

· 基础研究 ·

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2025.09.006

刺甘草查尔酮通过激活 STING/TBK1/IRF3 信号通路抑制肺癌 A549 细胞的恶性生物学行为和免疫逃逸

曾理¹, 张作军², 雷雨广¹, 崔冬玲¹ (1. 信阳职业技术学院 医学院, 河南 信阳 464000; 2. 信阳职业技术学院附属医院 皮肤科, 河南 信阳 464000)

[摘要] **目的:** 探究刺甘草查尔酮(Ech)对肺癌 A549 细胞恶性生物学行为和免疫逃逸的影响及其相关机制。**方法:** 常规培养正常肺上皮细胞 BEAS-2B 及 A549 细胞, 经不同浓度的 Ech 处理 24 h 后, 用 MTT 法检测细胞活力, 筛选出 20、30 和 40 $\mu\text{mol/L}$ Ech 进行后续实验。将 A549 细胞分为对照组(0 $\mu\text{mol/L}$ Ech 处理)和 Ech 低(20 $\mu\text{mol/L}$ Ech)、中(30 $\mu\text{mol/L}$ Ech)、高浓度(40 $\mu\text{mol/L}$ Ech)处理组(Ech-L、Ech-M、Ech-H 组)、Ech-H + 通路抑制剂 H-151(1.0 $\mu\text{mol/L}$)处理组(Ech-H + H-151 组)。用 EdU 法、划痕愈合实验和 Transwell 实验分别检测各组 A549 细胞的增殖、迁移和侵袭能力。WB 法检测各组 A549 细胞中与增殖、迁移、侵袭、STING/TBK1/IRF3 信号通路相关蛋白的表达。将各组 A549 细胞与 CD8⁺ T 细胞共培养, 用锥虫蓝染色法检测 CD8⁺ T 细胞存活率; WB 法检测共培养上清液中 I 型干扰素(IFN- I)水平, ELISA 实验检测共培养上清液中程序性死亡配体 1(PD-L1)、白细胞介素-10(IL-10)、IL-4 和转化生长因子- β (TGF- β)水平。**结果:** Ech 以剂量依赖性方式抑制 A549 细胞的活力(均 $P < 0.05$), 但对 BEAS-2B 细胞活力无明显影响。Ech 剂量依赖性地抑制 A549 细胞的增殖、迁移和侵袭能力(均 $P < 0.05$), 以及 cyclin D1、Ki67、MMP2、MMP9、STING、p-TBK1 和 p-IRF3 蛋白的表达(均 $P < 0.05$), H-151 可部分抑制其作用。Ech 剂量依赖性地促进与 A549 细胞共培养的 CD8⁺ T 细胞存活(均 $P < 0.05$), 并促进其 IFN- I 表达(均 $P < 0.05$), 抑制其 PD-L1、IL-10、IL-4、TGF- β 分泌(均 $P < 0.05$), H-151 则可部分抑制其作用(均 $P < 0.05$)。**结论:** Ech 通过激活 STING/TBK1/IRF3 信号通路抑制 A549 细胞的恶性生物学行为和免疫逃逸。

[关键词] 刺甘草查尔酮; STING/TBK1/IRF3 信号通路; 肺癌; A549 细胞; 免疫逃逸

[中图分类号] R734.2; R730.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2025) 09-0934-07

Echinatin inhibits malignant behaviors and immune escape of lung cancer A549 cells by activating the STING/TBK1/IRF3 signaling pathway

ZENG Li¹, ZHANG Zuojun², LEI Yuguang¹, CUI Dongling¹ (1. Xinyang Vocational and Technical College Medical School, Xinyang 464000, Henan, China; 2. Affiliated Hospital of Xinyang Vocational and Technical College Department of Dermatology, Xinyang 464000, Henan, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of echinatin (Ech) on the malignant biological behavior and immune escape of lung cancer A549 cells and its underlying mechanisms. **Methods:** Normal lung epithelial cells (BEAS-2B) and A549 cells were routinely cultured and treated with different concentrations of Ech for 24h. Cell viability was assessed using the MTT assay, and concentrations of 20, 30, and 40 $\mu\text{mol/L}$ were selected for subsequent experiments. A549 cells were divided into the following groups: control group (0 $\mu\text{mol/L}$ Ech), low- (20 $\mu\text{mol/L}$), medium- (30 $\mu\text{mol/L}$), and high-concentration (40 $\mu\text{mol/L}$) Ech groups (Ech-L, Ech-M, Ech-H), and high-dose Ech combined with the pathway inhibitor H-151 (1.0 $\mu\text{mol/L}$) group (Ech-H + H-151). Cell proliferation, migration, and invasion were evaluated using the EdU assay, wound-healing assay, and Transwell assay, respectively. Western blotting (WB) assay was applied to detect the expression of proteins related to proliferation, migration, invasion, and the STING/TBK1/IRF3 signaling pathway. Subsequently, A549 cells were co-cultured with CD8⁺ T cells, and trypan blue staining was used to detect CD8⁺ T cell viability. The levels of type I interferon (IFN- I) in the co-culture supernatants were detected by WB, while the levels of programmed death ligand 1 (PD-L1), interleukin-10 (IL-10), interleukin-4 (IL-4), and transforming growth factor- β (TGF- β) were determined using ELISA. **Results:** Ech inhibited the viability of A549 cells in a dose-dependent manner (all $P < 0.05$) but had no significant effect on the viability of BEAS-2B cells. Ech dose-dependently inhibited the proliferation, migration and invasion of A549 cells (all $P < 0.05$), as well as the

