

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research

黄芩素靶向调控 CD47 对喉癌细胞凋亡、免疫逃逸的影响

Effects of baicalein targeting CD47 on apoptosis and immune escape of laryngeal carcinoma cells

高树峰¹, 王心涛¹, 游龙贵¹,
黄芸¹, 潘其彬¹, 卢晓华²(1. 赣州市人民医院 耳鼻咽喉头颈外科, 江西
赣州 341000; 2. 赣州市第五人民医院 五官科,
江西 赣州 341000)GAO Shu-feng¹, WANG Xin-tao¹,
YOU Long-gui¹, HUANG Yun¹,
PAN Qi-bin¹, LU Xiao-hua²(1. Department of Otolaryngology Head
and Neck Surgery, Ganzhou People's
Hospital, Ganzhou 341000, Jiangxi
Province, China; 2. Department of
Otolaryngology, Ganzhou Fifth People's
Hospital, Ganzhou 341000, Jiangxi
Province, China)作者简介:高树峰(1981-),男,副主任医师,主要
从事耳科、鼻科及咽喉头颈外科常见和
疑难疾病的临床诊治工作

通信作者:卢晓华,副主任医师

MP:13970142140

E-mail:luxiaohua1978@sina.com

摘要:目的 探讨黄芩素对喉癌细胞凋亡、免疫逃逸的影响及作用机制。方法 将人喉癌细胞 TU686 细胞随机分为对照组(常规培养)、黄芩素组($50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 黄芩素)、Vector 组(转染 Vector + $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的黄芩素)、CD47 组[转染分化簇 47(CD47) + $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的黄芩素]。用 5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(Edu)法、Annexin V-FITC/PI 双染法检测分别检测细胞增殖、凋亡情况,用蛋白质印迹法检测增殖、凋亡蛋白表达情况;并将人外周淋巴细胞分别与各组细胞共培养,检测淋巴细胞对 TU686 细胞杀伤率,观察 TU686 细胞的被吞噬率。结果 对照组、黄芩素组、Vector 组、CD47 组细胞 Edu 阳性细胞率分别为 $(36.24 \pm 2.74)\%$ 、 $(13.33 \pm 1.93)\%$ 、 $(14.22 \pm 1.48)\%$ 和 $(27.80 \pm 2.74)\%$, 凋亡率分别为 $(3.94 \pm 0.40)\%$ 、 $(28.40 \pm 1.76)\%$ 、 $(26.60 \pm 1.41)\%$ 和 $(12.33 \pm 0.84)\%$, CD47 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.11 、 0.42 ± 0.07 、 0.44 ± 0.06 和 1.21 ± 0.12 , 细胞周期素 D1(CyclinD1)蛋白相对表达水平分别为 0.86 ± 0.08 、 0.37 ± 0.05 、 0.36 ± 0.04 和 0.74 ± 0.08 , 裂解的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-7(CI-Caspase-7)蛋白相对表达水平分别为 0.35 ± 0.04 、 0.99 ± 0.12 、 1.00 ± 0.11 和 0.50 ± 0.06 , 人外周淋巴细胞对 TU686 细胞的杀伤率(1:1 比例共培养)分别为 $(10.61 \pm 1.19)\%$ 、 $(32.02 \pm 2.27)\%$ 、 $(31.86 \pm 2.06)\%$ 和 $(14.39 \pm 1.07)\%$, 细胞吞噬率分别为 $(6.35 \pm 0.71)\%$ 、 $(11.99 \pm 1.64)\%$ 、 $(12.03 \pm 0.76)\%$ 和 $(7.06 \pm 0.57)\%$, 黄芩素组的上述指标与对照组比较,CD47 组的上述指标与 Vector 组比较,在统计学上差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$)。结论 黄芩素可能通过抑制 CD47 表达诱导喉癌细胞凋亡、抑制喉癌细胞免疫逃逸,进而减缓喉癌进展。

