



DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2024.10.003

· 基础研究 ·

紫草素联合肿瘤细胞裂解物刺激 DC 疫苗的抗肿瘤效果

李鹏飞¹, 张燕丽², 杨依², 张敏²(1. 塔里木大学 医学院, 新疆 阿拉尔 843300; 2. 西藏民族大学 医学部, 陕西 咸阳 712082)

[摘要] 目的: 探讨紫草素(SK)联合肿瘤细胞裂解物(TCL)刺激的DC疫苗的抗肿瘤效果。方法: 体外制备SK和TCL刺激的正常小鼠源的DC疫苗, 流式细胞术检测DC表面CD80、CD86的荧光强度。流式细胞术检测与SK + TCL刺激的DC共培养后的正常小鼠脾T细胞中T-bet和ROR γ t的表达, ELISA检测共培养上清液中IFN- γ 、IL-12P70和TNF- α 的含量。建立Lewis肺癌3LL细胞荷瘤小鼠模型, 分为PBS(1 mL) + TCL(5×10^5 个细胞/100 μ L)、SK-L(1.25 mg/kg) + TCL、SK-M(2.5 mg/kg) + TCL、SK-H(5 mg/kg) + TCL、紫杉醇(PTX 2 mg/kg) + TCL疫苗组。疫苗接种结束后10 d, 检测移植瘤体积和小鼠生存率, LDH法检测脾CTL的杀伤能力。结果: SK + TCL刺激的DC疫苗表达出高水平CD80、CD86(均 $P < 0.01$); DC与T细胞共培养液上清中IL-12P70、IFN- γ 、TNF- α 含量均显著上升(均 $P < 0.01$), T细胞中T-bet和ROR γ t的表达显著性上调(均 $P < 0.01$)。成功构建Lewis肺癌荷瘤小鼠模型, SK-H + TCL刺激的DC疫苗治疗显著延缓了移植瘤生长并提高了小鼠的存活率, 且可强烈诱导脾CTL的杀伤能力(均 $P < 0.01$)。结论: SK + TCL刺激的DC疫苗可激活DC至成熟状态, 上调T细胞中T-bet和ROR γ t的表达, 启动Th1效应细胞, SK体内治疗Lewis肺癌荷瘤小鼠具有良好的抗肿瘤效果。

[关键词] 紫草素; 非小细胞肺癌; 3LL细胞; DC疫苗; 抗肿瘤免疫

[中图分类号] R734.2; R730.52 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2024) 10-0957-06

Antitumor effects of DC vaccine loaded with shikonin combined with tumor cell lysate

LI Pengfei¹, ZHANG Yanli², YANG Yi², ZHANG Min² (1. School of Medicine, Tarim University, Alar 843300, Xinjiang, China; 2. Medical Department, Xizang Minzu University, Xianyang 72082, Shaanxi, China)

[Abstract] Objective: To investigate the anti-tumor effect of dendritic cells (DCs) vaccines loaded with shikonin (SK) and tumor cell lysate (TCL). Methods: DC vaccines of normal mouse origin loaded with SK and TCL were prepared *in vitro*. Fluorescence intensity of CD80 and CD86 on the surface of DCs was detected by flow cytometry. The expression of T-bet and ROR γ t in normal mouse splenic T cells co-cultured DCs that stimulated by SK + TCL was determined by flow cytometry, and the contents of IFN- γ , IL-12P70, and TNF- α in the co-culture supernatant were detected using ELISA. A Lewis lung cancer 3LL cell-bearing mouse model was established, and the mice were randomized into PBS + TCL group (PBS [1 mL] + TCL [5×10^5 cell/100 μ L]), SK-L + TCL group (low SK concentration [1.25 mg/kg] + TCL), SK-M + TCL group (medium SK concentration [2.5 mg/kg] + TCL), and SK-H + TCL group (high SK concentration [5 mg/kg] + TCL), and paclitaxel (PTX) + TCL vaccine group (PTX [2 mg/kg] + TCL). Ten days after the end of vaccination, the solid tumor volume and survival rate of the mice were observed, and the killing capacity of splenic cytotoxic T lymphocytes (CTLs) was assessed by LDH assay. Results: DC vaccines loaded with SK + TCL showed high levels of CD80 and CD86 expression (both $P < 0.01$). The levels of IL-12P70, IFN- γ , and TNF- α in the DC-T cell co-culture supernatants were significantly increased (all $P < 0.01$), and the expression of T-bet and ROR γ t (both $P < 0.01$) in T cells were significantly elevated. A successful Lewis lung carcinoma mouse model was established, and the DC vaccines loaded with SK-H + TCL significantly delayed the growth of transplanted tumors and increased the mouse survival rate, while strongly inducing the cytotoxic activity of splenic CTLs (all $P < 0.01$). Conclusion: The SK + TCL-loaded DC vaccine can activate DCs to a mature state, up-regulate the expression of T-bet and ROR γ t in T cells, and initiate Th1 effector cells. SK shows promising antitumor effects in the treatment of Lewis lung carcinoma in mice.

