

网络出版时间:2023-10-11 10:31:36 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20231129.1025.006

阿司匹林诱发 GSDME 依赖性细胞焦亡 对结肠癌细胞增殖的影响

司马学琴, 苏延停, 李成武

摘要 **目的** 探讨阿司匹林诱发焦孔素 E(GSDME)依赖性细胞焦亡对结肠癌细胞增殖的影响及其相关机制。**方法** 体外培养人结肠癌细胞 Caco-2;运用 MTT 法检测不同浓度(1.0、2.5、5.0、10.0、15.0、20.0 mmol/L)阿司匹林干预对结肠癌细胞增殖活性的影响;显微镜下观察阿司匹林干预对结肠癌细胞形态学的影响;乳酸脱氢酶(LDH)释放实验观察阿司匹林干预对结肠癌细胞膜完整性的影响;Western blot 实验检测阿司匹林对结肠癌细胞中焦亡相关通路基因 NOD 样受体蛋白 3(NLRP3)、半胱氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)、焦孔素 E-N(GSDME-N)的蛋白表达;酶联免疫吸附实验(ELISA)测定 Caco-2 细胞上清中白介素-1 β (IL-1 β)和白介素-18(IL-18)的水平;沉默 GSDME 后在显微镜下观察细胞形态学变化情况;LDH 释放实验观察细胞细胞膜完整性情况;ELISA 法测定 GSDME 沉默后细胞上清中 IL-1 β 和 IL-18 的水平。**结果** MTT 结果显示,阿司匹林能够降低结肠癌细胞 Caco-2 的增殖活性,且呈浓度依赖性($P < 0.01$);形态学观察结果与 LDH 实验显示阿司匹林能够促进细胞焦亡的发生($P < 0.01$);Western blot 结果显示阿司匹林能够升高焦亡相关通路基因 NLRP3、Caspase-1、GSDME-N 的蛋白表达($P < 0.05$);ELISA 检测显示阿司匹林能够提高细胞上清中 IL-1 β 和 IL-18 的含量($P < 0.01$);结肠癌细胞 Caco-2 细胞在沉默 GSDME 后,细胞焦亡受到抑制($P < 0.05$),IL-1 β 和 IL-18 表达下降($P < 0.01$)。**结论** 阿司匹林能够诱发 GSDME 依赖性细胞焦亡,抑制结肠癌细胞 Caco-2 的增殖,从而发挥抑癌作用。

关键词 阿司匹林;焦孔素 E;结肠癌;Caco-2 细胞;细胞焦亡

中图分类号 R 735.3

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)12-2019-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.12.005

结肠癌是临床常见的恶性肿瘤之一,国外的一

项流行病学研究^[1]结果显示,其发病率为所有恶性肿瘤的前三位,且近年来发病率与病死率呈上升趋势,但目前对于结肠癌的发病机制仍不清楚。近期研究^[2]显示其发生机制可能与结肠肿瘤组织中肿瘤干细胞的无限增殖和异常分化能力有关。由于肿瘤分子生物学近些年的快速发展,分子靶向治疗成为临床肿瘤治疗研究的热点,已经有越来越多的靶向治疗药物应用于临床^[3]。阿司匹林对结肠肿瘤的预防作用已被逐渐证实,但其具体作用机制尚未阐明^[4]。细胞焦亡是一种依赖于白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)转化半胱氨酸蛋白酶-1(cysteinyl aspartate and specific proteinase 1, Caspase-1)、多种炎症因子为诱因的细胞死亡形式^[5],研究^[6]表明辛伐他汀通过触发焦孔素 E(Gasdermin E, GSDME)介导的细胞焦亡引起胃癌细胞死亡,但目前尚无关于阿司匹林能否通过诱发 GSDME 依赖性细胞焦亡从而影响结肠癌细胞增殖的研究。因此本研究通过分子生物学技术分析阿司匹林对结肠癌细胞增殖的影响及这一过程与 GSDME 依赖性细胞焦亡的相关性,为结肠癌的分子靶向治疗提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂 阿司匹林(货号:A2093)购自美国 sigma 公司,人结肠癌 Caco-2 细胞购自上海中科院细胞库;MTT 分析试剂盒(货号:ab211091)购自 Abcam(上海)贸易有限公司;乳酸脱氢酶(Lactate dehydrogenase, LDH)释放检测试剂盒(货号:C0016)购自上海碧云天生物技术有限公司;IL-1 β 、白介素-18(interleukin-18, IL-18)酶联免疫吸附试验检测试剂盒(货号:EK101BHS、EK118)购自北京中杉金桥公司;一抗 NOD 样受体蛋白 3(NOD-like receptor protein 3, NLRP3)(货号:bs-41293R)、Caspase-1(货号:bs-20616R)及山羊抗兔 IgG 二抗(货号:bs-40295G)购自北京博奥森生物技术有限公司;一抗 GSDME-N(货号:ab215191)购自 Abcam(上海)贸易有限公司;内参 β -actin 抗体(货号:bb-2101)购自上海贝博生物科技有限公司;GSDME

