doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2024.05.002

❖基础研究❖

NF-κB 介导 VEGF-A 促进食管鳞状细胞癌血管生长和细胞增殖的实验研究

潘冠华,阿迪力·萨来,吕红博
(新疆医科大学附属肿瘤医院胸外科二病区,新疆 乌鲁木齐 830054)

【摘要】**目的:** 探讨 NF-κB、VEGF-A 在食管鳞状细胞癌(ESCC)患者癌组织中的表达情况及 NF-κB 与 VEGF-A 在促进食管鳞癌血管生成和细胞增殖的关系。**方法:** 收集 32 例行食管癌切除术患者食管鳞癌组织及癌旁组织标本,蛋白印迹法(Western blot)检测癌及癌旁组织中 NF-κB、VEGF-A 的蛋白表达情况;Pearson 相关系数分析 NF-κB 与 VEGF-A 的相关性。在体外实验中过表达和敲低食管鳞癌细胞中的 NF-κB 后,通过 CCK-8、平板克隆实验、流式细胞术检测 NF-κB 对肿瘤细胞恶性表型的影响。Western blot 检测不同 NF-κB 表达水平对 VEGF-A 及 VEGF-R2 的表达水平的变化。**结果:** NF-κB、VEGF-A 在癌组织中高表达,在癌旁组织中低表达。过表达和敲低 NF-κB 对细胞的增殖分别有促进和抑制作用、对细胞的凋亡有抑制和促进作用、对细胞周期的 G1/S 转换有促进和抑制作用。过表达和敲低 NF-κB 后 VEGF-A、VEGF-R2 的表达也随之升高和降低。**结论:** ESCC 组织中的 NF-κB 与 VEGF-A 表达高于癌旁组织,二者正相关,且 NF-κB 通过过表达 VEGF-A 对 ESCC 血管生成和细胞增殖具有正向促进作用。

【关键词】食管鳞状细胞癌;核转录因子-κB;血管生成因子;细胞增殖
【中图分类号】R735.1 【文献标志码】A

NF-κB mediates VEGF-A to promote vascular growth and cell proliferation in oesophageal cancer

PAN Guan-hua, ADILI·Sa-lai, LV Hong-bo
(*Department of Thoracic Surgery II, Cancer Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi* 830054, *Xinjiang, China*)

【**Abstract**】**Objective:** To explore the expression of NF-κB and VEGF-A in patients with esophageal squamous cell carcinoma (ESCC), the relationship between NF-κB and VEGF-A in promoting angiogenesis and cell proliferation in ESCC. **Methods:** A total of 32 specimens of esophageal squamous cell carcinoma tissues and adjacent tissues were collected from patients who underwent esophageal cancer resection. Western blot analysis was used to assess the protein expression of NF-κB and VEGF-A in cancerous and adjacent tissues, and the correlation between NF-κB and VEGF-A was analyzed by the Pearson correlation coefficient. In vitro experiments involved the successful knockdown or overexpression of NF-κB in esophageal squamous cell carcinoma cells, followed by the examination of its effects on the malignant phenotype of tumor cells through CCK-8, plate cloning, and flow cytometry experiments. Western blot experiments were also conducted to detect changes in VEGF-A and VEGF-R2 expression levels associated with altered NF-κB expression. **Results:** NF-κB and VEGF-A was highly expressed in cancer tissues and low expressed in adjacent tissues. Overexpression and knockdown of NF-κB had promoting and inhibitory effects on cell proliferation, inhibitory and promoting effects on cell apoptosis, and promoting and inhibiting effects on G1/S transition of the cell cycle. VEGF-A and VEGF-R2 expression levels increased or decreased in accordance with the overexpression or knockdown of NF-κB. **Conclusion:** The expression of NF-κB and VEGF-A is higher in ESCC tissues compared to adjacent tissues, and there is a positive correlation between the two. NF-κB positively promotes angiogenesis and cell proliferation in ESCC through the upregulation of VEGF-A.