[Key words] shikonin (SK); non-small cell lung cancer (NSCLC); 3LL cell; DC vaccine; antitumor immunity

[Chin J Cancer Biother, 2024, 31(10): 957-962. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2024.10.003]

[基金项目] 塔里木大学校长基金(No. TDZKSS202264); 西藏民族大学校内科研一般项目(No. 23MDY09)

[作者简介] 李鹏飞(1995—), 男, 硕士, 讲师, 主要从事抗肿瘤免疫药物研究。E-mail: Lipf282992@163.com

[通信作者] 张敏, E-mail: zhangmin-wen@163.com



非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)占肺癌的75%~80%,其病死率高达80%~90%^[1],严重威胁人类生命健康。目前,NSCLC的主要治疗方法包括手术、放疗和化疗等。研究结果^[2]表明,经手术和化疗药物治疗后的NSCLC患者的预后差,其原因是癌细胞可以通过多种机制产生免疫逃逸,抑制机体有效免疫应答。近年来,开发基于DC的肿瘤疫苗已成为肿瘤免疫治疗的热点。该方法可有效增强肿瘤细胞的免疫原性以供DC识别,增强DC诱导细胞毒性T淋巴细胞(CTL)对肿瘤细胞的特异性细胞毒作用,从而克服肿瘤细胞引起的免疫逃逸问题^[3]。尹良伟等^[4]认为,MUC1-DC疫苗相比于单纯DC免疫治疗能更有效地抑制肿瘤生长,促进乳腺癌MCF-7细胞凋亡。周明书等^[5]将MtHSP70-PIGR融合蛋白负载于DC,更好的活化了CTL,增强了抑制子宫内膜腺癌生长的功效^[5]。紫草素(shikonin, SK)是中药紫草的有效成分之一,主要活性成分为阿卡宁(分子式:C16H16O5),具有抗肿瘤、抗炎、抗糖尿病、免疫调节等多种作用^[6-7];多项研究^[8-10]通过体外和体内实验证实,SK具有抗肿瘤活性。SK对蛋白酶体的抑制活性涉及SK分子的C1和C4与蛋白酶体的 β 5亚基之间的相互作用,从而抑制肿瘤生长^[11]。硼替佐米作为一种蛋白酶体抑制剂可增加SK处理细胞的免疫原性^[12]。SK能否作为DC肿瘤疫苗的佐剂增强抗肿瘤免疫效应,目前尚未见报道。本文用SK联合3LL肿瘤细胞裂解物(tumor cell lysate, TCL)刺激DC,从体内外探讨其在免疫细胞功能及Lewis肺癌小鼠模型中的抗肿瘤效果,旨在为临床治疗NSCLC提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞、实验动物及主要试剂

Lewis肺癌细胞3LL购自ATCC。6~8周龄、20~22 g的雌性SPF级野生型(WT)C57BL/6小鼠购自西安交通大学医学部[实验动物许可证号:SCXK(陕)2018-1001],饲养于西藏民族大学动物饲养中心,所有动物实验操作均经西藏民族大学动物实验伦理委员会审核批准(伦理审批号:伦研批第2024-007号)。

SK(C16H16O5,纯度:HPLC \geq 98%)购自成都瑞芬思生物科技有限公司,紫杉醇(paclitaxel, PTX)、红细胞裂解液、小鼠淋巴细胞分离液购自北京索莱宝科技有限公司,脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)购自美国Sigma-Alorich公司,磷酸缓冲液(PBS)、胎牛血清(FBS)均购自以色列BI公司,DMEM、RPMI 1640培养基、青霉素/链霉素、胰酶均购自美国

Hyclone公司,小鼠IL-12P70、IFN- γ 、TNF- α ELISA试剂盒均购自武汉伊莱瑞特公司,乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)试剂盒购自Abcam公司,BCA定量试剂盒购自上海沪震实业公司,rmIL-4与rmGM-CSF均购自欣博盛生物科技公司,固定/破膜工作液、小鼠抗体APC anti-mouse CD45、FITC anti-mouse CD4、PE anti-mouse CD11c、FITC anti-mouse CD80、APC anti-mouse CD86、PE anti-mouse T-bet、PE/Cy7 anti-mouse ROR γ t均购自Biolegend公司。

