

# 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

陈垂凯<sup>1\*</sup> 王庆<sup>1</sup> 王小花<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>海南省妇女儿童医学中心麻醉科,海口 570100; <sup>2</sup>海南省妇女儿童医学中心妇科,海口 570100)

**摘要** 该文探讨依托咪酯(Eto)通过调节环磷酸鸟苷-腺苷酸合成酶(cGAS)-干扰素基因刺激因子(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。用10、20、40 μg/mL Eto处理人子宫内膜癌细胞株HEC-1-A,并将其分别标记为Eto低、中、高浓度组,未经处理的HEC-1-A细胞作为对照组,同时在Eto高浓度的基础上,加入1 μmol/L cGAS抑制剂RU.521处理HEC-1-A细胞,记为Eto高浓度+RU.521组; MTT法及流式细胞术检测各组HEC-1-A细胞的增殖、凋亡情况; Transwell实验检测各组HEC-1-A细胞的迁移情况; Western blot法检测各组HEC-1-A细胞中cGAS、STING以及免疫逃逸蛋白PD-L1的表达水平; 将各组细胞接种在小鼠右背部以构建子宫内膜细胞癌移植瘤模型,饲养小鼠4周后,分离肿瘤并称重,通过免疫组化法测定组织中CD8<sup>+</sup>T细胞浸润数。结果显示,与对照组相比, Eto低、中、高浓度组HEC-1-A细胞凋亡率、CD8<sup>+</sup>T细胞浸润数以及cGAS蛋白、STING蛋白表达水平增加, HEC-1-A细胞增殖率、迁移数、PD-L1表达水平、肿瘤质量显著降低,呈现浓度依赖性( $P<0.05$ )。与Eto高浓度组相比, Eto高浓度+RU.521组细胞HEC-1-A细胞凋亡率、CD8<sup>+</sup>T细胞浸润数以及cGAS、STING蛋白表达水平降低, HEC-1-A细胞增殖率、迁移数、PD-L1表达水平、肿瘤质量显著增加( $P<0.05$ )。总之, Eto通过调节激活cGAS-STING信号通路抑制子宫内膜癌细胞增殖、迁移和免疫逃逸,诱导其凋亡。

**关键词** 依托咪酯; cGAS-STING信号通路; 子宫内膜癌; 增殖; 迁移; 免疫逃逸

## Impacts of Etomidate on the Proliferation, Migration and Immune Escape of Endometrial Cancer Cells by Regulating cGAS-STING Signal Pathway

CHEN Chuikai<sup>1\*</sup>, WANG Qing<sup>1</sup>, WANG Xiaohua<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Department of Anesthesia, Hainan Women and Children's Medical Center, Haikou 570100, China;

<sup>2</sup>Department of Gynecology, Hainan Women and Children's Medical Center, Haikou 570100, China)

**Abstract** This paper aimed to investigate the effects of Eto (etomidate) on the proliferation, migration and immune escape of endometrial cancer cells by regulating the cGAS (cyclic guanosine-adenosine synthetase)-STING (interferon gene stimulating factor) signal pathway. Human endometrial cancer cell line HEC-1-A was treated with 10, 20, and 40 μg/mL Eto and labeled as low, medium, and high concentration Eto groups, and untreated HEC-1-A cells were used as control group. Meantime, on the basis of Eto high concentration, 1 μmol/L cGAS inhibitor RU.521 was added to treat HEC-1-A cells, which was recorded as Eto high concentration+RU.521 group. The proliferation and apoptosis of HEC-1-A cells in each group were detected by MTT method and flow cytometry. Transwell test was applied to detect the migration of HEC-1-A cells in each group. The expression levels of

收稿日期: 2023-04-10

接受日期: 2023-05-05

\*通讯作者: Tel: 18608926953, E-mail: kkvbg45@163.com

Received: April 10, 2023

Accepted: May 5, 2023

\*Corresponding author. Tel: +86-18608926953, E-mail: kkvbg45@163.com

cGAS, STING and PD-L1 (immune escape protein) in HEC-1-A cells were detected by Western blot. The cells of each group were inoculated into the right back of mice to build a model of endometrial cell carcinoma transplanted tumor. After 4 weeks of feeding, the tumors were separated and weighed, and the number of CD8<sup>+</sup>T cells in the tissues was determined by immunohistochemistry. The results show that compared with the control group, the apoptosis rate of HEC-1-A cells, the infiltration number of CD8<sup>+</sup>T cells, the expression of cGAS and STING proteins in the Eto low, medium and high concentration groups increased, while the proliferation rate, migration number, expression of PD-L1 of HEC-1-A cells, and tumor mass were obviously decreased, in a concentration-dependent manner ( $P < 0.05$ ). Compared with Eto high concentration group, the apoptosis rate of HEC-1-A cells, the infiltration number of CD8<sup>+</sup>T cells, the expression of cGAS and STING proteins in Eto high concentration+RU.521 group decreased, while the proliferation rate, migration number, expression of PD-L1 of HEC-1-A cells, and and tumor mass were obviously increased ( $P < 0.05$ ). In short, Eto can inhibit the proliferation, migration and immune escape of endometrial cancer cells and induce their apoptosis by regulating and activating the cGAS-STING signal pathway.

