA 的可变区, 并进行荧光定量。将纯化的扩增产物进行等量混合, 进行高通量测序。整体数据基于 qiime2 分析流程, 进行  $\alpha$  多样性和  $\beta$  多样性分析, 并进行组间差异比较获取组间的差异菌。

1.3.5 非靶向代谢组学检测血浆代谢产物 冰上解冻样本, 加入纯甲醇内标提取液, 4 °C 离心 10 min (12 000 r/min), -20 °C 30 min; 4 °C 离心 3 min (12 000 r/min), 上机分析。分析条件: 液相条件: 色谱柱: Waters ACQUITY UPLC HSS T3 C18 (1.8  $\mu$ m, 2.1 mm  $\times$  100 mm); 流动相: A: 超纯水 (0.1% 的甲酸), B: 乙腈 (0.1% 的甲酸); 梯度: 0~11 min, 95% B; 11~12 min, 95% B; 12~14 min, 65% B; 14 min, 95% B; 柱温: 40 °C; 0.4 mL/min; 进样量: 2  $\mu$ L。质谱条件: 电喷雾离子源雾化气压: 413.7 kPa (55 psi), 辅助气压: 413.7 kPa (60 psi), 气帘气压: 241.325 kPa (25 psi), 温度: 500 °C, 喷雾电压: 5 000 V (正离子模式)、-4 000 V (负离子模式)。利用 Analyst 1.6.3 处理质谱数据。

1.4 统计学方法 应用 SPSS22.0 统计软件分析

数据。所有实验均重复 3 次以上。计量资料比较采用  $t$  检验; 计数资料采用  $\chi^2$  检验; 等级资料比较采用秩和检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

2.1 雌雄大鼠食管癌前病变造模情况 造模后雄鼠与雌鼠食管上皮 HE 染色结果显示, 大鼠经 NMBA 处理 24 周后, 雄鼠及雌鼠食管上皮均出现轻度黏膜增生。经 NMBA 处理 40 周后, 雌鼠模型组及雄鼠模型组大鼠食管上皮出现不同程度的食管上皮增生, 通过 Mann-Whitney 秩和检验对 2 组大鼠模型造模情况进行统计学分析, 精确显著性  $P$  值为 0.064, 略高于 0.05,  $P > 0.05$  差异无统计学意义, 但仍然接近显著性水平, 且能够看出雄鼠模型较雌鼠模型更稳定, 见表 1, 图 1。

表 1 雄鼠模型组与雌鼠模型组大鼠造模情况

Table 1 Modeling in male and female model groups

( $n=6$ , 例数, %)

组别	成瘤情况		
	食管上皮增生	轻度不典型增生	中重度不典型增生
雄鼠模型组	0(0.00)	0(0.00)	6(100.00)
雌鼠模型组	1(16.67)	3(50.00)	2(33.33)
Z 值	2.309		
P 值	0.065		

