

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.10.001

View this article at: https://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2022.10.001

· 论著 ·

全缘马尾藻褐藻多酚激活 Nrf2-ARE 通路抑制 NNK 诱导的肺癌生长

王永存¹, 胡文铎², 林燕明¹, 林炯¹, 李海文¹, 蔡静怡¹, 曹金鑫¹, 李姝君¹

(1. 广东医科大学附属肿瘤医院肺部肿瘤专科, 广东 湛江 524001; 2. 广东医科大学附属肿瘤医院病理
诊断与研究中心, 广东 湛江 524001)

[摘要] 目的: 探讨全缘马尾藻褐藻多酚(*Sargassum integerrimum* phlorotannins, SIPT)抑制烟草致癌物4-(甲基亚硝胺基)-1-(3-吡啶基)-1-丁酮[4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, NNK]诱导的肺癌生长及作用机制。方法: 采用NNK诱导A/J小鼠肺癌模型评价SIPT体内对肺癌生长的影响; 检测小鼠血清中的MDA、SOD和GSH水平, 评价SIPT对A/J小鼠氧化应激水平的影响; 采用MTT和平板克隆形成法检测SIPT对NNK促进肺癌细胞A549和NCI-H460增殖的影响; Annexin V-FITC法检测SIPT对NNK抑制肺癌细胞凋亡的影响; 蛋白质印迹法检测SIPT对细胞中Nrf2-ARE信号通路相关蛋白质表达的影响。结果: 经SIPT灌胃8周, SIPT各组小鼠肺部肿瘤数明显少于NNK组($P < 0.01$); SIPT各组小鼠血清中MDA水平低于NNK组($P < 0.01$), SOD和GSH活性均明显高于NNK组(均 $P < 0.01$)。SIPT能抑制NNK促进肺癌细胞增殖的作用($P < 0.01$), 并能显著诱导细胞凋亡($P < 0.01$)。经SIPT处理24 h后, 细胞内的Nrf2、NQO1、HO-1和GCLC表达水平相较于NNK组均显著升高(均 $P < 0.01$)。结论: SIPT能有效抑制NNK诱导的肺癌生长, 并能诱导肺癌细胞凋亡, 其作用机制与激活Nrf2-ARE信号通路有关。

[关键词] 全缘马尾藻褐藻多酚; Nrf2-ARE通路; NNK; 肺癌

Sargassum integerrimum phlorotannins activates Nrf2-ARE pathway to inhibit NNK-induced lung cancer growth

WANG Yongcun¹, HU Wenhua², LIN Yanming¹, LIN Jiong¹, LI Haiwen¹, CAI Jingyi¹, CAO Jinxin¹, LI Shujun¹

(1. Department of Pulmonary Oncology, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang Guangdong 524001;
2. Pathology Diagnosis and Research Center, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang Guangdong 524001, China)

Abstract **Objective:** To investigate the effect and mechanism of *Sargassum integerrimum* phlorotannins (SIPT) on inhibiting the growth of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK)-induced lung cancer. **Methods:** NNK-induced A/J mouse lung cancer model was used to evaluate the effect of SIPT on the growth of lung cancer in

收稿日期 (Date of reception): 2022-05-28

通信作者 (Corresponding author): 李姝君, Email: 6115133@qq.com

基金项目 (Foundation item): 湛江市科技攻关计划项目 (2020B01159)。This work was supported by the Zhanjiang Science and Technology Project, China (2020B01159).

vivo; the levels of MDA, SOD, and GSH in the serum of mice were detected, and the effect of SIPT on A/J was evaluated; MTT and plate colony formation assay were used to detect the effect of SIPT on NNK-promoted the proliferation of lung cancer cell A549 and NCI-H460; Annexin V-FITC assay was used to detect SIPT on NNK inhibition of lung cancer cell apoptosis; Western blotting method was used to detect the effect of SIPT on the expression of Nrf2-ARE signaling pathway-related proteins in cells. **Results:** After 8 weeks of intragastric administration of SIPT, the number of lung tumors of mice in the SIPT groups was significantly less than that in the NNK group ($P<0.01$); the level of MDA in the serum of the mice in the SIPT groups was lower than that in the NNK group ($P<0.01$), the activities of SOD and GSH were significantly higher than those of the NNK group (both $P<0.01$). SIPT inhibited the effect of NNK on the proliferation of lung cancer cells ($P<0.01$) and significantly induced apoptosis ($P<0.01$). The expression levels of Nrf2, NQO1, HO-1, and GCLC in cells were significantly increased compared with those in the NNK group after 24 h of treatment with SIPT (all $P<0.01$). **Conclusion:** SIPT can effectively inhibit NNK-induced lung cancer growth and induce lung cancer cell apoptosis, and its mechanism is related to the activation of Nrf2-ARE signaling pathway.