【**Key words**】Esophageal squamous cell carcinoma; Nuclear transcription factor-κB; Angiogenic factors; Cell proliferation

食管癌(esophagus carcinosarcoma, EC)是食管上皮的恶性肿瘤,分为包括食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)和食管腺癌(esophageal adenocarcinoma, EAC)两种亚型[1]。我国 EC 病例约占全球新发 EC 病例的 53%,是第六大最常见癌症,也是癌症死亡的第四大原因。EAC 在西

基金项目: 省部共建中亚高发病成因与防治国家重点实验室开放课题项目(SKL-HIDCA-2018-13)
作者简介: 潘冠华(1994-),男,硕士,住院医师。E-mail:17304995551@163.com
通讯作者: 吕红博。E-mail:lvhongbo1863@163.com

方人群中占主导地位,而我国超过约90%的EC病例是ESCC[2]。目前外科治疗是食管癌的主要治疗手段,但近30年其5年生存率为30% ~40%。因此,需要更深入探究食管癌的内在机制,努力寻找更有效的分子靶点和优化治疗方案,以延长患者的生存期并改善患者的预后。

核因子κB(nuclear factor kappa B,NF-κB)作为一种诱导转录因子,在细胞分化、炎症反应、免疫反应及正常细胞和恶性细胞的存活中起着重要作用[3]。NF-κB未激活时,NF-κB二聚体通过κB蛋白抑制剂(IκB)被隔离在细胞质中[4]。在细胞外信号刺激NF-κB激活后,IkB激酶(IKK)复合物磷酸化i-κB,导致蛋白酶体i-κB被降解,从而引起胞质NF-κBp50/p65核易位[5]。有研究[6]发现,使用NF-κB信号通路抑制剂如N-苯基磺酰基-3,5-双(芳烯基)-4-哌啶酮衍生物,可抑制NF-κB信号通路并阻断肝细胞癌进展。

VEGF作为诱导血管生成的重要因子,尤其是VEGF-A和VEGF-R2,已被证实为诱导肿瘤血管生成的关键因子[7]。而介导血管生成的血管生成因子VEGF可能受到NF-κB的调节。有文献[8]报道了NF-κB可通过过表达P65蛋白的磷酸化水平促进VEGF的表达。肿瘤血管生成是ESCC侵袭性和预后不良的原因之一[9]。因此了解食管癌中的血管生成和细胞增殖的分子机制就能确定ESCC的生物学基础并改善治疗。

本研究旨在通过检测NF-κB、VEGF-A蛋白在ESCC组织中癌和癌旁组织中的表达情况,分析其相关性及NF-κB与VEGF-A在促进食管鳞癌血管生成和细胞增殖的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病例资料 选取2020年6月至2023年6月新疆医科大学附属肿瘤医院32例接受手术治疗的食管癌患者术中切除的食管癌及癌旁组织为研究对象,本研究已获医院伦理委员会审批。纳入标准:(1)患者符合《食管癌诊疗规范》中原发性食管癌的诊断标准,确保诊断的准确性和一致性;(2)初次诊断并接受治疗的患者;(3)患者在同一家医院接受统一的择期手术治疗,并在术后接受标准化的放疗、化疗等辅助治疗措施。排除标准:(1)患有心脑血管意外、免疫缺陷病或血液系统疾病的患者;(2)术前被诊断为患有严重内外科疾病,可能影响术后预期生存期的患者;(3)术中出现严重合并症导致死亡或可能影响术后生存期的患者;(4)术前已接受过放疗、化疗等抗肿瘤治疗的患者;(5)患有其他部位恶性肿瘤或有恶性肿瘤患病史的患者。

1.1.2 实验材料 普诺赛生物提供食管正常上皮细胞Het-1A和食管癌细胞Kyse150、Eca109。RNA提取试剂TRIzol(赛默飞世尔生物公司)。TransScript One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix(北京全式金生物公司)。NF-κB-p65、GAPDH引物合成序列:NFκB-p65-F:TAACACCAGCGTTTGAGGG;NFκB-p65-R:AAGGCACTTGAGAAGAGGG;GAPDH-F:GGGAAACTGTGGCGTGAT;GAPDH-R:AAAGGTGGAGGAGTGGGT(上海生工生物工程股份有限公司)。RPMI-1640、胎牛血清(FBS)、0.25%胰蛋白酶(美国Gibco生物公司)。BCA蛋白浓度测量试剂盒(中国雅酶生物科技公司)。慢病毒载体HBLV-h-NF-κB1及HBLV过表达对照;HBLV-h-NF-κB1-shRNA及HBLV低表达对照(上海汉恒科技有限公司)。重组Anti-NF-κB抗体(NF-κB-p65)、Anti-VEGFA抗体、Anti-VEGF-Receptor 2(美国Cell Signaling Technology生物科技公司)。蛋白裂解液(碧云天生物技术公司)。Transwell通透隔离小室(康宁生物公司)。AnnexinV-FITC/PI细胞凋亡双染试剂盒、PI/RNase细胞周期试剂盒(美国BD生物科学公司)。