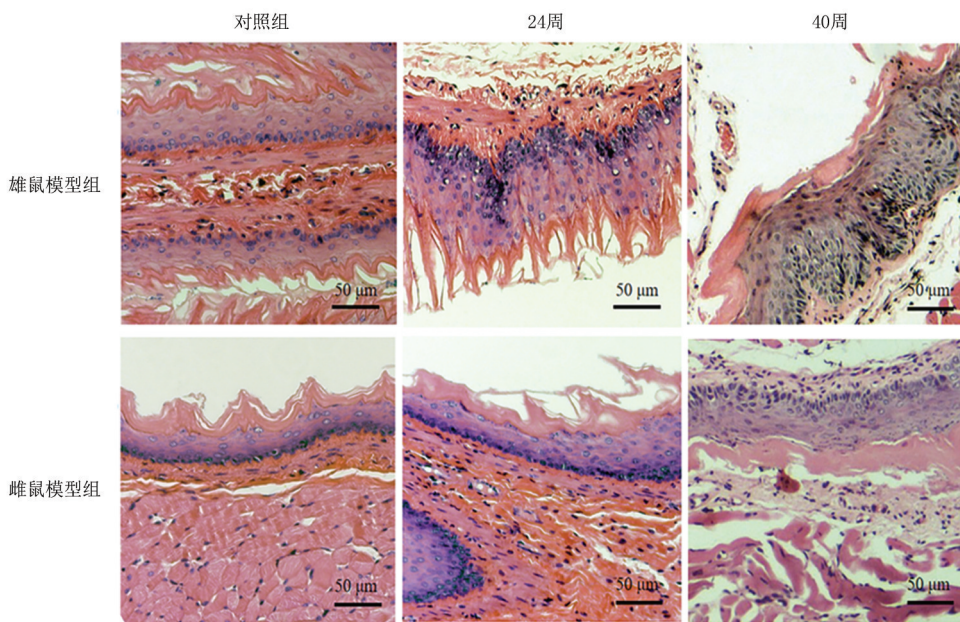


图 1 造模后雄鼠与雌鼠食管上皮(HE 染色  $\times 200$ )

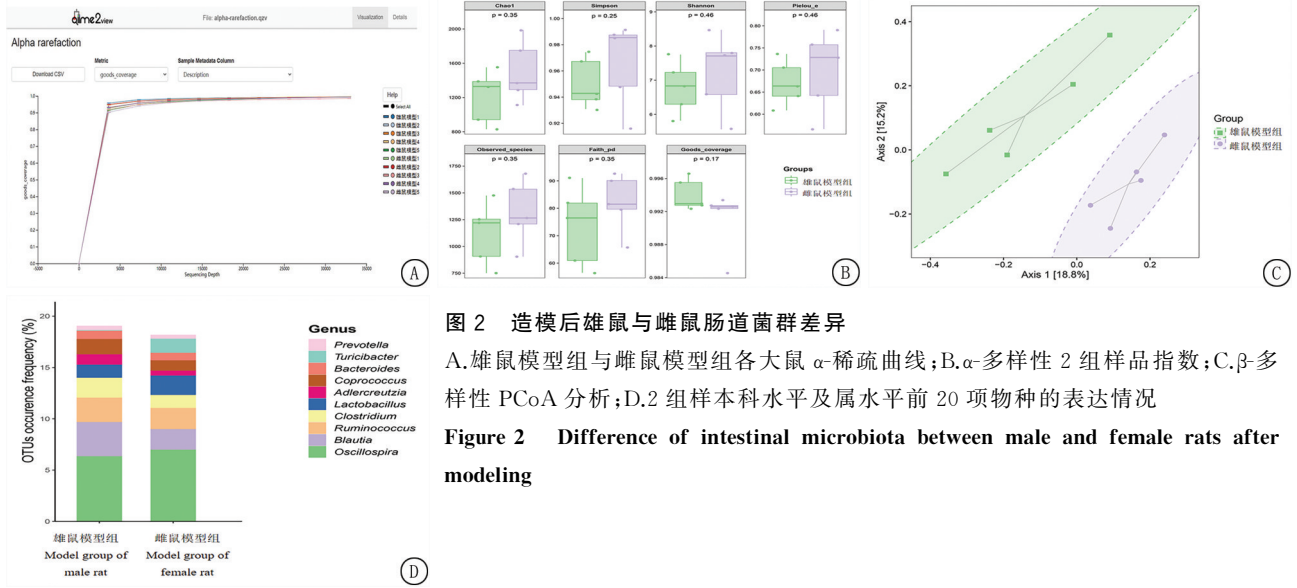
Figure 1 HE staining of esophageal epithelium in male and female rats after modeling (HE  $\times 200$ )

