

肿瘤防治研究

Cancer Research on Prevention and Treatment

丹参水溶性组分SABP对小鼠肝癌免疫微环境的影响

李圣豪, 郝立园, 国英琳, 彭晴, 丁静茹, 石新丽

引用本文:

李圣豪, 郝立园, 国英琳, 等. 丹参水溶性组分SABP对小鼠肝癌免疫微环境的影响[J]. 肿瘤防治研究, 2021, 48(7): 694–698.

LI Shenghao, HAO Liyuan, GUO Yinglin, et al. Effect of SABP, A Water-soluble Component of Salvia Miltiorrhiza, on Immune Microenvironment of Mice with Liver Cancer[J]. Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu, 2021, 48(7): 694–698.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2021.20.1405>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

非编码RNA调控Kupffer细胞极化干预肝癌癌前病变恶变的研究进展

Advances in Non-coding RNA Regulating Kupffer Cell Polarization in Intervention of Malignant Transformation of Precancerous Lesions of Liver

肿瘤防治研究. 2019, 46(09): 851–855 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2019.19.0171>

新型NGR靶向载shRNA脂质微球抑制胶质瘤的生长

New NGR-targeted shRNA-loaded Liposome Suppresses Glioma Growth

肿瘤防治研究. 2019, 46(08): 677–683 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2019.18.1990>

黄芪多糖对气阴两虚Lewis肺癌荷瘤小鼠肿瘤生长、转移及细胞周期的影响

Effects of Astragalus Polysaccharides on Growth, Metastasis and Cell Cycle of Lewis Lung Cancer in Tumor-bearing Mice with Qi and Yin Deficiency

肿瘤防治研究. 2018, 45(03): 131–137 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2018.17.0220>

负载CD133+肝癌细胞RNA树突状细胞疫苗的免疫活性

Immunological Competence of Dendritic Cell Vaccine Loaded with CD133+ Hepatocellular Carcinoma Cell RNA

肿瘤防治研究. 2017, 44(3): 184–188 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2017.03.006>

髓系抑制性细胞对神经母细胞瘤抗原特异性细胞毒性T淋巴细胞体外增殖和杀伤抑制作用

Myeloid-derived Suppressor Cells Inhibit Proliferation and Killing Activity of Neuroblastoma Antigen-specific Cytotoxic T Lymphocyte in vitro

肿瘤防治研究. 2017, 44(11): 728–733 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2017.17.0709>



杂志官网



微信公众号

丹参水溶性组分SABP对小鼠肝癌免疫微环境的影响

李圣豪^{1,2}, 郝立园², 国英琳², 彭晴², 丁静茹², 石新丽^{1,2}

Effect of SABP, A Water-soluble Component of Salvia Miltiorrhiza, on Immune Microenvironment of Mice with Liver Cancer

LI Shenghao^{1,2}, HAO Liyuan², GUO Yinglin², PENG Qing², DING Jingru², SHI Xinli^{1,2}

1. Hebei Provincial Key Laboratory of Integrative Medicine for Liver & Kidney Diseases, Shijiazhuang 050091, China; 2. Basic Medical College, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China

Corresponding Author: SHI Xinli, E-mail: sxlsunshine@sina.com

Abstract: Objective To investigate the effect of SABP, a water-soluble component of Salvia miltiorrhiza, on the growth of orthotopic transplantation of H22 liver cancer and the immune microenvironment of liver cancer. **Methods** We established a mouse model of orthotopic transplantation of H22 cell liver cancer in BALB/c mice. ELISA was used to detect the expression of PD-L1, TGF- β , IL-1 β , IL-10, IL-4, IFN- γ , IL-18, IL-7, IL-2, CCL-2 and CCL-21 in the liver. We counted the organ indexes of liver, spleen and kidney. **Results** SABP inhibited the growth of orthotopic transplantation tumors of H22 cell liver cancer, and increased the expression levels of PD-L1, TGF- β , IL-1 β and IL-10 in the microenvironment of liver cancer, as well as the liver, spleen and kidney coefficients. **Conclusion** SABP could inhibit the growth of orthotopic transplantation tumors of H22 cell liver cancer and promote the expression of PD-L1, TGF- β , IL-1 β and IL-10 in the microenvironment of liver cancer.

Key words: Salvia miltiorrhiza; Water-soluble component; Hepatocellular carcinoma; Immune microenvironment; Orthotopic transplantation tumor

Funding: Research Fund from Hebei Key Laboratory of Integrative Medicine on Liver Kidney Patterns (No. A201904); Talent Project Training Funding Project of Hebei Province (No. 201902015); Hundred Outstanding Innovative Talents Support Program of Universities in Hebei Province (No. SLRC2019043); Project of Natural Science of Hebei Province (No. H2020423009); National Natural Science Foundation of China (No. 81873112); Postgraduate Innovation Ability Training Funding Project (No. XCXZZSS2020001)

Competing interests: The authors declare that they have no competing interests.

