

# 三白草酮调节PD-1/PD-L1信号通路对食管癌细胞恶性生物学行为及免疫抑制的影响

骆晴 刘明伟\*

(宝鸡市中心医院胸外科, 宝鸡 721008)

**摘要** 该文旨在探究三白草酮(Sau)对食管癌细胞恶性生物学行为、免疫抑制的影响以及对PD-1/PD-L1信号通路的调控机制。培养人食管癌细胞KYSE-510和正常食管上皮细胞系Het-1A, 用不同浓度Sau处理细胞, 以CCK-8法检测细胞存活率。将KYSE-510细胞随机分为KYSE-510组、Sau低浓度(Sau-L)组、Sau中浓度(Sau-M)组、Sau高浓度(Sau-H)组和Sau-H+pcDNA-PD-1组。采用CCK-8法检测各组KYSE-510细胞存活率; 采用平板克隆实验检测各组KYSE-510细胞的克隆形成情况; 采用Transwell实验检测各组KYSE-510细胞的迁移及侵袭情况; 采用流式细胞术检测各组KYSE-510细胞的凋亡情况; 采用免疫印迹法(Western blot)检测各组细胞中PD-1/PD-L1信号通路相关蛋白以及血管内皮生长因子(VEGF)、转化生长因子 $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)的相对表达水平。结果显示, Sau对KYSE-510细胞增殖的抑制作用比对Het-1A更显著。与KYSE-510组相比, Sau-L组、Sau-M组和Sau-H组细胞存活率、克隆形成数量、迁移和侵袭细胞数以及PD-1、PD-L1、VEGF、TGF- $\beta$ 1蛋白表达水平均降低( $P < 0.05$ ), 细胞凋亡率升高( $P < 0.05$ ); 而在高浓度Sau处理的KYSE-510细胞中过表达PD-1则逆转了以上指标的变化趋势( $P < 0.05$ )。总之, Sau能够抑制食管癌细胞的恶性生物学行为, 解除免疫抑制, 其机制可能与PD-1/PD-L1信号通路被抑制有关。

**关键词** 食管癌; 三白草酮; 恶性生物学行为; 免疫抑制; PD-1/PD-L1信号通路

## Effects of Sauchinone on the Malignant Biological Behaviors and Immune Suppression of Esophageal Cancer Cells by Regulating the PD-1/PD-L1 Signaling Pathway

LUO Qing, LIU Mingwei\*

(Department of Thoracic Surgery, Baoji Central Hospital, Baoji 721008, China)

**Abstract** The objective of this study was to investigate the effects of Sau (sauchinone) on the malignant biological behaviors and immune suppression of esophageal cancer cells, and its regulatory mechanism on the PD-1/PD-L1 signaling pathway. Human esophageal cancer cells KYSE-510 and normal esophageal epithelial cell line Het-1A were cultured and treated with different concentrations of Sau. The cell survival rate was detected by CCK-8 method. KYSE-510 cells were randomly separated into KYSE-510 group, Sau low-concentration (Sau-L) group, Sau medium-concentration (Sau-M) group, Sau high-concentration (Sau-H) group, and Sau-H+pcDNA-PD-1 group. CCK-8 method was applied to detect the survival rate of KYSE-510 cells. Plate cloning experiment

收稿日期: 2024-01-26

接受日期: 2024-05-22

宝鸡市卫生健康科研项目(批准号: 2021-015)资助的课题

\*通信作者。Tel: 13991736303, E-mail: t58hyf@163.com

Received: January 26, 2024

Accepted: May 22, 2024

This work was supported by the Baoji City Health Research Project (Grant No.2021-015)

\*Corresponding author. Tel: +86-13991736303, E-mail: t58hyf@163.com

was applied to detect the clonogenesis ability of KYSE-510 cells. Transwell experiment was applied to detect the migration and invasion abilities of KYSE-510 cells. Flow cytometry was applied to detect the apoptosis of KYSE-510 cells. Western blot was applied to detect the relative expression levels of PD-1/PD-L1 signaling pathway-related proteins, VEGF (vascular endothelial growth factor), and TGF- $\beta$ 1 (transforming growth factor- $\beta$ 1). The results showed that the inhibitory effect of Sau on the proliferation of KYSE-510 cells was more significant than that of Het-1A. Compared with the KYSE-510 group, the cell survival rate, clone formation quantity, migration and invasion cell numbers, the protein expression levels of PD-1, PD-L1, VEGF, and TGF- $\beta$ 1 in the Sau-L, Sau-M, and Sau-H groups all reduced ( $P < 0.05$ ), while the cell apoptosis rate increased ( $P < 0.05$ ). However, overexpression of PD-1 in KYSE-510 cells treated with high concentration of Sau reversed the trend of changes of the above indicators ( $P < 0.05$ ). In conclusion, Sau can inhibit the malignant biological behaviors of esophageal cancer cells, relieve immune suppression, and its mechanism may be related to the inhibition of the PD-1/PD-L1 signaling pathway.

