Modern Practical Medicine, January 2025, Vol. 37, No. 1

·论　著·

GSDME介导的细胞焦亡对卵巢癌细胞增殖作用研究

王力杰，周史思，林一禾，姚锐

【摘要】**目的**　探讨GSDME介导的细胞焦亡对卵巢癌（OC）细胞增殖能力的影响。**方法**　收集2022年1月至2023年12月在温州市中西医结合医院接受治疗的39例OC患者作为OC组，另选同期在本院体检的43例健康女性作为对照组，采用RT-PCR法检测两组血清中caspase-3、GSDME mRNA表达水平。将人OC细胞株（SKOV3细胞）分为Control组（正常细胞）、NC组（感染空载体慢病毒）、OE-GSDME组（感染GSDME慢病毒）、si-NC+紫杉醇组（转染阴性干扰序列+紫杉醇10 μg/ml）、si-GSDME+紫杉醇组（转染GSDME siRNA干扰序列+紫杉醇10 μg/ml）。采用Western blot法检测GSDME、GSDME-N、白细胞介素（IL）-1β、IL-18蛋白水平，采用酶联免疫法检测乳酸脱氢酶（LDH）、IL-1β、IL-18水平，采用MTT法检测细胞活力水平。**结果**　OC组caspase-3、GSDME mRNA水平低于对照组（均$P<0.05$），OE-GSDME组细胞培养基中LDH、IL-1β、IL-18水平显著高于NC组（均$P<0.05$），细胞IL-18、IL-1β蛋白水平显著高于NC组（均$P<0.05$）；OE-GSDME组增殖能力显著低于NC组（$P<0.05$）；si-GSDME+紫杉醇组增殖能力显著高于si-NC+紫杉醇组（$P<0.05$）。**结论**　GSDME可通过介导细胞焦亡降低OC细胞增殖水平，而抑制GSDME能够降低细胞对紫杉醇敏感性。OC患者血清中caspase-3/GSDME水平降低可能与其肿瘤增殖及化疗敏感性有关。

【关键词】　卵巢肿瘤；癌；GSDME；caspase-3；细胞焦亡
doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2025.01.003
【中图分类号】　R737.31　　【文献标志码】　A　　【文章编号】　1671-0800(2025)01-0010-04

Effect of GSDME-mediated pyroptosis on proliferation of ovarian cancer cells

WANG Lijie, ZHOU Shisi, LIN Yihe, YAO Rui (Wenzhou Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital, Wenzhou 325000, Zhejiang, China)

【**Abstract**】**Objective**　To investigate the effect of GSDME-mediated pyroptosis on the proliferation of ovarian cancer (OC) cells. **Methods**　A total of thirty-six OC patients treated in Wenzhou Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital from January 2022 to December 2023 were included as the OC group, forty-three healthy women who underwent physical examination in our hospital were included as the control group in the same period. RT-PCR were used to detect the expressions of GSDME, caspase-3 mRNA. Human OC cell line (SKOV3 cells) were divided into control group (normal cells), NC group (infected with empty carrier lentivirus), OE-GSDME group (infected with GSDME lentivirus), si-NC+paclitaxel group (infected with negative interference sequences+paclitaxel 10 μg/ml), and si-GSDME+paclitaxel group (infected with GSDME siRNA interference sequences+paclitaxel 10 μg/ml). Western blot assay were used to detect the protein expressions of GSDME, GSDME-N, interleukin-1β(IL-1β) and IL-18. Enzyme-linked immunoassay were used to detect the expressions of lactate dehydrogenase (LDH), IL-1β and IL-18. MTT assay was used to detect the cell viability. **Results**　The expressions of caspase-3, GSDME mRNA in OC group were lower than those of control group (all $P<0.05$). The levels of LDH, IL-1β and IL-18 in cell medium of OE-GSDME group were higher than those of NC group, while the protein expressions of IL-18, IL-1β were higher than those of NC group (all $P<0.05$). The cell viability of OE-GSDME group was lower than NC group, while si-GSDME+paclitaxel group was higher than si-NC+paclitaxel group($P<0.05$). **Conclusions**　GSDME can reduce the proliferation of OC cells by mediating pyrodeath, inhibition of GSDME can reduce the sensitivity of cells to paclitaxel. The decrease of serum caspase-3/GSDME level in

基金项目：　温州市科技计划项目（Y20240613）
作者单位：　325000 浙江省温州，温州市中西医结合医院
通信作者：　王力杰，Email：Wlj195509162@163.com

OC patients may be related to tumor proliferation and chemotherapy sensitivity.