1.2 小鼠骨髓DC(BMDC)的制备

用PBS将6~8周龄WT C57BL/6小鼠骨髓腔内的细胞冲洗出来并用细胞筛过滤,取适量红细胞裂解液裂解后,调整细胞密度为 2×10^6 个/mL。用DC完全培养基[rmIL-4(10 ng/mL)、rmGM-CSF(10 ng/mL)、10% FBS、1% 青链霉素混合液]RPMI 1640培养至第6天收获半悬浮BMDC,进行后续实验。

1.3 TCL的制备

收集密度为 5×10^7 个/mL的3LL细胞,进行以下冻融循环:先将细胞悬液在液氮中冷冻1.5 min,解冻后在4 °C水浴中超声处理4 min,连续重复4次。解冻后,用30 s的脉冲对细胞裂解悬浮液进行超声处理3次。通过锥虫蓝排除法评估细胞活力,4个循环完成后未检测到活细胞。使用前,以 $800\times g$ 离心30 min,取上清液作为肿瘤抗原来源。使用BCA试剂盒测定TCL的浓度。

1.4 流式细胞术检测SK + TCL刺激的DC表面分子CD80、CD86的荧光强度

收集材料与方法1.3中的BMDC,加入500 μ L TCL(含200 μ g蛋白)培养12 h。再随机分为PBS + TCL、SK + TCL和LPS + TCL组,分别加入PBS、1.44 g/mL SK^[13]、200 ng/mL LPS^[14]继续培养12 h。收细胞于流式管中,每管加入荧光基团标记的CD11c-PE、CD80-FITC和CD86-APC抗体,4 °C避光反应30 min,再加入PBS混匀后,上流式细胞仪检测DC表面分子CD80、CD86的荧光强度。

1.5 ELISA检测经SK + TCL刺激的DC与脾T细胞共培养上清液中IL-12P70、IFN- γ 、TNF- α 的含量和混合液中T-bet、ROR γ t的表达

取与DC同背景来源的小鼠脾,分离T淋巴细胞悬液,再与1.4中经SK + TCL处理的DC与T细胞密度比例为1:10共培养于96孔板(终体积200 μ L/孔)中。其中,T细胞密度为 5×10^7 个/孔,继续培养24 h。收集上清液,用ELISA法检测IL-12P70、IFN- γ 、TNF- α 含量,具体方法参照ELISA试剂盒使用说明书。收集DC-T混合细胞液,加入荧光基团标记的CD45-APC、CD4-FITC抗体,4 °C避光反应30 min,再加入

2 mL 预冷的 PBS 重悬细胞,后加入 1 mL 固定/破膜工作液,加入 T-bet-PE、ROR γ t-PE/Cy7 中,4 °C 避光反应 30 min,上流式细胞仪检测混合液中 T-bet 和 ROR γ t 转录因子的水平。

1.6 Lewis 肺癌 3LL 细胞移植瘤小鼠模型的建立、治疗及观察

选取对数生长期小鼠肺癌 3LL 细胞, PBS 调整密度为 1×10^6 个/mL,于小鼠腹股沟皮下注射 100 μ L 细胞悬液,5~7 d 成瘤,则造模成功。根据《中华本草》^[15] 中记载,SK 腹腔注射小鼠的半数致死量(median lethal dose, Id_{50})为 20 g/kg,动物实验剂量为 5~10 mg/kg,所以小鼠成瘤后,将 Lewis 肺癌荷瘤小鼠随机分为 PBS(1 mL) + TCL(5 $\times 10^5$ 个细胞/100 μ L)、SK-L(1.25 g/kg SK) + TCL、SK-M(2.5 mg/kg) + TCL、SK-H(5 mg/kg) + TCL、PTX(2 mg/kg) + TCL 刺激 DC 疫苗组,在第 1 天初次接种、第 8 天和第 11 天加强接种。

治疗期间每隔 3 d 测量一次肿瘤大小,包括肿瘤长径(a)和短径(b),依据公式“ $V = ab^2/2$ ”计算肿瘤体积,绘制肿瘤体积生长曲线。当肿瘤出现溃疡或长径达 1.2 cm 时,处死小鼠。每天记录小鼠生存率;最后一次接种后第 10 天,脱颈椎法处死 Lewis 肺癌荷瘤小鼠,分离移植瘤并拍照;分离小鼠脾并制备脾单细胞悬液,调整细胞密度为 5×10^6 个/mL 作为效应细胞 CTL。按照 5:1、10:1、20:1、40:1、80:1 效靶比加入

对数生长期小鼠肺癌 3LL 细胞,混合培养 24 h。采用 LDH 法检测脾 CTL 对靶细胞的杀伤能力,用 1% 乙基苯基聚乙二醇(nonidet P, NP)为靶细胞最大释放孔,酶标仪检测波长 490 nm 处的光密度(D)值。依据公式[杀伤率 = $(D_{\text{反应孔}} - D_{\text{靶细胞释放孔}})/(D_{\text{最大释放孔}} - D_{\text{靶细胞释放孔}}) \times 100\%$]计算效应细胞的杀伤率。