Keywords *Sargassum integerrimum* phlorotannins; Nrf2-ARE pathway; NNK; lung cancer

肺癌是世界范围内发病率和病死率最高的恶性肿瘤^[1]。虽然近年来分子靶向治疗、免疫治疗及联合治疗等取得了长足的发展,但其5年生存率仍低于15%^[2]。与发达国家相比,我国肺癌发病率近年来呈上升趋势^[3],这给社会医疗保障体系和患者家庭带来巨大的经济负担。除遗传因素外,外界因素如吸烟、空气污染等都是诱导肺癌发生的重要致病因素。如何有效预防和治疗由吸烟引起的肺癌成为该领域的研究热点。

褐藻多酚(phlorotannins, PTs)是主要存在于褐藻中的酚类化合物,近年来被证实具有抗氧化、细胞保护、抑制肿瘤细胞增殖、抗凝血及降血脂等生物学效应^[4]。来源于南海的全缘马尾藻褐藻多酚(*Sargassum integerrimum* phlorotannins, SIPT)被证实具有抗氧化和抗肿瘤细胞增殖的作用^[5],并且能清除体内的亚硝酸盐与阻断亚硝胺合成^[6],而氧化应激的发生可能是导致肺癌发生的原因之一^[7],故猜想SIPT可能也能用于预防和由吸烟或空气污染引发的肺癌。本文探讨SIPT对香烟中的致癌物4-(甲基亚硝胺基)-1-(3-吡啶基)-1-丁酮[4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, NNK]所诱导的肺癌生长的抑制作用及作用机制。

1 材料与方法

1.1 SIPT 的提取

参照文献[8]进行提取。全缘马尾藻采集于湛江硇洲岛海岸,由广东海洋大学谢恩义教授鉴定。将全缘马尾藻粉碎,用70%乙醇冷浸提取,每

隔4 h搅拌,真空浓缩提取液得全缘马尾藻70%乙醇粗提物,并测定其多酚含量。

1.2 细胞来源

人肺泡腺癌基底上皮细胞(A549细胞)、人非小细胞肺癌细胞(NCI-H460细胞)由广东医科大学刘义研究员提供^[9]。

1.3 主要试剂

胎牛血清、高糖培养基DMEM购于美国Gibco公司; RAPI、BCA试剂盒、MTT、Annexin V-FITC试剂盒、转模液、电泳液、SDS聚丙烯酰胺预制凝胶、增强化学发光液购于上海碧云天生物技术有限公司; Nrf2抗体(12721S)购于美国CST公司; NQO1抗体(sc-32793)、HO-1抗体(sc-136960)、GCLC抗体(sc-390811)、 β -actin抗体(sc-47778)、mouse anti-rabbit IgG-HRP(sc-2357)、m-IgG κ BP-HRP(sc-516102)购于美国Santa Cruz公司。

1.4 SIPT 对 NNK 诱导的 A/J 小鼠肺癌生长的影响

50只8~10周龄、20~22 g雌性A/J小鼠,随机分为对照组、NNK组、SIPT低浓度组(SIPT-L)、SIPT中浓度组(SIPT-M)与SIPT高浓度组(SIPT-H)。除对照组外,其余组小鼠于实验开始时一次性腹腔注射100 mg/kg NNK;对照组腹腔注射等体积的生理盐水。第28周,SIPT各组小鼠给予不同浓度的SIPT(100、300、500 mg/kg)灌胃,灌胃5 d后停止2 d,对照组和NNK组给予与SIPT各组等体积的生理盐水。连续灌胃8周后,眼眶取

血, 拉颈处死小鼠, 取出肺组织样本。观察肺组织表面, 计算肿瘤数量, HE染色观察肺组织形态学, 免疫组织化学检测Ki-67表达。采用ImageJ软件进行结果分析。所有动物实验均严格按照广东医科大学动物实验伦理委员会批准的原则和程序进行(审批号: GDY2102140)。

1.5 SIPT 对 NNK 诱导的 A/J 小鼠氧化应激水平的影响

上述A/J小鼠眼眶取血后分离血清, 按照碧云天公司生产的试剂盒进行SOD、MDA、GSH含量检测。采用Graph Pad Prism 6.0软件进行结果分析。

1.6 MTT 法检测 SIPT 对 NNK 促进肺癌细胞生长的影响

肺癌细胞A549和NCI-H460培养于含有10% FBS和1%双抗的DMEM培养基中。取对数生长期细胞, 以5 000个/孔接种于96孔板中。培养过夜后, 加入含有NNK(10 $\mu\text{mol/L}$)和不同浓度的SIPT(1、2、3、4、5 $\mu\text{g/mL}$)新培养基。继续培养48 h后, 加入含有5 mg/mL MTT的新培养基。4 h后, 吸出培养基, 每孔加入150 μL DMSO溶液, 在摇床上震荡10 min, 于570 nm波长处检测各孔的吸光值, 以光密度(optical density, OD)值计算细胞增殖抑制率, 具体公式为: (实验孔OD值-空白孔OD值)/(对照孔OD值-空白孔OD值) \times 100%。每组6个复孔, 实验重复3次。采用ImageJ软件进行结果分析。

1.7 平板克隆形成法检测 SIPT 对 NNK 促进肺癌细胞生长的影响

取对数生长期的A549和NCI-H460细胞, 以500个/孔接种于6孔板中。培养过夜后, 加入含有NNK(10 $\mu\text{mol/L}$)和不同浓度的SIPT(2、3、4 $\mu\text{g/mL}$)新培养基, 继续培养2周, 期间每3天更换1次上述培养基。待可见单个细胞长成团状克隆后, 吸弃培养基, 用PBS润洗2次, 加500 μL 4%多聚甲醛溶液固定15 min后。PBS润洗2次, 每孔再加入500 μL 0.5%结晶紫溶液染色15 min。PBS润洗多次后, 晾干拍照, 克隆细胞团计数, 计算克隆形成率。克隆形成率=(克隆数/接种细胞数) \times 100%。采用ImageJ软件进行结果分析。上述实验重复3次。

