

中药调控细胞自噬治疗食管癌的研究进展

毛玉璇, 姜 琛



解放军总医院京中医疗区门诊部 (北京 100006)

【摘要】 食管癌是高发消化系统恶性肿瘤, 自噬在食管癌演进中兼具抑癌、促癌双重调控作用, 是肿瘤靶向干预的重要靶点。现有研究证实中药活性成分能够调控食管癌细胞自噬, 但相关作用机制尚缺乏系统性归纳。本文阐述自噬在食管癌中的双重作用及其分子调控机制, 按哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR)、腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK)、活性氧 (ROS) 及自噬体-溶酶体融合 4 条自噬调控途径, 归纳中药活性成分及复方调控食管癌细胞自噬的研究进展, 区分诱导致死性自噬、拮抗保护性自噬 2 种干预模式, 同时指出领域存在实验方法不规范、体内转化研究不足等问题, 为食管癌自噬靶向治疗及中药活性成分研发提供理论支撑。

【关键词】 食管癌; 细胞自噬; 中药活性成分; 分子作用机制

【中图分类号】 R735.1; R285.5

【文献标识码】 A

Research progress on traditional Chinese medicine in regulating autophagy for esophageal cancer

MAO Yuxuan, JIANG Chen

Department of Outpatient, Jingzhong Medical Area, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100006, China

Corresponding author: JIANG Chen, Email: 544857889@qq.com

【Abstract】 Esophageal cancer is a highly prevalent malignant tumor of the digestive system. Autophagy exerts dual tumor-suppressive and tumor-promoting regulatory effects in the progression of esophageal cancer, serving as an important target for tumor-targeted intervention. Existing studies have confirmed that active constituents of traditional Chinese medicine (TCM) can regulate autophagy in esophageal cancer cells; however, the relevant mechanisms lack systematic summarization. This review describes the dual biological functions and molecular regulatory mechanisms of autophagy in esophageal cancer. It further summarizes recent advances regarding the autophagy-modulating effects of TCM active constituents and herbal formulas along four key regulatory axes: mammalian target of rapamycin (mTOR), AMP-activated protein kinase (AMPK), reactive oxygen species (ROS), and autophagosome-lysosome fusion. Two intervention modes, including inducing lethal autophagy and counteracting protective autophagy, are highlighted. Major limitations, including non-standard autophagic flux assays and insufficient *in vivo* translational research, are also addressed, aiming to provide theoretical support for autophagy-targeted therapy of esophageal cancer and the research and development of TCM active constituents.

【Keywords】 Esophageal cancer; Autophagy; Active ingredients from traditional Chinese medicine; Molecular mechanism

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202608015

通信作者: 姜琛, 主治医师, Email: 544857889@qq.com

<https://yxqy.whuznhmedj.com>

食管癌为全球常见恶性肿瘤之一，2022年全球新发病例约51万，我国病例数占全球半数以上，且发病率呈持续上升趋势^[1-2]。该病易转移、化疗耐药、病死率高，高效防治手段亟待深入挖掘^[3]。细胞自噬是细胞应答代谢应激的重要生物学过程，在食管癌发生发展中存在双向调控效应。在肿瘤早期，自噬可通过清除损伤细胞器、稳定基因组抑制肿瘤发生；在肿瘤进展期，自噬则为癌细胞供给代谢物质、介导化疗耐药^[4-5]。这种双向特征使自噬成为兼具抑癌与促癌潜力的可塑性治疗靶点。现阶段临床常用自噬抑制剂羟氯喹仅靶向自噬溶酶体融合过程，作用靶点单一且长期用药毒副作用突出，临床应用受限。因此，寻找多靶点、低毒性的自噬调控药物成为食管癌治疗的重要方向。

中医药在食管癌治疗中多作为辅助手段，用于放化疗减毒增效、术后康复及晚期姑息治疗。现有部分临床研究及Meta分析提示，中药制剂可改善患者症状、提升生活质量^[6-8]，但尚缺乏高质量、大样本随机对照试验证据，不足以形成高级别的临床推荐证据。中药活性成分可通过诱导细胞凋亡、自噬调控、抑制肿瘤增殖与侵袭转移、逆转化疗耐药、重塑肿瘤免疫微环境及调控代谢重编程等多种途径发挥抗肿瘤效应；因其具有多靶点、不良反应相对较低等特点，已成为食管癌药物研究的重要方向。其中自噬调控兼具抑癌与促癌的双重潜力，因此备受关注^[9-11]。然而现有研究仍存在明显不足，实验多局限于细胞及移植瘤模型，研究多聚焦于单体成分，复方研究相对薄弱，且尚未对各类活性成分调控自噬的作用机制开展系统归纳。基于此，本文系统梳理国内外相关研究，归纳各类活性成分调控自噬的规律，阐明其作用机制，以期为食管癌自噬靶向治疗药物研发提供理论支撑。

1 自噬在食管癌中的双重作用及其分子调控机制

1.1 自噬在食管癌中的双重作用

自噬在食管癌不同病程阶段发挥截然相反的生物学作用，针对以上情况可建立差异化靶向干预策略。

1.1.1 早期抑癌作用

在肿瘤发生早期，自噬主要发挥抑癌作用。

一方面通过自噬清除受损线粒体，减少活性氧（reactive oxygen species, ROS）蓄积所致DNA损伤^[5]；另一方面降解Snail、Twist等上皮-间质转化（epithelial-mesenchymal transition, EMT）转录因子，维持上皮表型稳态，削弱侵袭倾向^[5]。研究证实食管鳞癌自噬关键蛋白Beclin-1（Beclin-1）低表达与肿瘤低分化、淋巴结转移及不良预后显著相关^[12]，提示基础自噬水平不足会推动食管癌进展，该阶段治疗以诱导并维持自噬活性为核心思路。