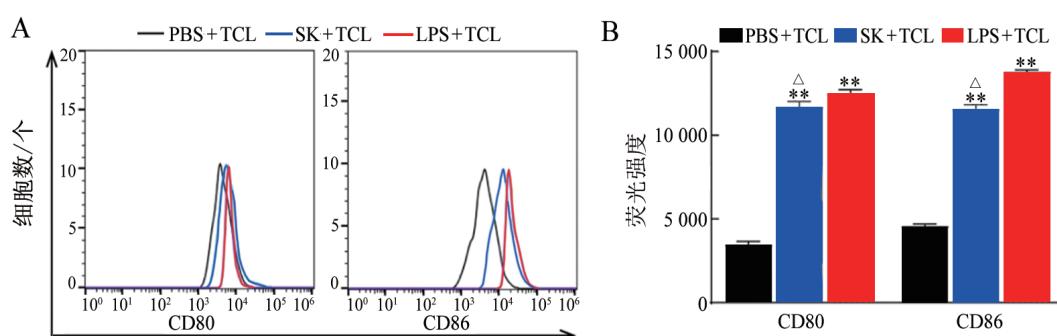
1.7 统计学处理

采用 Graphpad Prism Version 9.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数比较采用 t 检验,多组间均数比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 SK + TCL 刺激的 DC 疫苗增加 DC 表面分子 CD80、CD86 的表达

流式细胞术检测结果(图 1)显示,与 PBS + TCL 组相比,SK + TCL 组和 LPS + TCL 组 DC 中 CD80、CD86 的荧光强度均显著增加(均 $P < 0.01$),SK + TCL 组 DC 中 CD80、CD86 的荧光强度均显著低于 LPS + TCL 组(均 $P < 0.05$)。结果表明,SK + TCL 刺激可促进 DC 成熟,但 LPS + TCL 刺激可以更加有效地促进 DC 成熟。



A: 流式细胞术检测结果;B: 检测数据统计分析结果。与 PBS + TCL 组相比, ** $P < 0.01$; 与 LPS + TCL 相比, $\triangle P < 0.05$ 。

图 1 SK + TCL 刺激的 DC 疫苗可促进 DC 成熟

2.2 SK + TCL 刺激的 DC 疫苗与 T 细胞共培养液上清中 IL-12p70、IFN- γ 和 TNF- α 含量显著升高

ELISA 法检测结果(图 2)显示,与 PBS + TCL 组相比,SK + TCL 组和 LPS + TCL 组上清液中 IL-12p70、IFN- γ 和 TNF- α 的含量均显著上调(均 $P < 0.01$);与 LPS + TCL 组相比,SK + TCL 组上清中 IL-12p70、IFN- γ 的含量降低(均 $P < 0.01$),而 TNF- α 含量差异无统计学意义($P > 0.05$)。结果表明,SK + TCL 刺激的 DC 疫苗在与 T 细胞共培养可促进 IL-12p70、

IFN- γ 和 TNF- α 因子的分泌,但 LPS + TCL 刺激的 DC 疫苗对促进 IL-12p70、IFN- γ 分泌的效果更加显著。

2.3 SK + TCL 刺激的 DC 疫苗与 T 细胞共培养上调 T 细胞中 T-bet 和 ROR γ t 的表达

ELISA 法检测结果(图 3)显示,与 PBS + TCL 组相比,SK + TCL 组和 LPS + TCL 组 T-bet $^+$ CD4 $^+$ T、ROR γ t $^+$ CD4 $^+$ T 细胞比例均显著上调(均 $P < 0.01$);与 LPS + TCL 组相比,SK + TCL 组 T-bet $^+$ CD4 $^+$ T、ROR γ t $^+$ CD4 $^+$ T 细胞的差异具有统计学意义(均