【Key words】 Ovarian neoplasm; Carcinoma GSDME; Caspase-3; Pyroptosis

[Modern Practical Medicine,2025,37(1):10-13]

卵巢癌（ovarian cancer，OC）位居女性生殖道肿瘤死亡率的首位，严重威胁女性身体健康[1]，其中上皮性卵巢癌（epithelial ovarian cancer，EOC）占 90%。由于难以早期诊断，故 70%患者发现已为晚期。手术和术后以紫杉醇和铂类化疗是晚期 OC 的标准治疗模式；但由于对铂类化疗药的耐药，70%晚期 OC 患者于 2 年后复发，5 年病死率达 70%[2]。因此，积极探索与 OC 发生、发展、化疗耐药和预后密切相关的分子机制具有重要意义。

细胞焦亡（pyroptosis）是一种与炎症和先天免疫密切相关的新型细胞死亡模式，其主要过程为 caspase 将 Gasdermin 家族蛋白水解后释放 N 端，继而在细胞膜打孔导致细胞死亡[3]。GSDME 是 Gasdermin 家族中的重要成员，具有将 caspase-3 介导的细胞凋亡转化为癌细胞焦亡，并激活抗肿瘤免疫的作用[4]。然而，目前关于 caspase-3/GSDME 在 OC 中的表达水平及其作用的研究较少。本研究旨在探究 OC 患者血清 caspase-3、GSDME 表达水平，并进一步分析 GSDME 在 OC 增殖中的作用，现报道如下。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　血清样本　收集 2022 年 1 月至 2023 年 12 月在温州市中西医结合医院接受治疗的 39 例 OC 患者为研究对象，年龄 27 ～ 77 岁，平均（56.9±13.5）岁。纳入标准：（1）病理学诊断为 EOC，（3）初次诊断或首次治疗方式为早期全面分期手术或肿瘤细胞减灭术，（3）术后接受以铂类为基础的规范化疗。排除标准：（1）有其他恶性肿瘤史者，（2）卵巢转移癌者。另招募同期在本院体检的 43 例健康女性作为对照组，年龄 28 ～ 75 岁，平均（59.3±12.2）岁。本研究获得温州市中西医结合医院伦理委员会批准（伦理批号：2024-K031），所有研究对象均同意参加本研究并签署书面知情同意书。

1.1.2　细胞与试剂　人卵巢癌细胞株 SKOV3 细胞购自美国 ATCC 中心；DMEM 培养基、青霉素-链霉素（双抗）购自美国 Gibco 公司；二抗购自碧云天生物科技有限公司；GSDME 载体慢病毒液、空载体慢病毒液、GSDME siRNA 干扰序列、阴性干扰序列购自上海生工生物公司；Lipofectamine3000 购自美国 Invitrogen 公司；RT-PCR 试剂盒购自 Takara 公司；β-actin、GSDME-N、GSDME、IL-1β、IL-18 抗体购自英国 abcam 公司；BCA 试剂盒购自赛默飞世尔科技（中国）有限公司。

1.2　方法

1.2.1　细胞培养　用含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基重悬细胞，调整细胞浓度，按 1×10^5 个/孔接种于培养板中，并置于 37 ℃、5%CO_2 培养箱中培养。

1.2.2　慢病毒感染　将培养后的 SKOV3 细胞分为 Control 组（SKOV3 细胞），NC 组（感染空载体慢病毒的 SKOV3 细胞），OE-GSDME 组（感染 GSDME 载体慢病毒的 SKOV3 细胞）。转染前 24 h，弃旧培养基，消化细胞，离心、弃上清，用适量细胞培养液重悬细胞，细胞计数按 2×10^5 个/孔的密度加入六孔板中。培养 24 h 后，OE-GSDME 组每孔加入 20 μl GSDME 载体慢病毒液；NC 组加入 20 μl 空载体慢病毒液；12 ～ 16 h 后更换新鲜培养基继续培养；72 h 后通过 Western blot 检测感染率。