1.8 Annexin V-FITC 法检测 SIPT 对 NNK 抑制肺癌细胞凋亡的影响

取对数生长期的A549和NCI-H460细胞, 以

50 000个/孔接种于6孔板中。培养过夜后, 加入含有NNK(10 $\mu\text{mol/L}$)和不同浓度的SIPT(2、3、4 $\mu\text{g/mL}$)新培养基, 继续培养24 h。PBS润洗1次后, 将细胞消化后转移至1.5 mL EP管中, 离心弃上清。PBS润洗细胞2次。向细胞沉淀中加入195 μL /管Annexin V-FITC结合液, 细胞重悬混匀后加入5 μL /管Annexin V-FITC, 继续轻轻混匀细胞悬液后加入10 μL /管碘化丙啶(propidium iodide, PI)染色液。室温下避光孵育20 min后, 使用流式细胞仪检测。采用FLOWJO软件对结果进行分析。上述实验重复3次。

1.9 蛋白质印迹法检测细胞中 Nrf2-ARE 信号通路相关蛋白质的表达

取对数生长期的A549和NCI-H460细胞, 以50 000个/孔接种于6孔板中。培养过夜后, 加入含有NNK(10 $\mu\text{mol/L}$)和不同浓度的SIPT(2、3、4 $\mu\text{g/mL}$)新培养基, 继续培养24 h。PBS润洗1次后, 将细胞刮下。离心后加入100 μL RAPI, 混匀后于冰上裂解30 min。冷冻离心机4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下12 000 r/min高速离心10 min, 吸取上清液, 采用BCA法对蛋白质进行定量。根据目的蛋白分子大小制备不同浓度SDS聚丙烯酰胺凝胶, 将准备好的样品上样; 先80 V电泳30 min, 后110 V电泳90 min; 电泳结束后在4 $^{\circ}\text{C}$ 、250 mA恒流条件下电转90 min将蛋白转移到PVDF膜上, 用含5%脱脂牛奶的TBST溶液37 $^{\circ}\text{C}$ 封闭PVDF 1 h, 加一抗4 $^{\circ}\text{C}$ 振荡过夜。TBST洗膜3次后, 加二抗37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育PVDF 2 h, TBST再次洗膜3次后显影成像, 特异性条带净灰度值由ImageJ软件处理获取。

1.10 统计学处理

采用SPSS 19.0统计学软件进行数据分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。两组间比较使用*t*检验; 多组间比较使用单因素方差分析检验。使用GraphPad Prism 6.0进行图形绘制。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SIPT 抑制由 NNK 诱导的 A/J 小鼠肺癌生长

在一次性腹腔注射100 mg/kg NNK 36周后, 模型组小鼠肺癌表面出现大量的肿瘤, 而SIPT各组小鼠肺部肿瘤数明显减少($P<0.01$, 图1A), 小鼠肺组织经HE染色后, 也得到相似的结果(图1B), 说明SIPT能抑制由NNK诱导的A/J小鼠肺癌生长。

免疫组织化学结果显示：相较于对照组，NNK组小鼠肺组织中Ki-67表达显著增加($P<0.01$ ，图1C、1D)，SIPT各组小鼠肺组织中Ki-67表达降低($P<0.01$ ，图1C、1D)。

2.2 SIPT 减轻由 NNK 导致的 A/J 小鼠氧化应激

A/J小鼠经NNK造模后，与对照组相比，NNK组小鼠血清中MDA水平升高($P<0.01$ ，图2A)，SOD和GSH活性均降低(均 $P<0.01$ ，图2B、2C)；相较于NNK组，SIPT各组小鼠血清中MDA水平出现下降($P<0.01$ ，图2A)，SOD和GSH活性均增强

(均 $P<0.01$ ，图2B、2C)，且SIPT对抗NNK所导致的小鼠氧化应激效果与SIPT浓度呈正相关。

2.3 SIPT 抑制 NNK 对肺癌细胞生长的促进作用

MTT实验结果显示：NNK能促进非小细胞肺癌细胞A549和NCI-H460的增殖($P<0.01$)，但在细胞培养液中加入SIPT后，由NNK诱导的A549和NCI-H460细胞增殖均被显著抑制(均 $P<0.01$ ，图3A)。SIPT抑制由NNK诱导的非小细胞肺癌增殖存在剂量依赖性。在克隆形成实验中也得与MTT实验类似的结果(图3B)。