1.2 方法

1.2.1 慢病毒稳转株细胞的建立 采用含10%胎牛血清的RPMI-1640培养基在37 ℃、5% CO_2的培养箱中培养食管细胞Het-1a和食管癌细胞Kyse150、Eca109。取处于对数生长期的食管癌细胞Kyse150和Eca109进行慢病毒转染。将细胞按每瓶3×10^5个接种于25 cm^2的细胞培养瓶中,待细胞生长至30% ~50%融合度时,换成基础培养基培养细胞,并加入MOI值为15的慢病毒,转染24 h,换成完全培养液继续培养并用嘌呤霉素构建细胞稳转株,实验重复3次。

1.2.2 CCK-8实验检测细胞增殖 取1.2.1中各组细胞离心重悬。将细胞接种于96孔板中,每孔接种3×10^3个细胞,每组设置4个复孔进行培养,并留置空白孔。在0、24、48、72 h时,每孔加入10 μL CCK-8溶液,培养2 h后,酶标仪检测每孔在450 nm波长处OD值,实验重复3次。OD值=450 nm处的OD值-空白孔OD值。

1.2.3 平板细胞克隆试验 取1.2.1中各组细胞

离心重悬,将细胞接种于 6 孔板中,加入 2 mL 培养基,每孔接种 500 个细胞,培养 2 周,隔 3 ~ 4 d 换液,当在 6 孔板底部发现克隆细胞群落时则停止培养。弃去培养液,用 1 × PBS 清洗 3 遍,用 4% 多聚甲醛固定。采用 0.1% 结晶紫进行染色,清洗完晾干,实验重复 3 次,计数每组细胞克隆形成数。

1.2.4　流式细胞术检测细胞周期　取 1.2.1 中各组细胞离心重悬,按照凋亡试剂盒和周期试剂盒检测凋亡情况和细胞周期变化,实验重复 3 次

1.2.5　RT-qPCR 检测慢病毒转染效率　取 1.2.1 中各组细胞沉淀,用 Trizol 提取细胞总 RNA,逆转录得到 cDNA 最后进行 RT-qPCR 扩增。设置内参为 GAPDH。实验重复 3 次,以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算 mRNA 相对表达水平。

1.2.6　Western blot 检测食管癌细胞中 NF-κB、VEGF-A 及 VEGF-R2 蛋白表达　取 1.2.1 中各组细胞沉淀,提取细胞的总蛋白,用 BCA 法定量后进行定量上样,采用恒压电泳法分离所有目的蛋白,在恒定电流条件下湿法转膜将蛋白转印至 PVDF 膜上,在室温条件下,采用快速封闭液摇床上均匀封闭 10 min,10% 的 TBST 溶液洗膜 5 遍,5 min/次。加入目的蛋白抗体后,设置内参为 β-actin,4 ℃摇床过夜。加入二抗后孵育 2 h 用 ECL 显色液曝光,重复 3 次并分析结果。

1.3　观察指标

(1)NF-κB、VEGF-A 在食管鳞癌患者组织中的表达情况;(2)NF-κB 在食管细胞及食管癌细胞中的表达情况和转染效率验证;(3)过表达和敲低 NF-κB 对食管癌细胞 Kyse150、Eca109 增殖的影响;(4)过表达和敲低 NF-κB 对食管癌细胞系 Kyse150、Eca109 的凋亡及周期的影响;(5)过表达和敲低 NF-κB 在食管癌细胞系中的对 VEGF-A、VEGF-R2 的影响。

1.4　统计学分析

采用 GraphPad Prism 8.0 及 IBM SPSS 27.0 软件对数据进行处理与分析。计量资料符合正态分布且方差齐性,以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较行独立样本 t 检验,不同时间 OD 值行重复测量方差分析。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　NF-κB、VEGF-A 在食管鳞癌患者组织中的表达情况

与癌旁组织比较,食管癌组织中的 NF-κB 和 VEGF-A 的表达增高,差异有统计学意义($P < 0.05$);Pearson 相关性分析显示,NF-κB 和 VEGF-A 在癌组织中正相关($r = 0.734$,$P < 0.05$)。见图 1。