[基金项目] 信阳市软科学项目(No. 0230067)

[作者简介] 曾理(1990—), 男, 硕士生, 讲师, 主要从事肺癌的基础与临床的研究

[通信作者] 雷雨广(扫码获取作者联系方式)



protein expression of cyclinD1, Ki67, MMP2, MMP9, STING, p-TBK1 and p-IRF3 (all $P < 0.05$). These effects were partially reversed by H-151. Ech dose-dependently promoted the survival of CD8⁺ T cells co-cultured with A549 cells (all $P < 0.05$), enhanced IFN- γ expression (all $P < 0.05$), and inhibited the secretion of PD-L1, IL-10, IL-4, and TGF- β (all $P < 0.05$), with H-151 partially reversing these effects (all $P < 0.05$). **Conclusion:** Ech inhibits malignant biological behavior and immune escape of lung cancer A549 cells by activating the STING/TBK1/IRF3 signaling pathway.

[Key words] echinatin (Ech); STING/TBK1/IRF3 signaling pathway; lung cancer; A549 cell; immune escape

[Chin J Cancer Biother, 2025, 32(9): 934-940. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.09.006]

肺癌是常见的呼吸系统恶性肿瘤,其发病率与病死率均高,是癌症相关死亡的主要原因,严重威胁人类生命健康^[1]。由于其早期发病隐匿,导致大部分患者确诊时已为中晚期,手术难度大,治疗效果差,患者5年生存率极低,因此,早期发现与诊断对于治疗肺癌至关重要^[2-3]。目前,主要通过手术切除、化疗、靶向、免疫治疗等方法进行治疗,但存在患者术后复发率高、不良反应大、经济负担重等缺点^[4]。了解肺癌的发生发展机制,寻求新型治疗方法是目前治疗肺癌的关键。刺甘草查尔酮(echinatin, Ech)分离自中草药甘草根部,具有抗炎、抗氧化、抗癌等多种药理作用^[5]。研究^[6]显示,Ech可抑制非小细胞肺癌(NSCLC)细胞增殖和生长,诱导G2/M细胞周期阻滞和凋亡,发挥抗肿瘤作用。干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon gene, STING)/TANK结合激酶1(TANK binding kinase 1, TBK1)/干扰素调节因子3(interferon regulatory factor 3, IRF3)信号通路在癌症相关疾病的发生发展中发挥重要作用,激活STING/TBK1/IRF3信号通路可增加CD8⁺ T细胞浸润,增强PD-1抑制剂的抗肿瘤作用^[7]。本研究主要探究Ech能否通过调控STING/TBK1/IRF3信号通路影响肺癌细胞恶性进展和免疫逃逸,以期对肺癌的治疗寻求新策略。

1 材料与方法

1.1 细胞和主要试剂

人正常肺上皮细胞BEAS-2B和人肺癌细胞A549购自深圳市豪地华拓生物科技有限公司,Ech(YT61604,纯度 $\geq 98\%$)购自北京伊塔生物科技有限公司(2.70 mg Ech用DMSO配制成10 mmol/L的储存液)。兔抗Ki67、cyclin D1一抗(CQA3683、CPA4363)购自广州威佳科技有限公司,兔抗MMP-2、MMP-9一抗(ab92536、ab76003)购自英国Abcam公司,PD-L1、IL-10、IL-4、TGF- β ELISA试剂盒(VEH11092、EH6257M、EH6549M、EH6481M)购自上海威奥生物科技有限公司;锥虫蓝染色液(PB180423)购自武汉普诺赛生命科技有限公司,MTT试剂盒(40206ES76)购自翌圣生物科技(上海)股份有限公司,人外周血CD8⁺ T细胞分离试剂盒(IMP-HK005)购自厦门逸漠生物科技有限公司,EdU染色试

剂盒(KTA2030)购自亚科因(武汉)生物技术有限公司。

1.2 MTT法检测Ech对BEAS-2B、A549细胞增殖活力的影响

将BEAS-2B、A549细胞接种于含10%胎牛血清和1%青-链霉素的DMEM培养基,置于5% CO₂、37℃培养箱中培养,当细胞汇合度达90%时进行消化传代,选择对数生长期BEAS-2B、A549细胞进行后续实验。

将对数生长期BEAS-2B、A549细胞接种于96孔板,然后用含0、10、20、30、40、50 $\mu\text{mol/L}$ Ech的培养基培养24 h,加入MTT试剂继续培养4 h,最后用酶标仪在450 nm处检测各孔的光密度(D)值,筛选最佳浓度进行后续实验。

1.3 细胞分组与处理

将A549细胞分为对照组和Ech低、中、高浓度处理组(Ech-L、Ech-M、Ech-H组),Ech-H + STING/TBK1/IRF3通路拮抗剂组(Ech-H + H-151组)。对照组细胞用含1% DMSO的培养基处理24 h;Ech-L、Ech-M、Ech-H组细胞分别用含20、30、40 $\mu\text{mol/L}$ Ech的培养基处理24 h;Ech-H + H-151组^[8]细胞用含40 $\mu\text{mol/L}$ Ech和1 $\mu\text{mol/L}$ H-151培养基处理24 h。

1.4 EdU细胞增殖实验检测Ech对A549细胞增殖活力的影响

各组A549细胞参照1.3处理后,加入提前稀释的EdU工作液37℃反应2 h,洗涤后,加入4%多聚甲醛固定,然后用Apollo反应混合物及DAPI染色30 min,荧光显微镜观察阳性细胞并拍照、计数,计算A549细胞中的EdU阳性率。