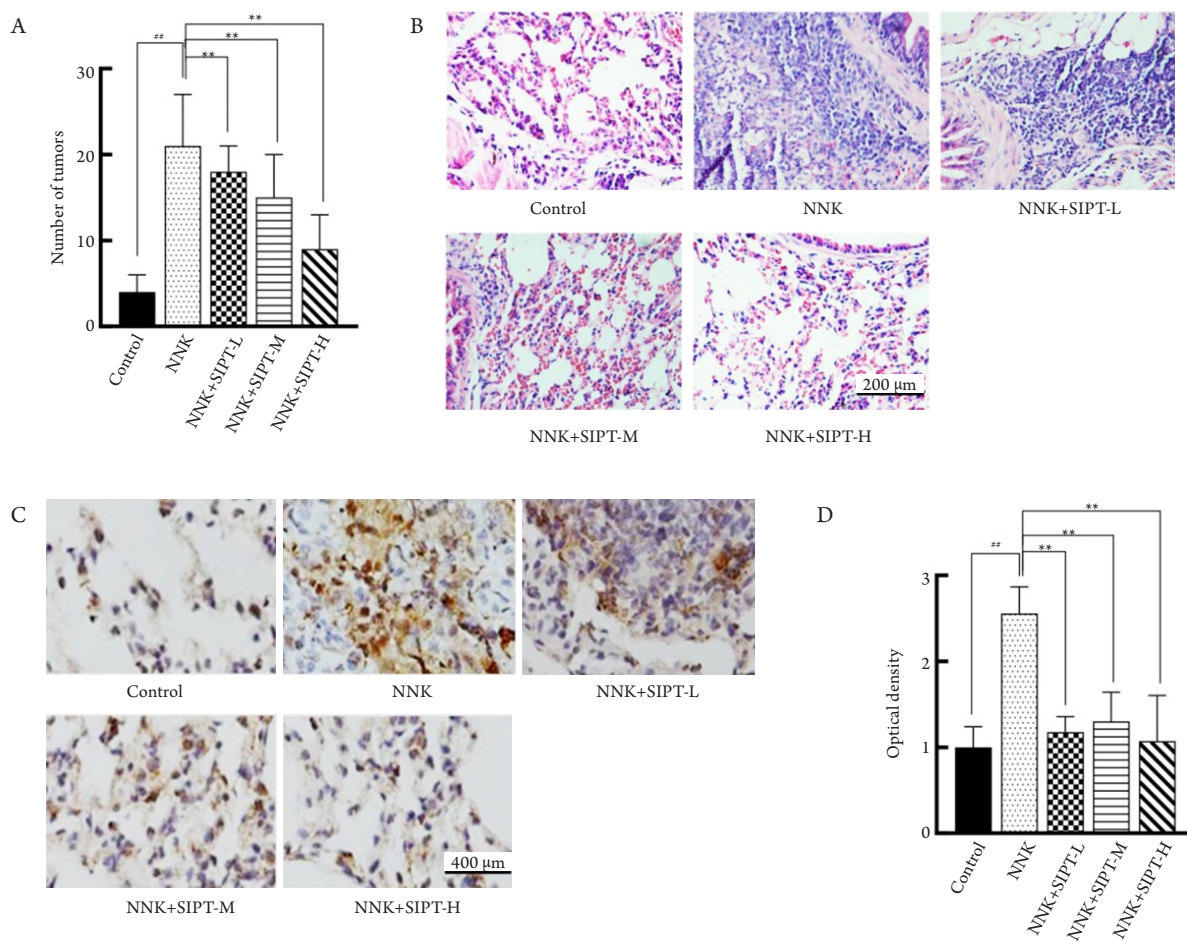


图1 全缘马尾藻褐藻多酚抑制由NNK诱导的A/J小鼠肺癌生长

Figure 1 SIPT inhibits the growth of lung cancer in A/J mice induced by NNK

(A)全缘马尾藻褐藻多酚对A/J小鼠肺癌形成数量的影响；(B)A/J小鼠肺部HE染色；(C、D)IHC染色检测A/J小鼠肺中Ki-67的表达。与NNK组相比，** $P<0.01$ ；与对照组相比，** $P<0.01$ 。

(A) Effects of SIPT on the number of lung cancer in A/J mice; (B) HE staining of lung tissue of A/J mice; (C, D) The expression of Ki-67 in the lungs of A/J mice by IHC staining. Compared with the NNK group, ** $P<0.01$; compared with the control group, ** $P<0.01$.

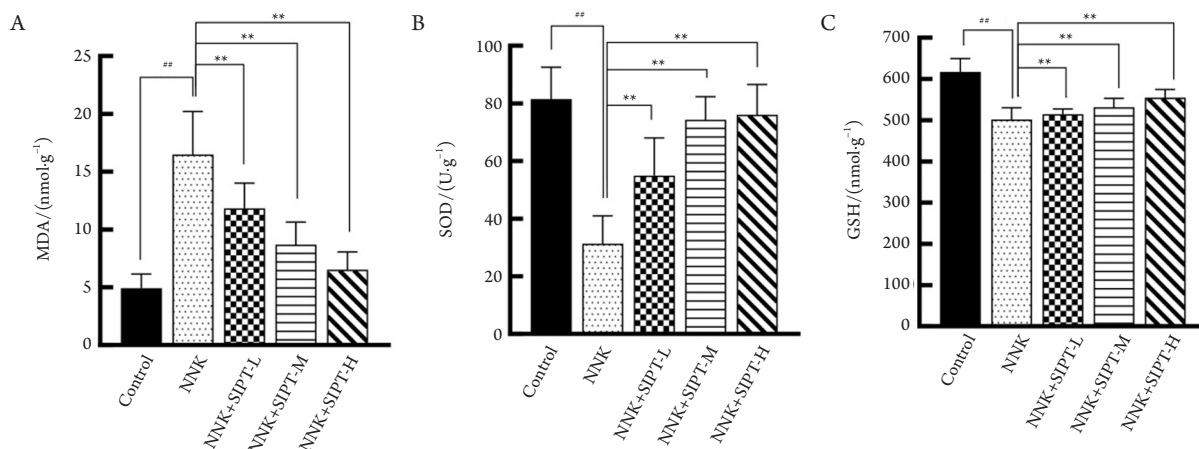


图2 全缘马尾藻褐藻多酚减轻由NNK导致的A/J小鼠氧化应激

Figure 2 SIPT alleviates oxidative stress induced by NNK in A/J mice

(A)A/J小鼠血清中MDA含量；(B)A/J小鼠血清中SOD活性；(C)A/J小鼠血清中GSH含量。与NNK组相比，** $P < 0.01$ ；与对照组相比，** $P < 0.01$ 。