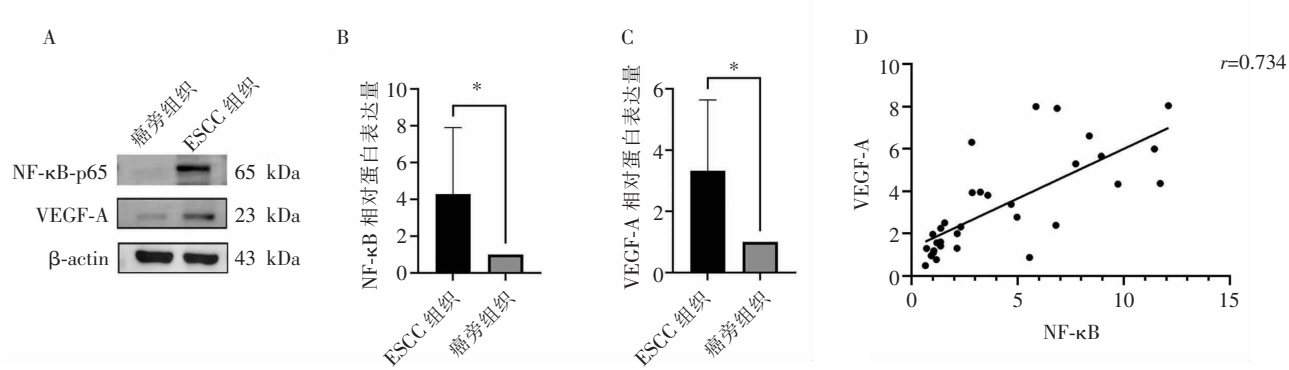


图 1　NF-κB、VEGF-A 在食管鳞癌患者组织中的表达(n=32)

A. Western blot 检测食管鳞癌组织和癌旁组织中 NF-κB、VEGF-A 蛋白的相对表达水平;B. 食管鳞癌组织和癌旁组织中 NF-κB 表达水平;C. 食管鳞癌组织和癌旁组织中 VEGF 蛋白表达水平;D. 食管癌组织中 NF-κB、VEGF-A 的 Pearson 相关性。*P<0.05。

2.2　NF-κB 在食管细胞及食管癌细胞中的表达情况和转染效率验证

与食管正常细胞 Het-1a 相比,食管癌细胞 Kyse150 中 NF-κB 表达水平更高,食管癌细胞 Eca109 中 NF-κB 表达水平更低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 2。因此在 Kyse150 中转染低表达对照慢病毒为 shRNA-NC 组、低表达慢病毒为 shRNA-NF-κB 组,分别记为低表达对照组和 NF-κB 低表达组;在 Eca109 中转染高表达对照慢病毒为 oeRNA-NC、高表达慢病毒为 oeRNA-NF-κB 组,分别记为过表达对照组和 NF-κB 过表达组。通过 RT-qPCR 和 Western blot 检测结果显示,转染效率差异有统计学意义($P < 0.05$),说明慢病毒转染成功。见图 2。

2.3　过表达和敲低 NF-κB 对食管癌细胞 Kyse150、Eca109 增殖的影响

CCK-8 实验和平板克隆实验检测结果显示,NF-

κB 低表达组的食管癌细胞与低表达对照组相比,细胞增殖能力下降;NF-κB 过表达组的食管癌细胞与过表达对照组相比,细胞增殖能力增强,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见图 3 及表 1。