1.2.3　siRNA 转染及紫杉醇处理　将 SKOV3 细胞分为 si-NC+紫杉醇组（转染阴性干扰序列+紫杉醇 10 μg/ml 的 SKOV3 细胞）和 si-GSDME+紫杉醇组（转染 GSDME siRNA 干扰序列+紫杉醇 10 μg/ml 的 SKOV3 细胞）。在 SKOV3 细胞密度约 50%时进行无血清同步化；处理 24 h 后，按照转染试剂盒操作说明书进行阴性干扰序列或 GSDME siRNA 干扰序列转染，将转染后的细胞培养板放置于培养箱内继续培养；24 h 后更换正常培养基，并加入 10 μg/ml 紫杉醇溶液，继续培养 12、24、48、72 h，采用 MTT 法检测细胞活力。

1.2.4　RT-PCR 检测血清 caspase-3、GSDME mRNA 水平　提取总 RNA，根据逆转录试剂盒，将 RNA 逆转录成 cDNA；以反转录合成 cDNA 为模板进行 PCR，将反应产物进行电泳显影，使用 Image J 进行灰度分析。引物见表 1。

1.2.5　酶联免疫法（ELISA）检测乳酸脱氢酶（LDH）、

Modern Practical Medicine, January 2025, Vol. 37, No. 1

白介素（IL）-1β、IL-18 释放水平　取各组细胞培养上清，采用 ELISA 检测 LDH、IL-1β、IL-18 水平。参考 ELISA 检测试剂盒说明书进行操作，在 450 nm 处检测各组细胞吸光值，计算含量。

1.2.6　Western blot 法检测 GSDME、GSDME-N、IL-1β、IL-18 蛋白水平　弃培养基，PBS 润洗 3 次，加入 RIPA 裂解液，裂解细胞；离心后，通过 BCA 试剂盒进行蛋白含量测定。将膜置于 4 ℃环境中，分别加β-actin、GSDME、GSDME-N、IL-1β、IL-18 一抗孵育 12 h，二抗在室温下孵育 1 h，洗脱二抗后滴加发光液显影。以 β-actin 为内参，采用 Image J 进行灰度分析，计算目的蛋白的相对表达量。

1.2.7　MTT 法检测细胞活力　各组细胞分别于处理 12、24、48、72 h 加入 MTT 试剂孵育 4 h，去除细胞培养液上清，每孔加入 150 μl 二甲基亚砜，混匀，酶标仪检测 490 nm 处的吸光度（A），以 A 值表示细胞增殖能力。每组设置 3 个平行孔，重复 3 次，取平均值。

1.3　统计方法　采用 SPSS 22.0 统计软件进行统计学处理，计量数据以均数±标准差表示，两组间比较采用 t 检验，多组间比较采用单因素方差分析。$P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　OC 患者血清 caspase-3、GSDME mRNA 水平　与对照组相比，OC 组血清中 caspase-3、GSDME mRNA 水平显著降低（均 $P < 0.05$），见图 1。

2.2　表达 GSDME 验证　OE-GSDME 组细胞内 GSDME、GSDME-N 水平显著升高（均 $P < 0.05$），证明感染有效，可用于后续实验，见封三图 1。

2.3　GSDME 对 SKOV3 细胞 LDH 释放水平的影响　与 NC 组相比，OE-GSDME 组 LDH 水平显著升高（$P < 0.05$），见封三图 2。

2.4　GSDME 对 SKOV3 细胞上清中 IL-1β、IL-18 含量的影响　与 NC 组相比，OE-GSDME 组细胞上清中焦亡相关因子 IL-1β、IL-18 水平显著升高（均 $P < 0.05$），见图 2。

2.5　GSDME 对 SKOV3 细胞中 IL-1β、IL-18 蛋白水平的影响　与 NC 组相比，OE-GSDME 组细胞 IL-1β、IL-18 的水平显著升高（均 $P < 0.05$），见封三图 3。

2.6　GSDME 对 SKOV3 细胞增殖能力的影响　与 NC 组相比，OE-GSDME 组 72 h 细胞增殖能力显著下降（$P < 0.05$）；与 si-NC+紫杉醇组相比，si-GSDME+紫杉醇组细胞增殖能力显著升高（$P < 0.05$），见封三图 4。

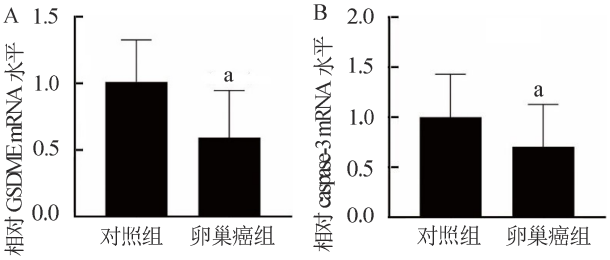
表 1　RT-PCR 引物序列

引物名称	引物序列（5'→3'）
GSDME	上游引物：CGTAGAGAGCCAGTCTTCATTT
	下游引物：GTTCCAGGACCATGAGTAGTTC
β-actin	上游引物：AGCTGAGCAAGATTCAGACCCTCA
	下游引物：CTGCAGCTTGCCATCTTGGCTGAT
caspase-3	上游引物：AAGCCGAAACTCTTCATC
	下游引物：TGAGCATTGACACAATACAC