(A) The level of MDA in serum of A/J mice; (B) SOD activity in serum of A/J mice; (C) The level of GSH in serum of A/J mice. Compared with the NNK group, ** $P < 0.01$; compared with the control group, ** $P < 0.01$.

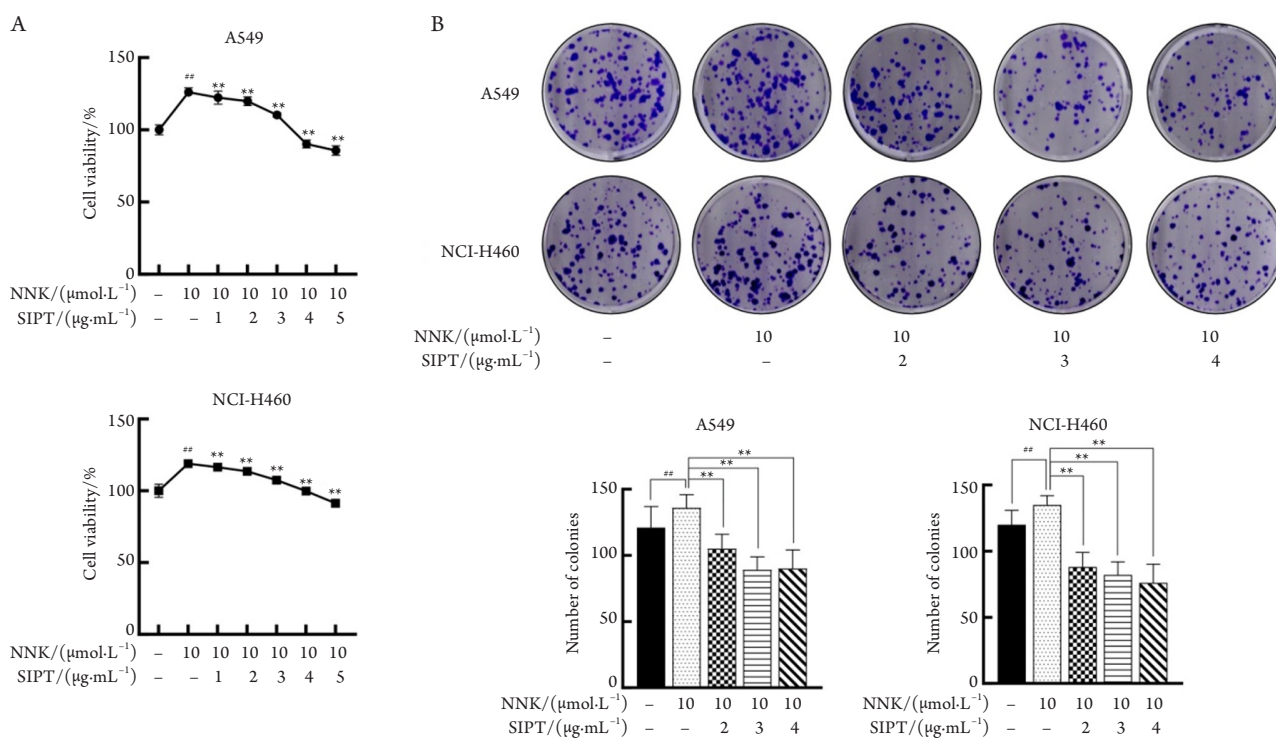


图3 全缘马尾藻褐藻多酚抑制NNK对肺癌细胞生长的促进作用

Figure 3 SIPT inhibits NNK-induced lung cancer cells growth

(A)MTT法检测全缘马尾藻褐藻多酚对NNK促进肺癌细胞(A549和NCI-H460)生长的影响；(B)平板克隆形成法检测全缘马尾藻褐藻多酚对NNK促进肺癌细胞(A549和NCI-H460)生长的影响(0.5% 结晶紫染色)。与NNK组相比，** $P < 0.01$ ；与对照组相比，** $P < 0.01$ 。

(A) MTT assay to detect the effect of SIPT on NNK-induced growth of lung cancer cells (A549 and NCI-H460); (B) Colony formation assay to detect the effect of SIPT on NNK-induced growth of lung cancer cells (A549 and NCI-H460) (0.5% crystal violet staining). Compared with the NNK group, ** $P < 0.01$; compared with the control group, ** $P < 0.01$.