**Keywords** esophageal cancer; sauchinone; malignant biological behavior; immunosuppression; PD-1/PD-L1 signaling pathway

食管癌是原发于食管的恶性肿瘤疾病,近年来该疾病的发病率逐渐上升。尽管目前临床诊疗技术处于不断发展的进程中,但由于食管癌极易转移和复发,导致患者预后状态较差,严重影响患者的生命健康及安全<sup>[1-2]</sup>。因此寻找能够调控食管癌细胞恶性生物学行为的药物及治疗靶点具有重要意义。三白草酮(sauchinone, Sau)是从药食两用植物三白草中所分离提取出来的活性成分,研究表明Sau作用于人体时能够发挥清热解毒、消肿利尿及抗炎等作用<sup>[3-4]</sup>,而近来有学者发现Sau还能够通过调控相关信号通路抑制肺腺癌、乳腺癌等恶性肿瘤细胞的增殖、迁移、侵袭等恶性生物学行为<sup>[5-8]</sup>。程序性细胞死亡蛋白-1(programmed cell death protein-1, PD-1)作为一种免疫调节受体,主要由T细胞、淋巴细胞以及树突状细胞等免疫相关细胞合成及分泌<sup>[9]</sup>。相关研究表明,程序性死亡配体1(programmed death-ligand 1, PD-L1)是PD-1的配体,PD-1/PD-L1信号通路参与并影响机体的免疫调控机制,抑制宿主的抗肿瘤作用,促使肿瘤免疫逃逸的发生<sup>[10-12]</sup>。近期研究显示,Sau通过下调PD-1/PD-L1通路相关蛋白表达来抑制结直肠癌细胞的生长<sup>[13]</sup>。但目前有关PD-1/PD-L1信号通路对食管癌细胞恶性生物学行为及免疫抑制的影响研究较少,因此本研究基于PD-1/PD-L1信号通路探究了Sau对食管癌细胞恶性生物学行为及免疫抑制的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂及仪器

人食管癌细胞KYSE-510(货号: A3091)和正常食

管上皮细胞系Het-1A(货号: Y1220)购自上海酶研生物科技有限公司;三白草酮(纯度 $\geq 98\%$ ,货号: S99480)购自上海吉至生化科技有限公司;RPMI-1640培养基(货号: abs9484)购自上海爱必信生物科技有限公司;CCK-8细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒(货号: BB-4202)购自上海贝博生物科技有限公司;结晶紫染液(货号: OX02581)购自上海圻明生物科技有限公司;PD-1(货号: ab256704)、PD-L1(货号: ab205921)、血管内皮生长因子(VEGF)(货号: ab32152)、转化生长因子 $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)(货号: ab215715)、GAPDH(货号: ab182603)一抗均购自美国Abcam公司;山羊抗兔IgG二抗(货号: S0001)、酶标仪(型号: HBS-1096A)购自上海研卉生物科技有限公司;ECL试剂盒(货号: 3502)购自上海雅吉生物科技有限公司;流式细胞仪(型号: NovoCyt)购自上海然哲仪器设备有限公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养** 正常食管上皮细胞系Het-1A和人食管癌细胞KYSE-510采用含有10% FBS和1%青/链霉素的RPMI-1640培养基培养(37 °C、5% CO<sub>2</sub>),待细胞融合率高于80%后进行传代。选择传至第三代且生长状态良好的细胞用于后续实验。

**1.2.2 Sau浓度筛选** 将Het-1A和KYSE-510细胞接种于96孔板,在37 °C、5% CO<sub>2</sub>下培养24 h。然后,将培养基换成含有Sau的新鲜培养基,Sau浓度为0、6.25、12.5、25、50和100  $\mu\text{mol/L}$ ,37 °C、5% CO<sub>2</sub>培养48 h。用酶标仪测定450 nm波长处的细胞吸光度(D)值并计算细胞存活率。细胞存活率(%)=[(加药细胞D-空白D)/(对照细胞D-空白D)] $\times 100\%$ 。

**1.2.3 细胞分组** 将上述细胞随机分为KYSE-510组、Sau低浓度(Sau-L)组、Sau中浓度(Sau-M)组、Sau高浓度(Sau-H)组和Sau-H+pcDNA-PD-1组。KYSE-510组为正常条件下培养24 h的KYSE-510细胞; Sau-L组、Sau-M组和Sau-H组根据文献[7]和预实验结果分别采用含有12.5、25、50  $\mu\text{mol/L}$  Sau的培养基在37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ 下培养, Sau-H+pcDNA-PD-1组细胞转染pcDNA-PD-1质粒48 h后再用含有50  $\mu\text{mol/L}$  Sau的培养基培养。

**1.2.4 CCK-8法检测各组KYSE-510细胞存活率** 按照1.2.3中的分组将细胞分别接种至含有100  $\mu\text{L}$ 培养液的96孔板( $1 \times 10^4$ 个/孔)中, 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ 培养2天, 然后于每孔中加入20  $\mu\text{L}$ 的CCK-8溶液再次培养2 h, 吸取适量培养液并采用酶标仪测定其在450 nm波长处的吸光度值, 读取数值并以此计算各组细胞存活率。

**1.2.5 平板克隆实验检测各组KYSE-510细胞克隆形成数量** 取1.2.3中各组细胞分别接种至6孔板( $5 \times 10^2$ 个/孔)中, 于37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ 培养14天, 随后弃去培养液, 用4%甲醛溶液室温固定细胞并用结晶紫染液室温染色15 min, 拍照, 采用ImageJ软件对图像进行处理, 分析并计算菌落形成数量。