关键词:黄芩素;喉癌;细胞凋亡;免疫逃逸;分化簇 47

DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.03.005

中图分类号:R28 文献标志码:A

文章编号:1001-6821(2025)03-0320-05

Abstract: Objective To investigate the effects of baicalein on apoptosis and immune escape of laryngeal carcinoma cells and its mechanism. **Methods** Human laryngeal carcinoma TU686 cells were randomly divided into control group (routine culture), baicalein group ($50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ baicalein), Vector group (transfected with Vector + $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ baicalein) and CD47 group [transfected with differentiation cluster 47 (CD47) + $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ baicalein]. Cell proliferation and apoptosis were detected by 5-acetylidene-2'-deoxyuridine (Edu) method and Annexin V-FITC/PI double staining method. The expression of proliferative and apoptotic proteins were detected by Western blot. Human peripheral lymphocytes were co-cultured

with cells in each group to detect the killing rate of TU686 cells. The phagocytosis rate of TU686 cells was observed.

Results The Edu positive cell rates in control group, baicalein group, Vector group and CD47 group were $(36.24 \pm 2.74)\%$, $(13.33 \pm 1.93)\%$, $(14.22 \pm 1.48)\%$ and $(27.80 \pm 2.74)\%$, respectively; the apoptosis rates were $(3.94 \pm 0.40)\%$, $(28.40 \pm 1.76)\%$, $(26.60 \pm 1.41)\%$ and $(12.33 \pm 0.84)\%$, respectively; the relative expressions of CD47 protein were 1.00 ± 0.11 , 0.42 ± 0.07 , 0.44 ± 0.06 and 1.21 ± 0.12 , respectively; the relative expression levels of CyclinD1 protein were 0.86 ± 0.08 , 0.37 ± 0.05 , 0.36 ± 0.04 and 0.74 ± 0.08 , respectively; the relative expression levels of cleaved cysteine aspartate proteinase - 7 (Cl - Caspase - 7) protein were 0.35 ± 0.04 , 0.99 ± 0.12 , 1.00 ± 0.11 and 0.50 ± 0.06 , respectively; the killing rates of human peripheral lymphocytes to TU686 cells (1:1 ratio) were $(10.61 \pm 1.19)\%$, $(32.02 \pm 2.27)\%$, $(31.86 \pm 2.06)\%$ and $(14.39 \pm 1.07)\%$, respectively; the phagocytosis rates were $(6.35 \pm 0.71)\%$, $(11.99 \pm 1.64)\%$, $(12.03 \pm 0.76)\%$ and $(7.06 \pm 0.57)\%$, respectively. The above indicators, baicalein group compared with the control group, Vector group compared with CD47 group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$). **Conclusion** Baicalein may induce the apoptosis of laryngeal carcinoma cells and inhibit the immune escape of laryngeal carcinoma cells by inhibiting the expression of CD47, thus slowing down the progression of laryngeal carcinoma.

Key words: baicalein; laryngeal cancer; cell apoptosis; immune escape; differentiation cluster 47

喉癌是上呼吸道及消化道最常见的恶性肿瘤之一,化疗和手术是治疗喉癌的主要策略,然而大多数晚期喉癌患者治疗效果较差^[1]。黄芩素是一种活性多酚化合物,分离自黄芩,多个研究已经证实其在包括喉癌在内的多种癌症中均具有抑癌作用^[2-3]。分化簇47(differentiation cluster 47,CD47)是一种免疫调节剂,其可通过与其配体结合在癌症中发挥促癌作用^[4]。本研究旨在探讨黄芩素靶向调控CD47对喉癌细胞生长及免疫逃逸的作用。

材料与方法

1 材料

细胞 人喉癌细胞TU686,购自美国ATCC公司。

临床样本 人外周血样本(5 mL),来自赣州市人民医院1位健康志愿者。本研究经赣州市人民医院伦理委员会批准(伦理批号:JL202401002)。受试者签署知情同意书。