摘要: 目的 探讨丹参水溶性组分SABP影响H22细胞肝癌原位移植瘤生长及肝癌免疫微环境的效果。**方法** 建立H22细胞肝癌原位移植瘤小鼠模型。ELISA检测肝脏中PD-L1、TGF- β 、IL-1 β 、IL-10、IL-4、IFN- γ 、IL-18、IL-7、IL-2、CCL-2和CCL-21的表达量。计算肝脏、脾脏和肾脏的脏器系数。**结果** SABP抑制H22细胞肝癌原位移植瘤的生长, 提高肝癌微环境中PD-L1、TGF- β 、IL-1 β 和IL-10的表达水平, 增加了肝、脾和肾系数。**结论** SABP能抑制H22细胞肝癌原位移植瘤生长, 促进肝癌微环境中PD-L1、TGF- β 、IL-1 β 和IL-10抑制性免疫分子的表达。

关键词: 丹参; 水溶组分; 肝癌; 免疫微环境; 原位移植瘤

中图分类号: R735.7

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



收稿日期: 2020-12-03; 修回日期: 2021-03-16

基金项目: 河北省中西医结合肝肾病证研究重点实验室开放课题(A201904); 河北省人才工程培养资助项目(A201902015); 河北省高校百名优秀创新人才支持计划项目(SLRC2019043); 河北省自然科学基金面上项目(H2020423009); 国家自然科学基金面上项目(81873112); 研究生创新能力培养资助项目(XCXZZSS2020001)

作者单位: 1. 050091 石家庄, 河北省中西医结合肝肾病证研究重点实验室; 2. 050200 石家庄, 河北中医学院基础医学院

通信作者: 石新丽(1976-), 女, 教授, 主要从事中医药抗肿瘤免疫调控机制研究, E-mail: sxlsunshine@sina.com

作者简介: 李圣豪(1993-), 男, 硕士在读, 主要从事中医药抗肿瘤免疫调控机制研究

0 引言

原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)死亡率高居癌症第三位^[1], 是长期慢性炎症反应转化为肿瘤的典型病例。目前, 除手术和肝移植外, 放化疗是主要的治疗手段, 但放化疗药物的不良反应及耐受性限制了其治疗效果, 使患者五年生存率低于30%^[1]。因此, 制定新的治疗策略, 对于肝癌治疗及降低死亡率具有重要意义。

中药有效组分配伍是中药配伍的新模式。课题组前期研究已确定了丹参素、丹酚酸A、丹酚

酸B和原儿茶醛四种水溶性成分作用于动物的浓度和比例,并将此最佳组合命名为SABP^[2]。另外也有研究表明,丹参多酚酸盐(depsides salts)可以降低Ki-67和VEGF的表达,抑制肝癌细胞SMMC-7721裸鼠皮下移植瘤的生长^[3]。本研究利用H22细胞肝癌原位移植瘤小鼠模型探讨丹参水溶性组分SABP对H22细胞肝癌原位移植瘤的作用以及对肝癌免疫微环境的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料及试剂

小鼠腹水型肝癌细胞株H22由河北医科大学免疫学教研室曾瑞红教授惠赠。接种于含10%胎牛血清的高糖DMEM完全培养基,于37℃、CO₂培养箱中培养。35只雄性BALB/c小鼠,4~6周龄,18~20 g,SPF级购于北京维通利华实验动物技术有限公司。动物的饲养及操作通过河北中医学院伦理委员会批准(编号:YXLL2018002)。丹参素、丹参酚酸A、丹参酚酸B及原儿茶醛(纯度≥98%)均购自上海将来实业股份有限公司,批次分别为20180109、20180110、20180110及20170606;0.9%氯化钠溶液(批号:20160129)购自石家庄四药有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 H22细胞肝癌原位移植瘤小鼠模型 将浓度为 1×10^7 个/毫升的H22肝癌细胞注入5只BALB/c小鼠腹腔进行肿瘤细胞复壮,每只小鼠的注射剂量为0.2 ml。7天后,用异氟烷麻醉小鼠,抽取腹腔腹水,并用0.9%氯化钠溶液调整H22细胞浓度为 2×10^6 个/毫升。然后再取30只BALB/c小鼠进行肝脏H22肿瘤细胞移植手术,具体手术步骤参考文献[4]进行。每只小鼠肝脏注射H22肝癌细胞的剂量为0.05 ml。术后15天随机抽取10只,取肝脏进行HE染色,检测造模成功率。随后将剩余小鼠随机分为对照组(NC组)和SABP组,每组10只。

SABP组:腹腔注射SABP的剂量为0.1 ml/d, SABP作用小鼠的浓度及比例按本课题组前期发表文献进行^[2]。对照组:腹腔注射0.9%氯化钠溶液0.1 ml/d作为溶剂对照组。共注射15 d。