2023-10-17 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:32000906);湖北科技学院校内科研发展基金(编号:2022-23X02)

作者单位:湖北科技学院医学部基础医学院¹ 组胚教研室、² 细胞与遗传教研室、³ 人体解剖学教研室,咸宁 437100

作者简介:司马学琴,女,讲师;

李成武,男,副教授,责任作者, E-mail: 115550260@qq.com

siRNA 购自北京华泰亿康生物科技有限公司;胎牛血清(货号:12483020)及 DMEM 培养基(货号:11965092)购自美国 Gibco 公司,蛋白免疫印迹试验(Western blot)相关试剂和胰蛋白酶-EDTA 混合液(货号:C0201)购自上海碧云天生物技术有限公司;Lipofectamin™ 2000(货号:11668030)转染试剂购自美国赛默飞世尔科技公司。

1.2 主要仪器 恒温培养箱(型号:HHCP-160S)购自沃尔福(上海)实业有限公司;倒置显微镜(型号:CKX41)购自日本 OLYMPUS 公司;高速离心机购自上海医用分析仪器厂(型号:TGI-16);实时荧光定量 PCR 仪(型号:CFX Connect)、电泳仪(型号:1658033)与转膜仪(型号:Trans-Blot Turbo)购自美国伯乐公司;全自动凝胶成像分析系统(型号:Gene-Genius)购自美国 SYGENE 公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 在培养皿中用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基培养 Caco-2 细胞,置于 CO₂ 含量为 5% 的 37 °C 恒温培养箱中培养,饱和湿度。传代条件:培养 2~3 d,细胞密度 >80%。用胰蛋白酶-EDTA 混合液消化传代后培养。细胞处于对数生长期时进行实验。

1.3.2 MTT 法检测细胞增殖活性 取对数生长期的细胞,以每孔约 5×10^3 个细胞的密度接种到 96 孔细胞培养板上进行培养,待细胞贴壁后,倒去原培养基,分别加含有不同浓度的阿司匹林(1.0、2.5、5.0、10.0、15.0、20.0 mmol/L)的培养基继续培养,同时加入等量原培养基作为空白对照组,每组设 3 个复孔,继续培养 48 h 后取出细胞培养板,每孔中避光加入 20 μ l 的 MTT 粉剂溶液,置于培养箱中培养 4 h 后取出,用 PBS 溶液轻轻洗涤,加入 20 μ l 的 DMSO 溶液,使用酶标仪在 570 nm 波长下测量吸光度值,生长抑制率 = $(1 - \text{实验组吸光度值} / \text{对照组吸光度值}) \times 100\%$ 。根据实验结果,选择细胞生长抑制率达平台期的浓度用作后续实验。

1.3.3 转染 当 15 mmol/L 阿司匹林处理好的 Caco-2 细胞培养密度达到 50% 后进行 siRNA 沉默 GS-DME(siRNA-GSDME)操作,按 Lipofectamine™ 2000 转染试剂说明书进行转染,转染后继续培养细胞 48 h 后进行实验。

1.3.4 显微镜下观察细胞形态 取处于对数生长期的细胞,接种到 6 孔板中,并立即放在培养箱中,待细胞贴壁后,用 15 mmol/L 阿司匹林处理后继续培养 48 h,后期沉默 GSDME 基因,在显微镜下观察