**1.2.6 Transwell实验检测各组细胞的迁移及侵袭情况** 迁移能力的测定: 将1.2.3中各组细胞接种至含有无血清培养基的Transwell上室( $1 \times 10^4$ 个/孔)中, 并于下室中加入含有10% FBS的培养基, 培养(37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ ) 1天后清除上室膜内的细胞并采用4%甲醇室温固定穿过膜且黏附在膜外的细胞, 结晶紫染液室温染色, PBS充分洗涤3次, 每次5 min。

侵袭能力的测定: 将细胞接种至含有基质胶的Transwell上室中培养(37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ ), 后续步骤同迁移实验一样。随后于倒置显微镜下观察, 随机选择10个视野( $\times 200$ )对各组发生迁移及侵袭的细胞计数, 计算并记录平均数。

**1.2.7 流式细胞术检测各组细胞凋亡情况** 将1.2.3中各组细胞接种至6孔板( $2 \times 10^5$ 个/孔)中, 待培养至细胞融合率达到80%时进行细胞重悬、收集, 并用PBS充分洗涤2次, 每次3 min, 然后在室温下将其重悬于含有5  $\mu\text{L}$  Annexin V和5  $\mu\text{L}$ 碘化丙锭(PI)的缓冲液中孵育30 min。采用流式细胞仪分析细胞凋亡情况, 并计算细胞凋亡率。凋亡率为流式细胞图右上和右下象限的百分率之和。

**1.2.8 Western blot检测PD-1/PD-L1信号通路相关蛋白及VEGF、TGF- $\beta$ 1的表达水平** 从1.2.3中各组细胞中提取总蛋白并检测总蛋白含量, 随后将细胞置于98  $^{\circ}\text{C}$ 温度下变性10 min使其发生变性, 并采用10% SDS-PAGE凝胶电泳进行分离, 湿法转膜并加入脱脂牛奶, 室温封闭过夜, 次日分别加入PD-1(稀释浓度为1:1 500)、PD-L1(稀释浓度为1:1 500)、VEGF(稀释浓度为1:2 000)和TGF- $\beta$ 1(稀释浓度为1:2 000)一抗, 4  $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 随后加入二抗(稀释浓度为1:2 000)并于室温条件下孵育1 h。采用ECL试剂盒显色, 以GAPDH为内参蛋白, 采用凝胶成像系统和ImageJ软件包分析、统计目的蛋白的相对表达水平。

### 1.3 统计学分析

采用GraphPad Prism 9.0软件对本研究中的实验结果进行分析, 所有数据统一采用均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )的形式。采用单因素方差分析进行多组间数据比较, 采用Tukey's事后检验进行两组间的多重比较。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 Sau对食管癌细胞和正常食管上皮细胞增殖的影响

用6.25、12.5、25、50、100  $\mu\text{mol/L}$  Sau处理食管癌细胞KYSE-510和正常食管上皮细胞系Het-1A后, 细胞存活率逐渐下降(图1)。Sau对KYSE-510细胞和Het-1A细胞的半数抑制浓度分别为86.29和202.57  $\mu\text{mol/L}$ 。结果表明, Sau对KYSE-510细胞的抑制作用大于Het-1A。选择低于半数抑制浓度(86.29  $\mu\text{mol/L}$ )的12.5、25、50  $\mu\text{mol/L}$ 作为Sau的后续实验浓度。

### 2.2 Sau对各组细胞存活率的影响

相较于KYSE-510组, Sau-L组、Sau-M组和Sau-H组细胞存活率降低( $P < 0.05$ ); 相较于Sau-H组, Sau-H+pcDNA-PD-1组细胞存活率升高( $P < 0.05$ )(图2)。

### 2.3 Sau对各组细胞克隆形成数量的影响

Sau-L组、Sau-M组和Sau-H组细胞克隆形成数量均低于KYSE-510组( $P < 0.05$ ), Sau-H+pcDNA-PD-1组细胞克隆形成数量高于Sau-H组( $P < 0.05$ )(图3)。

### 2.4 Sau对各组细胞迁移及侵袭能力的影响

与KYSE-510组相比, Sau-L组、Sau-M组和Sau-H组细胞迁移及侵袭细胞数均有不同程度的减

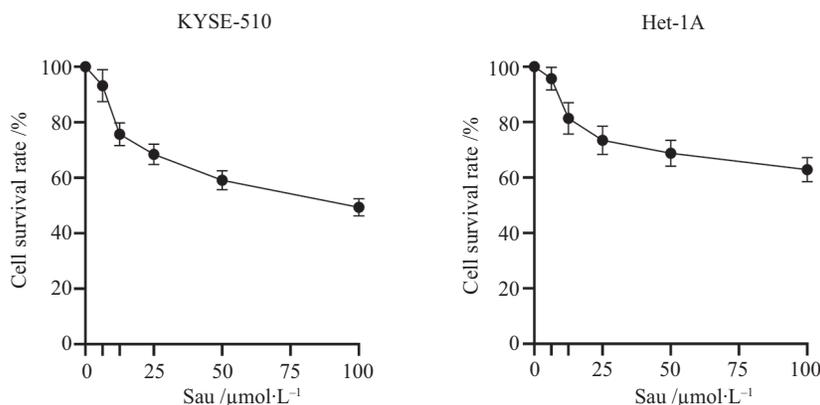


图1 Sau对食管癌细胞和正常食管上皮细胞增殖的影响

Fig.1 Effect of Sau on the proliferation of esophageal cancer cells and normal esophageal epithelial cells