药品与试剂 黄芩素,规格:1 kg,纯度:99%,批号:240305,购自湖北信康医药化工有限公司。细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8)、5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(5-ethynyl-2'-deoxyuridine, Edu)细胞增殖试剂盒、Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒,均购自上海碧云天生物公司;淋巴细胞分离试剂盒,购自苏州汇智和源生物技术有限公司;CFSE及eFluor-670荧光染料,均购自美国赛默飞世

尔公司;兔抗CD47、细胞周期素D1(Cyclin D1)、细胞核相关抗原Ki67(nuclear associated antigen Ki67,Ki67)、Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)、B淋巴细胞瘤-2基因(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、裂解的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(cleaved cysteine aspartate proteinase, Cl - Caspase)-7、Cl - Caspase-3抗体,均购自美国Abcam公司。

仪器 LSR Fortessa 18流式细胞仪,美国BD公司产品;Varioskan Flash多功能酶标仪,美国赛默飞世尔科技公司产品;Axio Observer荧光显微镜,德国蔡司公司产品;Ti-EA1激光共聚焦显微镜,日本Nikon公司产品。

2 实验方法

2.1 细胞培养^[5]

用含10%胎牛血清和1%双抗的RPMI1640培养基对TU686细胞进行培养,置于培养箱(37℃,5%CO₂)中培养。

2.2 细胞分组与处理方法

TU686细胞被随机分为对照组、黄芩素组、Vector组、CD47组。对照组细胞根据“2.1”方法进行常规培养;黄芩素组细胞用50 μmol·L⁻¹黄芩素[用二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)溶解,用培养液进行稀释]处理细胞48 h;Vector组先将过表达空载体Vector转染(Lipofectamine 2000)至细胞,48 h后再用50 μmol·L⁻¹黄芩素继续刺激48 h;CD47组将CD47过表达质粒转染至细胞,转染48 h后用50 μmol·L⁻¹黄芩素继续处理48 h。

2.3 CCK-8 实验检测细胞增殖情况^[5]

收集对数期生长的 TU686 细胞,用浓度为 0、10.0、25.0 和 50.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 黄芩素处理细胞,并设置空白组,分别在处理 24、48、72 h 后每孔加入 CCK-8 检测试剂 10 μL ,孵育 2 h 后用酶标仪测定 450 nm 的光密度值。

2.4 蛋白质印迹法检测蛋白相对表达水平^[6]

充分裂解各组细胞,提取总蛋白并检测浓度,进行电泳分离蛋白后转膜,5% 脱脂奶粉封闭 2 h,加入 CD47、CyclinD1、Ki67、Bax、Bcl-2、Cl-Caspase-7、Cl-Caspase-3 一抗稀释液摇床孵育过夜(4 $^{\circ}\text{C}$),次日用二抗室温孵育 60 min,加入显影液后曝光、显影、分析灰度值。

2.5 Edu 实验检测细胞增殖情况^[7]

将提前稀释好的 Edu 工作液分别加入到各组细胞中,在培养箱中孵育,2 h 后进行固定(4% 多聚甲醛) 20 min,用 0.3% Triton X-100 试剂处理细胞 0.5 h,然后加入 Click 反应液孵育 0.5 h,4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)试剂进行核染,用显微镜进行观察并记录。

2.6 Annexin V-FITC/PI 双染法检测细胞凋亡情况^[8]

将肿瘤细胞接种在 24 孔板中,培养贴壁后进行分组处理,结束后对细胞重悬并计数,然后根据 Annexin V-FITC/PI 凋亡试剂盒检测各组细胞凋亡率。

2.7 人外周淋巴细胞对 TU686 细胞杀伤力的检测^[8]