$P < 0.01$);与PBS+TCL组和LPS+TCL组比,SK+TCL组Th1/Th17细胞比值显著上调($P < 0.01$)。结果表

明,SK+TCL刺激的DC疫苗均可促进T细胞向Th1、Th17细胞方向转化,且主要启动Th1细胞。

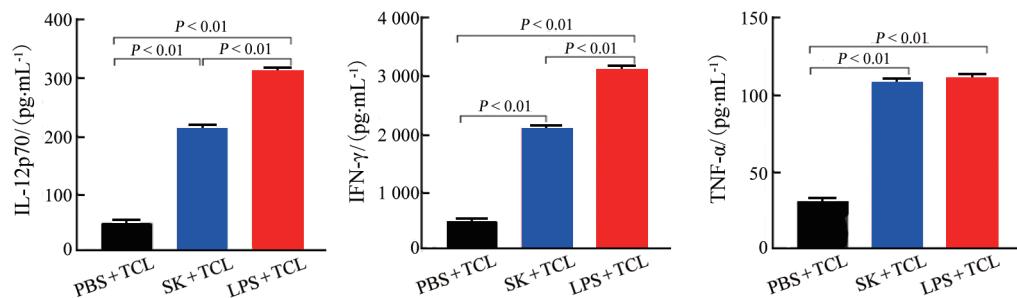
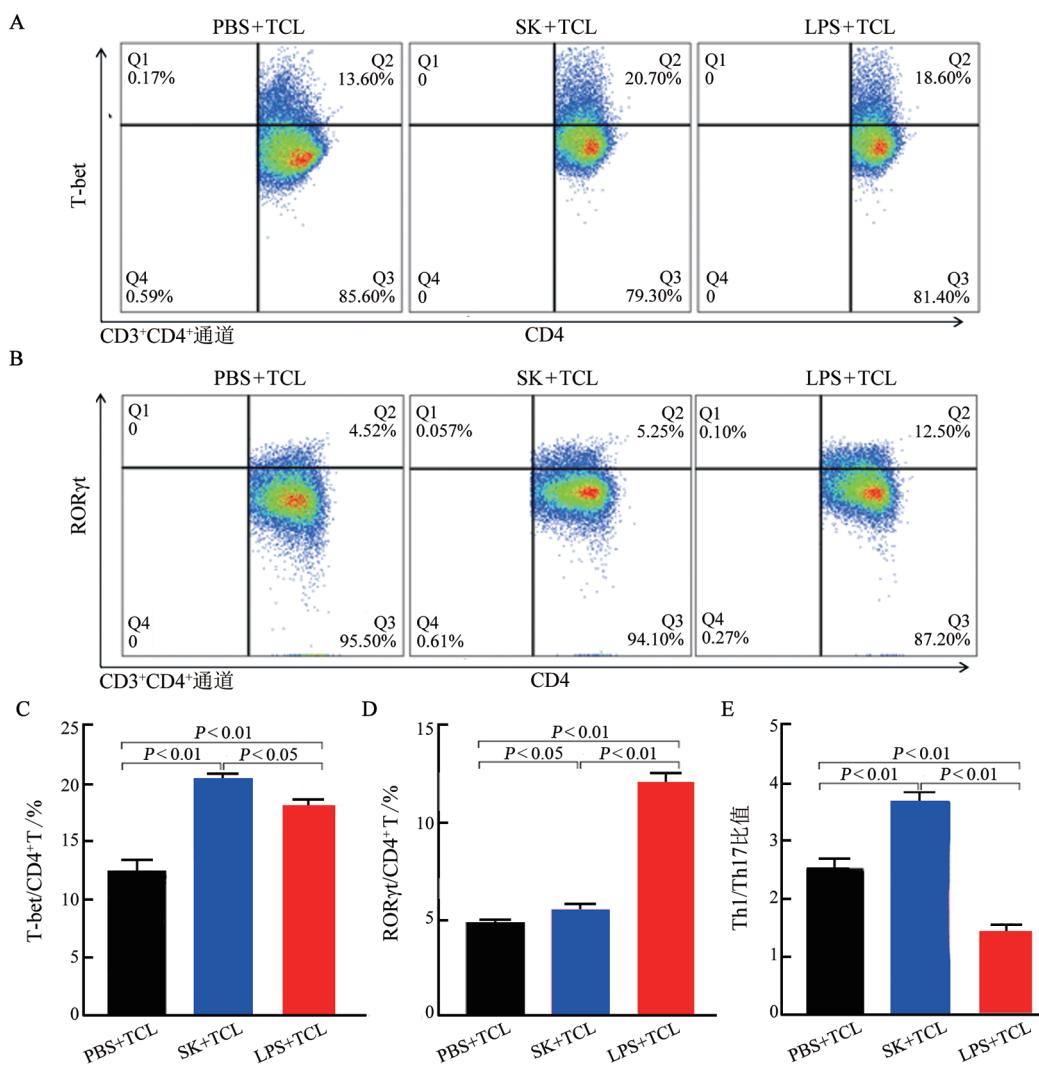