2.2 造模后雌雄大鼠肠道菌群群落结构的差异情况 雄鼠模型组与雌鼠模型组各大鼠  $\alpha$ -稀疏曲线基本都达到平台期, 表明测序结果足够反映样本所

包含的多样性。见图 2A。2 组样品 Goods \_ coverage 指数  $P > 0.05$ , 表示 2 组样品文库的覆盖率比较差异无统计学意义, 样本真实; Chao1 和

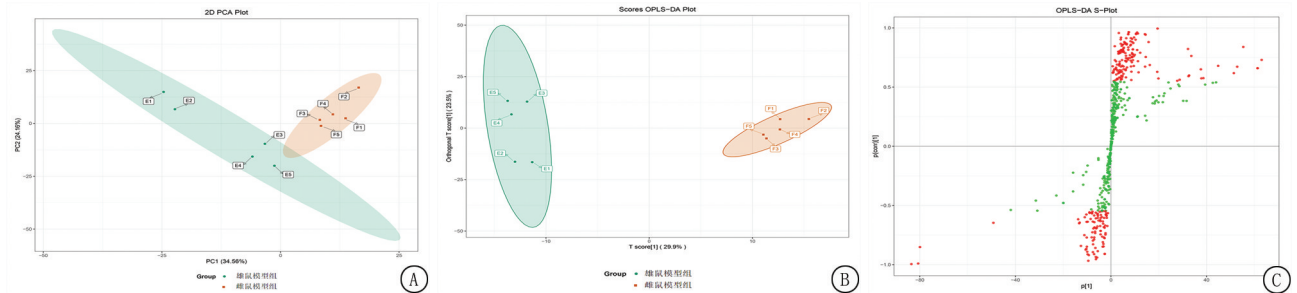
observed\_species 指数  $P > 0.05$ , 表示 2 组样品群落中包含物种的数目比较差异无统计学意义; Shannon、simpson 指数  $P > 0.05$ , 说明 2 组样品中物种丰度以及均匀度比较差异无统计学意义。见图 2B。PCoA 分析结果显示, 雄鼠模型组与雌鼠模型

组样本的距离较远, 表明 2 组物种在各个群落的数量和分布的差异性较大, 见图 2C。比较 2 组样本科水平及属水平前 20 项物种的表达情况, 显示在属水平, 雌鼠模型组与雄鼠模型组的肠道菌群表达有明显不同, 见图 2D。



2.3 造模后雌雄大鼠血浆代谢产物的差异情况  
 样品置于 4 °C 冰箱保存, 重复性试验结果显示 GC-MS 仪器重复性比较好 (相对标准偏差 RSD < 5.0%)。采用 PCA 方法考察雄鼠模型组与雌鼠模型组的离散程度, 结果显示如图 3A, 2 组样本之间有分离趋势, 但存在部分交叉重叠, 没有完全区分开。需要应用更加合适的方法如 OPLS-DA 来分析代谢指纹。对雄鼠模型组与雌鼠模型组进行 OPLS-DA 分析, OPLS-DA 得分图如图 3B 所示, 2 组完全分离, 表明 2 组的代谢状态显著不同。OPLS-DA S-plot 如图 3C 所示, 红色的点表明代谢物的 VIP 值  $\geq 1$ , 其对分类模型的贡献相对较大, 提

取 VIP > 1 的变量, 可以发掘差异代谢物。基于 OPLS-DA 结果, 选取 VIP  $\geq 1$  的代谢物, 初步筛选出不同品种或组织间差异的代谢物, 结合差异倍数值 (fold change) 来进一步筛选出差异代谢物, 如图 3C。对差异显著的代谢物进行归一化处理, 聚类热图如图 3D, 可见差异显著的代谢物多集中在甘油磷脂类、氧化脂质及脂肪酰类。代谢组结果显示雄鼠模型组与雌鼠模型组大鼠血液代谢明显不同, 其差异明显 ( $\text{Log}^2 \text{FC} > 2$  或  $\text{Log}^2 \text{FC} < -2$ ) 的代谢物主要集中在氧化脂质及胆汁酸, 雌鼠模型组较雄鼠模型组氧化脂质低表达、胆汁酸高表达, 见表 2。