1.1.2 进展期促癌作用

食管癌进展期或经放化疗后，自噬转而促癌。缺氧、营养匮乏的肿瘤微环境促使肿瘤细胞启动保护性自噬，降解胞内物质释放氨基酸、脂肪酸以维持增殖；顺铂、氟尿嘧啶（5-fluorouracil, 5-FU）等化疗药同样激活保护性自噬，削弱化疗效果，抑制该类自噬可逆转化疗耐药^[13-14]。自噬流标志物微管相关蛋白1轻链3（microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3） β 亚型（LC3B）、隔离体蛋白1（sequestosome-1, p62）表达与化疗应答密切相关，高自噬活性病灶化疗响应较差^[15]，提示抑制保护性自噬可实现化疗增敏。

1.2 自噬的分子调控机制

自噬是高度保守的细胞代谢循环过程，细胞通过形成双层膜结构自噬体包裹受损蛋白、衰老细胞器及病原体，转运至溶酶体降解回收，构成完整自噬流^[4-5, 9]。自噬流全程可分为自噬启动、隔离膜成核与延伸、自噬体成熟及自噬体-溶酶体融合降解等阶段。自噬启动依赖多级复合物有序调控，上游Unc-51样自噬激活激酶1（Unc-51 like autophagy activating kinase 1, ULK1）复合物（ULK1-ATG13-FIP200-ATG101）接收上游信号启动自噬，下游Beclin-1-空泡蛋白分选34（vacuolar protein sorting 34, VPS34）-ATG14L复合物催化磷脂酰肌醇-3-磷酸（phosphatidylinositol 3-phosphate, PI3P）合成，为隔离膜成核提供脂质支架；自噬相关蛋白5（autophagy related 5, ATG5）-ATG12-ATG16L体系介导LC3-I与磷脂酰乙醇胺结合转化为膜结合型LC3-II，推动隔离膜延展形成闭合自噬体；成熟自噬体经Rab鸟苷三磷酸酶（Rab GTPase）及溶酶体相关膜蛋白（lysosome-associated membrane protein, LAMP）

介导与溶酶体融合，底物经溶酶体水解酶降解完成物质循环^[4, 11]。

1.2.1 mTOR 介导的自噬途径

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 是调控细胞生长代谢的核心蛋白，其复合物 1 (mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1) 受磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) /蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT) 信号轴调控^[16]。生长因子激活受体酪氨酸激酶后，PI3K 催化生成磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸 (phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate, PIP3)，以第二信使身份将 AKT 募集至质膜并激活；活化的 AKT 磷酸化结节性硬化症蛋白 (tuberous sclerosis complex, TSC) 2，抑制 TSC1-TSC2 复合物的鸟苷三磷酸 (guanosine triphosphate, GTP) 酶激活蛋白活性，解除对 Ras 同源物富集于脑 (Ras homolog enriched in brain, Rheb) 的负向调控，促使 Rheb 结合 GTP 而激活 mTORC1。活化 mTORC1 直接磷酸化 ULK1 Ser757，抑制 ULK1 激酶活性，阻断自噬起始^[16-17]。食管癌中，表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 过表达、磷脂酰肌醇 3-激酶催化亚基 α (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha, *PIK3CA*) 突变、磷酸酶及张力蛋白同源物 (phosphatase and tensin homolog, *PTEN*) 缺失等遗传学改变可导致该通路持续异常激活，与肿瘤进展、化疗耐药密切相关^[5]。

1.2.2 AMPK 介导的自噬途径

腺苷酸活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 是细胞能量代谢的核心感知分子，为包含 α 催化亚基及 β 、 γ 调节亚基的异源三聚体，可感知胞内腺苷一磷酸 (adenosine monophosphate, AMP) /腺苷三磷酸 (adenosine triphosphate, ATP) 比值变化^[18]。能量匮乏时 AMP 结合 γ 亚基，促进肝激酶 B1 (liver kinase B1, LKB1) 对其 α 亚基 Thr172 磷酸化，进而激活 AMPK。活化的 AMPK 可直接磷酸化 ULK1 Ser317/Ser777 启动自噬^[17]，该过程不依赖上游 PI3K/AKT 信号，构成绕过 mTORC1 的自噬旁路。此外，AMPK 还可通过磷酸化 TSC2 及 mTOR 调节相关蛋白 (regulatory-associated protein of mTOR, Raptor) 间接抑制 mTORC1 活性，协同解除对

ULK1 的抑制^[16-17]。部分食管癌因 *PTEN* 缺失、*PIK3CA* 突变造成 mTORC1 持续过度活化^[5]，PI3K/AKT/mTOR 靶向药物易产生继发耐药，而 AMPK 途径可绕过 PI3K/AKT 轴直接启动自噬，是克服 mTOR 异常激活型食管癌耐药的潜在旁路靶点。