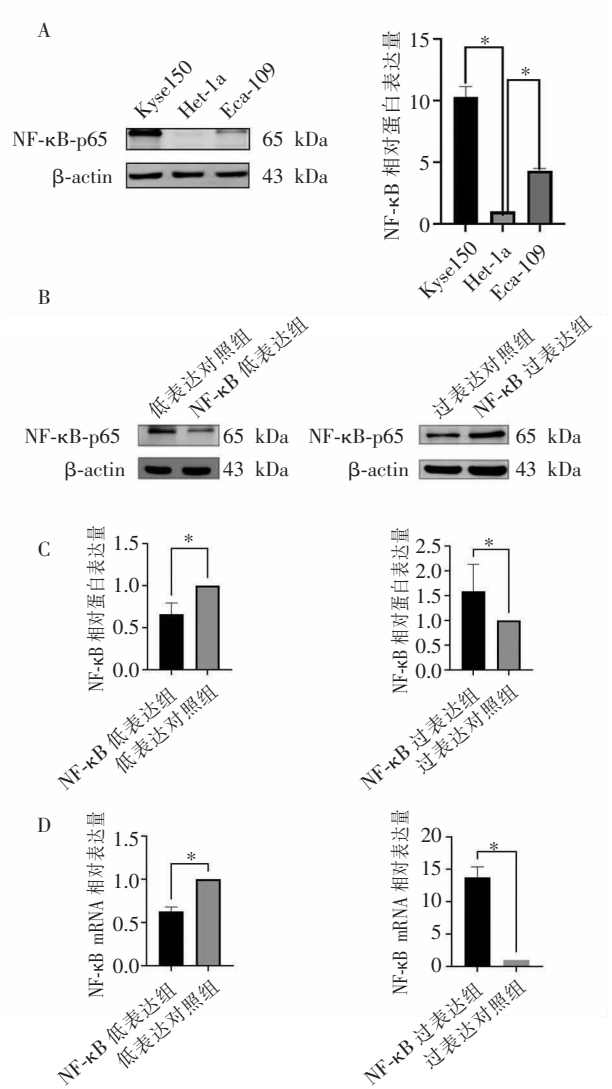


图 2 NF-κB 在食管细胞及食管癌细胞中的表达情况

A. 通过 Western blot 检测 NF-κB 在食管细胞 Het-1a 和食管癌细胞 kyse150、ECA109 的表达情况;B. NF-κB 在 NF-κB 低表达组和 NF-κB 过表达组中蛋白的表达水平;C. NF-κB 在 NF-κB 低表达组和 NF-κB 过表达组中蛋白表达水平的分析;D. 通过 RT-qPCR 检测 NF-κB 在 NF-κB 低表达组和 NF-κB 过表达组中的表达水平。*P<0.05。

2.4 过表达和敲低 NF-κB 对食管癌细胞系 Kyse150、Eca109 的凋亡及周期的影响

流式细胞术检查结果显示,低表达对照组细胞凋亡率为(5.35±1.02)%,NF-κB 低表达组细胞的凋亡率上升至(7.42±0.85)%,差异有统计学意义($P<0.05$);过表达对照组细胞凋亡率为(19.77±1.48)%,NF-κB 过表达组细胞凋亡率下降至(14.09±1.62)%,差异有统计学意义($P<0.05$)。NF-κB 低表达组细胞 S 期所占的比例为(34.27±1.8)%,与低表达对照组细胞 S 期所占的比例(48.1±2.2)%相比减少,差异有统计学意义($P<0.05$);NF-κB 过表达组细胞 S 期所占的比例为(55.85±3.3)%,与过表达对照组细胞 S 期(41.9±1.8)%比较增多,差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 4。

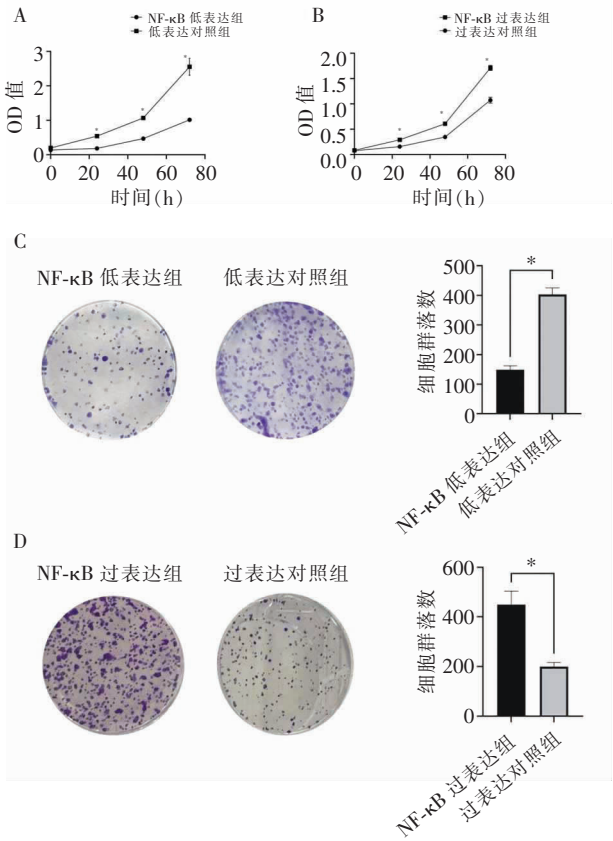


图 3 过表达和敲低 NF-κB 对食管癌细胞 Kyse150、Eca109 增殖的影响

A. CCK-8 实验 NF-κB 低表达组在不同时间 OD 值;B. CCK-8 实验 NF-κB 过表达组在不同时间 OD 值;C. 平板克隆实验 NF-κB 低表达组细胞增殖情况;D. 平板克隆实验 NF-κB 过表达组细胞增殖情况。*P<0.05。

表 1 CCK-8 中 NF-κB 表达改变后对食管癌细胞增殖的影响

组别	0 h	24 h	48 h	72 h	F 值	P 值
低表达对照组	0.16±0.03	0.54±0.01	1.07±0.02	2.56±0.25	498.88	<0.001
NF-κB 低表达组	0.14±0.01	0.18±0.01	0.47±0.02	1.01±0.05		
过表达对照组	0.07±0.01	0.15±0.02	0.35±0.02	1.07±0.06	855.42	<0.001
NF-κB 过表达组	0.08±0.03	0.29±0.02	0.61±0.04	1.71±0.05		