1.5 划痕愈合实验检测Ech对A549细胞迁移能力的影响

将各组对数期A549细胞置于培养皿培养,待其汇合度为100%,用移液器吸头垂直划痕,PBS清洗漂浮的细胞后继续培养24 h,拍照记录0和24 h的划痕,用“划痕愈合率 = (0 h划痕宽度 - 24 h划痕宽度)/0 h划痕宽度 $\times 100\%$ ”公式计算划痕愈合率。

1.6 Transwell小室实验检测Ech对A549细胞迁移和侵袭能力的影响

收集各组对数生长期的A549细胞,用培养基制成 5×10^6 个/mL的细胞悬液,然后将200 μL 细胞悬液

加入至铺有 Matrigel 基质胶的 Transwell 小室上室, 将 500 μL 含 10% 胎牛血清的培养基加入 Transwell 小室下室, 培养 24 h 后取出小室, 用乙醇固定细胞, 用 0.5% 结晶紫染液染色, 最后在显微镜下拍照计数, 统计侵袭细胞数。

1.7 WB 法检测各组 A549 细胞中蛋白表达情况

用蛋白裂解液充分裂解各组 A549 细胞, 提取总蛋白并定量, 将蛋白样品沸水浴后, 用电泳分离、转膜、封闭, 随后与 cyclin D1、Ki67、MMP-2、MMP-9、STING、p-TBK1、TBK1、p-IRF3、IRF3 一抗于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下反应过夜, 再与辣根过氧化物酶标记的二抗室温反应 2 h, 最后加入 ECL 曝光、行可视化处理, 用 ImageJ 软件分析蛋白条带灰度值。

1.8 锥虫蓝染色法检测与各组 A549 细胞共培养系统中的 CD8⁺ T 细胞存活率

用 CD8⁺ T 细胞富集试剂盒分离健康志愿者外周血中的 CD8⁺ T 细胞, 然后置于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中培养, 随后将各组对数生长期的 A549 细胞与 CD8⁺ T 细胞按照 10:1 比例进行共培养 48 h。再将锥虫蓝染色液与 CD8⁺ T 细胞悬液 1:9 混匀室温染色 3 min, 光学显微镜观察蓝色死细胞数, 用“活细胞数/(活细胞数 + 死细胞数) $\times$ 100%”计算细胞存活率。

1.9 ELISA 检测各组共培养细胞上清液中 PD-L1、IL-10、IL-4、TGF- β 水平

将各组 A549 细胞与 CD8⁺ T 细胞共培养细胞悬液以 150 $\times$ g 离心 5 min, 取上清液, 按 ELISA 试剂盒说明书步骤检测各组细胞培养上清液中 PD-L1、IL-10、IL-4、TGF- β 水平。

1.10 统计学处理

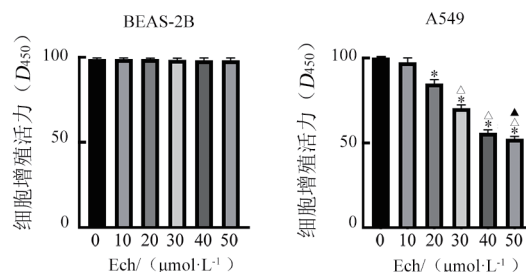
采用 SPSS 25.0 软件进行统计分析, 符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 描述, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 SNK- q 检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Ech 呈剂量依赖性地抑制 A549 细胞的活力, 但对 BEAS-2B 细胞活力无明显影响

MTT 法检测结果(图1)显示, 与对照组比较, 20、30、40、50 $\mu\text{mol/L}$ Ech 组 A549 细胞活力均明显降低(均 $P < 0.05$), 10 $\mu\text{mol/L}$ Ech 组 A549 细胞活力无明显变化。与 20 $\mu\text{mol/L}$ Ech 组比较, 30、40、50 $\mu\text{mol/L}$ Ech 组 A549 细胞活力明显降低(均 $P < 0.05$); 与 30 $\mu\text{mol/L}$ Ech 组比较, 40、50 $\mu\text{mol/L}$ Ech 组 A549 细胞活力明显降低(均 $P < 0.05$); 40 $\mu\text{mol/L}$ Ech 组与 50 $\mu\text{mol/L}$ Ech 组细胞活

力无明显差异($P > 0.05$)。不同浓度 Ech 对 BEAS-2B 细胞活力均无明显影响(均 $P > 0.05$)。本研究选择 20、30、40 $\mu\text{mol/L}$ Ech 进行后续实验。



与对照组相比, * $P < 0.05$; 与 20 $\mu\text{mol/L}$ Ech 组相比, $\Delta P < 0.05$; 与 30 $\mu\text{mol/L}$ Ech 组相比, $\blacktriangle P < 0.05$ 。