1.2.3 ROS 介导的自噬途径

ROS 是细胞代谢与应激的关键信号分子，可在启动及终末等多个环节调控自噬，与上述途径共同组成自噬氧化-还原调控网络^[19]。ROS 对自噬的调控具有明显的浓度与时间依赖性，最终生物学效应受 ROS 水平、作用时长以及肿瘤细胞背景共同决定。高浓度 ROS 一方面可直接抑制 AKT/mTOR 信号，解除 mTORC1 对自噬的抑制，进而启动自噬^[5, 19]；另一方面 ROS 可氧化失活 *PTEN*，解除其对 PI3K/AKT 通路的负向抑制^[20]，造成 AKT 过度激活，进而抑制自噬起始。低浓度 ROS 则可磷酸化激活 AMPK，通过 AMPK-ULK1 轴促进自噬发生^[5]。此外，ROS 还可直接作用于自噬复合体，氧化自噬相关蛋白 4 (autophagy related 4, ATG4) 活性位点半胱氨酸使其失活，稳定 LC3-II 脂化水平，促进自噬体生成^[21]。但持续高水平 ROS 蓄积又可破坏溶酶体膜完整性、降低溶酶体组织蛋白酶活性，阻碍自噬体-溶酶体融合，造成自噬流中断。

1.2.4 自噬体-溶酶体融合调控

自噬体-溶酶体融合是自噬流完成的终末环节，需多级分子协同调控^[22]。成熟自噬体在 Rab GTPase 家族的 Ras 相关蛋白 Rab-7 (Ras-related protein Rab-7) 介导下向溶酶体定向转运^[23]；到达靶位后，自噬体膜突触融合蛋白 17 (syntaxin 17, STX17) 与溶酶体膜囊泡相关膜蛋白 8 (vesicle-associated membrane protein 8, VAMP8) 经突触体相关蛋白 29 (synaptosomal-associated protein 29, SNAP29) 桥接，组装为可溶性 N-乙基马来酰亚胺敏感因子附着蛋白受体 (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor, SNARE) 复合物，驱动双层膜融合^[22, 24]；溶酶体相关膜蛋白 1-2 (LAMP1-LAMP2) 及同型膜融合与蛋白分选复合物 (homotypic fusion and protein sorting, HOPS) 参与融合的锚定与调控^[25-26]。融合完成后，底物被溶酶体水解酶降解，实现物质循环与细胞器更新^[11]。融合受阻会造成未降解自噬体堆积，引

发p62蓄积、泛素化蛋白聚集等细胞应激。此外,自噬流容量受上游信号调控,转录因子EB(transcription factor EB, TFEB)经mTORC1磷酸化状态调控溶酶体生物发生相关基因转录,参与维持自噬通量^[27]。目前食管癌自噬研究多关注LC3-II、Beclin-1等自噬启动标志物,针对融合环节的探索仍十分有限,亟待深入。

2 中药活性成分调控自噬抗食管癌的研究进展

中药活性成分主要经mTOR、AMPK、ROS及

自噬体-溶酶体融合4条途径调控食管癌细胞自噬,从功能结局看可归纳为诱导致死性自噬与拮抗保护性自噬两种干预模式(表1)。以下按其作用机制类型分别阐述其在食管癌自噬调控中的研究进展。

2.1 中药活性成分经mTOR介导的途径调控自噬

2.1.1 苦参碱

苦参碱是从苦参中提取的喹诺里西啶类生物碱,多项研究证实其抗食管癌作用与诱导自噬密切相关^[28-30]。侯敏杰等^[28]在Eca-109细胞中发

表1 中药活性成分调控食管癌自噬的作用机制汇总

Table 1. Summary of mechanisms of TCM active ingredients regulating autophagy in esophageal cancer

活性成分	化合物类型	食管癌实验模型	核心调控环节	自噬类型	验证方法	文献
苦参碱	生物碱	Eca-109	mTOR介导	诱导自噬	3-MA逆转+透射电镜+静态WB;检测p62降解提示自噬流完整,未开展CQ/Baf-A1、GFP-RFP-LC3双荧光验证	[28-30]
人参皂苷Rk ₃	皂苷	Eca-109、KYSE150、裸鼠	mTOR介导	诱导自噬	3-MA部分逆转+体内裸鼠实验;仅WB静态标志物,未开展CQ/Baf-A1、GFP-RFP-LC3双荧光验证	[31]
姜黄素(联合多西他赛)	多酚	KYSE-150	PI3K/AKT/mTOR/核糖体蛋白S6激酶	药物诱导保护性自噬(拮抗化疗凋亡)	电镜观察+3-MA逆转;无CQ/Baf-A1、GFP-RFP-LC3双荧光验证	[32]
加减通幽汤	复方	TE-1(含药血清)	mTOR介导	诱导自噬	仅静态WB标志物检测;无CQ/Baf-A1、双荧光LC3	[33]
雷公藤内酯酮	萜类	KYSE450、KYSE510	AMPK介导	诱导自噬依赖性凋亡	Compound C(AMPK抑制剂)/3-MA抑制剂逆转,具备自噬流相关功能验证	[34]
紫草素	醌类	EC9706	AMPK介导	诱导自噬	3-MA抑制剂逆转;仅静态WB,缺少自噬流金标准验证	[35]
DHA	萜类	Eca-109	ROS介导	诱导自噬(ROS介导)→G ₂ /M阻滞	NAC(ROS清除剂)逆转;仅静态WB,未开展CQ/Baf-A1、GFP-RFP-LC3双荧光验证	[36]
熊果酸	萜类	TE-8、TE-12	ROS介导	诱导自噬	3-MA逆转+DPI(ROS抑制剂);仅静态WB,无自噬流金标准实验	[37]
去氢木香内酯	萜类	Eca-109、KYSE150、裸鼠	ROS介导	诱导自噬+凋亡	NAC逆转+体内裸鼠;仅静态WB,未开展CQ/Baf-A1、GFP-RFP-LC3双荧光验证	[38]
异槲皮苷	黄酮	食管鳞癌细胞(体外)、裸鼠移植瘤	ROS介导	过度自噬	体内裸鼠+体外细胞;仅静态WB,未开展自噬流阻断剂、双荧光LC3验证	[39]
人参皂苷Ro	皂苷	多株食管癌细胞	ESR2-NCF1-ROS轴(阻滞自噬体-溶酶体融合)	抑制保护性自噬(阻滞自噬体-溶酶体融合)	溶酶体pH检测、GFP-LC3示踪;NAC、DPI、阿朴肉桂素抑制剂进行逆转实验	[40]
灵芝酸D	萜类	EC9706、Eca-109	PI3K/AKT/mTOR通路+损伤溶酶体、阻滞自噬体-溶酶体融合	双相自噬→自噬性死亡	双相时间梯度动态观察;缺少CQ/Baf-A1、双荧光LC3验证	[41]
CMSP	苯丙素类	食管鳞癌细胞、患者来源类器官、裸鼠移植瘤	阻滞自噬体-溶酶体融合	抑制保护性自噬(阻断晚期自噬流)	GFP-LC3示踪;类器官+裸鼠体内验证	[42]