2.4 SIPT 逆转 NNK 对肺癌细胞凋亡的抑制作用

本研究结果显示: NNK处理A549和NCI-H460细胞48 h后, 细胞凋亡率均低于对照组(均 $P<0.05$, 图4)。而与NNK组细胞相比, SIPT处理48 h后, A549和NCI-H460细胞的凋亡率均明显升高(均 $P<0.01$, 图4), 说明SIPT能有效地逆转NNK对非小细胞肺癌凋亡的保护作用。

2.5 SIPT 通过激活 Nrf2-ARE 抑制 NNK 对肺癌细胞生长的促进作用

Nrf2作为对抗氧化应激的关键因子, 在NNK处理的A549和NCI-H460中均被显著抑制(均 $P<0.01$)。而与NNK组相比, 经过SIPT处理后, 细胞中的Nrf2表达水平升高($P<0.01$), 下游信号通路中的NQO1、GCLC和HO-1也随之被激活(均 $P<0.01$, 图5)。

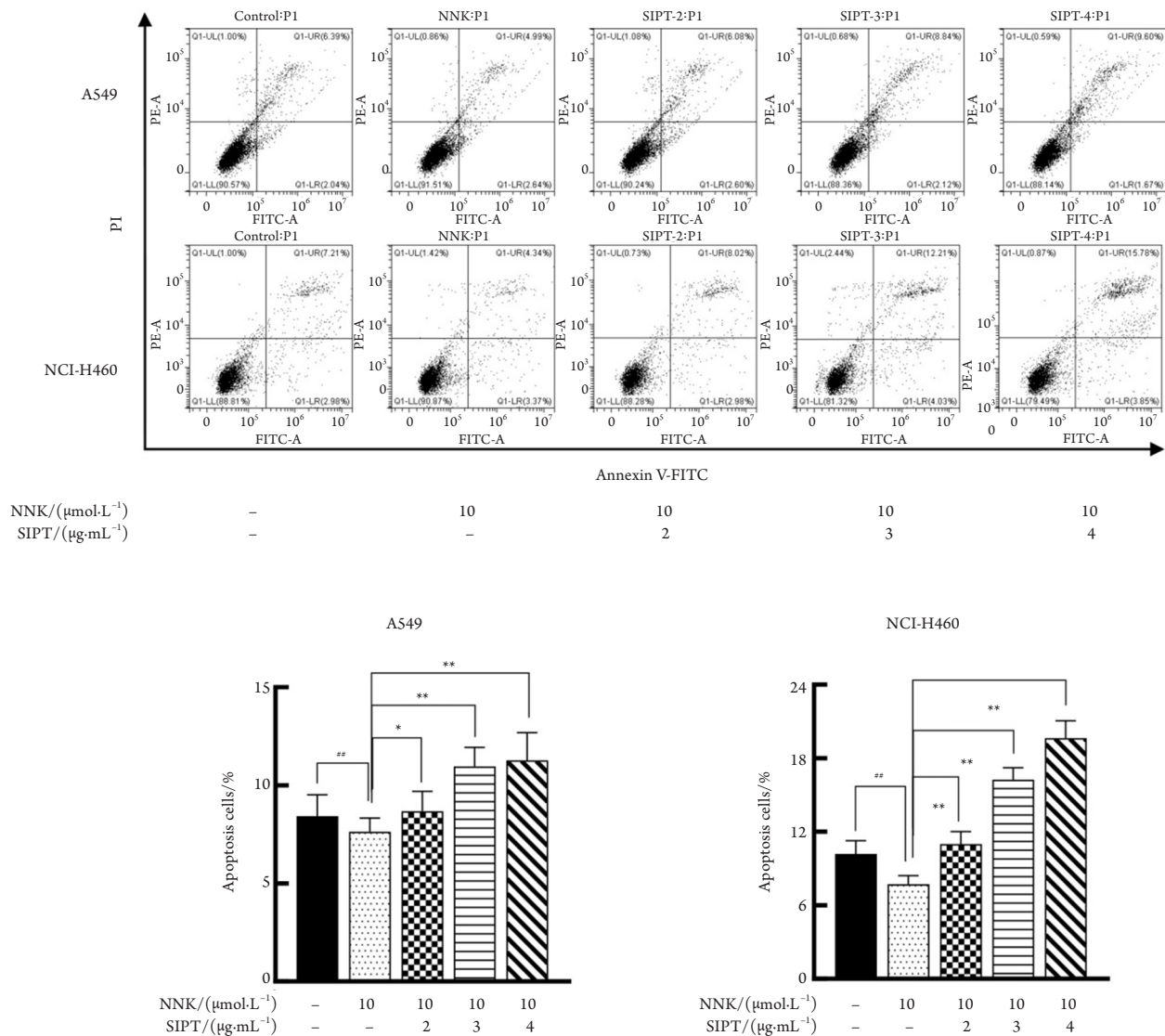


图4 全缘马尾藻褐藻多酚逆转NNK对肺癌细胞凋亡的抑制作用

Figure 4 SIPT reverses the inhibitory effect of NNK on lung cancer cell apoptosis

与NNK组相比, $*P<0.05$, $**P<0.01$; 与对照组相比, $**P<0.01$ 。

Compared with the NNK group, $*P<0.05$, $**P<0.01$; compared with the control group, $**P<0.01$.