3　讨论

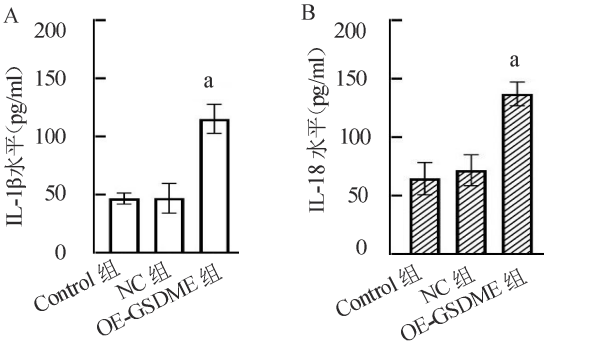
Gasdermin 家族是介导细胞焦亡的重要蛋白，当 Gasdermin 家族蛋白成孔结构域被激活时，细胞膜上就会形成气孔，从而诱导细胞死亡[4-5]。GSDME 是近年来在肿瘤细胞焦亡研究中应用最为广泛的一种，多数研究认为 GSDME 是一种潜在的肿瘤抑制因子，GSDME 水平作为肿瘤早期诊断、治疗和预后预测的生物标志物具有巨大的应用潜力[6-8]。

研究发现，GSDME 蛋白在正常卵巢组织、良性上皮性卵巢肿瘤、交界性上皮性卵巢肿瘤和 EOC 中的表达依次下降，且与 OC 患者年龄、分化程度、



注：A 为两组 GSDME mRNA 表达水平比较，B 为两组 caspase-3 mRNA 表达水平比较。与对照组相比，a$P < 0.05$

图 1　卵巢癌组与对照组血清 GSDME、caspase-3 mRNA 表达水平比较



注：A 为 3 组 IL-1β水平比较，B 为 3 组 IL-18 水平比较。与 NC 组相比，a$P < 0.05$

图 2　GSDME 对 SKOV3 细胞上清中 IL-1β、IL-18 释放水平的影响

FIGO 分期、淋巴结转移有关[9-10]。此外，研究发现多个化合物通过激活 caspase-3/GSDME 诱发 OC 细胞焦亡[11-13]。因此，明确 GSDME 对 OC 细胞增殖及紫杉醇敏感性的作用对于明确 GSDME 在 OC 诊断、治疗及预后中的作用具有重要意义。

本研究发现，OC 患者血清中 caspase-3、GSDME mRNA 水平显著低于对照组。为明确 GSDME 对 OC 细胞的作用，本研究采用慢病毒感染方式提高 SKOV3 细胞中 GSDME 水平，进一步探讨 GSDME 对 SKOV3 细胞增殖及紫杉醇敏感性的影响。

GSDME-N 是诱导细胞焦亡的有效结构域，能够在细胞膜上形成孔，引发细胞肿胀和破裂，诱发了 LDH、IL-1β、IL-18 释放[14]。本研究采用 Western blot 法检测 SKOV3 细胞中 IL-1β、IL-18 蛋白水平，同时采用 ELISA 法检测细胞培养基中 LDH、IL-1β、IL-18 水平。结果显示 OE-GSDME 组细胞中 IL-1β、IL-18 蛋白水平显著高于 NC 组，且培养基中 LDH、IL-1β、IL-18 含量均高于 NC 组。这表明 GSDME 能够促进 IL-1β、IL-18 合成，诱发细胞释放 LDH、IL-1β、IL-18，引起细胞焦亡。细胞活力检测结果显示 OE-GSDME 组细胞增值能力显著低于 NC 组，这表明 GSDME 能够降低 SKOV3 细胞增值能力。

研究表明紫杉醇、顺铂等化疗药物的抗癌作用与提高 GSDME 介导的细胞焦亡密切相关[15-17]。为探究 GSDME 是否参与紫杉醇抑制 SKOV3 细胞增殖作用，本研究采用转染 GSDME siRNA 干扰序列，降低 SKOV3 细胞中 GSDME 水平，检测其对紫杉醇的抑癌作用的影响。结果表明干扰 GSDME 后能够减轻紫杉醇对 SKOV3 细胞增值能力的抑制作用。