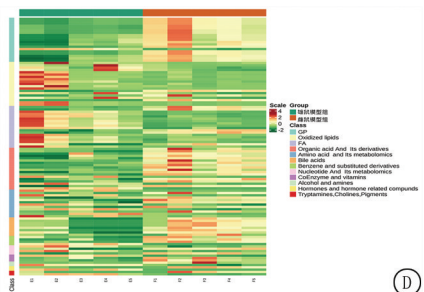


图3 造模后雄鼠与雌鼠血浆代谢产物的差异

A.血浆 PCA 分析; B.OPLS-DA 得分图; C.OPLS-DA S-plot 图; D.差异显著代谢物的聚类热图

Figure 3 Difference in plasma metabolites between male and female rats after modeling

表2 造模后雄鼠与雌鼠主要差异代谢物

Table 2 Main differential metabolites between male and female rats after modeling

索引	分子式	物质	物质二级分类	变量重要性参数	类型
MEDN0007	C6H14N4O2	L-精氨酸	氨基酸	1.408706447	down
MEDN0311	C12H22O4	十二烷二酸	游离脂肪酸	1.731314993	up
MEDN0348	C20H34O6	血栓素 B2	氧化脂质	1.167452867	down
MEDN0406	C9H10O3	3-(3-羟基苯基)丙酸	有机酸及其衍生物	1.722762202	up
MEDN0493	C10H10O3	4-甲氧基肉桂酸	有机酸及其衍生物	1.081658923	up
MEDN0501	C13H14N2O3	乙酰色氨酸	氨基酸衍生物	1.1660307	down
MEDN0604	C14H26O4	十四烷二酸	游离脂肪酸	1.609013864	up
MEDN0750	C20H30O3	(±)-12-羟基-5Z,8Z,10E,14Z,17Z-二十碳五烯酸	氧化脂质	1.027877828	down
MEDN0751	C20H32O3	(±)12-羟基-5Z,8Z,10E,14Z-二十碳四烯酸	氧化脂质	1.095792656	down
MEDN0754	C22H32O3	(±)17-羟基-4Z,7Z,10Z,13Z,15E,19Z-二十二碳六烯酸	氧化脂质	1.182062354	down
MEDN0756	C20H30O3	(±)-18-羟基-5Z,8Z,11Z,14Z,16E-二十碳五烯酸	氧化脂质	1.027877828	down
MEDN0765	C20H32O3	(±)11,(12)-环氧-5Z,8Z,14Z-二十碳三烯酸	氧化脂质	1.122504678	down
MEDN0769	C22H32O3	14S-羟基-4Z,7Z,10Z,12E,16Z,19Z-二十二碳六烯酸	氧化脂质	1.127280719	down
MEDN0779	C20H34O3	5S-羟基-6E,8Z,11Z-二十碳三烯酸	氧化脂质	1.757024151	up
MEDN0824	C24H38O5	7-酮基-3α,12α-二羟基胆烷酸	激素及激素相关物质	1.33360108	up
MEDN0827	C7H14N2O3	(S)-2-乙酰氨基-5-氨基戊酸	有机酸及其衍生物	1.372236289	down
MEDN0851	C11H9NO3	吡啶-3-丙酮酸	有机酸及其衍生物	1.093752701	up
MEDN1077	C24H40O5	α-鼠胆酸	胆汁酸	1.394695564	up
MEDN1104	C24H38O4	7-酮基石胆酸	胆汁酸	1.205156808	up
MEDN1113	C24H38O4	12-酮基石胆酸	胆汁酸	1.205156808	up
MEDN1121	C23H38O4	23-脱甲脱氧胆酸	胆汁酸	1.241515374	up
MEDN1126	C24H40O5	γ-鼠胆酸	胆汁酸	1.502232186	up
MEDN1198	C17H22O10	1-O-芥子酰基-β-D-葡萄糖	苯及其衍生物	1.533745545	up
MEDN1212	C24H40O4	7α,12β-二羟基-5α-胆碱-24-酸	胆碱类	1.188126972	up
MEDP0394	C20H28O3	4-羟视黄酸	辅酶和维生素	1.129365872	up
MEDP0637	C14H18N2O3	L-苯丙-L-脯氨酸	氨基酸衍生物	1.019549295	down
MEDP0846	C8H8O2	对甲基苯甲酸	酚酸类	1.818880858	down
MEDP0889	C21H30O5	皮质醇	激素及激素相关物质	1.810597169	down
MEDP1096	C28H56NO8P	1,2-十二烷酰 PC	磷脂酰胆碱	1.740628138	up
MEDP1103	C20H32O5	前列腺素 D2	氧化脂质	1.817331358	up
MEDP1124	C20H32O3	(±)15-羟基-5Z,8Z,11Z,13E-二十碳四烯酸	氧化脂质	1.189864697	down
MEDP1382	C27H45NO4	肉碱 ph-C14	酰基肉碱	1.597291308	down
MEDP1424	C16H31NO4	肉碱 C9:0	酰基肉碱	1.550350275	down
MEDP1427	C15H29NO4	肉碱 C8:0	酰基肉碱	1.538735477	down
MEDP1428	C15H27NO4	肉碱 C8:1	酰基肉碱	1.556610345	down
MEDP1430	C14H27NO4	肉碱 C7:0	酰基肉碱	1.378757476	up
MEDP1431	C14H25NO4	肉碱 C7:1Isomer1	酰基肉碱	1.011408556	up
MEDP1462	C20H30O2	二十碳五烯酸	氧化脂质	1.178343246	down