注: 3-MA.3-甲基腺嘌呤; WB.蛋白质印迹法; GFP.绿色荧光蛋白; RFP.红色荧光蛋白; CQ.氯喹; Baf-A1.巴弗洛霉素A1; ESR2.雌激素受体2; NCF1.中性粒细胞胞质因子1; DPI.二亚苯基碘鎓; NAC. N-乙酰半胱氨酸; DHA.二氢青蒿素; CMSP.对羟基肉桂醛。

现, 苦参碱干预后自噬泡及自噬体数量显著增多, Beclin-1 表达与 LC3- II/LC3- I 比值同步上升, 联用自噬抑制剂 3-MA 可逆转上述效应并恢复细胞增殖, 证实自噬介导其抗肿瘤作用。进一步研究发现^[29-30], 苦参碱通过抑制 PI3K/AKT/mTOR 通路 (降低 AKT、mTOR 磷酸化) 解除对 ULK1 的抑制而激活自噬, 且伴随 p62 降解, 提示自噬流完整通畅, 说明苦参碱确系通过完整自噬流发挥抗肿瘤作用, 而非仅诱导自噬启动。

2.1.2 人参皂苷 Rk₃

人参皂苷 Rk₃ 是人参加工炮制产生的稀有皂苷。Liu 等^[31] 在 Eca-109、KYSE150 细胞及裸鼠移植瘤模型中证实, 人参皂苷 Rk₃ 可显著抑制食管癌细胞增殖与克隆形成, 诱导 G₁ 期周期阻滞、细胞凋亡及自噬; 采用 AKT 抑制剂 GSK690693 或雷帕霉素预处理可放大其促凋亡、促自噬效应, 提示人参皂苷 Rk₃ 与苦参碱类似, 亦通过阻断 PI3K/AKT/mTOR 通路激活自噬; 而 3-MA 可部分逆转其促凋亡作用, 则表明激活的自噬协同促进凋亡。

2.1.3 姜黄素

姜黄素属多酚类化合物, 可与化疗药物协同调控自噬并放大凋亡效应。姜黄素联合多西他赛作用于 KYSE150 细胞后, 电镜下自噬泡及自噬溶酶体显著增多, LC3- II/LC3- I 比值、Beclin-1 及自噬相关蛋白 7 (autophagy related 7, ATG7) 上调而 p62 下降, 表明联合给药诱导产生完整自噬流; 机制上联合给药双重阻断 PI3K/AKT/mTOR/核糖体蛋白 S6 激酶通路, 上调 B 细胞淋巴瘤-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 相关 X 蛋白及裂解型胱天蛋白酶-3/9, 提示自噬与凋亡同步发生。但 3-MA 阻断自噬后, 联合给药的促凋亡效应进一步增强, 说明该自噬为肿瘤细胞的保护性应答, 可拮抗药物诱导的细胞凋亡, 抑制自噬流能够进一步提升药物杀伤效果^[32]。

2.1.4 加减通幽汤

加减通幽汤 (桃仁、红花、当归、生地黄等组成) 通过多靶点网络调控自噬。Tian 等^[33] 经网络药理学与蛋白质互作网络分析筛选 AKT/mTOR 为核心靶点, 以低、中、高剂量灌胃 SD 大鼠制备含药血清, HPLC 法测定血清活性成分浓度后培养 TE-1 细胞。结果显示, 含药血清干预后自噬酸性囊泡及自噬体增多, LC3 表达上调、Beclin-1 的信使核糖核酸 (messenger RNA,

mRNA) 表达升高, AKT/mTOR 磷酸化降低, 证实其经抑制 AKT/mTOR 通路诱导食管癌自噬, 形成网络药理学预测-含药血清制备-体外细胞层面的研究证据链, 但该研究仅采用含药血清开展体外实验, 未开展动物体内给药, 且仅依靠静态自噬标志物检测, 自噬流完整性、体内实际效应仍有待进一步证实。