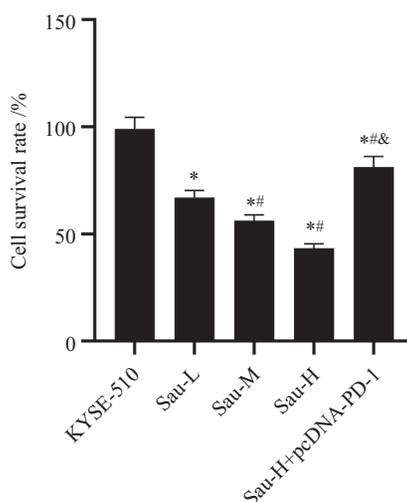


图2 各组细胞存活率

Fig.2 Cell survival rate in each group

\* $P < 0.05$ , 与KYSE-510组相比; # $P < 0.05$ , 与Sau-L组相比; & $P < 0.05$ , 与Sau-H组相比。  $n = 6$ 。

\* $P < 0.05$  compared with the KYSE-510 group; # $P < 0.05$  compared with the Sau-L group; & $P < 0.05$  compared with the Sau-H group.  $n = 6$ .

少 ( $P < 0.05$ ); 而与Sau-H组相比, Sau-H+pcDNA-PD-1组细胞迁移及侵袭细胞数增多 ( $P < 0.05$ ) (图4)。

### 2.5 Sau对各组细胞凋亡率的影响

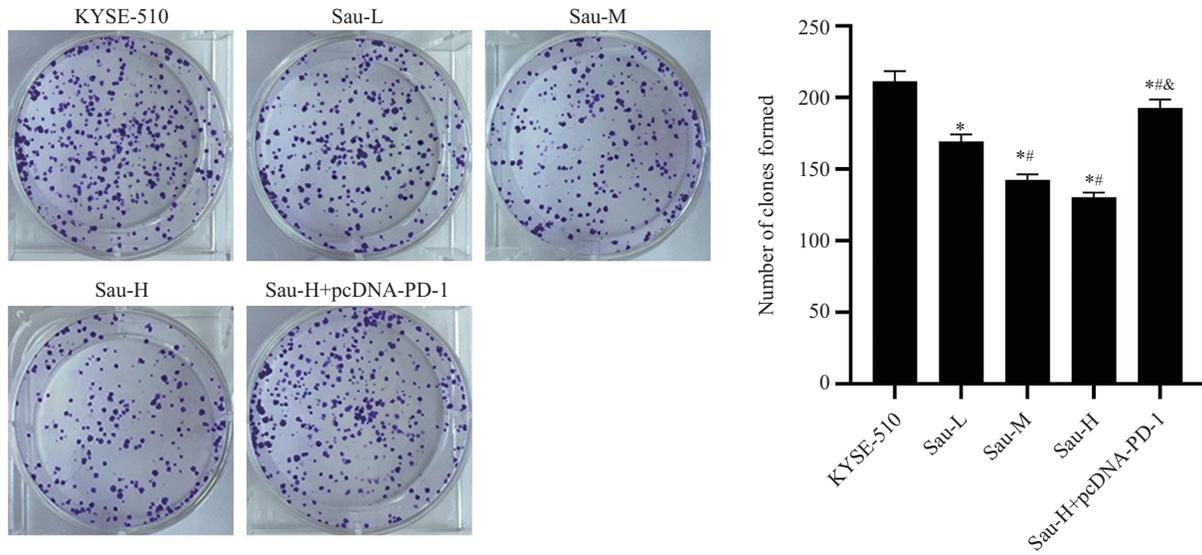
与KYSE-510组相比, Sau-L组、Sau-M组和Sau-H组细胞凋亡率升高 ( $P < 0.05$ ); 与Sau-H组相比, Sau-H+pcDNA-PD-1组细胞凋亡率降低 ( $P < 0.05$ ) (图5)。

### 2.6 各组细胞中PD-1/PD-L1信号通路相关蛋白及VEGF、TGF- $\beta$ 1的相对表达水平

与KYSE-510组相比, Sau-L组、Sau-M组和Sau-H组细胞中PD-1、PD-L1以及VEGF、TGF- $\beta$ 1表达水平均降低 ( $P < 0.05$ ); 与Sau-H组相比, Sau-H+pcDNA-PD-1组细胞中PD-1、PD-L1以及VEGF、TGF- $\beta$ 1表达水平均升高 ( $P < 0.05$ ) (图6)。