**Keywords** etomidate; cGAS-STING signal pathway; endometrial carcinoma; proliferation; migration; immune escape

子宫内膜癌是最常见的原发性女性肿瘤之一, 具有极高的发病率和死亡率<sup>[1]</sup>。大多数患有子宫腺肌病的妇女是无症状的, 部分患者可能会表现出一系列症状, 如痛经、子宫异常出血和不孕症等, 目前手术切除是子宫内膜癌的首选治疗方法, 然而由于肿瘤生长快、侵袭性强、易复发等原因, 单纯手术很难完全切除肿瘤<sup>[2]</sup>, 因此迫切需要为子宫内膜癌的治疗开发新方案。依托咪酯(Eto)是一种常用的静脉麻醉药, Eto在麻醉期间可维持良好的血液动力学稳定性<sup>[3]</sup>。研究表明, Eto具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤和抗血小板聚集的作用<sup>[4]</sup>, 此外Eto在癌症中可发挥抑癌作用, 如刘璐等<sup>[5]</sup>研究证明, Eto可抑制人子宫内膜癌KLE细胞增殖, 促进其凋亡, 但其作用机制尚不清楚。磷酸鸟苷-腺苷酸合成酶(cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate synthase, cGAS)是一种胞质DNA传感器, 可针对病毒等微生物病原体的入侵通过作用于干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING)作出免疫反应, 研究证明cGAS-STING通路是中枢细胞胞质双链DNA传感器, 可使先天免疫对感染、炎症作出反应, 且激活该通路在肿瘤细胞和免疫细胞中发挥着至关重要的作用<sup>[6]</sup>。先前研究表明, 激活cGAS-STING信号可促进非小细胞肺癌中NK细胞的浸润和抗肿瘤免疫<sup>[7]</sup>。但Eto通过调节cGAS-STING通路对子宫内膜癌细胞的作用尚不清楚, 本研究旨在探讨Eto通过调节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。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞来源

中国科学院上海细胞库提供人子宫内膜癌细胞株HEC-1-A, HEC-1-A细胞被置于RPMI-1640培养基(含10%胎牛血清)中, 在37 °C、5% CO<sub>2</sub>条件下孵育。

广东维通利华实验动物技术有限公司提供50只4周龄的C57BL/6雄性小鼠, 体质量为16~20 g, 生产许可证号为SCXK(粤)2022-0063, 小鼠均饲养在温度为(23.5±1.5) °C, 湿度为(55±5)%的动物房中。所有动物实验已获得海南省妇女儿童医学中心动物伦理委员会的批准(批号: 2022021006), 且所有关于动物实验的操作均严格按照动物保护与使用委员会的指导原则进行。

### 1.2 主要材料、仪器

依托咪酯(Eto)购自美国Sigma公司; cGAS抑制剂RU.521购自Selleckchem公司; MTT溶液购自上海哈灵生物科技有限公司; AnnexinV-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒购自德国Merck公司; 通用SP检测试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司; cGAS、STING以及免疫逃逸蛋白PD-L1一抗及兔源抗小鼠CD8抗体购自Abcam公司。

酶标仪购自Bio-Tek公司; FACScan流式细胞仪购自Becton公司; 光学显微镜购自Olympus Corporation; 恒温培养箱购自苏州贝锐仪器科技有限公司。

### 1.3 细胞分组及处理

取对数生长期HEC-1-A细胞,用10、20、40  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Eto处理HEC-1-A,并将其分别标记为Eto低、中、高浓度组<sup>[8]</sup>,未经处理的HEC-1-A细胞作为对照组,同时在Eto高浓度的基础上,加入1  $\mu\text{mol}/\text{L}$  cGAS抑制剂RU.521处理HEC-1-A细胞,记为Eto高浓度+RU.521组<sup>[9]</sup>;上述各组HEC-1-A细胞经常规培养48 h后进行分析。

### 1.4 MTT法检测各组HEC-1-A细胞增殖率

将HEC-1-A细胞悬浮液接种到96孔板中,按照上述分组处理后,在37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ 孵育48 h后,将5  $\text{mg}/\text{mL}$ 、20  $\mu\text{L}$ 的MTT溶液添加到每个孔中,37  $^{\circ}\text{C}$ 下培养细胞4 h,舍弃每个孔中的残余液体后,将150  $\mu\text{L}$ 二甲基亚砷添加到每个孔中,轻轻摇动孔板,使用酶标仪在570 nm下测定每个孔的光密度(D)值,计算细胞增殖率。

### 1.5 流式细胞术检测各组HEC-1-A细胞凋亡变化

将各组HEC-1-A细胞( $1 \times 10^5$ 个/孔)接种到37  $^{\circ}\text{C}$ 的96孔板中,并用PBS洗涤细胞。细胞在室温下避光孵育15 min,加入5 mL膜联蛋白V-FITC和5 mL PI,使用配有CellQuest软件的FACScan流式细胞仪检测凋亡细胞,分析细胞凋亡率。