根据外周淋巴细胞分离试剂盒操作说明分离淋巴细胞,然后用培养基(含 10% 胎牛血清和 1% 双抗)进行培养,消化传代后分别与对照组、黄芩素、Vector 组、CD47 组 TU686 细胞共培养,外周淋巴细胞与 TU686 细胞的共培养比例分别为 1:1、1:2、2:1;共培养 24 h 后弃去淋巴细胞后参考“2.3”描述的方法检测光密度值。杀伤率(%) = $[1 - (\text{实验组光密度值}) / (\text{对照组光密度值})] \times 100\%$ 。

值) / 对照组光密度值] $\times 100\%$ 。

2.8 TU686 与巨噬细胞共培养观察巨噬细胞吞噬作用

取人外周血样本,经磁珠分选后得到的单核细胞溶液,根据参考文献方法[9]提取巨噬细胞。

根据参考文献[10]步骤,用 CFSE 荧光染料对 TU686 细胞进行标记,用 eFLUOR 670 对巨噬细胞进行标记,然后将被标记 TU686 细胞分别与巨噬细胞进行共培养,并根据“2.2”中分组方法进行药物处理,结束后,用多聚甲醛进行固定,封片后用激光共聚焦显微镜观察。

3 统计学处理

用 SPSS 23.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间两两比较用独立样本 t 检验,组间比较用单因素方差分析。

结 果

1 黄芩素对细胞增殖及 CD47 表达的影响

25.0、50.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组与 0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较,细胞 24、48 和 72 h 的光密度值及 CD47 蛋白相对表达水平均显著降低($P < 0.05, P < 0.01, P < 0.001$); 25.0、50.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组与 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较,细胞 48 和 72 h 的光密度值及 CD47 蛋白相对表达水平均显著降低($P < 0.05, P < 0.01$),见表 1; 50.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组与 25.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较,细胞 48、72 h 的光密度值及 CD47 蛋白相对表达水平均显著降低($P < 0.05, P < 0.01$)。

2 黄芩素调节 CD47 表达对癌细胞增殖的影响

对照组常规培养,黄芩素组用 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 黄芩素处理细胞,Vector 组转染 Vector 质粒并用 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 黄芩素处理,CD47 组转染 CD47 质粒并用 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 黄芩素处理。

黄芩素组与对照组比较,细胞 CD47、Cyclin D1、Ki67 蛋白相对表达水平和细胞增殖率均显著降低(均

表 1 各组细胞光密度值和分化簇 47(CD47)蛋白相对表达水平的比较($\bar{x} \pm s, n = 9$)

Table 1 Comparison of optical density and differentiation cluster 47 (CD47) protein expression in each group($\bar{x} \pm s, n = 9$)

Group	Optical density			CD47
	24 h	48 h	72 h	
0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	0.34 $\pm$ 0.02	0.60 $\pm$ 0.05	1.07 $\pm$ 0.14	0.94 $\pm$ 0.07
10.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	0.33 $\pm$ 0.06	0.49 $\pm$ 0.05 *	0.82 $\pm$ 0.06 *	0.71 $\pm$ 0.09 *
25.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	0.28 $\pm$ 0.04 *	0.41 $\pm$ 0.05 * * #	0.70 $\pm$ 0.08 * #	0.59 $\pm$ 0.04 * * * #
50.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	0.27 $\pm$ 0.02 * * #	0.32 $\pm$ 0.04 * * * ## @	0.56 $\pm$ 0.05 * * * ## @	0.41 $\pm$ 0.04 * * * ## @

Compared with 0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; Compared with 10.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; Compare with 25.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ group, @ $P < 0.05$, @@ $P < 0.01$.