各组细胞形态。

1.3.5 LDH 释放实验 收集 15 mmol/L 阿司匹林处理好的细胞和对照组细胞,1 000 r/min 离心 5 min,吸取各孔中的上清液,按步骤依照试剂盒说明书测定 LDH 释放量。

1.3.6 Western blot 检测蛋白表达水平 收集 15 mmol/L 阿司匹林处理好的细胞和对照组细胞,加入 RIPA 裂解液,置于冰上裂解 30 min,在高速离心机 4 °C 条件下以 12 000 r/min 离心 10 min,吸取上清液提取总蛋白,用 BCA 法测定各组细胞蛋白浓度,各组加入缓冲液后放入 100 °C 沸水中水煮变性后备用。按每孔 30 μ g 蛋白上样,凝胶电泳并湿转法转膜到 PVDF 膜上,5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h,分别加入 NLRP3(1:1 000)、Caspase-1(1:1 000)、GS-DME-N(1:1 000)及 β -actin(1:500)抗体,4 °C 孵育 10 h,加入山羊抗兔二抗(1:5 000)室温孵育 1 h 后,用 TBST 溶液洗膜 3 次,涂上发光显影液用显影仪拍照,用 ImageJ 软件分析相应灰度值。

1.3.7 ELISA 法检测细胞上清液中 IL-1 β 和 IL-18 的含量 将收集到的处理后的 Caco-2 细胞悬液以 1 000 r/min 离心 5 min 后,收集 15 mmol/L 阿司匹林细胞和对照组细胞上清液,依照 ELISA 试剂盒说明书按步骤测定 IL-1 β 和 IL-18 的含量。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 22.0 统计学软件进行数据分析,结果以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组之间比较采用单因素方差分析,两组间差异的比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度阿司匹林对 Caco-2 细胞增殖活性的影响 给予不同浓度的阿司匹林分别处理 Caco-2 细胞 48 h,采用 MTT 法检测增殖抑制率,结果显示:48 h 不同浓度组细胞增殖抑制率分别为 (5.80 ± 0.68) 、 (11.22 ± 0.93) 、 (21.14 ± 1.26) 、 (35.52 ± 1.54) 、 (50.34 ± 0.69) 、 (50.66 ± 1.83) 。与 1.0 mmol/L 组相比,2.5 mmol/L 组细胞增殖抑制率增加($t = 7.627, P < 0.05$);与 2.5 mmol/L 组相比,5.0 mmol/L 组细胞增殖抑制率增加($t = 7.310, P < 0.05$);与 5.0 mmol/L 组相比,10.0 mmol/L 组细胞增殖抑制率增加($t = 9.975, P < 0.01$);与 10.0 mmol/L 组相比,15.0 mmol/L 组细胞增殖抑制率增加($t = 10.215, P < 0.01$),提示阿司匹林表现出一定剂量依赖性抑制 Caco-2 细胞的增殖。当浓度超过 15.0 mmol/L 后其浓度效应达到平台期,与 15.0

mmol/L 组相比,20.0 mmol/L 组对细胞增殖抑制无差异($t = 1.061, P > 0.05$)。见图 1。

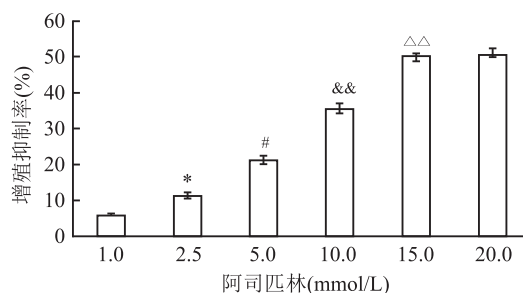


图1 不同浓度阿司匹林对 Caco-2 细胞增殖抑制作用的比较

与 1.0 mmol/L 组比较: * $P < 0.05$; 与 2.5 mmol/L 组比较: # $P < 0.05$; 与 5.0 mmol/L 组比较: && $P < 0.01$; 与 10.0 mmol/L 组比较: △△ $P < 0.01$