## 3 讨论

免疫治疗是近年来临床治疗恶性肿瘤疾病的新颖治疗方式, 在多种肿瘤的治疗中取得了巨大成效, 具有较好的发展前景<sup>[14]</sup>, 但恶性肿瘤的免疫抑制机制会影响机体的免疫系统, 基于此, 本研究探寻了能够调控食管癌细胞恶性生物学行为及免疫抑制的药物及治疗靶点, 旨在为临床治疗食管癌提供理论依据。Sau是三白草的主要活性成分, 其作用于机体时能够发挥细胞保护作用, 因此被广泛用于心血管系统、神经系统等疾病的治疗<sup>[15-16]</sup>, 而相关研究也显示, Sau还能够抑制骨肉瘤、胃癌等癌细胞的增殖及侵袭, 与恶性肿瘤疾病的发生及进展具有一定的相关性<sup>[17-18]</sup>。本研究中, Sau对食管癌

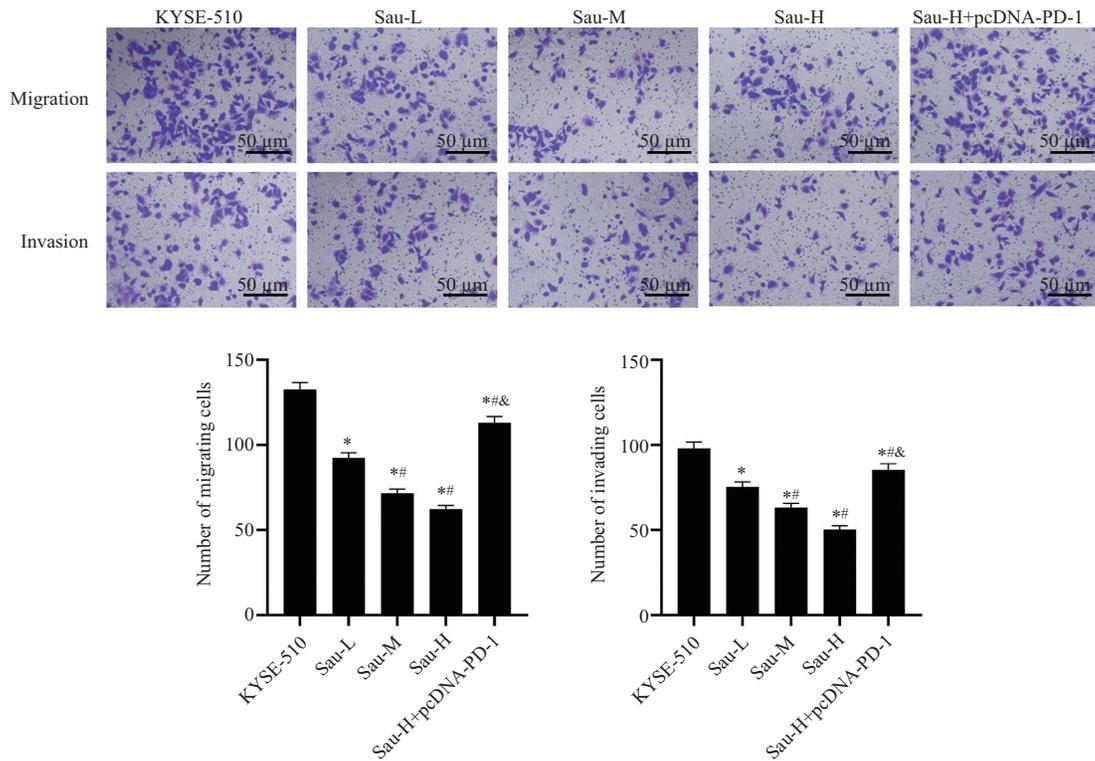


\* $P < 0.05$ , 与KYSE-510组相比; # $P < 0.05$ , 与Sau-L组相比; & $P < 0.05$ , 与Sau-H组相比。  $n = 6$ 。

\* $P < 0.05$  compared with the KYSE-510 group; # $P < 0.05$  compared with the Sau-L group; & $P < 0.05$  compared with the Sau-H group.  $n = 6$ 。

图3 各组细胞克隆形成能力

Fig.3 Cell clonogenesis ability of each group



\* $P < 0.05$ , 与KYSE-510组相比; # $P < 0.05$ , 与Sau-L组相比; & $P < 0.05$ , 与Sau-H组相比。  $n = 6$ 。