表2 各组细胞 CD47、增殖相关蛋白表达及增殖率的比较($\bar{x} \pm s$)Table 2 Comparison of CD47, proliferation-related protein expression and proliferation rate in each group($\bar{x} \pm s$)

Group	n	CD47	Cyclin D1	Ki67	Edu positive rate (%)
Control	9	1.00 ± 0.11	0.86 ± 0.08	0.94 ± 0.11	36.24 ± 2.74
Baicalein	9	0.42 ± 0.07***	0.37 ± 0.05***	0.42 ± 0.04***	13.33 ± 1.93***
Vector	9	0.44 ± 0.06	0.36 ± 0.04	0.41 ± 0.07	14.22 ± 1.48
CD47	9	1.21 ± 0.12###	0.74 ± 0.08##	0.88 ± 0.10###	27.80 ± 2.74###

Compared with control group, *** $P < 0.01$; Compared with Baicalein group, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$; Control group: Routine culture; Baicalein group: 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ baicalein; Vector group: Transfected with Vector + 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ baicalein; CD47 group: Transfected with CD47 + 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ baicalein; Ki67: Nuclear associated antigen Ki67; EdU: 5-acetylene-2'-deoxyuridine.

表3 各组细胞增殖凋亡蛋白表达及凋亡率的比较($\bar{x} \pm s$)Table 3 Comparison of apoptosis protein expression and apoptosis rate in all groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Bax/Bcl-2	Cl-Caspase-7	Cl-Caspase-3	Apoptosis rate (%)
Control	9	0.35 ± 0.05	0.35 ± 0.04	0.41 ± 0.06	3.94 ± 0.40
Baicalein	9	1.56 ± 0.26***	0.99 ± 0.12***	1.06 ± 0.08***	28.40 ± 1.76***
Vector	9	1.66 ± 0.28	1.00 ± 0.11	1.05 ± 0.10	26.60 ± 1.41
CD47	9	0.49 ± 0.07###	0.50 ± 0.06###	0.64 ± 0.06###	12.33 ± 0.84###

Dose refer to table 2; Compared with control group, *** $P < 0.001$; Compared with Vector group, ### $P < 0.001$; Bcl-2: B-cell lymphoma-2; Bax: Bcl-2 associated X protein; Cl-Caspase: Cleaved cysteine aspartate proteinase.

$P < 0.001$); CD47 组与 Vector 组比较, 细胞 CD47、CyclinD1、Ki67 蛋白相对表达水平及细胞增殖率均显著升高($P < 0.01$, $P < 0.001$), 见表 2。

3 黄芩素调节 CD47 表达对癌细胞凋亡的影响

黄芩素组与对照组比较, 细胞凋亡蛋白(Bax/Bcl-2、Cl-Caspase-7 和 Cl-Caspase-3)及细胞凋亡率均显著升高(均 $P < 0.001$); CD47 组与 Vector 组比较, 细胞凋亡蛋白(Bax/Bcl-2、Cl-Caspase-7 和 Cl-Caspase-3)及细胞凋亡率均显著下降(均 $P < 0.001$), 见表 3。

4 黄芩素调节 CD47 表达调节癌细胞免疫逃逸

黄芩素组与对照组比较, 不同比例细胞共培养后淋巴细胞对 TU686 细胞的杀伤率均显著升高(均 $P < 0.001$); CD47 组与 Vector 组比较, 不同比例细胞共培养后淋巴细胞对 TU686 细胞的杀伤率均显著下降(均 $P < 0.001$), 见表 4。

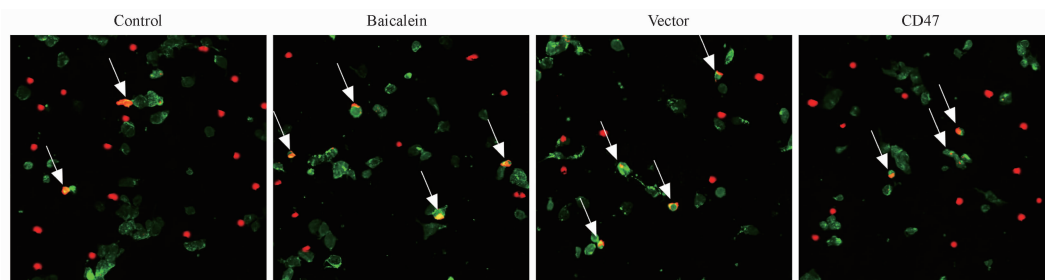
表4 人外周淋巴细胞对各组 TU686 细胞的杀伤率比较($\bar{x} \pm s$, $n=9$)Table 4 Comparison of killing rate of TU686 cells by human peripheral lymphocytes in each group($\bar{x} \pm s$, $n=9$)