2.2 中药活性成分经 AMPK 介导的途径调控自噬

2.2.1 雷公藤甲素衍生物

雷公藤内酯酮是雷公藤甲素衍生物, 经自噬流相关实验验证, 可通过 AMPK/ULK1 通路发挥抗食管癌作用。Ju 等^[34] 在 KYSE450、KYSE510 食管鳞癌细胞中证实, 雷公藤内酯酮可上调 AMPK 磷酸化水平, 促进 ULK1 Ser317 磷酸化, 同时抑制 mTOR 活性, 最终诱导自噬依赖性细胞凋亡; 采用 AMPK 抑制剂 Compound C 或自噬抑制剂 3-MA 干预均可逆转上述抑瘤表型, 证明该分子主要通过 AMPK-ULK1 通路诱导致死性自噬。

2.2.2 紫草素

紫草素属萘醌类化合物。Zhang 等^[35] 在 EC9706 细胞中发现, 其通过激活 AMPK/mTOR/ULK1 通路, 以时间、剂量依赖方式同步诱导自噬与凋亡; 3-MA 阻断自噬可削弱其抗肿瘤效应, AMPK 及 ULK1 磷酸化上调亦随之逆转, 证实该通路为核心作用轴。

2.3 中药活性成分经 ROS 介导的途径调控自噬

2.3.1 DHA

DHA 是青蒿素在体内的主要活性代谢产物, 属倍半萜内酯类化合物。Ma 等^[36] 以 Eca-109 食管癌细胞为研究对象证实, DHA 能够以剂量-时间依赖性方式抑制肿瘤细胞增殖, 同时促进胞内 ROS 生成并进一步激活自噬; 采用 ROS 特异性清除剂 NAC 进行预处理后, DHA 诱导的自噬效应被显著削弱, 表明 ROS 位于自噬激活的上游调控环节。功能层面, DHA 所构建的 ROS-自噬调控轴可介导食管癌细胞发生 G₂/M 周期阻滞。

2.3.2 熊果酸

熊果酸广泛存在于女贞子、迷迭香等多种植物中。Lee 等^[37] 在 TE-8 和 TE-12 食管鳞癌细胞中证实, 熊果酸呈剂量依赖性地诱导自噬体标志物 LC3- II 表达升高及 p62 蛋白降解, 3-MA 阻断自噬

可逆转熊果酸的增殖抑制效应,表明其抗肿瘤效应依赖自噬。机制上,熊果酸呈时间-剂量依赖性地升高胞内ROS水平,ROS生成抑制剂DPI可阻断ROS积累及LC3-II上调,证实熊果酸通过ROS介导的自噬途径抑制食管鳞癌细胞生长。

2.3.3 去氢木香内酯

去氢木香内酯是木香干燥根茎中的特征性倍半萜内酯类化合物。Peng等^[38]在Eca-109、KYSE150细胞及裸鼠移植瘤模型中证实,去氢木香内酯可显著提升胞内ROS水平并诱发线粒体损伤,同时诱导细胞凋亡与自噬;NAC可同时逆转其诱导的凋亡与自噬,证明ROS是该双重效应的上游启动信号,其诱导的凋亡受PI3K/AKT/Bad通路调控。

2.3.4 异槲皮苷

异槲皮苷为广泛分布于多种药用植物的黄酮苷类活性成分。Liu等^[39]通过体外细胞实验及裸鼠移植瘤模型证实,异槲皮苷可抑制食管鳞癌细胞增殖、克隆形成、迁移与侵袭。机制层面,异槲皮苷通过促进胞内ROS蓄积、抑制AKT/mTOR信号通路,触发过度自噬;同时激活半胱天冬氨酸蛋白酶级联反应并下调抗凋亡蛋白Bcl-2表达,协同促进凋亡;并通过调控EMT相关蛋白表达抑制迁移与侵袭。体内实验进一步证实其可有效抑制移植瘤生长,表明异槲皮苷通过ROS-AKT/mTOR-过度自噬轴及凋亡、EMT调控等多重机制发挥抗食管鳞癌作用。

2.4 中药活性成分经自噬体-溶酶体融合调控自噬

2.4.1 人参皂苷Ro

与上述经mTOR途径激活自噬的活性成分不同,人参皂苷Ro可靶向自噬体-溶酶体融合以阻断晚期自噬流,拮抗保护性自噬实现化疗增敏,提示同一药材来源的不同活性成分可产生截然不同的自噬调控模式。Zheng等^[40]在多株食管癌细胞中证实,其可升高溶酶体pH、降低组织蛋白酶活性,阻断自噬体-溶酶体融合,造成LC3-II与p62大量蓄积。机制层面,人参皂苷Ro激活ESR2,上调还原型辅酶II氧化酶亚基NCF1,促进ROS持续生成;采用NAC、DPI、阿朴肉桂素等抑制剂阻断ESR2-NCF1-ROS轴后,LC3-II蓄积与GFP-LC3点状聚集显著缓解,证明ROS蓄积是其阻滞晚期自噬流的上游核心信号。功能研究显示,人参皂苷Ro阻断5-FU诱导的保护性自噬

后,检查点激酶1降解受抑,DNA复制受阻、损伤累积,显著增强5-FU的抗肿瘤效果。进一步采用小干扰RNA (small interfering RNA, siRNA) 沉默*BECN1*、*ATG5*、*ATG7*、*LC3B*,可重现其自噬抑制表型并增强化疗毒性,证实作用于自噬体-溶酶体融合环节是其化疗增敏的关键机制^[40]。