### 3 讨 论

食管癌发病有显著的地区性差异,中国的发病率在全球排名前五<sup>[3]</sup>。由于食管癌发病的地区性差异,导致在全球范围内对食管癌的重视度远远不及肺癌、乳腺癌等癌种,食管癌的治疗方法缺乏突破性的进展,仍旧较为保守落后。在这种环境下,祖国传统医学在食管癌的防治上被寄予厚望。

河北省磁县、涉县是我国食管癌高发区<sup>[4]</sup>。河北医科大学第四医院作为河北省肿瘤医院接诊了大量的食管癌患者。且在日常的临床工作中总结前人经验对食管癌的防治做了大量临床及基础研究<sup>[5-10]</sup>。在基础研究过程中对于选择用雌鼠还是用雄鼠进行动物模型的制备,是急需解决的问题。

本研究利用 NMBA 制造食管癌前病变大鼠模型,观察雌鼠与雄鼠的模型成功率,并通过肠道菌群与代谢组学进一步研究其机制。实验结果证实,大鼠经 NMBA 处理 40 周后,模型组大鼠食管上皮出现不同程度的不典型增生,2 组大鼠不典型增生的发生率比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),但雄鼠造模较雌鼠稳定,为了进一步明确雄性和雌性模型大鼠存在的差异,对 2 组大鼠进行肠道菌群及血浆代谢组分析。

通过大鼠肠道菌群分析,结果显示雌鼠模型组与雄鼠模型组的肠道菌群表达差异有统计学意义,代谢结果显示,雄鼠模型组与雌鼠模型组大鼠血液代谢差异有统计学意义( $\text{Log}^2 \text{FC} > 2$  或  $\text{Log}^2 \text{FC} < -2$ ),其代谢物主要集中在氧化脂质及胆汁酸,雌鼠模型组较雄鼠模型组氧化脂质低表达、胆汁酸高表达。