2.5 过表达和敲低 NF-κB 在食管癌细胞系中的对 VEGF-A、VEGF-R2 的影响

Western blot 检测显示,与低表达对照组比较,NF-κB 低表达组中 VEGF-A、VEGF-R2 的表达水平下降($P<0.01$);与过表达对照组比较,NF-κB 过表达组中 VEGF-A、VEGF-R2 的表达水平增高($P<0.05$)。见图 5。

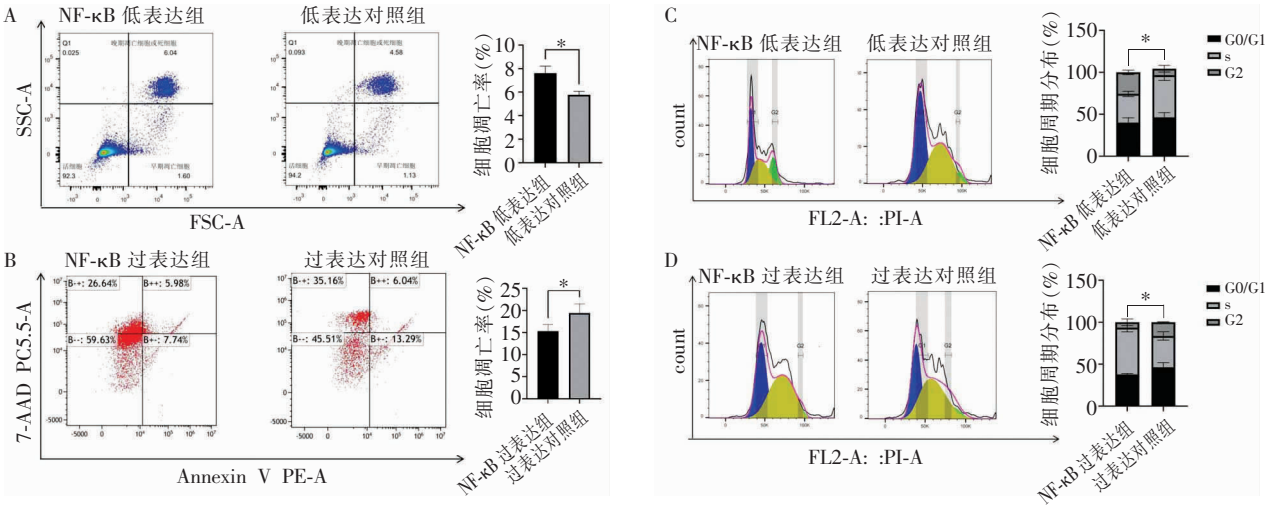


图 4　过表达和敲低 NF-κB 对食管癌细胞系 Kyse150、Eca109 的凋亡及周期的影响

A. NF-κB 低表达组 NF-κB 对细胞凋亡的影响;B. NF-κB 过表达组 NF-κB 对细胞凋亡的影响;C. NF-κB 低表达组 NF-κB 对细胞周期的影响;D. NF-κB 过表达组 NF-κB 对细胞周期的影响。*P<0.05。

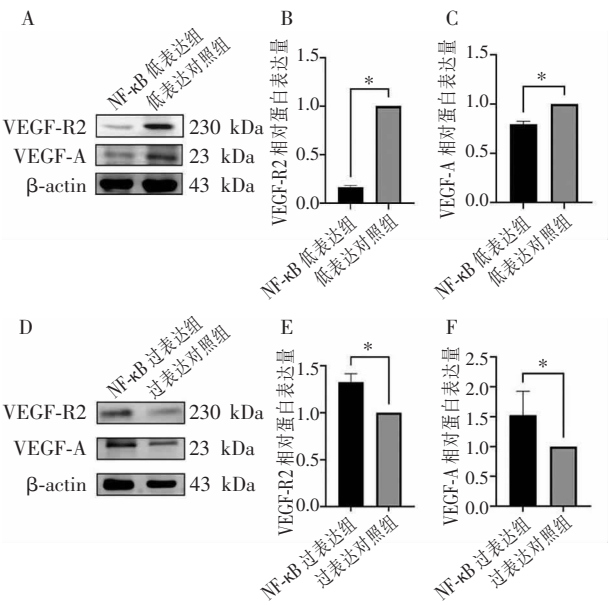


图 5　过表达和敲低 NF-κB 在食管癌细胞系中的对 VEGF-A、VEGF-R2 的影响

A. NF-κB 低表达组、低表达对照组中 VEGF-A、VEGF-R2 蛋白的表达;B. NF-κB 低表达组、低表达对照组中 VEGF-R2 蛋白表达情况;C. NF-κB 低表达组、低表达对照组中 VEGF-A 蛋白表达情况;D. NF-κB 过表达组、过表达对照组中 VEGF-A、VEGF-R2 蛋白的表达;E. NF-κB 过表达组、过表达对照组中 VEGF-R2 蛋白表达情况;F. NF-κB 过表达组、过表达对照组中 VEGF-A 蛋白表达情况。*P<0.05。