综上所述，在 SKOV3 细胞中，GSDME 可介导细胞焦亡降低细胞增殖能力，而抑制 GSDME 能够降低 SKOV3 细胞对紫杉醇敏感性。OC 患者血清中 caspase-3/GSDME 水平降低可能与其肿瘤增殖及化疗敏感性有关。

利益冲突　所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明　王力杰：临床试验、数据整理、论文撰写；周史思：样本收集、科研设计、统计学分析；林一禾：细胞实验、样本收集；姚锐：数据整理、联络工作

参　考　文　献

[1] PULLEN R L Jr. Ovarian cancer[J]. Nursing, 2024, 54(6): 17-28.

[2] TORRE L A, TRABERT B, DESANTIS C E, et al. Ovarian cancer statistics, 2018[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(4): 284-296.

[3] NEWTON K, STRASSER A, KAYAGAKI N, et al. Cell death[J]. Cell, 2024, 187(2): 235-256.

[4] JIANG M X, QI L, LI L S, et al. The caspase-3/GSDME signal pathway as a switch between apoptosis and pyroptosis in cancer[J]. Cell Death Discov, 2020, 6: 112.

[5] WANG Y P, GAO W Q, SHI X Y, et al. Chemotherapy drugs induce pyroptosis through caspase-3 cleavage of a gasdermin[J]. Nature, 2017, 547(7661): 99-103.

[6] ZHANG C C, LI C G, WANG Y F, et al. Chemotherapeutic paclitaxel and cisplatin differentially induce pyroptosis in A549 lung cancer cells via caspase-3/GSDME activation[J]. Apoptosis, 2019, 24(3/4): 312-325.

[7] DE SCHUTTER E, CROES L, IBRAHIM J, et al. GSDME and its role in cancer: From behind the scenes to the front of the stage[J]. Int J Cancer, 2021, 148(12): 2872-2883.

[8] WANG S, ZHANG M J, WU Z Z, et al. GSDME is related to prognosis and response to chemotherapy in oral cancer[J]. J Dent Res, 2022, 101(7): 848-858.

[9] 马梅杰. GSDME 在上皮性卵巢癌中的表达及其与化疗耐药和预后的相关性研究[D].太原:山西医科大学, 2023.

[10] 陈猛猛,陈俊宇,高燕,等.膜穿孔蛋白 E 在上皮性卵巢癌组织中的表达水平及其临床意义[J].吉林大学学报(医学版),2023,49(2):440-451.

[11] HUO J T, SHEN Y H, ZHANG Y C, et al. BI 2536 induces gasdermin E-dependent pyroptosis in ovarian cancer[J]. Front Oncol, 2022, 12: 963928.

[12] KOBAYASHI T, MITSUHASHI A, PIAO H Y, et al. Bexarotene-induced cell death in ovarian cancer cells through Caspase-4-gasdermin E mediated pyroptosis[J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 11123.

[13] YANG C, WANG Z Q, ZHANG Z C, et al. CBL0137 activates ROS/BAX signaling to promote caspase-3/GSDME-dependent pyroptosis in ovarian cancer cells[J]. Biomedecine Pharmacother, 2023, 161: 114529.

[14] LI Y S, YUAN Y, HUANG Z X, et al. GSDME-mediated pyroptosis promotes inflammation and fibrosis in obstructive nephropathy[J]. Cell Death Differ, 2021, 28(8): 2333-2350.

[15] LI S M, YUE M, XU H Y, et al. Chemotherapeutic drugs-induced pyroptosis mediated by gasdermin E promotes the progression and chemoresistance of pancreatic cancer[J]. Cancer Lett, 2023, 564: 216206.

[16] SHEN X J, WANG H B, WENG C H, et al. Caspase 3/GSDME-dependent pyroptosis contributes to chemotherapy drug-induced nephrotoxicity[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(2): 186.

[17] ZHOU Y, ZHANG W Y, WANG B D, et al. Mitochondria-targeted photodynamic therapy triggers GSDME-mediated pyroptosis and sensitizes anti-PD-1 therapy in colorectal cancer[J]. J Immunother Cancer, 2024, 12(3): e008054.

收稿日期：2024-08-20

（本文编辑：孙海儿）