胆汁酸是一类特殊的甾体,多项研究表明胆汁酸与巨噬细胞极化密切相关<sup>[11-13]</sup>,能够调节免疫稳态,抑制疾病发展<sup>[14-15]</sup>。胆汁酸曾认为是一种促癌剂<sup>[16]</sup>,但后续许多研究<sup>[17-20]</sup>证实胆汁酸具有肿瘤抑制作用,其作用的发挥可能与程序性细胞死亡有关,如熊去氧胆酸通过参与控制凋亡的蛋白酶半胱天冬酶,增加凋亡效应分子 Caspase-9 的活性,诱导人口腔鳞状癌 HSC-3 细胞凋亡<sup>[21]</sup>;高浓度胆汁酸通过影响胰腺癌细胞的上皮-间充质转化,改变线粒体膜电位和产生细胞内活性氧,诱导胰腺癌细胞凋亡,并抑制其增殖、迁移和侵袭<sup>[22]</sup>。

氧化脂质包括多不饱和酸,以及不饱和脂肪酸在特定酶或自动氧化的作用下生成的一系列代谢产物,氧化脂质的积累能够抑制树突细胞的功能<sup>[23]</sup>,如在淋巴瘤、卵巢癌、胸腺淋巴瘤和间皮瘤中氧化脂

质的积累,能够阻断肿瘤中树突状细胞的抗原交叉递呈<sup>[24-27]</sup>,从而抑制 T 细胞的抗肿瘤反应。

前期研究<sup>[28]</sup>表明成瘤情况与胆汁酸合成和分泌的代谢通路密切相关,因此血浆代谢组学中胆汁酸的明显差异可能与成瘤率表达差异相关。但氧化脂质的表达异常是否也与成瘤率表达差异相关,尚无文献报道,后续会进一步进行研究证实其相关性。

#### [参考文献]

- [1] 肖洋洋,卿吉琳,李宝绚,等.鼻咽癌实验动物模型的研究进展[J].中国比较医学杂志,2018,28(12):108-112.
- [2] 王永仓,许戈良,赵旭辉,等.雌激素抑制大鼠肝癌肺转移机制研究[J].安徽医学,2015,36(12):1439-1441.
- [3] 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.
- [4] Guan CT, Song GH, Li BY, et al. Endoscopy screening effect on stage distributions of esophageal cancer: A cluster randomized cohort study in China[J]. Cancer Sci, 2018, 109(6):1995-2002.
- [5] Shi HJ, Chen XY, Chen XR, et al. Chinese medicine formula Siwu-Yin inhibit esophageal precancerous lesions by improving intestinal flora and macrophage polarization[J]. Front Pharmacol, 2022, 13:812386.
- [6] Shi H, Shi D, Wu Y, et al. Qigesan inhibits migration and invasion of esophageal cancer cells via inducing connexin expression and enhancing gap junction function[J]. Cancer Letters, 2016, 380(1):184-190.
- [7] 史会娟,石冬璇,孙亚琴,等.建立启膈方 UPLC 指纹图谱并验证启膈方对食管癌转移的影响[J].中国中医基础医学杂志, 2022, 28(4):619-624.
- [8] 史会娟,孔金玉,吴忠冰,等.四物饮抑制食管癌细胞侵袭及迁移的研究[J].中国比较医学杂志, 2020, 30(4):13-19.
- [9] 史会娟,石冬璇,李晶.启膈散对食管癌细胞微丝骨架重排的影响[J].中国中西医结合杂志, 2017, 37(10):1237-1241.
- [10] 史会娟,石冬璇,李丽,等.启膈方对人食管癌细胞 Eca109、TE13 及 Cx26 表达的影响[J].中医杂志, 2017, 58(19):1671-1675.
- [11] Cipriani S, Mencarelli A, Chini MG, et al. The bile acid receptor GPBAR-1 (TGR5) modulates integrity of intestinal barrier and immune response to experimental colitis[J]. PLoS One, 2011, 6(10):e25673.
- [12] Deutschmann K, Reich M, Klindt C, et al. Bile acid receptors in the biliary tree: TGR5 in physiology and disease[J]. BBiochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2018, 1864(4 Pt B): 1319-1325.
- [13] Liu J, Wei Y, Jia W, et al. Chenodeoxycholic acid suppresses AML progression through promoting lipid peroxidation via ROS/p38 MAPK/DGAT1 pathway and inhibiting M2 macrophage polarization[J]. Redox Biol, 2022, 56:102452.
- [14] Liu J, Wei Y, Jia W, et al. Chenodeoxycholic acid suppresses