2.2 阿司匹林对 Caco-2 细胞焦亡的影响 用浓度为 15 mmol/L 的阿司匹林的培养基培育 Caco-2 细胞 48 h,在显微镜下观察细胞的形态变化,并应用 LDH 释放检测试剂盒检测细胞上清液中 LDH 含量。结果如图 2A 所示,与对照组相比,阿司匹林组细胞数目减少,并且能够明显观察到细胞膜出现肿胀甚至破裂现象和细胞膜内内容物流出等典型的细胞焦亡形态学特征。如图 2B 所示,应用阿司匹林后细胞上清中 LDH 的含量增加($t = 6.738, P < 0.05$)。

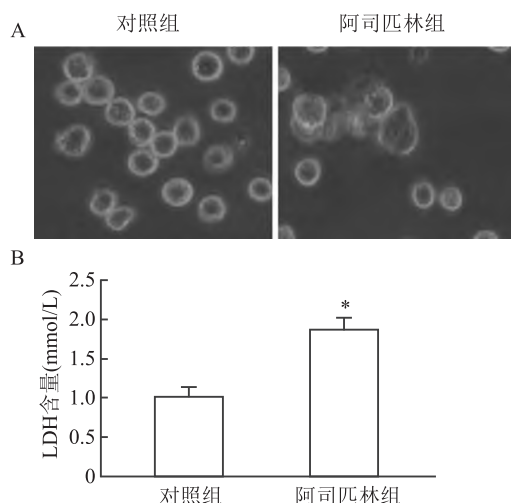


图2 阿司匹林对 Caco-2 细胞形态和细胞上清中 LDH 含量的影响

A: 细胞形态学观察阿司匹林对细胞形态影响 $\times 100$; B: LDH 释放实验检测阿司匹林对 Caco-2 细胞上清中 LDH 含量的影响;与对照组比较: * $P < 0.05$

2.3 阿司匹林对 Caco-2 细胞中焦亡相关因子表达的影响 Western blot 结果显示如图 3 所示,与对照组相比,阿司匹林组能明显提升 Caco-2 细胞中焦亡

相关基因 NLRP3、Caspase-1、GSDME-N 蛋白表达水平($t_{\text{NLRP3}} = 6.479, t_{\text{Caspase-1}} = 6.293, t_{\text{GSDME-N}} = 5.704$, 均 $P < 0.05$)。

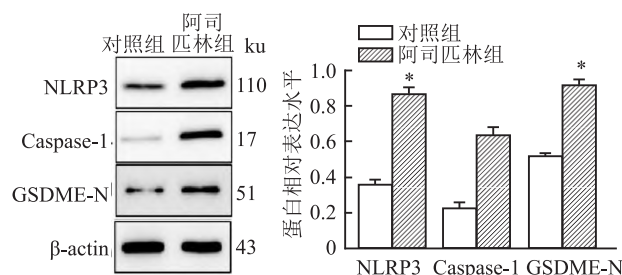


图3 阿司匹林对 Caco-2 细胞焦亡相关蛋白表达的影响

与对照组比较: * $P < 0.05$

2.4 阿司匹林对 Caco-2 细胞上清中 IL-1 β 与 IL-18 的影响 ELISA 结果如图 5 所示,与对照组相比,阿司匹林能够明显提升 Caco-2 细胞中焦亡相关因子 IL-1 β 与 IL-18 的水平($t_{\text{IL-1}\beta} = 11.357, t_{\text{IL-18}} = 12.953$, 均 $P < 0.01$)。

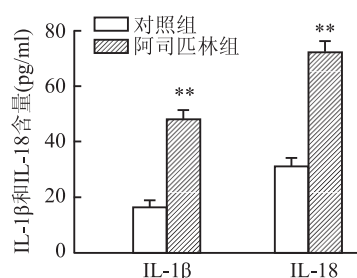


图4 阿司匹林对 Caco-2 细胞上清中 IL-1 β 、IL-18 含量的影响

与对照组比较: ** $P < 0.01$

2.5 沉默 GSDME 对 Caco-2 细胞焦亡的影响 使用 siRNA-GSDME 沉默 Caco-2 细胞(阿司匹林处理浓度为 15 mmol/L)中的 GSDME, Western blot 结果显示, GSDME 的关键剪切片段 GSDME-N 处于低表达状态,提示 GSDME 沉默成功(图 5A);沉默组较 15 mmol/L 阿司匹林组细胞增加,细胞膜较为完整,细胞破裂少见,细胞上清中 LDH 的含量明显降低($t = 6.258, P < 0.05$)。见图 5B、C。