3　讨论

近几年,随着对 NF-κB 的研究深入,针对 NF-κB 开展的抗肿瘤研究也逐渐被研究者们广泛关注。NF-κB 是一种核蛋白因子,已有多项研究表明它参与了细胞免疫反应、炎症反应以及肿瘤的发生和发展过程[10]。有文献[11]报道 NF-κB 激活与化疗耐药及食管癌转移有关。既往研究[12]发现,NF-κB 在食管癌组织中高表达与食管癌患者预后不良相关。Kumagai 等[13]发现 VEGF 在食管鳞癌组织中高表达,而在健康的食管上皮中未见表达,本研究与其一致。本研究前期实验采用了免疫组化染色技术,观察到食管鳞状细胞癌(ESCC)组织中 NF-κB 和 VEGF 的阳性表达率与癌旁组织相比明显升高。此外,本课题组既往研究[14]结果表明,NF-κB 和 VEGF 的表达水平与临床特征,如肿瘤分期、淋巴结转移和总体预后,具有强相关性。本实验通过 Western bold 检测了 ESCC 组织中 NF-κB、VEGF-A 蛋白表达水平,结果发现,与癌旁组织相比,癌组织中的 NF-κB、VEGF-A 蛋白表达与癌旁组织比较明显增高(P<0.05),且癌组织中 NF-κB、VEGF-A 的表达正相关(P<0.05)。

细胞凋亡能限制细胞增殖能力,但肿瘤细胞往往在细胞死亡程序中出现紊乱,进入不受控制的生长状态[15]。据报道,NF-κB 参与调节与细胞周期相关的蛋白,如参与周期蛋白 D-1 和周期蛋白依赖激酶 Cdk-2 的基因转录过程。在乳腺癌、淋巴癌等癌症中,已观察到 NF-κB 的持续激活,导致上述蛋白的活性异常[16]。NF-κB 还参与调控细胞的抗凋亡过程,其主要机制是通过拮抗与细胞凋亡相关的基因转录[17]。另外,NF-κB 能提高一些促肿瘤生长细胞因子的水平,包括 IL-1β(急性白血病生长因子)、IL-6(多发性骨髓瘤的生长因子)等[18]。本研究在食管癌中也发现,NF-κB 的降低在食管癌细胞株中可抑制 G1/S 期转换,抑制细胞增殖并促进细胞凋亡;NF-κB 的增高在食管癌细胞株中可促进 G1/S 期转换,促进细胞增殖并产生凋亡抵抗。

多项研究[19]表明,癌症的主要特征之一是血管

生成以及随后促进肿瘤的新血管的生长和发育,因此抗血管生成药物也被认为是治疗实体瘤的有效策略。FDA批准的药物贝伐单抗是一种VEGF-A抗体,已被用于治疗多种类型的癌症,包括肝细胞癌、肺癌和肾细胞癌[20]。其他血管生成抑制剂,如舒尼替尼,目前用于治疗肾细胞癌[21]。Omi等[22]研究发现,当抑制了胰腺癌细胞系中的NF-κB活化,VEGF的表达也同时降低;在结肠癌细胞中,也有报道NF-κB通过调控VEGF参与血管生成和癌细胞转移[8]。本研究也发现在食管癌细胞中过表达和敲低NF-κB,VEGF-A、VEGF-R2的表达水平随之增高和降低。因此,推测NF-κB可能对于食管鳞癌的发生和发展起着重要作用,且作用机制与调控VEGF-A、VEGF-R2有关。

综上,NF-κB可能是食管癌发生发展的关键因子,阻断NF-κB的功能发挥可能是抑制食管癌发生发展的一个新思路,是未来开发特异性抗食管癌药物的潜在新分子治疗靶点。对NF-κB信号转导通路促进食管癌进行深层次的分子机制研究,有利于更好地指导临床药物开发。此外,值得注意的是,血管生成受到多种血管因子的共同调控,因此NF-κB在食管癌血管生成中的具体作用机制仍需进一步研究。

参考文献

[1] Deo SVS, Sharma J, Kumar S. GLOBOCAN 2020 report on global cancer burden: challenges and opportunities for surgical oncologists [J]. Annals of Surgical Oncology, 2022, 29(11): 6497 – 6500.

[2] Zheng RS, Sun KX, Zhang SW, *et al*. Report of cancer epidemiology in China, 2015[J]. Zhonghua Zhong Liu Za Zhi [Chinese Journal of Oncology], 2019, 41(1): 19 – 28.