### 1.6 Transwell实验检测HEC-1-A细胞迁移变化

将 $1 \times 10^5$ 个HEC-1A细胞分散在200  $\mu\text{L}$ 无血清RPMI-1640培养基中,将细胞接种到上室中;将含有20% FBS的培养基加入到下室中。细胞用4%多聚甲醛在室温下固定15 min,然后用0.1%结晶紫室温下染色20 min,用PBS洗涤,在光学显微镜下观察HEC-1-A细胞迁移的数量。

### 1.7 Western blot检测HEC-1-A细胞中cGAS、STING以及PD-L1蛋白表达水平

细胞于RIPA裂解液中冰上孵育30 min,并进行超声处理,4  $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min离心细胞裂解物20 min,保留上清液。通过SDS-PAGE分离蛋白质,并将其转移到硝酸纤维素膜上,将膜与cGAS、STING以及PD-L1一抗(均1:1 500稀释)在4  $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜,之后将二抗(1:2 000稀释)在室温下孵育1 h,使用增强化学发光底物ECL对蛋白质进行可视化,并使用ChemiDoc XRS Biorad成像仪和图像实验室软件进行成像,分析蛋白表达水平情况。

### 1.8 构建子宫内膜癌细胞癌移植瘤小鼠模型,并检测肿瘤组织中 $\text{CD8}^+\text{T}$ 细胞浸润数

取小鼠随机分为对照组,Eto低、中、高浓度组,

Eto高浓度+RU.521组,每组10只,然后取出1.3中采集的各组HEC-1A细胞,分散于PBS( $1 \times 10^6$ 个/ $\mu\text{L}$ )中,将每种细胞悬液共100  $\mu\text{L}$ 皮下注射到小鼠的右背部。注射后,让小鼠自由进食和饮水4周。

4周后,小鼠无死亡发生,通过腹腔注射60  $\text{mg}/\text{kg}$ 的戊巴比妥深度麻醉小鼠,然后颈部脱臼迅速处死小鼠,剥离异种移植肿瘤组织进行称重,在4%多聚甲醛中固定,经脱水、透明、包埋后在切片机中连续切片,之后加入兔源抗小鼠 $\text{CD8}$ 抗体(1:100)孵育,洗涤后按照试剂盒说明书进行操作。之后脱水,经中性树脂封片后,任选3个视野拍照,采用Image Pro Plus软件定量视野中 $\text{CD8}^+\text{T}$ 阳性细胞数及切片面积,按照 $\text{CD8}^+\text{T}$ 阳性细胞数/切片面积(个/ $\text{mm}^2$ )可得出 $\text{CD8}^+\text{T}$ 细胞浸润数。

### 1.9 统计分析

用SPSS 26.0软件分析结果,以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示数据,多组间比较采用单因素方差分析,进一步行SNK-*q*检验;当 $P < 0.05$ 时,差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同浓度的Eto对各组HEC-1-A细胞增殖率的影响

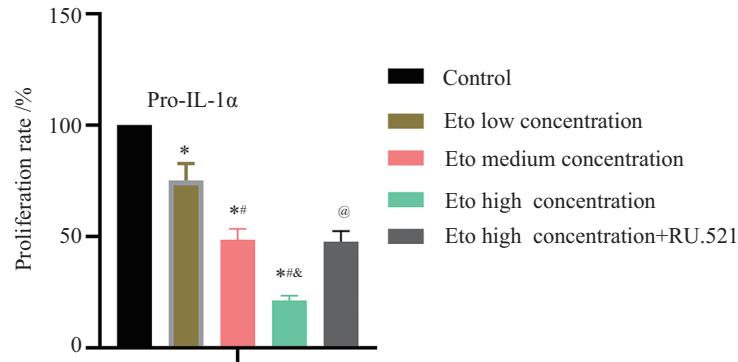
与对照组相比,低、中、高浓度Eto处理HEC-1-A细胞后,各组增殖率显著降低,Eto浓度越高,其增殖率下降越多,且组与组之间均具有统计学差异( $P < 0.05$ );与Eto高浓度组相比,Eto高浓度+RU.521组增殖率显著增加,结果具有统计学差异( $P < 0.05$ ) (图1)。结果表明,不同浓度的Eto均可抑制HEC-1-A细胞增殖。

### 2.2 不同浓度的Eto对各组HEC-1-A细胞凋亡率的影响

与对照组相比,低、中、高浓度Eto处理HEC-1-A细胞后,各组凋亡率显著增加,Eto浓度越高,其凋亡率增加越多,且组与组之间均具有统计学差异( $P < 0.05$ );与Eto高浓度组相比,Eto高浓度+RU.521组凋亡率显著降低,结果具有统计学差异( $P < 0.05$ ) (图2和表1)。流式结果表明,不同浓度的Eto均可促进HEC-1-A细胞凋亡。

### 2.3 不同浓度的Eto对各组HEC-1-A细胞迁移的影响

与对照组相比,低、中、高浓度Eto处理HEC-1-A细胞后,各组细胞迁移数显著降低,Eto浓度越



\* $P < 0.05$ , 与对照组比较; # $P < 0.05$ , 与Eto低浓度组比较; & $P < 0.05$ , 与Eto中浓度组比较; @ $P < 0.05$ , 与Eto高浓度组比较。

\* $P < 0.05$  compared with control group; # $P < 0.05$  compared with Eto low concentration group; & $P < 0.05$  compared with Eto medium concentration group; @ $P < 0.05$  compared with Eto high concentration group.