图2 SK+TCL或LPS+TCL刺激的DC疫苗与T细胞共培养对IL-12p70、IFN- γ 和TNF- α 含量的影响



A、B: 流式细胞术检测结果;C、D: 检测数据统计结果;E: Th1与Th17细胞比值。

图3 SK+TCL刺激的DC疫苗与T细胞共培养对T-bet、ROR γ t及Th1/Th17细胞比值的影响

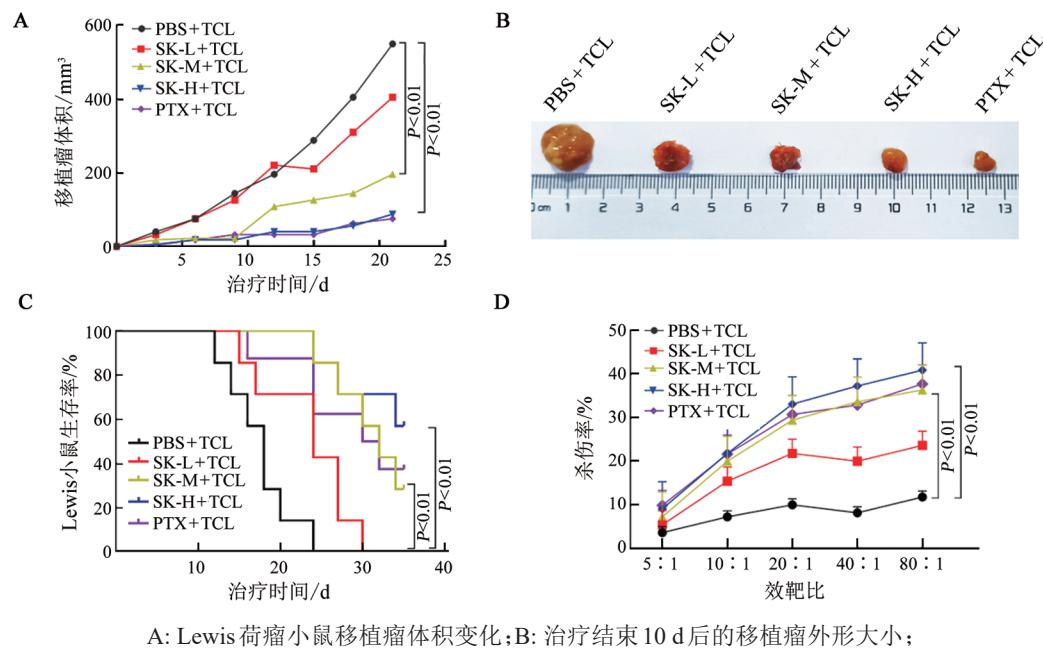
2.4 SK+TCL刺激的DC疫苗体内治疗Lewis肺癌荷瘤小鼠的效果

成功构建Lewis肺癌移植瘤小鼠模型。肿瘤体

积变化曲线显示,Lewis肺癌荷瘤小鼠前7 d肿瘤生长速度均较缓慢,但随着治疗时间的延长,与PBS+TCL组相比,SK-L+TCL组小鼠移植瘤体积迅速增大,差

异不显著($P > 0.05$);而SK-M + TCL与SK-H + TCL组小鼠肿瘤生长速度趋于平缓,差异具有统计学意义(均 $P < 0.01$,图4A、4B)。结果表明,SK + TCL刺激的DC疫苗可延缓Lewis肺癌荷瘤小鼠肿瘤生长。此外,与PBS + TCL组相比,SK治疗组Lewis肺癌荷瘤小鼠生存率均升高,其中SK-M + TCL与SK-H + TCL

组差异具有统计学意义($P < 0.01$,图4C);与PBS + TCL相比,经SK刺激DC疫苗治疗Lewis肺癌荷瘤小鼠可以提高脾CTL的杀伤能力,且SK-M + TCL与SK-H + TCL组差异具有统计学意义(均 $P < 0.01$,图4D)。



A: Lewis荷瘤小鼠移植瘤体积变化;B:治疗结束10 d后的移植瘤外形大小;

C: Lewis荷瘤小鼠的生存率;D: Lewis荷瘤小鼠脾CTL的杀伤率。

图4 SK + TCL刺激的DC疫苗对Lewis荷瘤小鼠体内治疗的影响

3 讨 论

肿瘤免疫疗法是一种通过调节机体免疫能力而诱导抗肿瘤效应的新兴治疗手段。因此,寻求肿瘤相关或特异性抗原、增强抗原的免疫原性是制备DC疫苗的关键。在本研究中,采用SK与3LL TCL刺激DC为复合物,通过检测该复合物对DC成熟和T细胞分化发育的影响来评估SK + TCL刺激DC肿瘤疫苗中的佐剂效应。研究结果表明,SK + TCL刺激DC表现出高水平的CD80和CD86,将DC激活到成熟状态。DC-T细胞共培养后,培养液上清中细胞因子IL-12p70、IFN- γ 和TNF- α 的含量上升,进而发现DC-T细胞共培养液上清中的Th1细胞的转录因子T-bet和Th17细胞的转录因子ROR γ t表达量均升高,表明SK + TCL刺激DC增强了Th1和Th17效应细胞的启动,且主要启动Th1类细胞免疫应答。与此同时,在动物实验中,根据相关文献^[15]设置了低、中、高剂量SK + TCL刺激DC疫苗组,探讨SK + TCL刺激的DC疫苗对荷瘤小鼠的治疗效果。结果发现,低、中、高剂量SK + TCL刺激的DC疫苗均可以在实验动物中产生有效的抗肿瘤免疫应答,延缓移植瘤生长和提