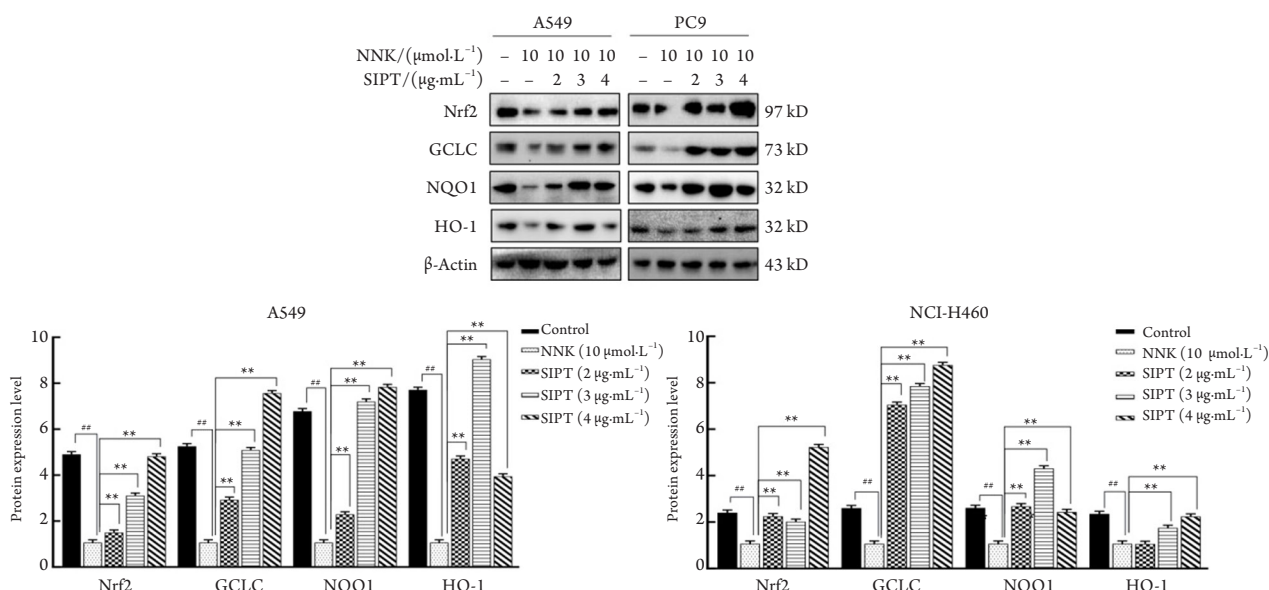


图5 全缘马尾藻褐藻多酚通过激活Nrf2-ARE抑制NNK对肺癌细胞生长的促进作用

Figure 5 SIPT inhibits NNK-induced lung cancer cell growth by activating Nrf2-ARE

与NNK组相比, ** $P < 0.01$; 与对照组相比, ** $P < 0.01$ 。

Compared with the NNK group, ** $P < 0.01$; compared with the control group, ** $P < 0.01$.

3 讨论

肺癌是我国发病率和病死率最高的恶性肿瘤^[3]。近年来, 在世界范围内有大量关于肺癌发生发展、预防、治疗的研究, 但肺癌的临床治疗效果仍不理想, 寻找能有效预防和治疗肺癌的新型天然产物一直是各国研究的热点。有研究^[7]发现: 与健康人血清中的多种氧化应激指标相比, 肺癌患者血清中的总氧化状态和氧化应激指数均有显著升高, 降低机体氧化应激水平可能是预防和治疗肺癌的潜在手段。

庞大的吸烟人群是我国肺癌发病率逐年升高的主要原因之一。香烟中不仅有6 000多种有害物质, 而且吸烟还参与了机体氧化应激状态的全过程^[10]。有研究^[11]证实: NNK可诱导多种实验动物A/J小鼠、Wistar大鼠发生原发性肺癌, 并能在体外促进肺癌细胞的生长, 抑制凋亡^[12]。因此, NNK被广泛用于肺癌相关的体内外研究。本研究也得到与以前研究类似的结果, NNK在体内能有效诱发A/J小鼠的原发性肺癌^[13], 肿瘤发生率为100%, 同时增加小鼠的氧化应激水平; 在体外经NNK处理后, 肺癌细胞A549和NCI-H460增殖加速, 凋亡细胞减少。

SIPT被证实具有显著的抗氧化能力^[5], 并能通过激活Nrf2启动机体氧化应激抵抗来防治由雌激

素缺失合并高血脂症引起的内丢失^[8], 故猜想SIPT有可能对香烟所致的肺癌有一定的防治作用。在本研究中, NNK诱导A/J小鼠肿瘤28周后, 对小鼠进行8周不同浓度SIPT灌胃, 结果显示SIPT虽然不能降低小鼠的肺癌发生率, 但是却能抑制肿瘤的大小, 其抑制作用与灌胃剂量呈正相关。此外, SIPT还能降低小鼠血清中的MDA水平, 增加SOD和GSH活性, 说明SIPT抑制肺癌生长的作用可能与减轻小鼠氧化应激有关。在体外检测SIPT是否能逆转由NNK促进的肺癌细胞增殖和对细胞凋亡的影响, 结果表明: SIPT能有效抑制NNK促进肺癌细胞增殖的作用, 并能增加A549和NCI-H460的凋亡率, 但作用机制还需进一步研究。

Nrf2是属于亮氨酸拉链结构家族的核转录调节因子, 最重要的生物学功能就是启动机体的抗氧化应激^[14]。在正常生理条件下, Nrf2在细胞质中以与内源性抑制蛋白Keap1相结合的形式存在, 当细胞受到各种内源性或外源性化合物刺激时, Nrf2与Keap1解离, 并从细胞质转移进入到细胞核并与ARE相结合, 从而启动下游抗氧化酶和抗炎酶基因的表达^[15]。本研究发现当用10 $\mu\text{mol/L}$ 的NNK处理肺癌细胞A549和NCI-H460后, 细胞中的Nrf2表达下降, 结果表明NNK不仅能诱导氧化应激, 而且还能减少Nrf2表达, 从而抑制抗氧化应激效应。在NNK处理的细胞中加入不同浓度的SIPT, 我们