Group	Kill rate (%)		
	1:1	1:2	2:1
Control	10.61 ± 1.19	7.67 ± 0.60	13.99 ± 1.75
Baicalein	32.02 ± 2.27***	28.18 ± 2.03***	44.08 ± 3.35***
Vector	31.86 ± 2.06	26.87 ± 2.38	43.64 ± 4.18
CD47	14.39 ± 1.07###	12.68 ± 1.17###	19.06 ± 1.90###

Compared with control group, *** $P < 0.001$; Compared with Vector group, ### $P < 0.001$.

5 黄芩素调控 CD47 增强巨噬细胞对 TU686 细胞的吞噬作用

如图 1 所示, 对照组、黄芩素组、Vector 组、CD47 组细胞吞噬率分别为(6.35 ± 0.71)%、(11.99 ± 1.64)%、

图1 巨噬细胞对 TU686 细胞的吞噬作用($\times 200$, 箭头表示共定位细胞)Figure 1 Phagocytosis of macrophages on TU686 cells($\times 200$, the arrows represent the co-localizable cells)

(12.03 ± 0.76)% 和 (7.06 ± 0.57)%。黄芩素组与对照组相比,细胞吞噬率明显升高($P < 0.01$);CD47 组与 Vector 组比较,细胞吞噬率明显降低($P < 0.01$)。

讨 论

黄芩素是传统中药黄芩干燥根中主要存在的活性黄酮类化合物之一,研究表明,黄芩素能够抑制细胞增殖并诱导细胞凋亡,此外,黄芩素还可以通过调节各种细胞信号通路发挥抗癌作用^[2]。在本研究中,通过 CCK-8 实验观察到,不同剂量的黄芩素处理后,TU686 细胞的增殖活性均显著降低,且随着黄芩素剂量的增加而不断降低,这与王剑等^[3]研究结果一致,提示黄芩素对喉癌细胞的生长具有抑制作用。CD47 已被证实多种类型的肿瘤细胞中高表达,是多种癌症发展和进展的重要肿瘤抗原^[11]。本研究发现,黄芩素可呈剂量依赖性降低 TU686 细胞中 CD47 蛋白相对表达水平,这提示,黄芩素可能通过调控 CD47 抑制喉癌细胞生长。

本研究通过蛋白质印迹和 Edu 实验发现,黄芩素可显著抑制 CyclinD1、Ki67 蛋白表达,并抑制 TU686 细胞增殖。CyclinD1、Ki67 蛋白是常用的细胞增殖蛋白生物标志物,其表达的升高提示细胞增殖率提高^[12]。同时本研究中还观察到,黄芩素可显著上调促凋亡蛋白 Bax/Bcl-2、Cl-Caspase-7、Cl-Caspase-3 表达水平,并显著诱导细胞凋亡,这提示黄芩素可通过抑制细胞增殖、诱导凋亡在喉癌中发挥抑癌作用。而黄芩素对 TU686 细胞增殖的抑制作用及对 TU686 细胞凋亡的促进作用均被高表达的 CD47 逆转,这提示黄芩素可通过调节 CD47 的表达抑制喉癌进展。