图1 比较HEC-1-A细胞增殖率变化

Fig.1 Comparison of HEC-1-A cell proliferation rate changes

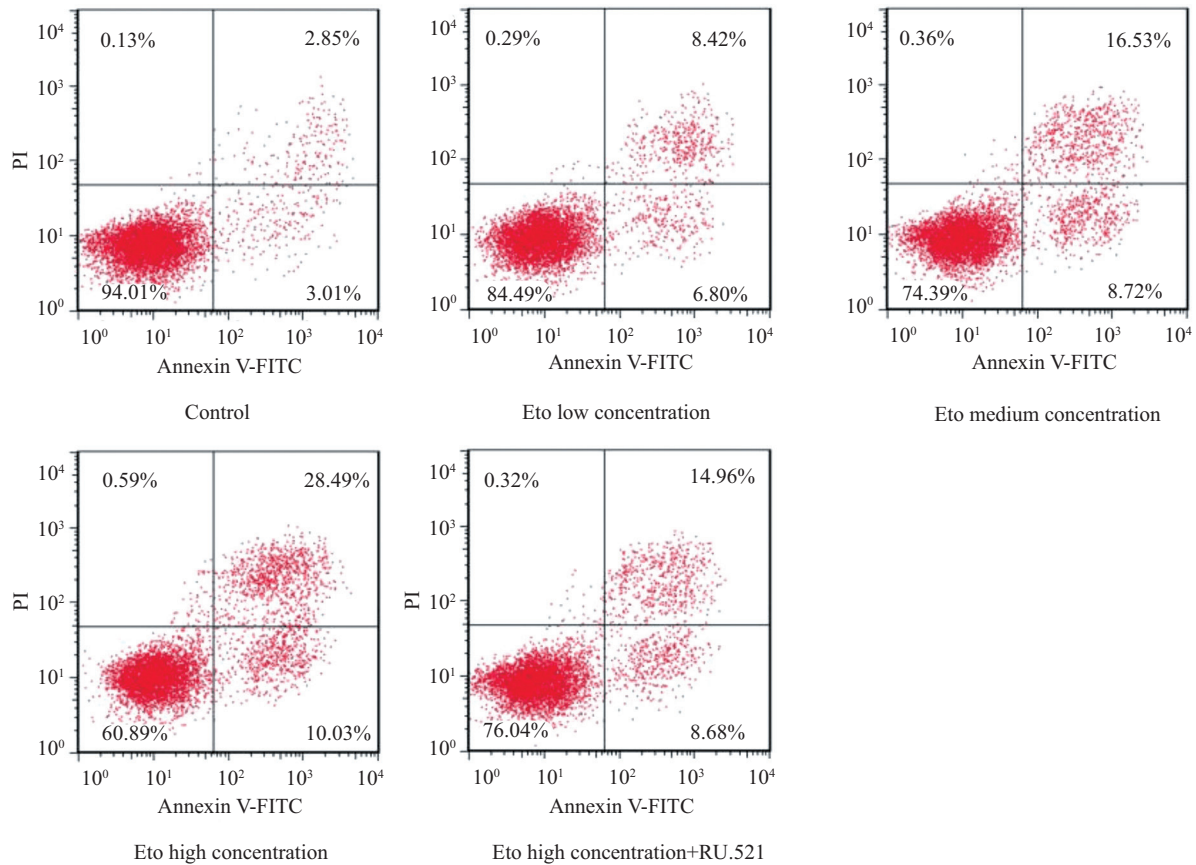


图2 观察HEC-1-A细胞凋亡变化

Fig.2 Observation of changes in HEC-1-A cell apoptosis

高, 其细胞迁移数量下降越多, 且组与组之间均具有统计学差异( $P < 0.05$ ); 与Eto高浓度组相比, Eto高浓度+RU.521组细胞迁移数显著增加, 结果具有统计学差异( $P < 0.05$ )(图3和表2)。结果表明, 不同浓度的Eto均可抑制HEC-1-A细胞迁移。

#### 2.4 不同浓度的Eto对各组HEC-1-A细胞cGAS、STING以及PD-L1蛋白表达水平的影响

与对照组相比, 低、中、高浓度Eto处理HEC-1-A细胞后, 各组cGAS、STING蛋白表达水平显著增加, PD-L1蛋白表达水平显著降低, Eto浓度越高,

表1 比较HEC-1-A细胞凋亡率变化

Table 1 Comparison of changes in apoptosis rate of HEC-1-A cells

组别 Group	凋亡率/% Apoptosis rate /%
Control	5.86±0.59
Eto low concentration	15.22±7.53*
Eto medium concentration	25.25±2.53*#
Eto high concentration	38.52±3.86*#&
Eto high concentration+RU.521	23.64±2.37@

$\bar{x}\pm s$ ,  $n=6$ ; \* $P<0.05$ , 与对照组比较; # $P<0.05$ , 与Eto低浓度组比较; & $P<0.05$ , 与Eto中浓度组比较; @ $P<0.05$ , 与Eto高浓度组比较。

$\bar{x}\pm s$ ,  $n=6$ ; \* $P<0.05$  compared with control group; # $P<0.05$  compared with Eto low concentration group; & $P<0.05$  compared with Eto medium concentration group; @ $P<0.05$  compared with Eto high concentration group.