2.6 沉默 GSDME 后对 Caco-2 细胞上清中 IL-1 β 与 IL-18 的影响 ELISA 结果显示,与阿司匹林组相比,沉默 GSDME 明显抑制焦亡相关因子 IL-1 β 与 IL-18 的水平($t_{\text{IL-1}\beta} = 9.953, t_{\text{IL-18}} = 11.026$, 均 $P < 0.01$)。见图 6。

3 讨论

结肠癌作为我国常见的恶性肿瘤,严重影响患

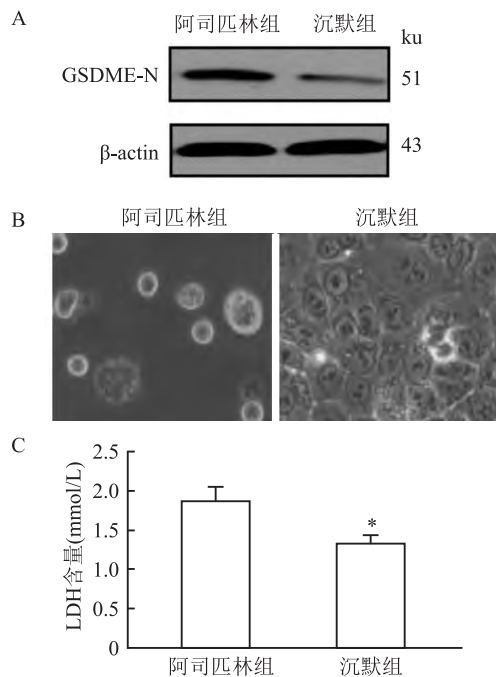


图5 沉默 GSDME 对 Caco-2 细胞焦亡的影响

A: Western blot 验证 GSDME 沉默效果; B: 细胞形态学观察 GSDME 沉默对细胞形态影响 $\times 100$; C: LDH 释放实验检测 GSDME 沉默对 Caco-2 细胞上清中 LDH 含量的影响; 与阿司匹林组比较: * $P < 0.05$

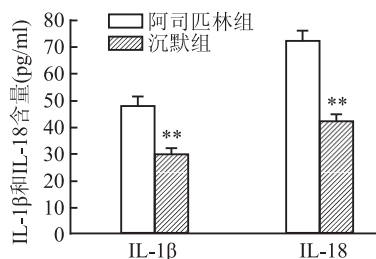


图6 沉默 GSDME 对 IL-1β、IL-18 含量的影响
与阿司匹林组比较: ** $P < 0.01$

者的健康,早期诊断与治疗是改善结肠癌患者预后的关键。近些年来,由于传统治疗方式的局限性以及人们对恶性肿瘤分子生物学研究的深入,分子靶向治疗已成为新的研究方向。阿司匹林是一种临床常用的非甾体抗炎药,除了抗风湿及预防心脑血管疾病意外,研究^[7]表明,长期低剂量使用阿司匹林能够降低结肠癌的发病率,因此被临床推荐应用于抗结肠癌的预防治疗中。现代药理学研究证实阿司匹林具有抗炎与抗肿瘤免疫作用,但机制尚未完全明确,可能与炎症反应可以刺激肿瘤细胞的发生与转移有关^[8]。本研究通过给予含有不同浓度阿司匹林的培养基培养干预结肠癌 Caco-2 细胞,结果显示阿司匹林对于 Caco-2 细胞增殖活性的抑制具有