2.4.2 灵芝酸D

灵芝酸D是灵芝中重要的三萜类活性成分,其对食管癌细胞自噬流的调控呈双相特征。Shao等^[41]在EC9706、Eca-109食管鳞癌细胞中发现,灵芝酸D干预早期可适度激活自噬起始信号,而作用后期则显著损伤溶酶体功能、阻碍自噬体-溶酶体融合,造成自噬流不可逆阻滞,最终诱发自噬性细胞死亡,并与胱天蛋白酶依赖性凋亡协同发挥抗肿瘤作用。机制研究表明,灵芝酸D可下调PI3K/AKT/mTOR蛋白磷酸化水平,通过抑制PI3K/AKT/mTOR通路介导上述双相自噬调控及凋亡激活效应。

2.4.3 CMSP

CMSP是木鳖子来源的苯丙素类天然化合物^[42]。Wei等^[42]研究发现CMSP可同时靶向糖酵解关键酶乳酸脱氢酶A (lactate dehydrogenase A, LDHA) 并阻断自噬流,抑制食管鳞癌进展。CMSP通过结合LDHA抑制其活性,阻断糖酵解重编程;同时降低溶酶体酸度,阻滞自噬体-溶酶体融合,造成LC3B-II、p62蓄积,作用于自噬晚期而非抑制自噬起始。该研究结合细胞、肿瘤类器官及裸鼠模型证实其抑瘤作用与体内安全性。作为可干预“糖酵解-自噬”交叉通路的首选分子,相较于羟氯喹,CMSP兼具LDHA明确靶点、双重抑制糖酵解与自噬的独特优势。

3 结语与展望

本文系统梳理近年中药活性成分干预食管癌自噬的相关研究,其可通过mTOR、AMPK、ROS及自噬体-溶酶体融合调控4条途径干预食管癌细胞自噬,从功能结局看可归纳为诱导致死性自噬与拮抗保护性自噬2种核心干预模式,形成多靶点、多层次的干预体系。现有研究仍存在明显不足:多数研究仅静态检测LC3-II与p62蛋白表达水平,未采用自噬流抑制剂干预或透射电镜等标准化手段,难以区分自噬激活与自噬流阻滞;且

实验体系以食管鳞癌细胞系为主, 缺乏食管腺癌模型支撑, 体内药效评价及联合放化疗的转化研究亦不充分。中药活性成分的多靶点特征为自噬靶向药物开发提供了独特来源, 标准化自噬流验证是筛选候选分子的必要前提。未来研究可从 4 个方面深化: ①建立涵盖自噬流抑制剂干预、双荧光示踪及电镜观测的标准化自噬流验证体系; ②拓展食管腺癌细胞系、类器官等模型体系, 结合自噬关键基因敲除/敲低的功能验证; ③深化 ROS 量效关系研究, 明确 ROS 水平与自噬结局(致死性自噬抑或自噬流阻滞)之间的依赖关系; ④推进联合放化疗的自噬增敏临床前评价, 并关注自噬标志物与化疗应答的临床相关性, 同时评估中药活性成分(如靶向融合环节的人参皂苷 Ro、灵芝酸 D, 以及“糖酵解-自噬”双重调控的 CMSP)相较于羟氯喹在靶向选择性与安全性方面的潜在优势, 为药物筛选及临床试验提供依据。