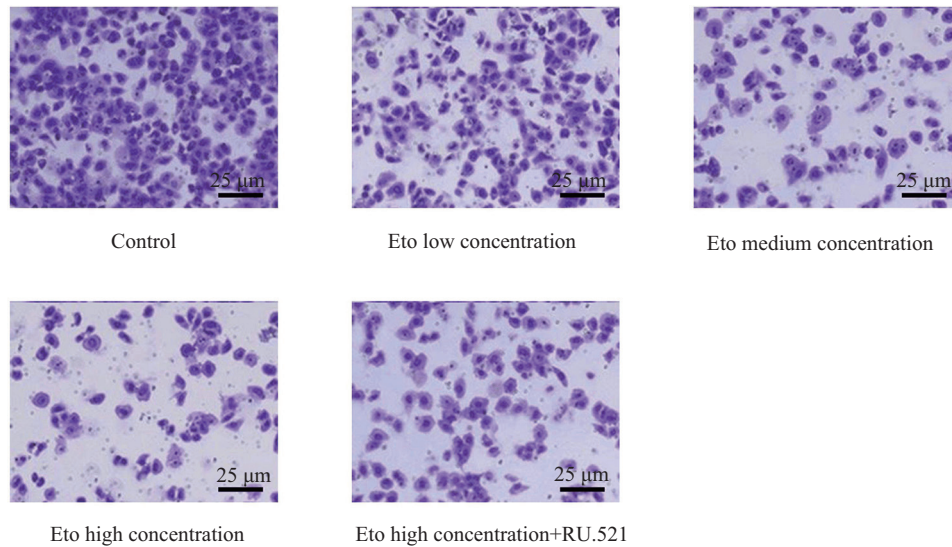


图3 观察HEC-1-A细胞迁移变化

Fig.3 The migration of HEC-1-A cells was observed

表2 比较HEC-1-A细胞迁移数变化

Table 2 Comparison of HEC-1-A cell migration number changes

组别 Group	迁移细胞数 Number of migration cells
Control	186.28±18.66
Eto low concentration	122.41±12.25*
Eto medium concentration	75.37±7.55*#
Eto high concentration	48.46±4.86*#&
Eto high concentration+RU.521	83.18±8.34@

$\bar{x}\pm s$ ,  $n=6$ ; \* $P<0.05$ , 与对照组比较; # $P<0.05$ , 与Eto低浓度组比较; & $P<0.05$ , 与Eto中浓度组比较; @ $P<0.05$ , 与Eto高浓度组比较。

$\bar{x}\pm s$ ,  $n=6$ ; \* $P<0.05$  compared with control group; # $P<0.05$  compared with Eto low concentration group; & $P<0.05$  compared with Eto medium concentration group; @ $P<0.05$  compared with Eto high concentration group.

cGAS、STING蛋白表达水平增加越多, PD-L1蛋白表达水平下降越多, 且组与组之间均具有统计学差异( $P<0.05$ ); 与Eto高浓度组相比, Eto高浓度+RU.521组细胞cGAS、STING蛋白表达水平降低, PD-L1表达显著增加, 结果具有统计学差异( $P<0.05$ )(图4和表

3)。这表明Eto可能通过调节激活cGAS-STING信号通路抑制子宫内膜癌细胞免疫逃逸。

## 2.5 不同浓度的Eto对各组HEC-1-A细胞移植瘤小鼠组织中CD8<sup>+</sup>T细胞浸润数的影响

为进一步验证Eto对子宫内膜癌的影响, 实验

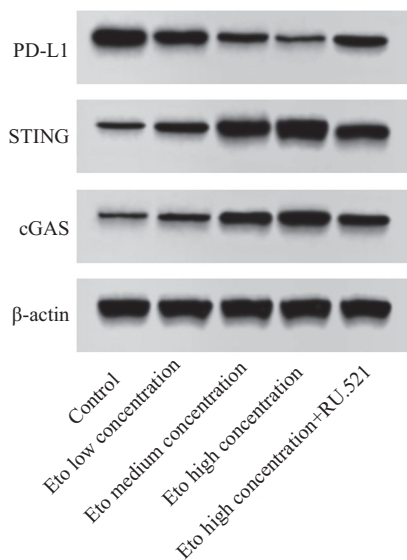


图4 HEC-1-A细胞cGAS、STING、PD-L1蛋白表达水平

Fig.4 Expression of cGAS, STING, and PD-L1 proteins in HEC-1-A cells

表3 比较HEC-1-A细胞cGAS、STING、PD-L1表达水平

Table 3 Comparison of expression levels of cGAS, STING, and PD-L1 in HEC-1-A cells