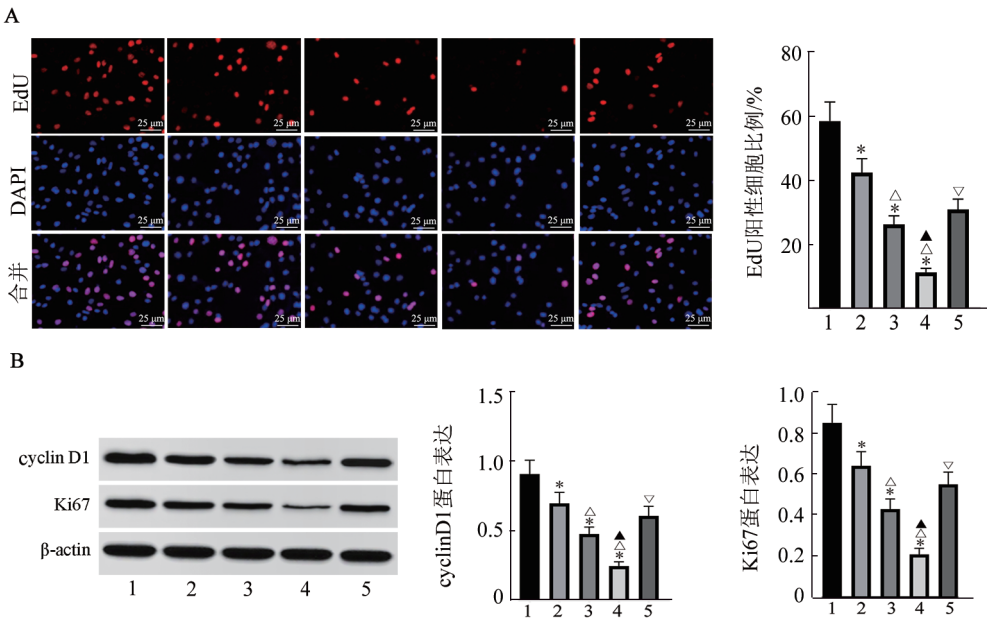
图1 不同浓度刺甘草查尔酮对 BEAS-2B 及 A549 细胞活力的影响

2.2 Ech 呈剂量依赖性地抑制 A549 细胞的增殖能力、cyclinD1 和 Ki67 的表达, 而 H-151 则可部分抑制其作用

EdU 法检测结果(图2A)显示, 与对照组比较, Ech-L、Ech-M、Ech-H 组 A549 细胞的 EdU 阳性率均明显降低(均 $P < 0.05$), Ech-L、Ech-M、Ech-H 组间呈现剂量依赖性(均 $P < 0.05$)。与 Ech-H 组比较, Ech-H + H-151 组细胞活力明显升高($P < 0.05$)。WB 法检测结果(图2B)显示, 与对照组比较, Ech-L、Ech-M、Ech-H 组 A549 细胞中 cyclin D1、Ki67 表达均明显下降(均 $P < 0.05$), 且呈现出剂量依赖性, 与 Ech-H 组比较, Ech-H + H-151 组 A549 细胞中 cyclin D1、Ki67 均明显升高(均 $P < 0.05$)。实验结果说明, Ech 能以剂量依赖性方式抑制 A549 细胞的增殖能力和 cyclin D1、Ki67 的表达, 而 H-151 则可部分抑制其作用。

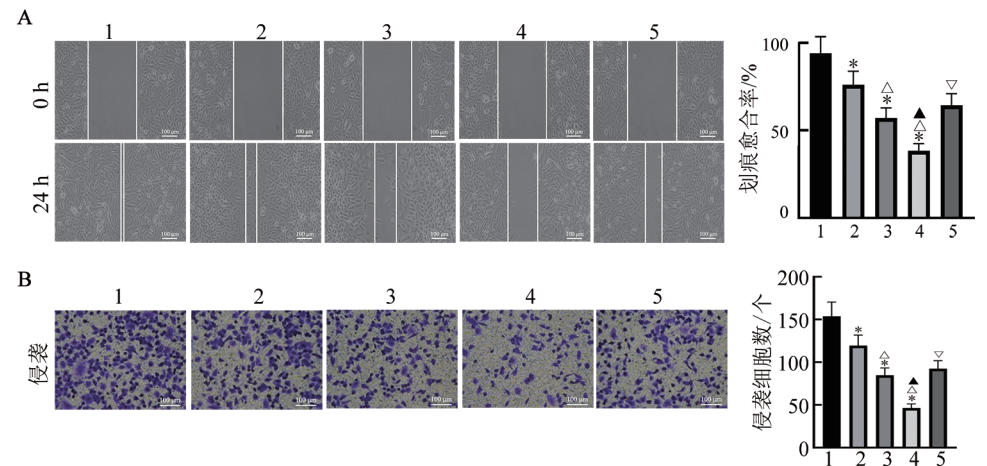
2.3 Ech 呈剂量依赖性地抑制 A549 细胞的迁移和侵袭能力及 MMP2 和 MMP9 蛋白表达, H-151 可部分抑制其作用

划痕愈合实验和 Transwell 小室检测结果(图3A、B)显示, 与对照组比较, Ech-L、Ech-M、Ech-H 组 A549 细胞的划痕愈合率和侵袭细胞数均明显降低($P < 0.05$), 且呈现剂量依赖性($P < 0.05$); 与 Ech-H 组比较, Ech-H + H-151 组细胞的划痕愈合率和侵袭细胞数均明显升高(均 $P < 0.05$)。WB 法检测结果(图4)显示, 与对照组比较, Ech-L、Ech-M、Ech-H 组 A549 细胞中 MMP2、MMP9 蛋白表达均明显下降(均 $P < 0.05$), 且呈现出剂量依赖性, 与 Ech-H 组比较, Ech-H + H-151 组 A549 细胞中 MMP2、MMP9 蛋白均明显升高(均 $P < 0.05$)。实验结果说明, Ech 能以剂量依赖性方式抑制 A549 细胞的迁移和侵袭能力, 以及 MMP2、MMP9 蛋白的表达, 而 H-151 则可部分抑制其作用。