研究已经证实,CD47 可调节 T 细胞、B 细胞和树突状细胞的活化、中性粒细胞的迁移和巨噬细胞的吞噬作用;CD47 在各种癌细胞中高表达,其可与巨噬细胞上的同源受体信号调节蛋白 α 结合,激活酪氨酸磷酸酶,抑制吞噬突触位点上肌凝蛋白的积累,弱化巨噬细胞的吞噬信号,导致癌细胞逃离免疫^[9,13-14]。在本研究中,本课题组通过将人外周淋巴细胞与 TU686 细胞共培养,发现在黄芩素刺激下,淋巴细胞对 TU686 细胞的杀伤率显著提高,而过表达 CD47 后,淋巴细胞对 TU686 细胞的杀伤力被显著削弱;此外还发现,黄芩素治疗后,可显著

提高巨噬细胞对 TU686 细胞的吞噬作用,而高表达 CD47 可显著逆转这种吞噬作用,本研究结果提示黄芩素可通过抑制 CD47 的表达,减少其与巨噬细胞上的同源受体信号调节蛋白 α 结合,进而恢复巨噬细胞的吞噬作用,抑制肿瘤细胞免疫逃逸。

参考文献:

- [1] OBID R, REDLICH M, TOMEH C. The treatment of laryngeal cancer [J]. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*, 2019, 31(1): 1-11.
- [2] 韩安强, 石丹勤. 黄芩素抗肿瘤机制的研究进展[J]. *中国中医药科技*, 2020, 27(3): 501-503.
- [3] 王剑, 孙永东, 周兴玮, 等. 黄芩素介导自噬经由 miR-449a/HDAC1 轴抑制喉癌细胞增殖及迁移的机制研究[J]. *中国比较医学杂志*, 2023, 33(10): 45-53.
- [4] 郭楚鸿, 吴砂, 王薇. CD47-SIRP α 与妇科恶性肿瘤相关性的研究进展[J]. *实用妇产科杂志*, 2020, 36(8): 591-595.
- [5] 程忠强, 蒋成义, 王伟, 等. TRIB3 激活 Wnt/ β -catenin 信号通路对喉癌 TU686 细胞体外生长增殖及移植瘤小鼠外周免疫抑制分子表达的影响[J]. *中国免疫学杂志*, 2023, 39(12): 2595-2600.
- [6] 田朝晖, 廖生伟, 夏伟, 等. 竹节香附素 A 体外诱导乳腺癌细胞凋亡的作用机制研究[J]. *世界中医药*, 2023, 18(15): 2166-2172.
- [7] 陈桂美, 毛娟. 茯苓酸对具核梭杆菌诱导的肠上皮细胞炎症反应的抑制作用及机制的研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2024, 40(4): 544-548.
- [8] 张丹, 王翠霞, 汤云. 党参炔苷调节 TIM3/Gal9 信号通路对子宫内膜癌细胞增殖、凋亡和免疫逃逸的影响[J]. *标记免疫分析与临床*, 2024, 31(3): 512-518, 544.
- [9] 王杨阳. CD47 在急性髓细胞白血病中表达水平及其对巨噬细胞靶向吞噬的调控[D]. 安徽 合肥: 安徽医科大学, 2023.
- [10] 张京扬. 纳米载体共递送药物调控肿瘤相关巨噬细胞吞噬功能改善肿瘤免疫治疗的研究[D]. 广东 广州: 华南理工大学, 2022.
- [11] JIANG Z, SUN H, YU J, et al. Targeting CD47 for cancer immunotherapy[J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 180.
- [12] 叶丹. 甲状腺微小乳头状癌 Ki67、Cyclin D1、p27 表达及超声特征与中央区淋巴结转移的关系[D]. 浙江 宁波: 宁波大学, 2021.
- [13] 张凯棋, 常绪生, 徐袁, 等. 基于 CD47/信号调节蛋白 α 信号轴的肿瘤联合治疗策略[J]. *海军军医大学学报*, 2023, 44(5): 602-608.
- [14] WANG J, ZHANG H, YIN X, et al. Anti-CD47 antibody synergizes with cisplatin against laryngeal cancer by enhancing phagocytic ability of macrophages[J]. *Clin Exp Immunol*, 2021, 205(3): 333-342.

(收稿日期 2024-08-12)