组别 Group	cGAS/β-actin	STING/β-actin	PD-L1/β-actin
Control	0.15±0.02	0.25±0.03	1.06±0.11
Eto low concentration	0.31±0.04*	0.54±0.06*	0.72±0.08*
Eto medium concentration	0.62±0.07*#	0.82±0.09*#	0.48±0.05*#
Eto high concentration	0.85±0.09*#&	1.24±0.13*#&	0.22±0.03*#&
Eto high concentration+RU.521	0.55±0.06@	0.66±0.07@	0.57±0.06@

$\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ ; \* $P<0.05$ , 与对照组比较; # $P<0.05$ , 与Eto低浓度组比较; & $P<0.05$ , 与Eto中浓度组比较; @ $P<0.05$ , 与Eto高浓度组比较。

$\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ ; \* $P<0.05$  compared with control group; # $P<0.05$  compared with Eto low concentration group; & $P<0.05$  compared with Eto medium concentration group; @ $P<0.05$  compared with Eto high concentration group.

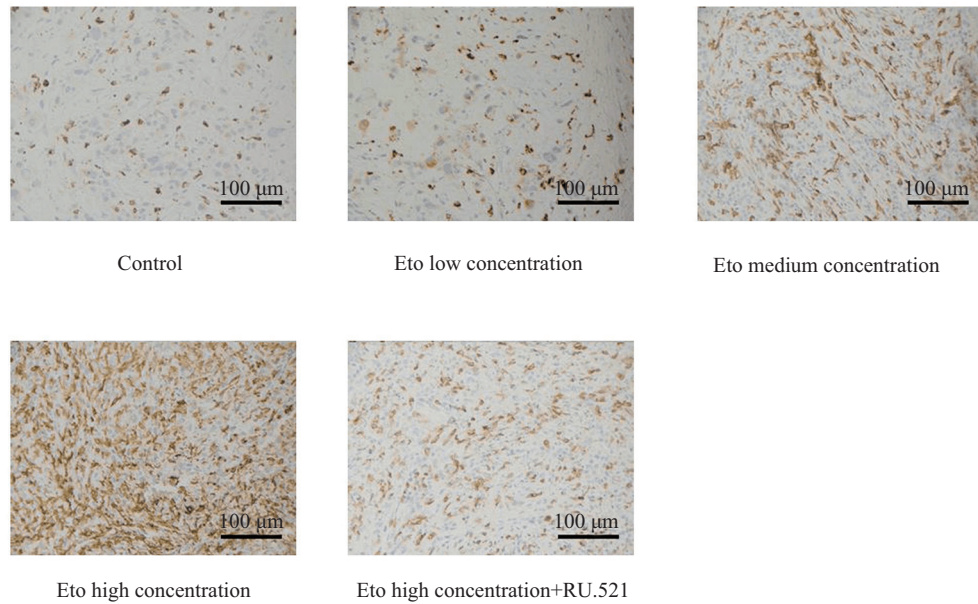
进行了小鼠体内实验探索, 结果发现与对照组相比, 低、中、高浓度Eto处理HEC-1-A细胞后, 各组CD8<sup>+</sup>T细胞浸润数显著增加, Eto浓度越高, CD8<sup>+</sup>T细胞浸润数增加越多, 但肿瘤质量逐渐降低, 且组与组之间均具有统计学差异( $P<0.05$ ); 与Eto高浓度组相比, Eto高浓度+RU.521组CD8<sup>+</sup>T细胞浸润数显著降低, 肿瘤质量增加( $P<0.05$ )(图5和表4)。这表明Eto可抑制细胞免疫逃逸及肿瘤生长。

### 3 讨论

子宫内膜癌是一种常见的妇科恶性肿瘤, 约占女性癌症的4.8%<sup>[10]</sup>。大多数患有子宫内膜癌的患者如果在早期被诊断, 可以获得良好的预后诊疗, 伴随着高达82%的五年生存率, 晚期被诊断患者, 其生存率大大降低<sup>[11]</sup>, 进一步研究表明到2030年, 被诊断患有这种疾病的女性人数预计将是2020年的两倍<sup>[12]</sup>。因此,

全面了解子宫内膜癌的发病机制, 寻找更有效的治疗方法势在必行。

Eto是一种常用的催眠和静脉麻醉剂, 具有起效快、维持时间短、苏醒迅速等特点, 临床研究表明在子宫内膜癌腹腔镜的治疗中, Eto可用于静脉注射麻醉<sup>[13]</sup>。以往的研究表明, Eto具有抗血小板聚集、抗氧化、抗炎等作用, 尤其是它的抗肿瘤作用被逐渐关注<sup>[14]</sup>。如Eto可以有效地减弱A549细胞的增殖和迁移能力<sup>[15]</sup>。研究证明细胞增殖过度以及凋亡减少均与癌症发生发展密切相关, 两者处于动态平衡, 抑制增殖和促进凋亡可抑制肿瘤发展<sup>[16]</sup>。本研究发现不同浓度的Eto处理HEC-1-A细胞后, HEC-1-A细胞凋亡率显著增加, 且其增殖率显著下降, 呈现浓度依赖性, 与张晶晶等<sup>[8]</sup>研究结果相吻合, 表明Eto可抑制HEC-1-A细胞增殖, 诱导其凋亡。同时研究发现转移是癌症发展的关键步骤, 而不同浓度的Eto处理