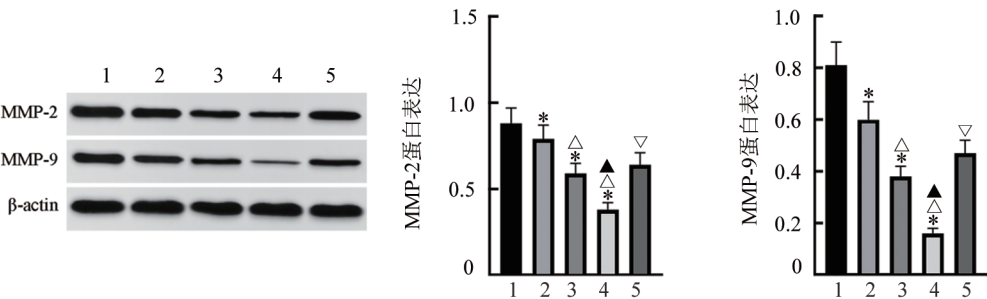
1:对照组;2:Ech-L组;3:Ech-M组;4:Ech-H组;5:Ech-H + H-151组。A:EdU法检测各组A549细胞增殖情况;B:WB法检测各组细胞中cyclin D1和Ki67蛋白表达。与对照组相比,* $P < 0.05$,与Ech-L组相比,[△] $P < 0.05$,与Ech-M组相比,^{△△} $P < 0.05$,与Ech-H组相比,[▽] $P < 0.05$ 。

图2 EdU和WB法分别检测各组A549细胞的增殖及cyclinD1和Ki67蛋白的表达



1:对照组;2:Ech-L组;3:Ech-M组;4:Ech-H组;5:Ech-H + H-151组。A:划痕愈合实验检测各组A549细胞迁移情况;B:Transwell实验检测各组A549细胞侵袭情况。与对照组相比,* $P < 0.05$,与Ech-L组相比,[△] $P < 0.05$,与Ech-M组相比,^{△△} $P < 0.05$,与Ech-H组相比,[▽] $P < 0.05$ 。

图3 划痕愈合实验和Transwell实验检测各组A549细胞的迁移和侵袭能力



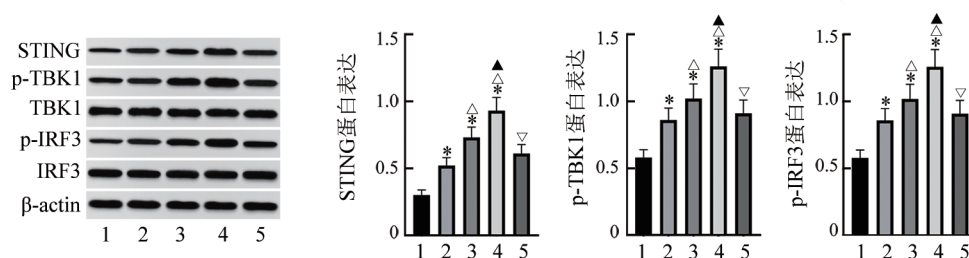
1:对照组;2:Ech-L组;3:Ech-M组;4:Ech-H组;5:Ech-H + H-151组。与对照组相比,* $P < 0.05$;与Ech-L组比较,[△] $P < 0.05$;与Ech-M组相比,^{△△} $P < 0.05$;与Ech-H相比,[▽] $P < 0.05$ 。

图4 WB法检测各组A549细胞中MMP-2和MMP-9蛋白的表达

2.4 Ech呈剂量依赖性地抑制STING/TBK1/IRF3信号通路,而H-151可部分抑制其作用

WB法检测结果(图5)显示,与对照组比较,Ech-L、Ech-M、Ech-H组A549细胞中STING、p-TBK1和p-IRF3表达均明显升高(均 $P < 0.05$),且呈现剂量依

赖性(均 $P < 0.05$);与Ech-H组比较,Ech-H + H-151组A549细胞中STING、p-TBK1和p-IRF3表达均明显降低(均 $P < 0.05$)。实验结果说明,Ech以剂量依赖性方式抑制STING/TBK1/IRF3信号通路,而H-151可部分抑制其作用。



1:对照组;2:Ech-L组;3:Ech-M组;4:Ech-H组;5:Ech-H + H-151组。与对照组相比,* $P < 0.05$;与Ech-L组相比,^ $P < 0.05$;与Ech-M组相比,^Δ $P < 0.05$;与Ech-H相比,^▽ $P < 0.05$ 。

图5 WB法检测各组A549细胞中STING、p-TBK1和p-IRF3蛋白的表达

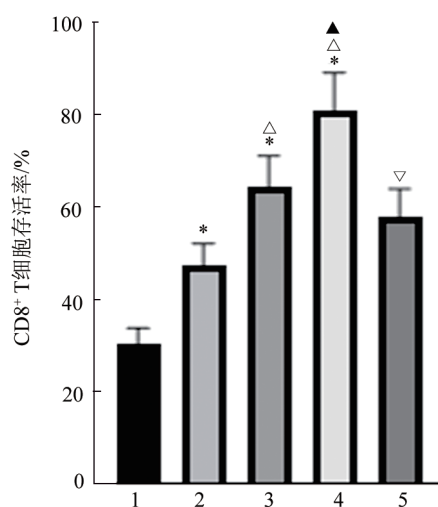
2.5 Ech呈剂量依赖性地促进CD8⁺T细胞存活,H-151可部分抑制其作用

锥虫蓝染色检测结果(图6)显示,与对照组比较,Ech-L、Ech-M、Ech-H组CD8⁺T细胞存活率均明显升高(均 $P < 0.05$),且呈剂量依赖性(均 $P < 0.05$);与Ech-H组比较,Ech-H+H-151组CD8⁺T细胞存活率降低($P < 0.05$)。实验结果说明,Ech可剂量依赖性地促进CD8⁺T细胞存活,H-151可部分抑制其作用。