- AML progression through promoting lipid peroxidation via ROS/p38MAPK/DGAT1 pathway and inhibiting M2 macrophage polarization[J]. *RedoxBiol*,2022,56:102452.
- [15] Guan B, Tong J, Hao H, Yang Z, et al. Bile acid coordinates microbiota homeostasis and systemic immunometabolism in cardiometabolic diseases[J]. *Acta Pharm Sin B*,2022,12(5):2129-2149.
- [16] Wu J, Gong J, Geng J, et al. Deoxycholic acid induces the overexpression of intestinal mucin, MUC2, via NF- $\kappa$ B signaling pathway in human esophageal adenocarcinoma cells [J]. *BMC Cancer*,2008,8:333.
- [17] Jang JY, Im E, Choi YH, et al. Mechanism of bile acid-induced programmed cell death and drug discovery against cancer;a review[J]. *Int J Mol Sci*,2022,23(13):7184.
- [18] Tsagarakis NJ, Drygiannakis I, Batistakis AG, et al. A concentration-dependent effect of ursodeoxycholate on apoptosis and caspases activities of HepG2 hepatocellular carcinoma cells[J]. *Eur J Pharmacol*,2010,640(1/3):1-7.
- [19] Luo W, Guo S, Zhou Y, et al. Hepatocellular carcinoma: Novel understandings and therapeutic strategies based on bile acids (Review)[J]. *Int J Oncol*,2022,61(4):117.
- [20] Luu TH, Bard JM, Carbonnelle D, et al. Lithocholic bile acid inhibits lipogenesis and induces apoptosis in breast cancer cells[J]. *Cell Oncol*,2018,41(1):13-24.
- [21] Pang L, Zhao X, Liu W, et al. Anticancer effect of ursodeoxycholic acid in human oral squamous carcinoma HSC-3 cells through the caspases[J]. *Nutrients*,2015,7(5):3200-3218.
- [22] Zhu S, Yang K, Yang S, et al. A high bile acid environment promotes apoptosis and inhibits migration in pancreatic cancer [J]. *Bioengineered*,2022,13(3):6719-6728.
- [23] Hicks KC, Tyurina YY, Kagan VE, et al. DL Myeloid cell-derived oxidized lipids and regulation of the tumor microenvironment[J]. *Cancer Res*,2022,82(2):187-194.
- [24] Peng X, He Y, Huang J, et al. Metabolism of dendritic cells in tumor microenvironment: For immunotherapy [J]. *Front Immunol*,2021,12:613492.
- [25] Cao W, Ramakrishnan R, Tuyrin VA, et al. Oxidized lipids block antigen cross-presentation by dendritic cells in cancer [J]. *J Immunol*,2014,192(6):2920-2931.
- [26] Veglia F, Tyurin VA, Mohammadyani D, et al. Lipid bodies containing oxidatively truncated lipids block antigen cross-presentation by dendritic cells in cancer[J]. *Nat Commun*,2017,8(1):2122.
- [27] Herber DL, Cao W, Nefedova Y, et al. Lipid accumulation and dendritic cell dysfunction in cancer[J]. *Nat Med*,2010,16(8):880-886.
- [28] Shi HJ, Chen XY, Chen XR, et al. Chinese medicine formula Siwu-Yin inhibit esophageal precancerous lesions by improving intestinal flora and macrophage polarization [J]. *Front Pharmacol*,2022,13:812386.

(本文编辑:何祯)