图5 各组HEC-1-A细胞移植瘤小鼠组织中浸润的CD8<sup>+</sup>T细胞数Fig.5 Number of CD8<sup>+</sup>T cells infiltrating in the tissues of HEC-1-A cell transplanted tumor mice in each group表4 各组HEC-1-A细胞移植瘤小鼠组织中CD8<sup>+</sup>T细胞浸润数Table 4 Number of CD8<sup>+</sup>T cell infiltration in the tissues of HEC-1-A cell transplanted tumor mice in each group

组别 Group	CD8 <sup>+</sup> T细胞浸润数/mm <sup>2</sup> Infiltration number of CD8 <sup>+</sup> T cells /mm <sup>2</sup>	肿瘤质量/g Tumor mass /g
Control	80.24±8.04	2.52±0.26
Eto low concentration	134.28±13.44*	1.88±0.19*
Eto medium concentration	235.11±24.31 <sup>#</sup>	1.34±0.14 <sup>#</sup>
Eto high concentration	411.05±41.24 <sup>**&amp;</sup>	0.88±0.09 <sup>**&amp;</sup>
Eto high concentration+RU.521	204.15±20.55 <sup>@</sup>	1.22±0.13 <sup>@</sup>

$\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ ; \* $P<0.05$ , 与对照组比较; <sup>#</sup> $P<0.05$ , 与Eto低浓度组比较; <sup>&</sup> $P<0.05$ , 与Eto中浓度组比较; <sup>@</sup> $P<0.05$ , 与Eto高浓度组比较。

$\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ ; \* $P<0.05$  compared with control group; <sup>#</sup> $P<0.05$  compared with Eto low concentration group; <sup>&</sup> $P<0.05$  compared with Eto medium concentration group; <sup>@</sup> $P<0.05$  compared with Eto high concentration group.

HEC-1-A细胞可显著抑制HEC-1-A细胞迁移,但其具体机制尚不清楚。

CD8<sup>+</sup>T细胞又称细胞毒性T淋巴细胞,是肿瘤微环境中发挥免疫效应的免疫细胞<sup>[17]</sup>。PD-L1,也称为B7-H1或CD274,通过与程序性死亡1受体结合抑制CD8<sup>+</sup>T细胞发挥作用,而在许多人类癌症中PD-L1蛋白的高水平表达,与患者不良预后相关<sup>[18]</sup>。本研究发现经不同浓度Eto处理HEC-1-A细胞中CD8<sup>+</sup>T细胞浸润数增加,PD-L1表达水平显著降低,表明Eto可以抑制细胞免疫逃逸,发挥抗肿瘤作用。cGAS是一种激活先天免疫反应的胞质DNA传感器,可催化cGAMP的合成,cGAMP作为第二信使结合并激活衔接蛋白STING,诱导I型干扰素和其他免疫调节分子表达,在癌症免疫治疗中发挥着重要作用<sup>[19]</sup>。先前研究表明

cGAS途径的激活对于内在抗肿瘤免疫是重要的,并且cGAMP可以直接用于癌症免疫治疗<sup>[20]</sup>。本研究发现不同浓度的Eto处理HEC-1-A细胞后,cGAS、STING蛋白表达水平升高,cGAS-STING信号通路被激活,同时细胞免疫逃逸、增殖及肿瘤生长被抑制,癌细胞凋亡被促进,与ZENG等<sup>[21]</sup>结果相吻合,推测Eto可通过激活cGAS-STING信号通路抑制子宫内膜癌细胞增殖、迁移和免疫逃逸,诱导其凋亡。为进一步验证实验推测,实验以cGAS抑制剂RU.521进行回复验证,结果显示RU.521逆转了Eto对HEC-1-A细胞的抗肿瘤作用,提示Eto可抑制子宫内膜癌细胞增殖、迁移和免疫逃逸,诱导其凋亡,这一过程与激活cGAS-STING信号通路有关。

综上所述,Eto通过激活cGAS-STING信号通路

抑制HEC-1-A细胞增殖、迁移和免疫逃逸,诱导其凋亡,这为Eto治疗子宫内膜癌提供了理论依据,但Eto通过激活cGAS-STING信号通路中的具体基因或蛋白抑制HEC-1-A细胞恶性行为进展仍在探索之中。