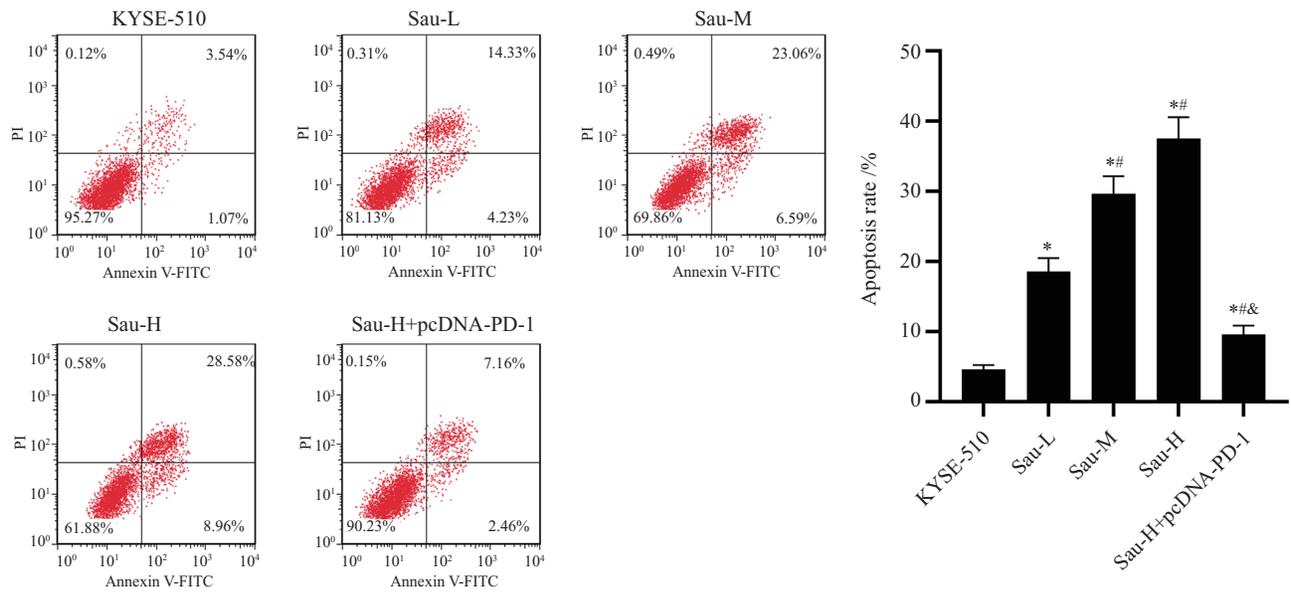
\* $P < 0.05$  compared with the KYSE-510 group; # $P < 0.05$  compared with the Sau-L group; & $P < 0.05$  compared with the Sau-H group.  $n = 6$ 。

图4 Transwell实验检测各组细胞迁移及侵袭能力

Fig.4 Transwell assay was used to detect cell migration and invasion abilities in each group

细胞增殖的抑制作用强于对正常食管上皮细胞的抑制作用,同时随着Sau浓度的增加, KYSE-510细胞的存活率、克隆形成数量、迁移及侵袭细胞数、

细胞中免疫抑制因子VEGF和TGF- $\beta$ 1的相对表达水平逐渐降低,而细胞凋亡率升高,提示Sau在食管癌的防治中是安全的、有前景的。免疫抑制相关因

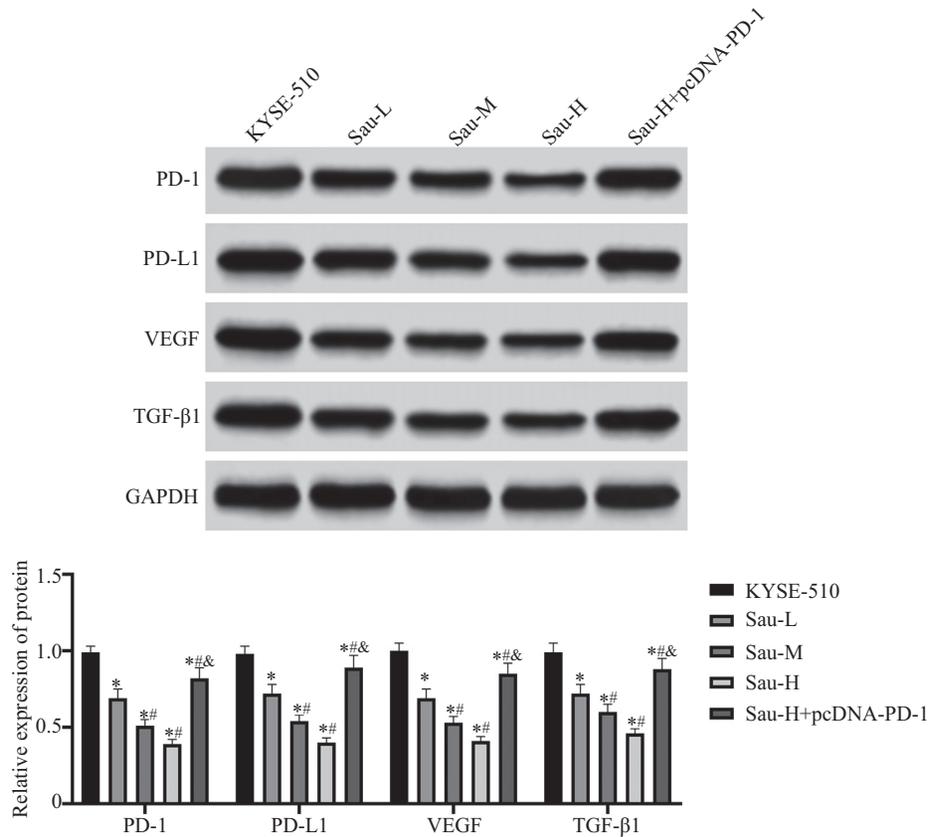


\* $P < 0.05$ , 与KYSE-510组相比; # $P < 0.05$ , 与Sau-L组相比; & $P < 0.05$ , 与Sau-H组相比。n=6。

\* $P < 0.05$  compared with the KYSE-510 group; # $P < 0.05$  compared with the Sau-L group; & $P < 0.05$  compared with the Sau-H group. n=6.