时间与浓度依赖性,说明阿司匹林能够抑制其增殖,但机制尚未明确。

细胞程序性死亡包括细胞凋亡、坏死及焦亡等^[9]。与凋亡及坏死不同,细胞焦亡是由半胱氨酸天冬酶 Caspase 家族介导的细胞程序性死亡,当细胞受到外源刺激时,细胞内形成 NLRP3 炎症小体,从而活化 Caspase-1,切割 Gasdermin 家族的 GSDMD 与 GSDME^[10]。当 GSDME 被切割后会产生 GSDME-N 片段,研究^[11]表明 GSDME-N 具有在细胞膜上成孔的特性,导致细胞焦亡发生。当细胞焦亡发生时,细胞膜肿胀破裂、细胞核皱缩、包含炎症因子的细胞内容物向胞外释放。Caspase-1 的结构中包括 3 个结构域,其中一个结构域可与炎症体中的衔接蛋白发生相互作用,进而将炎症细胞因子 pro-IL-1β 和 pro-IL-18 切割裂解成响应免疫细胞中的炎症刺激的活性形式 IL-1β 和 IL-18。当细胞焦亡发生时,细胞内容物中含有大量炎症因子 IL-1β 和 IL-18,并会随着细胞膜破裂而流出^[12]。本研究结果显示,使用含有阿司匹林的培养基干预,能明显增加 Caco-2 细胞中 *NLRP3*、*Caspase-1*、*GSDME* 等基因的蛋白表达,提高 Caco-2 细胞上清液中 IL-1β 及 IL-18 的含量,说明这一过程中有细胞焦亡发生。此外本研究结果显示,在使用含有阿司匹林的培养基培养 Caco-2 细胞后细胞上清中 LDH 水平明显上升,提示细胞膜完整性发生了破坏,进一步说明了细胞焦亡可能参与了阿司匹林对 Caco-2 细胞的作用过程。

有研究报道称,GSDME 在胃癌^[13]和乳腺癌^[14]中的表达被沉默,表明 GSDME 可能在癌症进展中发挥抑癌作用。本研究结果显示,在正常 Caco-2 细胞中 GSDME 的关键剪切片段 GSDME-N 蛋白处于低表达状态,而给予使用含有阿司匹林的培养基培养干预后 GSDME 的蛋白表达量明显上升,同时给予阿司匹林干预后 Caco-2 细胞数目明显减少,并且能够明显观察到细胞膜出现肿胀甚至破裂,细胞膜内容物流出等典型的细胞焦亡形态学特征。当通过 siRNA 沉默 GSDME 后细胞上清液中 LDH 释放减少,说明细胞膜破裂程度减轻,且细胞形态少见细胞焦亡形态学特征,进一步说明了 GSDME 是焦亡发生过程中的关键,而阿司匹林或许能通过诱发 GSDME 依赖性细胞焦亡发挥抗肿瘤细胞增殖的作用。

参考文献

- [1] Yu H, Hemminki K. Genetic epidemiology of colorectal cancer and associated cancers[J]. *Mutagenesis*, 2020, 35(3): 207-19.