### 参考文献 (References)

- [1] BLIAO L, CHEN Y, ZHOU J, et al. microRNA-133b inhibits tumor cell proliferation, migration and invasion by targeting SUMO1 in endometrial carcinoma [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2021, 20: 15330338211065241.
- [2] MA J, ZHAO X, SHI L. Circ 003390/eukaryotic translation initiation factor 4A3 promoted cell migration and proliferation in endometrial cancer via vascular endothelial growth factor signaling by miR-195-5p [J]. *Bioengineered*, 2022, 13(5): 11958-72.
- [3] LI D, ZHANG J, YIN L, et al. Etomidate inhibits cell proliferation and induces apoptosis in A549 non-small cell lung cancer cells via downregulating WWP2 [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(5): 1254.
- [4] AV SA L G D, SILSA C R D, DE A NETO J B, et al. Etomidate inhibits the growth of MRSA and exhibits synergism with oxacillin [J]. *Future Microbiol*, 2020, 15: 1611-9.
- [5] 刘璐, 王迎春, 高继奎. 依托咪酯对子宫内膜癌细胞增殖抑制和凋亡的影响[J]. *中国优生与遗传杂志*(LIU L, WANG Y C, GAO J K. Effects of etomidate on proliferation inhibition and apoptosis of endometrial cancer cells [J]. *Chinese Journal of Birth Health & Heredity*), 2021, 29(9): 1251-5.
- [6] JIANG M, CHEN P, WANG L, et al. cGAS-STING, an important pathway in cancer immunotherapy [J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 81.
- [7] YAN X, YAO C, FANG C, et al. Rocaglamide promotes the infiltration and antitumor immunity of NK cells by activating cGAS-STING signaling in non-small cell lung cancer [J]. *Int J Biol Sci*, 2022, 18(2): 585-98.
- [8] 张晶晶, 朱乐玫, 刘娟, 等. 依托咪酯通过PI3K/AKT通路抑制子宫内膜癌细胞增殖的实验研究[J]. *中国优生与遗传杂志*(ZHANG J J, ZHU L M, LIU J, et al. Experimental study of etomidate inhibiting the proliferation of endometrial cancer cells through PI3K/AKT pathway [J]. *Chinese Journal of Birth Health & Heredity*), 2022, 30(1): 1910-5.
- [9] PONS B J, PETTES-DULER A, NAYLIES C, et al. Chronic exposure to Cytotoxic Distending Toxin (CDT) promotes a cGAS-dependent type I interferon response [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78(17/18): 6319-35.
- [10] CHE Q, XIAO X, XU J, et al. 17 $\beta$ -estradiol promotes endometrial cancer proliferation and invasion through IL-6 pathway [J]. *Endocr Connect*, 2019, 8(7): 961-8.
- [11] GENG A, LUO L, REN F, et al. miR-29a-3p inhibits endometrial cancer cell proliferation, migration and invasion by targeting VEGFA/CD C42/PAK1 [J]. *BMC Cancer*, 2021, 21(1): 843.
- [12] CAI Y, ZHAO F. Fluvastatin suppresses the proliferation, invasion, and migration and promotes the apoptosis of endometrial cancer cells by upregulating Sirtuin 6 (SIRT6) [J]. *Bioengineered*, 2021, 12(2): 12509-20.
- [13] 刘珂庆, 王光, 王建喜, 等. 腹腔镜下全子宫切除术苏醒延迟1例[J]. *临床合理用药杂志*(LIU K Q, WANG G, WANG J X, et al. Laparoscopic total hysterectomy delayed awakening in 1 case [J]. *Chinese Journal of Clinical Rational Drug Use*), 2018, 11(4): 172.
- [14] ROSSOKHIN A V, SHARONOVA I N, DVORZHAK A, et al. The mechanisms of potentiation and inhibition of GABAA receptors by non-steroidal anti-inflammatory drugs, mefenamic and niflumic acids [J]. *Neuropharmacology*, 2019, 160: 107795.
- [15] CHU C N, WU K C, CHUNG W S, et al. Etomidate suppresses invasion and migration of human A549 lung adenocarcinoma cells [J]. *Anticancer Res*, 2019, 39(1): 215-23.
- [16] YUAN Y, MIN S J, XU D Q, et al. Expressions of VEGF and miR-21 in tumor tissues of cervical cancer patients with HPV infection and their relationships with prognosis [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(19): 6274-9.
- [17] CAGNONI A J, GIRIBALDI M L, BLIDNER A G, et al. Galectin-1 fosters an immunosuppressive microenvironment in colorectal cancer by reprogramming CD8<sup>+</sup> regulatory T cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118(21): e2102950118.
- [18] ZHOU C, WEI W, MA J, et al. Cancer-secreted exosomal miR-1468-5p promotes tumor immune escape via the immunosuppressive reprogramming of lymphatic vessels [J]. *Mol Ther*, 2021, 29(4): 1512-28.
- [19] HU M, ZHOU M, BAO X, et al. ATM inhibition enhances cancer immunotherapy by promoting mtDNA leakage and cGAS/STING activation [J]. *J Clin Invest*, 2021, 131(3): e139333.
- [20] WANG H, HU S, CHEN X, et al. cGAS is essential for the anti-tumor effect of immune checkpoint blockade [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(7): 1637-42.
- [21] ZENG X, LI X, ZHANG Y, et al. IL6 induces mtDNA leakage to affect the immune escape of endometrial carcinoma via cGAS-STING [J]. *J Immunol Res*, 2022, 2022: 3815853.