[3] Poma P. NF-κB and disease[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(23): 9181.

[4] Basak S, Kim H, Kearns JD, *et al*. A fourth IkappaB protein within the NF-kappaB signaling module[J]. Cell, 2007, 128(2): 369 – 381.

[5] Paul A, Edwards J, Pepper C, *et al*. Inhibitory-κB kinase (IKK) α and nuclear factor-κB (NFκB)-inducing kinase (NIK) as anticancer drug targets[J]. Cells, 2018, 7(10): 176.

[6] Li N, Xin WY, Yao BR, *et al*. N-phenylsulfonyl-3,5-bis(arylidene)-4-piperidone derivatives as activation NF-κB inhibitors in hepatic carcinoma cell lines[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2018, 155: 531 – 544.

[7] Jimi E, Fei H, Nakatomi C. NF-κB signaling regulates physiological and pathological chondrogenesis[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(24): 6275.

[8] Bakshi HA, Quinn GA, Nasef MM, *et al*. Crocin inhibits angiogenesis and metastasis in colon cancer via TNF-α/NF-kB/VEGF pathways[J]. Cells, 2022, 11(9): 1502.

[9] Zhao Y, Gao J, Xie X, *et al*. BACH1 promotes the progression of esophageal squamous cell carcinoma by inducing the epithelial-mesenchymal transition and angiogenesis[J]. Cancer Medicine, 2021, 10(10): 3413 – 3426.

[10] Zingarelli B. Nuclear factor-κB[J]. Critical Care Medicine, 2005, 33: S414 – S416.

[11] Wei L, Yan N, Sun L, *et al*. Interplay between the NF-κB and hedgehog signaling pathways predicts prognosis in esophageal squamous cell carcinoma following neoadjuvant chemoradiotherapy [J]. International Journal of Molecular Medicine, 2018, 41(5): 2961 – 2967.

[12] Zhang YQ, Zhang JJ, Song HJ, *et al*. Expression and prognostic influence of NF-κB and EGFR in esophageal cancer[J]. Genetics and Molecular Research: GMR, 2015, 14(4): 16819 – 16826.

[13] Kumagai Y, Tachikawa T, Higashi M, *et al*. Vascular endothelial growth factors C and D and lymphangiogenesis at the early stage of esophageal squamous cell carcinoma progression[J]. Diseases of the Esophagus: Official Journal of the International Society for Diseases of the Esophagus, 2018, 31(8): 10.1093/dote/doy011.

[14] 吕红博,初建虎,阿迪力·萨来. 癌组织NF-κB、VEGF表达与食管癌患者临床特征及预后的相关性[J]. 临床和实验医学杂志, 2022, 21(16): 1716 – 1721.

[15] Wong RSY. Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment [J]. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research: CR, 2011, 30(1): 87.

[16] Kwon HY, Park SB, Han M, *et al*. Triphenyl phosphate activates estrogen receptor α/NF-κB/cyclin D1 signaling to stimulate cell cycle progression in human Ishikawa endometrial cancer cells[J]. Obstetrics & Gynecology Science, 2022, 65(6): 531 – 541.

[17] Yi W, Wen Y, Tan F, *et al*. Impact of NF-κB pathway on the apoptosis-inflammation-autophagy crosstalk in human degenerative nucleus pulposus cells[J]. Aging, 2019, 11(17): 7294 – 7306.

[18] 姜一弘,张丹,张天择,等. 核因子κB(NF-κB)信号通路在炎症与肿瘤中作用的研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2018, 34(12): 1130 – 1135.

[19] Garcia J, Hurwitz HI, Sandler AB, *et al*. Bevacizumab (Avastin®) in cancer treatment: a review of 15 years of clinical experience and future outlook [J]. Cancer Treatment Reviews, 2020, 86: 102017.

[20] Keating GM. Bevacizumab: a review of its use in advanced cancer [J]. Drugs, 2014, 74(16): 1891 – 1925.

[21] Nassif E, Thibault C, Vano Y, *et al*. Sunitinib in kidney cancer: 10 years of experience and development[J]. Expert Review of Anticancer Therapy, 2017, 17(2): 129 – 142.

[22] Omi K, Matsuo Y, Ueda G, *et al*. Escin inhibits angiogenesis by suppressing interleukin-8 and vascular endothelial growth factor production by blocking nuclear factor-κB activation in pancreatic cancer cell lines[J]. Oncology Reports, 2021, 45(5): 55.

(收稿日期:2024 – 01 – 29 修回日期:2024 – 03 – 05)