高小鼠存活率及强烈诱导脾T细胞的细胞毒性作用,且在高剂量SK + TCL刺激的DC疫苗组的抗肿瘤效果更为明显。

SK与TCL共同作用于DC,刺激DC中CD80、CD86的表达,促进DC的抗原提呈能力。CD80、CD86是协同刺激分子,DC通过这些分子提供激活T细胞第二活化信号,从而帮助效应T细胞启动^[16]。与此同时,成熟的DC还可以通过分泌IL-12p70,参与T细胞亚群的分化。IL-12p70作为一种免疫调节因子,可增强NK细胞和CD8 $^{+}$ T细胞的细胞毒活性,诱导IFN- γ 、TNF- α 等分泌^[17-18]。IFN- γ 可在NK细胞和活化的Th1与CD8 $^{+}$ T细胞收到抗原刺激后产生,直接促进肿瘤细胞凋亡或抑制肿瘤细胞增殖^[19]。TNF- α 作为免疫应答的关键细胞因子诱导的细胞效应非常广泛,如可溶性介质的释放、诱导基因表达、生长抑制和细胞毒作用等^[20]。T-bet和ROR γ t表达的升高,提示该疫苗启动了Th1和Th17细胞极化,且Th1细胞极化程度更高。有研究结果^[21]提示,在特定环境中Th17细胞可以转化为具有分泌IFN- γ 能力的Th1样表型细胞。因此,Th1和Th17细胞极化可以协同破坏3LL细胞^[22]。SK和PTX都具有抗肿瘤的作用,

PTX通过抑制纺锤体微管动力学发挥抗肿瘤反应^[23],当他们分别与TCL负载于DC上在Lewis肺癌荷瘤小鼠体内治疗后,SK+TCL组和PTX+TCL组均可抑制小鼠移植瘤的生长,延长小鼠生存期,提高脾CTL的杀伤率。因此,SK+TCL刺激的成熟DC不仅可以激活Th1细胞,还可以增强小鼠脾CTL的活性,从而抑制Lewis肺癌荷瘤小鼠移植瘤的生长并提高小鼠生存率。

综上所述,SK作为佐剂具有进一步开发的良好潜力,可用于TCL刺激的DC肿瘤疫苗,为未来的临床治疗NSCLC提供了理论依据,但肿瘤免疫治疗过程复杂,具体的机制有待进一步深入研究。接下来,课题组将通过WB等实验深入研究分析其可能影响Th1/Th17信号通路的相关机制,深入探讨SK作为佐剂用于TCL刺激的DC肿瘤疫苗对于肿瘤的治疗作用。