2.6 Ech呈剂量依赖性地促进共培养系统中CD8⁺T细胞分泌IFN- I,抑制PD-L1、IL-10、IL-4、TGF-β的表达,H-151则可部分抑制其作用

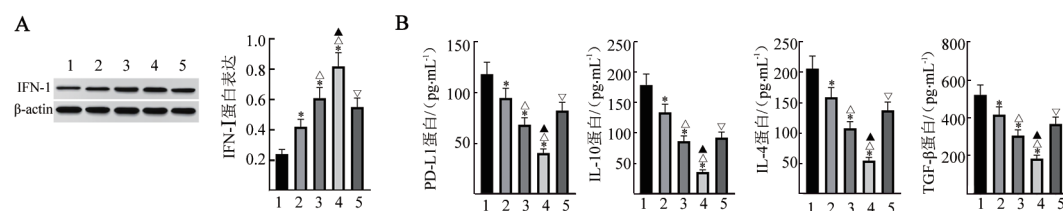
WB法检测结果(图7A)显示,与对照组比较,Ech-L、Ech-M、Ech-H组共培养系统中上清中IFN- I水平均明显升高(均 $P < 0.05$),且呈现剂量依赖性(均 $P < 0.05$);与Ech-H组比较,Ech-H + H-151组上清液中IFN- I水平明显降低($P < 0.05$)。ELISA法检测结果(图7B)显示,与对照组比较,Ech-L、Ech-M、Ech-H组共培养系统上清中PD-L1、IL-10、IL-4、TGF-β水平均明显降低(均 $P < 0.05$),且呈现剂量依赖性(均 $P < 0.05$);与Ech-H组比较,Ech-H + H-151组上清液中PD-L1、IL-10、IL-4、TGF-β水平升高(均

$P < 0.05$)。实验结果说明,Ech以剂量依赖性方式促进共培养系统中CD8⁺T细胞分泌IFN-I,抑制PD-L1、IL-10、IL-4、TGF-β的表达,H-151则可部分抑制其作用。



1:对照组;2:Ech-L组;3:Ech-M组;4:Ech-H组;5:Ech-H + H-151组。与对照组相比,* $P < 0.05$;与Ech-L组相比,^ $P < 0.05$;与Ech-M组相比,^Δ $P < 0.05$;与Ech-H相比,^▽ $P < 0.05$ 。

图6 锥虫蓝染色检测各组细胞中CD8⁺T细胞存活率



1:对照组;2:Ech-L组;3:Ech-M组;4:Ech-H组;5:Ech-H + H-151组。与对照组相比,* $P < 0.05$;与Ech-L组相比,^ $P < 0.05$;与Ech-M组相比,^Δ $P < 0.05$;与Ech-H相比,^▽ $P < 0.05$ 。

图7 各组细胞IFN- I表达及PD-L1、IL-10、IL-4、TGF-β水平

3 讨论

肺癌是发生在呼吸道上皮细胞的一种恶性肿瘤,其发生率与病死率居高不下,且其病死率位居中国恶性肿瘤死亡的首位,其中 NSCC 最为常见^[9-10]。中草药毒性小,副作用少,据此开发安全性、疗效高的抗癌药物是目前治疗肺癌的研究热点^[11]。研究^[12]显示,Ech 可抑制皮肤鳞状细胞癌的增殖和迁移,进而抑制体内外肿瘤生长。Ech 体外可抑制人膀胱癌细胞的增殖、迁移和侵袭,使细胞周期阻滞在 G2/M 期,促进细胞凋亡,体内可抑制膀胱癌细胞的异种移植肿瘤生长和转移,同时增强顺铂或吉西他滨诱导对癌细胞的抑制作用^[13]。本研究结果也显示,Ech 可抑制 A549 细胞恶性生物学行为。

肿瘤细胞异常增殖、迁移与侵袭是促进肺癌发生发展的关键因素。Cyclin D1、Ki67 是参与癌细胞增殖的关键蛋白,MMP-2、MMP-9 则在肿瘤细胞迁移与侵袭过程中发挥重要作用^[14]。研究^[15]显示,抑制 cyclin D1、Ki67 表达可诱导 G1 期细胞周期阻滞和凋亡,抑制 NSCLC 细胞增殖。抑制 MMP-2、MMP-9 表达可抑制 NSCLC 细胞的迁移和侵袭,进而降低 NSCLC 细胞对吉非替尼的耐药,在体内可抑制肿瘤生长^[16]。本研究显示,Ech 可抑制 A549 细胞中 cyclin D1、Ki67、MMP-2、MMP-9 的表达,说明其可抑制 A549 细胞的增殖、迁移与侵袭。