发现细胞中的Nrf2表达量增加, 下游信号通路中的NQO1、GCLC和HO-1也随之被激活, 说明SIPT能够启动并增加细胞的抗氧化作用, 从而抑制由NNK诱导的细胞增殖。

综上所述, SIPT具有显著的抗氧化活性, 在吸烟所诱导的肺癌生长过程中能通过激活Nrf2-ARE信号通路, 启动氧化应激抵抗, 从而抑制肿瘤的生长。本研究结果虽可以为后续全缘马尾藻预防和治疗肺癌的成药性评价提供理论基础, 但未阐明何时使用全缘马尾藻可达到预防肺癌的效果, 未来应对SIPTs进行深入的结构解析。

参考文献

- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.
- Hirsch FR, Scagliotti GV, Mulshine JL, et al. Lung cancer: current therapies and new targeted treatments[J]. *Lancet*, 2017, 389(10066): 299-311.
- 刘宗超, 李哲轩, 张阳, 等. 2020全球癌症统计报告解读[J]. *肿瘤综合治疗电子杂志*, 2021, 7(2): 1-13.
LIU Zongchao, LI Zhexuan, ZHANG Yang, et al. Interpretation on the report of Global Cancer Statistics 2020[J]. *Journal of Multidisciplinary Cancer Management. Electronic Version*, 2021, 7(2): 1-13.
- Javed A, Hussain MB, Tahir A, et al. Pharmacological applications of phlorotannins: a comprehensive review[J]. *Curr Drug Discov Technol*, 2021, 18(2): 282-292.
- 卢虹玉, 刘义, 吉宏武, 等. 全缘马尾藻褐藻多酚的抗氧化和抗肿瘤细胞增殖作用研究[J]. *现代食品科技*, 2013, 29(4): 702-705.
LU Hongyu, LIU Yi, JI Hongwu, et al. Antioxidant activity and antiproliferation effect on tumor cells of phlorotannins from *Sargassum integerrimum*[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2013, 29(4): 702-705.
- 肖为, 龚转庆, 陶叶杏, 等. 全缘马尾藻提取物抗氧化及对亚硝化反应的抑制作用[J]. *世界科技研究与发展*, 2015, 37(5): 509-513.
XIAO Wei, GONG Zhuanqing, TAO Yexing, et al. Extract of *Sargassum integerrimum* antioxidant and inhibitory effect on nitrosation[J]. *World Sci-Tech R&D*, 2015, 37(5): 509-513.
- Xiang M, Feng J, Geng L, et al. Sera total oxidant/antioxidant status in lung cancer patients[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(37): e17179.
- Wu K, Gong Z, Zou L, et al. *Sargassum integerrimum* inhibits oestrogen deficiency and hyperlipidaemia-induced bone loss by upregulating nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 in female rats[J]. *J Orthop Translat*, 2019, 19: 106-117.
- Wu D, Huo C, Jiang S, et al. Exostosin1 as a novel prognostic and predictive biomarker for squamous cell lung carcinoma: a study based on bioinformatics analysis[J]. *Cancer Med*, 2021, 10(8): 2787-2801.
- Aoshiba K, Nagai A. Oxidative stress, cell death, and other damage to alveolar epithelial cells induced by cigarette smoke[J]. *Tob Induc Dis*, 2003, 1(3): 219-226.
- Ge GZ, Xu TR, Chen C. Tobacco carcinogen NNK-induced lung cancer animal models and associated carcinogenic mechanisms[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2015, 47(7): 477-487.
- Liu Y, Yang S, Li MY, et al. Tumorigenesis of smoking carcinogen 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone is related to its ability to stimulate thromboxane synthase and enhance stemness of non-small cell lung cancer stem cells[J]. *Cancer Lett*, 2016, 370(2): 198-206.
- Ito T, Saeki H, Guo X, et al. Prenatal stress enhances NNK-induced lung tumors in A/J mice[J]. *Carcinogenesis*, 2020, 41(12): 1713-1723.
- Sajadimajd S, Khazaei M. Oxidative stress and cancer: the role of Nrf2[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2018, 18(6): 538-557.
- Baird L, Yamamoto M. The molecular mechanisms regulating the KEAP1-NRF2 pathway[J]. *Mol Cell Biol*, 2020, 40(13): e00099-20.

本文引用: 王永存, 胡文铎, 林燕明, 林炯, 李海文, 蔡静怡, 曹金鑫, 李妹君. 全缘马尾藻褐藻多酚激活Nrf2-ARE通路抑制NNK诱导的肺癌生长[J]. *临床与病理杂志*, 2022, 42(10): 2327-2334. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.10.001

Cite this article as: WANG Yongcun, HU Wenhua, LIN Yanming, LIN Jiong, LI Haiwen, CAI Jingyi, CAO Jinxin, LI Shujun. *Sargassum integerrimum* phlorotannins activates Nrf2-ARE pathway to inhibit NNK-induced lung cancer growth[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2022, 42(10): 2327-2334. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.10.001