图5 流式细胞术检测各组细胞凋亡情况

Fig.5 Flow cytometry was used to detect apoptosis in each group



\* $P < 0.05$ , 与KYSE-510组相比; # $P < 0.05$ , 与Sau-L组相比; & $P < 0.05$ , 与Sau-H组相比。n=6。

\* $P < 0.05$  compared with the KYSE-510 group; # $P < 0.05$  compared with the Sau-L group; & $P < 0.05$  compared with the Sau-H group. n=6.

图6 各组细胞中PD-1/PD-L1信号通路相关蛋白及VEGF、TGF-β1的表达

Fig.6 Expression of PD-1/PD-L1 signaling pathway-related proteins, VEGF and TGF-β1 in cells of each group

子VEGF和TGF- $\beta$ 1是影响肿瘤生长与转移的重要因子,据报道,下调细胞中VEGF和TGF- $\beta$ 1的表达能够抑制树突状细胞等免疫相关细胞的抗原呈递,影响免疫细胞的激活与扩增,进而起到抑制乳腺癌等癌细胞转移的作用<sup>[19-20]</sup>。此结果提示Sau能够抑制食管癌细胞的增殖、迁移等恶性生物学行为,并解除免疫抑制。而有学者推测Sau主要是通过细胞间的信号转导通路来参与并影响癌细胞的恶性进展过程的,基于此,本研究继续对可能涉及的信号通路进行了探究。

据报道,PD-1、PD-L1不仅广泛表达于活化的免疫细胞中,二者在多种恶性肿瘤组织以及血管内皮组织中也存在异常表达,并且PD-1/PD-L1信号通路能够调节机体的免疫应答效应,参与并影响肿瘤的增殖及转移过程<sup>[21-22]</sup>。因此本研究对食管癌细胞中PD-1/PD-L1信号通路相关蛋白的相对表达水平进行了测定分析,结果显示,Sau-L组、Sau-M组和Sau-H组细胞中PD-1、PD-L1相对表达水平均低于KYSE-510组,而在高浓度Sau处理的KYSE-510细胞中过表达PD-1则逆转了Sau对食管癌细胞恶性生物学行为的作用,分析原因可能是PD-1/PD-L1信号通路能够通过影响T细胞等免疫相关细胞的增殖及凋亡过程来调节癌细胞的恶性生物学行为及免疫抑制作用<sup>[23]</sup>。实验结果表明,Sau的抗食管癌作用可能通过其他通路实现,因为过表达PD-1未完全恢复Sau对食管癌细胞恶性生物学行为的抑制作用。以上研究结果说明,Sau能够通过抑制PD-1/PD-L1信号通路来抑制食管癌细胞的恶性生物学行为及VEGF和TGF- $\beta$ 1表达,进而解除其免疫抑制。

综上所述,Sau能够通过抑制PD-1/PD-L1信号通路来抑制食管癌细胞的恶性生物学行为,并解除免疫抑制。但本研究仅基于PD-1/PD-L1这一条信号通路探究了Sau对食管癌细胞的影响机制,后续将继续探索可能涉及的其他信号通路,并深入探究此作用体系在动物模型及临床中的实际应用价值。另外,未采用正常的食管上皮细胞作为对照是本研究的不足之处,后续还需增加实验验证。