肿瘤免疫逃逸是影响肺癌发生发展的关键因素。肿瘤免疫逃逸是指肿瘤细胞可通过不同机制逃避或抑制免疫细胞的识别攻击,从而在机体内可以持续增殖与侵袭^[17]。CD8⁺ T 细胞在抗肿瘤免疫应答中发挥重要作用,是对抗肿瘤细胞的第一道防线,其浸润增加表明可能产生有效的抗肿瘤免疫反应。PD-L1 作为重要的免疫检查点分子,其可与 PD-1 相互作用,抑制 CD8⁺ T 细胞增殖,促进肿瘤细胞逃离免疫系统^[18-19]。TGF- β 是由许多肿瘤细胞分泌的一种免疫抑制细胞因子,其可通过促进肿瘤微环境中调节性 T 细胞产生,阻碍抗肿瘤 T 细胞活性,发挥抑制抗肿瘤免疫作用^[20]。PD-L1 与 TGF- β 在肿瘤微环境中促进肿瘤免疫逃逸具有互补作用,同时抑制两者可发挥更好的抗癌效果^[21];另外,肿瘤微环境中的免疫因子 IL-4 及 IL-10 在癌细胞免疫逃逸中同样发挥重要调控作用。研究^[22]显示,CD8⁺ T 细胞活性增加可抑制 NSCLC 细胞的增殖,促进抗肿瘤免疫应答。降低 PD-L1、IL-4、IL-10 和 TGF- β 表达,可抑制肺癌免疫逃逸^[23-24]。本文研究结果显示,Ech 可提高 CD8⁺ T 细胞活性,降低 PD-L1、IL-4、IL-10 和 TGF- β 表达,说明其可抑制 A549 细胞发生免疫逃逸。

STING/TBK1/IRF3 信号通路属于固有免疫相关通路,其激活可抑制恶性肿瘤的发生,对于抗肿瘤免疫至关重要。当机体受到刺激,STING 可与 2',3'-环 GMP-AMP 二核苷酸结合形成的多聚体,随后转移至高尔基体上招募激酶 TBK1 并使其发生磷酸化,然后又促进 IRF3 磷酸化,刺激下游 IFN- α 及炎症因子的生成,激活机体先天免疫系统,进而发挥抗肿瘤效应^[25]。研究^[26]显示,辐射诱导的 DNA 损伤可通过激活 STING 信号通路,驱动 CD8⁺ T 细胞趋化,重编程肿瘤免疫微环境,触发抗肿瘤免疫应答,增加 NSCLC 的辐射致死性,促进了辐射介导的肿瘤消退。激活 STING/TBK1/NF- κ B 和阻断 PD-1/PD-L1 信号均可促进脾脏淋巴细胞中 CD8⁺ T 细胞活化及对肿瘤组织的浸润,提高其对肺癌细胞的杀伤力,减轻肺癌细胞的免疫逃逸^[27]。本文研究结果显示,Ech 可上调 STING、p-TBK1 和 p-IRF3 表达,抑制 A549 细胞恶性生物学行为及免疫逃逸,推测其可能是激活 STING/TBK1/IRF3 信号通路。本研究对 Ech 处理的 A549 细胞进行 H-151 处理,发现其可部分逆转 Ech 对 A549 细胞恶性生物学行为和免疫逃逸的抑制作用,说明 Ech 可通过激活 STING/TBK1/IRF3 信号通路抑制 A549 细胞恶性生物学行为及免疫逃逸。

综上所述,Ech 可抑制肺癌 A549 细胞恶性生物学行为及免疫逃逸,其作用机制与激活 STING/TBK1/IRF3 信号通路相关。本研究仍存在局限性,Ech 还可能通过调控其它信号通路影响肺癌的发生进展,仍需全面深入进行论证研究。

[参考文献]

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, *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. DOI: 10.3322/caac.21660.
- [2] BADE B C, DELA CRUZ C S. Lung cancer 2020: epidemiology, etiology, and prevention[J]. Clin Chest Med, 2020, 41(1): 1-24. DOI: 10.1016/j.ccm.2019.10.001.
- [3] 国家癌症中心, 国家肿瘤质控中心肺癌质控专家委员会. 中国原发性肺癌规范诊疗质量控制指标(2022 版)[J]. 中华肿瘤杂志, 2022, 44(7): 594-599. DOI: 10.3760/cma.j.cn112152-20220816-00558.
- [4] ALDUAIS Y, ZHANG H J, FAN F, *et al.* Non-small cell lung cancer (NSCLC): a review of risk factors, diagnosis, and treatment[J/OL]. Medicine (Baltimore), 2023, 102(8): e32899[2025-04-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36827002/>. DOI: 10.1097/MD.00000000000032899.
- [5] HONG P, LIU QW, XIE Y, *et al.* Echinatin suppresses esophageal cancer tumor growth and invasion through inducing AKT/mTOR-dependent autophagy and apoptosis[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(7): 524. DOI: 10.1038/s41419-020-2730-7.