参 考 文 献

- [1] HOWLADER N, FORJAZ G, MOORADIAN M J, et al. The effect of advances in lung-cancer treatment on population mortality[J]. *N Engl J Med*, 2020, 383(7): 640-649. DOI: 10.1056/NEJMoa1916623.
- [2] 殷航, 廖成功, 王勇强, 等. 非小细胞肺癌组织中程序性死亡受体1的表达与表皮生长因子受体基因突变及临床病理特征和预后的关系[J]. 中华肿瘤杂志, 2017, 39(6): 419-423. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2017.06.004.
- [3] ELWAKEEL A, BRIDGEWATER H E, BENNETT J. Unlocking dendritic cell-based vaccine efficacy through genetic modulation-how soon is now?[J/OL]. *Genes*, 2023, 14(12): 2118[2024-03-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38136940/>. DOI: 10.3390/genes14122118.
- [4] 尹良伟, 王贺双, 刘鹏, 等. 光学分子活体成像监测评价MUC1-DC疫苗治疗乳腺癌MCF-7细胞裸鼠移植瘤的效果[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2021, 28(12): 1179-1185. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.12.005.
- [5] 周明书, 刘军, 白玉青, 等. 负载MtHSP70-PIGR的树突状细胞疫苗对子宫内膜癌的抑制作用[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2021, 28(6): 420-427. DOI: 10.16073/j.cnki.cjcpt.2021.06.03.
- [6] XUE W H, FAN Z R, LI Y Z, et al. Alkannin inhibited hepatic inflammation in diabetic Db/Db mice[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 45(6): 2461-2470. DOI: 10.1159/000488264.
- [7] ZHANG Z Q, BAI J, ZENG Y W, et al. Pharmacology, toxicity and pharmacokinetics of acetylshikonin: a review[J/OL]. *Pharm Biol*, 2020, 58(1): 950-958[2024-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7534356/>. DOI: 10.1080/13880209.2020.1818793.
- [8] WANG F F, MAYCA POZO F, TIAN D M, et al. Shikonin inhibits cancer through P21 upregulation and apoptosis induction[J/OL]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 861[2024-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7296065/>. DOI: 10.3389/fphar.2020.00861.
- [9] BOULOS J C, RAHAMMA M, HEGAZY M F, et al. Shikonin derivatives for cancer prevention and therapy[J]. *Cancer Lett*, 2019, 459: 248-267. DOI: 10.1016/j.canlet.2019.04.033.
- [10] GUO C J, HE J L, SONG X, et al. Pharmacological properties and derivatives of shikonin-a review in recent years[J/OL]. *Pharmacol Res*, 2019, 149: 104463[2024-03-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31553936/>. DOI: 10.1016/j.phrs.2019.104463.
- [11] DONG H, CHANG C D, GAO F, et al. The anti-leukemia activity and mechanisms of shikonin: a mini review[J/OL]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1271252[2024-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10651754/>. DOI: 10.3389/fphar.2023.1271252.
- [12] GULLA A, MORELLI E, SAMUR M K, et al. Bortezomib induces anti-multiple myeloma immune response mediated by cGAS/STING pathway activation[J/OL]. *Blood Cancer Discov*, 2021, 2(5): 468-483[2024-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8462183/>. DOI: 10.1158/2643-3230.BCD-21-0047.
- [13] LIN T J, LIN H T, CHANG W T, et al. Shikonin-enhanced cell immunogenicity of tumor vaccine is mediated by the differential effects of DAMP components[J/OL]. *Mol Cancer*, 2015, 14: 174[2023-12-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4582891/>. DOI: 10.1186/s12943-015-0435-9.
- [14] 张雪伟, 张燕丽, 文泽馨, 等. 红景天苷通过TLR4调控DC提高T细胞对肺癌3LL细胞的杀伤力[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2020, 27(1): 37-41. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.01.006.
- [15] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草-9[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [16] WEHR P, PURVIS H, LAW S C, et al. Dendritic cells, T cells and their interaction in rheumatoid arthritis[J/OL]. *Clin Exp Immunol*, 2019, 196(1): 12-27[2024-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6422662/>. DOI: 10.1111/cei.13256.
- [17] ZHOU W P, MIAO J X, CHENG Z G, et al. Hypoxia-regulated secretion of IL-12 enhances antitumor activity and safety of CD19 CAR-T cells in the treatment of DLBCL[J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2023, 30: 216-226. DOI: 10.1016/j.omto.2023.08.009.
- [18] 田永菊, 崔保霞, 马道新, 等. 白细胞介素21及白细胞介素12单用或联合应用对子宫内膜癌患者外周血单核细胞抗肿瘤活性的影响[J]. 中国医学科学院学报, 2011, 33(3): 292-298. DOI: 10.3881/j.issn.1000-503X.2011.03.017.
- [19] 崔立昆, 徐胜. IFN-γ在肿瘤免疫及免疫治疗中的作用[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2022, 29(2): 157-162. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.02.011.
- [20] HUYGHE J, PRIEM D, BERTRAND M J M. Cell death checkpoints in the TNF pathway[J]. *Trends Immunol*, 2023, 44(8): 628-643. DOI: 10.1016/j.it.2023.05.007.
- [21] MILLIER M J, FANNING N C, FRAMPTON C, et al. Plasma interleukin-23 and circulating IL-17A⁺IFN γ ⁺ ex-Th17 cells predict opposing outcomes of anti-TNF therapy in rheumatoid arthritis[J/OL]. *Arthritis Res Ther*, 2022, 24(1): 57[2024-03-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35219333/>. DOI: 10.1186/s13075-022-02748-3.
- [22] RICHTER F, PAGET C, APETOH L. STING-driven activation of T cells: relevance for the adoptive cell therapy of cancer[J/OL]. *Cell Stress*, 2023, 7(11): 95-104[2024-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10642958/>. DOI: 10.15698/cst2023.11.291.
- [23] ZHU L Y, CHEN L Q. Progress in research on paclitaxel and tumor immunotherapy[J/OL]. *Cell Mol Biol Lett*, 2019, 24: 40[2024-03-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31223315/>. DOI: 10.1186/s11658-019-0164-y.

[收稿日期] 2024-03-09

[修回日期] 2024-07-23

[本文编辑] 党瑞山