参考文献

- 1 Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229–263. DOI: 10.3322/caac.21834.
- 2 Qi L, Sun M, Liu W, et al. Global esophageal cancer epidemiology in 2022 and predictions for 2050: a comprehensive analysis and projections based on GLOBOCAN data[J]. Chin Med J (Engl), 2024, 137(24): 3108–3116. DOI: 10.1097/CM9.00000000000003420.
- 3 Yang H, Wang F, Hallemeier CL, et al. Oesophageal cancer[J]. Lancet, 2024, 404(10466): 1991–2005. DOI: 10.1016/S0140-6736(24)02226-8.
- 4 Klionsky DJ, Abdel-Aziz AK, Abdelfatah S, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition) [J]. Autophagy, 2021, 17(1): 1–382. DOI: 10.1080/15548627.2020.1797280.
- 5 Zhou S, Sun X, Jin Z, et al. The role of autophagy in initiation, progression, TME modification, diagnosis, and treatment of esophageal cancers[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2022, 175: 103702. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2022.103702.
- 6 Zhang D, Wu J, Wang H, et al. Systematic review and network Meta-analysis comparing Chinese herbal injections with chemotherapy for treating patients with esophageal cancer[J]. J Int Med Res, 2020, 48(1): 300060519898336. DOI: 10.1177/0300060519898336.
- 7 Huang J, Fan T, Rong Y, et al. Efficacy of Aidi injection combined with chemotherapy, radiotherapy or chemoradiotherapy for unresectable esophageal cancer treatment: a Meta-analysis and systematic review of 29 randomized controlled trials based on Asian populations (China)[J]. Eur J Clin Pharmacol, 2023, 79(6): 707–722. DOI: 10.1007/s00228-023-03493-5.
- 8 Zhou W, Huang Z, Wu C, et al. Investigation on the clinical efficacy and mechanism of compound kushen injection in treating esophageal cancer based on multi-dimensional network Meta-analysis and *in vitro* experiment[J]. J Ethnopharmacol, 2021, 279: 114386. DOI: 10.1016/j.jep.2021.114386.
- 9 da Silva MF, Lins AA, Gomes MC, et al. Anticancer drug discovery from natural compounds targeting PI3K/AKT/mTOR signaling pathway[J]. Curr Med Chem, 2025, 32(24): 4859–4887. DOI: 10.2174/0109298673325229240928040758.
- 10 Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018[J]. Cell Death Differ, 2018, 25(3): 486–541. DOI: 10.1038/s41418-017-0012-4.
- 11 Dikic I, Elazar Z. Mechanism and medical implications of mammalian autophagy[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2018, 19(6): 349–364. DOI: 10.1038/s41580-018-0003-4.
- 12 Guo Y, Liu Y, Yang H, et al. Associations of porphyromonas gingivalis infection and low Beclin1 expression with clinicopathological parameters and survival of esophageal squamous cell carcinoma patients[J]. Pathol Oncol Res, 2021, 27: 1609976. DOI: 10.3389/pore.2021.1609976.
- 13 Salehi S, Mottaghi-Dastjerdi N, Shahbazi B, et al. Autophagy-centered gene networks reveal prognostic biomarkers and therapeutic targets in esophageal cancer[J]. Discov Oncol, 2026, 17(1): 1071. DOI: 10.1007/s12672-026-04783-x.
- 14 O'Donovan TR, O'Sullivan GC, McKenna SL. Induction of autophagy by drug-resistant esophageal cancer cells promotes their survival and recovery following treatment with chemotherapeutics[J]. Autophagy, 2011, 7(5): 509–524. DOI: 10.4161/auto.7.5.15066.
- 15 Qiu H, Song H, Luo M, et al. Dysfunction of apoptosis and autophagy correlates with local recurrence in esophageal squamous cell carcinoma after definitive chemoradiation[J]. Cancer Cell Int, 2021, 21(1): 466. DOI: 10.1186/s12935-021-02171-9.
- 16 Saxton RA, Sabatini DM. mTOR Signaling in growth, metabolism, and disease[J]. Cell, 2017, 169(2): 361–371. DOI: 10.1016/j.cell.2017.03.035.
- 17 Kim J, Kundu M, Viollet B, et al. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1[J]. Nat Cell Biol, 2011, 13(2): 132–141. DOI: 10.1038/ncb2152.
- 18 Lin SC, Hardie DG. AMPK: sensing glucose as well as cellular energy status[J]. Cell Metab, 2018, 27(2): 299–313. DOI: 10.1016/j.cmet.2017.10.009.
- 19 Peng Y, Tao Y, Liu L, et al. Crosstalk among reactive oxygen species, autophagy and metabolism in myocardial ischemia and reperfusion stages[J]. Aging Dis, 2024, 15(3): 1075–1107. DOI: 10.14336/AD.2023.0823-4.
- 20 Kwon J, Lee SR, Yang KS, et al. Reversible oxidation and inactivation of the tumor suppressor PTEN in cells stimulated with peptide growth factors[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(47): 16419–16424. DOI: 10.1073/pnas.0407396101.
- 21 Scherz-Shouval R, Shvets E, Fass E, et al. Reactive oxygen species are essential for autophagy and specifically regulate the