- [2] Chen X, Liu J, Zhang Q, et al. Exosome-mediated transfer of miR-93-5p from cancer-associated fibroblasts confer radioresistance in colorectal cancer cells by downregulating FOXA1 and upregulating TGFβ3[J]. *Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1):65.
- [3] 王 隼, 吴文涌, 吴正升. 靶向MDM2-p53相互作用的抗癌治疗研究进展[J]. *安徽医科大学学报*, 2018, 53(7):1149-54.
- [4] 徐 婷, 王晰程. 阿司匹林防治结直肠癌的研究进展[J]. *癌症进展*, 2019, 17(19):2246-9, 2305.
- [5] Sun L, Ma W, Gao W, et al. Propofol directly induces caspase-1-dependent macrophage pyroptosis through the NLRP3-ASC inflammasome[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(8):542.
- [6] Xia Y, Jin Y, Cui D, et al. Antitumor effect of simvastatin in combination with DNA methyltransferase inhibitor on gastric cancer via GSDME-mediated pyroptosis[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13:860546.
- [7] Burn J, Sheth H, Elliott F, et al. Cancer prevention with aspirin in hereditary colorectal cancer (Lynch syndrome), 10-year follow-up and registry-based 20-year data in the CAPP2 study: a double-blind, randomised, placebo-controlled trial[J]. *Lancet*, 2020, 395(10240):1855-63.
- [8] 赵伟光, 刘志宏. 肿瘤相关成纤维细胞调控肿瘤免疫炎症微环境的研究进展[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2020, 40(9):1289-93, 1288.
- [9] Tang R, Xu J, Zhang B, et al. Ferroptosis, necroptosis, and pyroptosis in anticancer immunity[J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1):110.
- [10] 李丽莎, 李燕京, 白玉贤. Gasdermin 家族调控肿瘤细胞焦亡的研究进展[J]. *中国肿瘤*, 2020, 29(4):285-91.
- [11] 杨羽依, 刘秀萍. Gasdermin E 诱导细胞焦亡的研究进展[J]. *中华病理学杂志*, 2021, 50(4):421-4.
- [12] 李玉红, 郝明媛, 焦连丽, 等. 基于细胞焦亡理论研究白细胞介素-1β与白细胞介素-18在抗结核药物性肝损伤中的临床意义[J]. *中国医科大学学报*, 2020, 49(5):396-9, 404.
- [13] Deng B B, Jiao B P, Li Y J, et al. BIX-01294 enhanced chemotherapy effect in gastric cancer by inducing GSDME-mediated pyroptosis[J]. *Cell Biol Int*, 2020, 44(9):1890-9.
- [14] 石 琰, 任静静, 梁 晨, 等. GSDME 通过调控细胞焦亡影响乳腺癌 MCF-7 细胞对紫杉醇的敏感性[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(2):146-51.

Effects of aspirin – induced GSDME-dependent pyroptosis on the proliferation of colorectal cancer cells

Sima Xueqin, Su Yanting, Li Chengwu

¹Dept of Histology and Embryology, ²Dept of Cytology and Genetics,

³Dept of Human Anatomy, School of Basic Medical Sciences, Xianning Medical College, Hubei University of Science and Technology, Xianning 437100)

Abstract Objective To investigate the effect of aspirin-induced Gasdermin E (GSDME) dependent pyroptosis and the related mechanism of colorectal cancer cell proliferation. **Methods** The colorectal cancer cells Caco2 were cultured *in vitro*. MTT assay was used to detect the effects of aspirin intervention with different concentrations (1.0, 2.5, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0 mmol/L) on the proliferation activity of colorectal cancer cells. The effect of aspirin intervention on the morphology of colorectal cancer cells was observed under the microscope. Lactate dehydrogenase (LDH) release assay was used to investigate the effect of aspirin intervention on cell membrane integrity. The protein expression levels of NOD-like receptor protein (NLRP3), cysteinyl aspartate and specific proteinase 1 (Caspase-1), Gasdermin E-N (GSDME-N) in colorectal cancer cells were detected by Western blot. The contents of interleukin-1β (IL-1β) and interleukin-18 (IL-18) in cell supernatant after GSDME silencing were detected by ELISA. After silencing GSDME, cell morphological changes were observed under a microscope, and cell membrane integrity was observed by LDH release assay; The contents of IL-1β and IL-18 in cell supernatant were determined by ELISA after GSDME silencing. **Results** MTT results showed that aspirin could decrease the proliferation activity of Caco-2 in a concentration-dependent manner ($P < 0.01$). Morphological observation and LDH experiment showed that aspirin could promote the occurrence of pyroptosis ($P < 0.05$). Western blot showed that aspirin could increase the expression levels of NLRP3, Caspase-1, GSDME-N of pyroptosis-related pathway genes ($P < 0.05$). ELISA showed that aspirin could significantly increase the concentration of IL-1β and IL-18 in Caco-2 cells ($P < 0.01$). After GSDME silencing, the pyroptosis was significantly inhibited ($P < 0.05$) and the expression of IL-1β and IL-18 decreased significantly ($P < 0.01$). **Conclusion** Aspirin can inhibit the proliferation of Caco-2 by inducing the pyroptosis of GSDME-dependent cells, thus inhibiting colon cancer.

Key words aspirin; Gasdermin E; colorectal cancer; Caco-2 cells; pyroptosis