### 参考文献 (References)

- [1] 唐罗勇,黄珍珠,张炎,等. 食管癌根治性放疗中致血小板严重减少的危险因素及预测指标[J]. 重庆医学(TANG L Y, HUANG Z Z, ZHANG Y, et al. Risk factors and predictors of severe thrombocytopenia during radical chemoradiotherapy for
- esophageal cancer [J]. Chongqing Medicine), 2023, 52(3): 393-7.
- [2] LI X J, LI J, ZHANG Q Q, et al. The expression of annexin-A1 in esophageal squamous cell carcinoma and its association with the biological behavior of the primary human esophageal squamous carcinoma cell line [J]. J Physiol Pharmacol, 2023, 74(5): 551-63.
- [3] 姜敏,李露露,吴桐,等. 三白草酮通过调控海马Nrf2/HO-1表达减少酒精戒断大鼠抑郁样行为[J]. 中国病理生理杂志(JIANG M, LI L L, WU T, et al. Sauchinone attenuates alcohol withdrawal-induced depression-like behaviors in rats by modulating hippocampal Nrf2/HO-1 expression [J]. Chin J Pathophysiol), 2022, 38(10): 1803-11.
- [4] WU K, LIU X, MENG X, et al. Sauchinone alleviates dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis via NAD(P)H dehydrogenase [quinone] 1/NF- $\kappa$ B pathway and gut microbiota [J]. Front Microbiol, 2023, 13: 1084257.
- [5] LI S Q, FENG J, YANG M, et al. Sauchinone: a prospective therapeutic agent-mediated EIF4EBP1 down-regulation suppresses proliferation, invasion and migration of lung adenocarcinoma cells [J]. J Nat Med, 2020, 74(4): 777-87.
- [6] QIAO Y, YAN L J, YAN C. Sauchinone inhibits hypoxia -induced epithelialmesenchymal transition in pancreatic ductal adenocarcinoma cells through the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway [J]. Anticancer Drugs, 2020, 31(9): 918-24.
- [7] KIM N H, SUNG N J, SHIN S, et al. Sauchinone inhibits the proliferation, migration and invasion of breast cancer cells by suppressing Akt-CREB-MMP13 signaling pathway [J]. Biosci Rep, 2021, 41(10): 67-8.
- [8] HU X, WANG J, SHANG P, et al. Sauchinone inhibits breast cancer cell proliferation through regulating microRNA-148a-3p/HER-2 axis [J]. Thorac Cancer, 2023, 14(13): 1135-44.
- [9] 王一,龚虹云,何海花,等. 外泌体PD-L1在肿瘤免疫逃逸中的作用及应用研究进展[J]. 肿瘤学杂志(WANG Y, GONG H Y, HE H H, et al. Research progress on the role of exosomal PD-L1 in immune evasion of cancer cells and its application [J]. Journal of Chinese Oncology), 2022, 28(3): 178-84.
- [10] MEHDIZADEH S, BAYATIPOOR H, PASHANGZADEH S, et al. Immune checkpoints and cancer development: therapeutic implications and future directions [J]. Pathol Res Pract, 2021, 223(1): 485-6.
- [11] JIANG Y, CHEN M, NIE H, et al. PD-1 and PD-L1 in cancer immunotherapy: clinical implications and future considerations [J]. Hum Vaccin Immunother, 2019, 15(5): 1111-22.
- [12] GUO H, HU Z, YANG X, et al. STAT3 inhibition enhances gemcitabine sensitivity in pancreatic cancer by suppressing EMT, immune escape and inducing oxidative stress damage [J]. Int Immunopharmacol, 2023, 123: 110709.
- [13] LU Y, YU M, YE J, et al. Sauchinone inhibits the proliferation and immune invasion capacity of colorectal cancer cells through the suppression of PD-L1 and MMP2/MM9 [J]. Anticancer Agents Med Chem, 2023, 23(12): 1406-14.
- [14] 周益臣,庞学舟,朱红蕾,等. 放疗介导白细胞介素6/信号转导和转录激活因子3信号通路调节食管癌细胞中程序性死亡蛋白配体1的表达[J]. 中华肿瘤杂志(ZHOU Y C, PANG X Z, ZHU H L, et al. The IL-6/STAT3 signaling pathway mediated by radiotherapy regulates the expression of PD-L1 in esophageal cancer cells [J]. Chinese Journal of Oncology), 2022, 44(5): 389-

- 94.
- [15] 李秋月, 袁铭阳, 吴丽娜, 等. 三白草酮对STZ糖尿病小鼠胰岛β细胞凋亡与氧化应激的保护作用[J]. 食品工业科技(LI Q Y, YUAN M Y, WU L N, et al. Protective effect of sauchinone on apoptosis and oxidative stress of isletβcells in STZ induced diabetic mice [J]. Science and Technology of Food Industry), 2023, 44(16): 420-6.
- [16] JIAO Y, KIM S C, WANG Y, et al. Sauchinone blocks ethanol withdrawal-induced anxiety but spares locomotor sensitization: involvement of nitric oxide in the bed nucleus of the stria terminalis [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 2021: 6670212.
- [17] ZHOU D, HE L. Sauchinone inhibits hypoxia-induced invasion and epithelial-mesenchymal transition in osteosarcoma cells via inactivation of the sonic hedgehog pathway [J]. J Recept Signal Transduct Res, 2022, 42(2): 173-9.
- [18] KHE Z, DONG W, LI Q, et al. Sauchinone prevents TGF-β-induced EMT and metastasis in gastric cancer cells [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 101: 355-61.
- [19] ZHANG Y, BREKKEN R A. Direct and indirect regulation of the tumor immune microenvironment by VEGF [J]. J Leukoc Biol, 2022, 111(6): 1269-86.
- [20] 王萍, 李锦超, 任美玲, 等. 乌梅丸对乳腺癌小鼠肺转移微环境免疫抑制性细胞因子的影响[J]. 现代中西医结合杂志(WANG P, LI J C, REN M L, et al. Effect of Wumei Pill on immunosuppressive cytokines in lung metastasis microenvironment of breast cancer mice [J]. Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine), 2023, 32(3): 330-5.
- [21] KUMAR P, SAINI S, PRABHAKAR B S. Cancer immunotherapy with check point inhibitor can cause autoimmune adverse events due to loss of Treg homeostasis [J]. Semin Cancer Biol, 2020, 64(1): 29-35.
- [22] 余瑛. 木犀草素对宫颈癌大鼠外周血T细胞亚群及PD-1/PD-L1通路的影响[J]. 中国免疫学杂志(YU Y. Effect of luteolin on peripheral blood T cell subsets and PD-1/PD-L1 pathway in rats with cervical cancer [J]. Chinese Journal of Immunology), 2023, 39(2): 302-7.
- [23] ZHANG T, YU J L, MA T. Role of regulation of PD-1 and PD-L1 expression in sepsis [J]. Front Immunol, 2023, 14(1): 438-9.