- activity of Atg4[J]. EMBO J, 2007, 26(7): 1749–1760. DOI: [10.1038/sj.emboj.7601623](https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601623).
- 22 Nakamura S, Yoshimori T. New insights into autophagosome–lysosome fusion[J]. J Cell Sci, 2017, 130(7): 1209–1216. DOI: [10.1242/jcs.196352](https://doi.org/10.1242/jcs.196352).
 - 23 Zhao YG, Zhang H. Autophagosome maturation: an epic journey from the ER to lysosomes[J]. J Cell Biol, 2019, 218(3): 757–770. DOI: [10.1083/jcb.201810099](https://doi.org/10.1083/jcb.201810099).
 - 24 Itakura E, Kishi-Itakura C, Mizushima N. The hairpin-type tail-anchored SNARE syntaxin 17 targets to autophagosomes for fusion with endosomes/lysosomes[J]. Cell, 2012, 151(6): 1256–1269. DOI: [10.1016/j.cell.2012.11.001](https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.11.001).
 - 25 Saftig P, Beertsen W, Eskelinen EL. LAMP-2: a control step for phagosome and autophagosome maturation[J]. Autophagy, 2008, 4(4): 510–512. DOI: [10.4161/autophagy.5724](https://doi.org/10.4161/autophagy.5724).
 - 26 Jian F, Wang S, Tian W, et al. Deacetylated SNAP47 recruits HOPS to facilitate autophagosome–lysosome fusion independent of STX17[J]. Nat Commun, 2025, 16(1): 543. DOI: [10.1038/s41467-025-55906-x](https://doi.org/10.1038/s41467-025-55906-x).
 - 27 Settembre C, Fraldi A, Medina DL, et al. Signals from the lysosome: a control centre for cellular clearance and energy metabolism[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2013, 14(5): 283–296. DOI: [10.1038/nrm3565](https://doi.org/10.1038/nrm3565).
 - 28 侯敏杰, 林淑璇, 吕洋. 苦参碱对食管癌Eca-109细胞自噬的影响及作用机制[J]. 新乡医学院学报, 2023, 40(10): 901–908. [Hou MJ, Lin SX, Lyu Y. Effects and mechanism of matrine on autophagy in esophageal cancer Eca-109 cells[J]. Journal of Xinxiang Medical University, 2023, 40(10): 901–908.] DOI: [10.7683/xyxyxb.2023.10.001](https://doi.org/10.7683/xyxyxb.2023.10.001).
 - 29 刘丰熙, 李刚, 李秀娟, 等. 苦参碱通过抑制PI3K/Akt/mTOR信号通路诱导食管癌Eca109细胞自噬[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2020, 41(03): 468–472. [Liu FX, Li G, Li XJ, et al. Matrine induces autophagy in esophageal cancer Eca109 cells by inhibiting PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. Journal of Xi'an Jiaotong University (Medical Sciences), 2020, 41(3): 468–472.] DOI: [10.7652/jdyxb202003028](https://doi.org/10.7652/jdyxb202003028).
 - 30 Liu B, Wu P, Li X, et al. Matrine inhibits proliferation and migration of esophageal cancer cells by regulating autophagy via the PI3K/Akt/mTOR pathway[J]. Tohoku J Exp Med, 2025. DOI: [10.1620/tjem.2025.J155](https://doi.org/10.1620/tjem.2025.J155).
 - 31 Liu H, Zhao J, Fu R, et al. The ginsenoside Rk3 exerts anti-esophageal cancer activity *in vitro* and *in vivo* by mediating apoptosis and autophagy through regulation of the PI3K/Akt/mTOR pathway[J]. PLoS One, 2019, 14(5): e0216759. DOI: [10.1371/journal.pone.0216759](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216759).
 - 32 Deng L, Wu X, Zhu X, et al. Combination effect of curcumin with docetaxel on the PI3K/AKT/mTOR pathway to induce autophagy and apoptosis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Am J Transl Res, 2021, 13(1): 57–72. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33527008/>.
 - 33 Tian Y, Zhang J, Yu Y, et al. Multi-components in modified Tongyou decoction targeting Akt/mTOR to modulate esophageal cancer cell autophagy via network pharmacology integrated with experimental verification[J]. Clin Exp Gastroenterol, 2025, 18: 305–325. DOI: [10.2147/CEG.S560771](https://doi.org/10.2147/CEG.S560771).
 - 34 Ju J, Xu N, Li B, et al. Triptonide facilitates autophagy-mediated apoptosis in esophageal squamous cell carcinoma by targeting the AMPK–mTOR–ULK1 axis[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2025, 57(10): 1611–1624. DOI: [10.3724/abbs.2025056](https://doi.org/10.3724/abbs.2025056).
 - 35 Zhang J, Guo J, Gu B, et al. Shikonin induces autophagy and apoptosis in esophageal cancer EC9706 cells by regulating the AMPK/mTOR/ULK axis[J]. Anal Cell Pathol (Amst), 2024, 2024: 7752299. DOI: [10.1155/2024/7752299](https://doi.org/10.1155/2024/7752299).
 - 36 Ma Q, Liao H, Xu L, et al. Autophagy-dependent cell cycle arrest in esophageal cancer cells exposed to dihydroartemisinin[J]. Chin Med, 2020, 15: 37. DOI: [10.1186/s13020-020-00318-w](https://doi.org/10.1186/s13020-020-00318-w).
 - 37 Lee NR, Meng RY, Rah SY, et al. Reactive oxygen species-mediated autophagy by ursolic acid inhibits growth and metastasis of esophageal cancer cells[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(24): 9409. DOI: [10.3390/ijms21249409](https://doi.org/10.3390/ijms21249409).
 - 38 Peng Y, Zhou T, Wang S, et al. Dehydrocostus lactone inhibits the proliferation of esophageal cancer cells *in vivo* and *in vitro* through ROS-mediated apoptosis and autophagy[J]. Food Chem Toxicol, 2022, 170: 113453. DOI: [10.1016/j.fct.2022.113453](https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.113453).
 - 39 Liu Z, Huang K, Huang H, et al. Isoquercitrin suppresses esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) by inducing excessive autophagy and promoting apoptosis via the AKT/mTOR signaling pathway[J]. Antioxidants (Basel), 2025, 14(6): 694. DOI: [10.3390/antiox14060694](https://doi.org/10.3390/antiox14060694).
 - 40 Zheng K, Li Y, Wang S, et al. Inhibition of autophagosome–lysosome fusion by ginsenoside Ro via the ESR2–NCF1–ROS pathway sensitizes esophageal cancer cells to 5-fluorouracil-induced cell death via the CHEK1-mediated DNA damage checkpoint[J]. Autophagy, 2016, 12(9): 1593–1613. DOI: [10.1080/15548627.2016.1192751](https://doi.org/10.1080/15548627.2016.1192751).
 - 41 Shao CS, Zhou XH, Zheng XX, et al. Ganoderic acid D induces synergistic autophagic cell death except for apoptosis in ESCC cells[J]. J Ethnopharmacol, 2020, 262: 113213. DOI: [10.1016/j.jep.2020.113213](https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113213).
 - 42 Wei S, Wang J, Zhang Z, et al. A novel autophagy inhibitor p-hydroxycinnamaldehyde suppresses esophageal squamous cell carcinoma by targeting LDHA phosphorylation-mediated metabolic reprogramming[J]. Research (Wash D C), 2026, 9: 1070. DOI: [10.34133/research.1070](https://doi.org/10.34133/research.1070).

收稿日期: 2026 年 08 月 05 日 修回日期: 2026 年 09 月 16 日
 本文编辑: 周璐敏 洗静怡