- [6] OH H N, LEE M H, KIM E, *et al.* Dual inhibition of EGFR and MET by echinatin retards cell growth and induces apoptosis of lung cancer cells sensitive or resistant to gefitinib[J]. *Phytother Res*, 2020, 34(2): 388-400. DOI: 10.1002/ptr.6530.
- [7] ZHOU L, XU Q L, HUANG L T, *et al.* Low-dose carboplatin reprograms tumor immune microenvironment through STING signaling pathway and synergizes with PD-1 inhibitors in lung cancer[J]. *Cancer Lett*, 2021, 500: 163-171. DOI: 10.1016/j.canlet.2020.11.049.
- [8] 陈金淑, 陈丕厚, 宋依瑾, 等. 肿瘤坏死因子受体相关因子3调控 STING/IFN-I 信号通路改善狼疮肾炎足细胞损伤的机制研究[J]. *临床肾脏病杂志*, 2023, 23(11):932-940. DOI:10.3969/j.issn.1671-2390.2023.11.008.
- [9] XIA C F, DONG X S, LI H, *et al.* Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2022, 135(5): 584-590. DOI: 10.1097/CM9.0000000000002108.
- [10] CHEN P X, LIU Y H, WEN Y K, *et al.* Non-small cell lung cancer in China[J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2022, 42(10): 937-970. DOI: 10.1002/cac2.12359.
- [11] HUANG J, LI J X, MA L R, *et al.* Traditional herbal medicine: a potential therapeutic approach for adjuvant treatment of non-small cell lung cancer in the future[J]. *Integr Cancer Ther*, 2022, 21: 15347354221144312. DOI: 10.1177/15347354221144312.
- [12] KANG Z W, WANG P R, WANG B, *et al.* Echinatin suppresses cutaneous squamous cell carcinoma by targeting GSTM3-mediated ferroptosis[J/OL]. *Phytomedicine*, 2024, 131: 155752[2025-04-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38833947/>. DOI: 10.1016/j.phymed.2024.155752.
- [13] WANG X X, LUO L J, XU J T, *et al.* Echinatin inhibits tumor growth and synergizes with chemotherapeutic agents against human bladder cancer cells by activating p38 and suppressing Wnt/ β -catenin pathways[J]. *Genes Dis*, 2023, 11(2): 1050-1065. DOI: 10.1016/j.gendis.2023.03.031.
- [14] SUN Y Q, SHEN W T, HU S L, *et al.* METTL3 promotes chemoresistance in small cell lung cancer by inducing mitophagy[J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2023, 42(1): 65[2025-04-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36932427/>. DOI: 10.1186/s13046-023-02638-9.
- [15] CHEN Y M, LI H C, ZHANG W N, *et al.* Sesamin suppresses NSCLC cell proliferation and induces apoptosis via Akt/p53 pathway[J/OL]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2020, 387: 114848[2025-04-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31809756/>. DOI: 10.1016/j.taap.2019.114848.
- [16] DENG Q F, FANG Q Y, JI X X, *et al.* Cyclooxygenase-2 mediates gefitinib resistance in non-small cell lung cancer through the EGFR/PI3K/AKT axis[J]. *J Cancer*, 2020, 11(12): 3667-3674. DOI: 10.7150/jca.42850.
- [17] MORTEZAEE K. Immune escape: a critical hallmark in solid tumors[J/OL]. *Life Sci*, 2020, 258: 118110[2025-04-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32698074/>. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.118110.
- [18] AKBAR S, RAZA A, MOHSIN R, *et al.* Circulating exosomal immuno-oncological checkpoints and cytokines are potential biomarkers to monitor tumor response to anti-PD-1/PD-L1 therapy in non-small cell lung cancer patients[J/OL]. *Front Immunol*, 2023, 13: 1097117[2025-04-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36741391/>. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1097117.
- [19] LIU Z C, WANG T T, SHE Y L, *et al.* N⁶-methyladenosine-modified circIGF2BP3 inhibits CD8⁺ T-cell responses to facilitate tumor immune evasion by promoting the deubiquitination of PD-L1 in non-small cell lung cancer[J/OL]. *Mol Cancer*, 2021, 20(1): 105[2025-04-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34416901/>. DOI: 10.1186/s12943-021-01398-4.
- [20] VILLAR V H, SUBOTIČKI T, ĐIKIĆ D, *et al.* Transforming growth factor- β 1 in cancer immunology: opportunities for immunotherapy[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2023, 1408: 309-328. DOI: 10.1007/978-3-031-26163-3_17.
- [21] GULLEY J L, SCHLOM J, BARCELLOS-HOFF M H, *et al.* Dual inhibition of TGF- β and PD-L1: a novel approach to cancer treatment[J]. *Mol Oncol*, 2022, 16(11): 2117-2134. DOI: 10.1002/1878-0261.13146.
- [22] 王南楠, 刘宇, 凌惠娟, 等. 双氢青蒿素对非小细胞肺癌细胞诱导的 CD8⁺T 细胞抗肿瘤免疫应答的影响[J]. *安徽医科大学学报*, 2024, 59(3): 424-429. DOI: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.03.009.
- [23] 张振勇, 李肖, 李保宏, 等. 芒柄花素诱导肺癌细胞焦亡并抑制 PD-L1 介导的免疫逃逸[J]. *药物评价研究*, 2024, 47(5): 971-981. DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.05.007.
- [24] 荆文斌, 高辛, 朱文忠, 等. Th22 细胞对小鼠 Lewis 肺癌免疫逃逸的影响[J]. *免疫学杂志*, 2023, 39(6): 507-511, 520. DOI: 10.13431/j.cnki.immunol.j.20230066.
- [25] 李文欣, 张贺峰, 谢作权, 等. cGAS-STING 通路异常激活及其抑制剂在免疫和炎症疾病中的研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2023, 39(11):2001-2005. DOI:10.12360/CPB202207031.
- [26] WANG Y Y, MENG L, MENG S Y, *et al.* Flotillin-1 enhances radioresistance through reducing radiation-induced DNA damage and promoting immune escape via STING signaling pathway in non-small cell lung cancer[J/OL]. *Cancer Biol Ther*, 2023, 24(1): 2203332[2025-04-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37131290/>. DOI: 10.1080/15384047.2023.2203332.
- [27] 史春辉, 吴超, 蒯建平. STING/TBK1/NF- κ B 信号通路调节 PD-1/PD-L1 对肺癌细胞免疫逃逸的影响[J]. *河北医药*, 2023, 45(5): 651-656.

[收稿日期] 2024-12-08

[修回日期] 2025-08-04

[本文编辑] 向正华