1.2.2 体重及肝、脾、肾系数的计算 每5天称量体重一次。末次干预后,禁食不禁水6~12 h,异氟烷吸入麻醉后,摘除小鼠眼球取血,并处死动物。立即摘取肝、脾、肾,用滤纸吸干残血后分别称重,计算肝、脾和肾系数。脏器系数=脏器重量/体重 $\times 100\%$ 。

1.2.3 酶联免疫吸附试验 肝脏组织匀浆后,收集上清液,标准品绘制标准曲线,然后按照试剂盒说明书步骤进行操作,用酶标仪测量OD₄₅₀值,根据标准曲线求出相应的PD-L1、TGF- β 、IL-1 β 、IL-10、IL-4、IFN- γ 、IL-18、IL-7、IL-2、CCL-2和CCL-21的含量,试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司。

1.3 统计学方法

用SPSS16.0统计软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)的方式表示,组间两两比较用独立样本t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

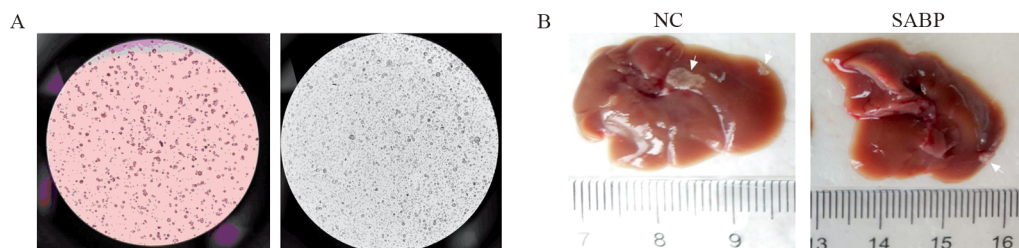
2 结果

2.1 丹参水溶性组分SABP抑制H22细胞肝癌原位移植瘤的生长

H22细胞进行复壮后的状态见图1A。对照组小鼠的左肝叶可见两处突出肝脏表面的白色硬质瘤灶,正常肝组织颜色淡红。SABP组小鼠的左肝叶可见一处明显灰白色癌灶,而正常肝组织淡红,见图1B。此结果说明SABP可以抑制肝原位移植瘤的生长。

2.2 SABP提高H22细胞肝癌原位移植瘤小鼠脾重及肝、脾、肾系数

药物处理第5、10和15天,SABP组与对照组体质量差异无统计学意义($P = 0.8342$ 、 0.4937 和



A: the picture on the left showed the pre-rehabilitation state of H22 cells and the picture on the right showed the post-rehabilitation state of H22 cells; B: the tumors were shown by white arrows.

图1 SABP抑制H22细胞肝癌原位移植瘤的生长

Figure 1 SABP inhibited growth of orthotopic transplantation of H22 cell liver cancer

0.0782), 见图2A。SABP组小鼠脾重量是对照组重量的1.29倍, 差异有统计学意义 ($P=0.0156$), 见图2B。SABP组小鼠肝、脾、肾系数分别是对照组1.19、1.34和1.23倍, 差异有统计学意义 ($P=0.0327$ 、0.0083和0.0381), 见图2C~E。

2.3 SABP提高H22细胞肝癌原位移植瘤PD-L1、TGF- β 、IL-1 β 、IL-10和IL-4的表达水平

ELISA检测结果显示, SABP组PD-L1表达量是对照组的1.4倍 ($P=0.0433$), 见图3A。SABP组TGF- β 表达量是对照组的1.3倍 ($P=0.0228$), 见图3B。SABP组小鼠的IL-1 β 表达量是对照组1.5倍 ($P=0.0153$), 见图3C。SABP组小鼠的IL-10指数是对照组1.3倍 ($P=0.0156$), 见图3D。ELISA检测发现SABP组IL-4表达量是对照组的1.19倍, 差异无统计学意义 ($P=0.2131$), 见图3E。上述结果表明SABP可以通过上调PD-L1、TGF- β 、IL-1 β 和IL-10的表达促进免疫抑制微环境的形成。

2.4 SABP不改变H22细胞肝癌原位移植瘤中

IFN- γ 、IL-18、IL-7和IL-2的表达水平

SABP组小鼠IFN- γ 、IL-18、IL-7和IL-2的表达水平分别为 (5703.33 ± 471.70) pg/g、(892.45 ± 62.39) pg/g、(1288.74 ± 105.65) pg/g和 (3379.23 ± 374.67) pg/g。对照组的表达水平分别是 (5923.99 ± 362.61) pg/g、(927.10 ± 91.26) pg/g、(1496.07 ± 55.41) pg/g和 (2736.23 ± 111.94) pg/g。SABP组和对照组IFN- γ 、IL-18、IL-7和IL-2的表达水平差异均无统计学意义 ($P=0.5556$ 、0.6160、0.0901和0.1163)。结果表明SABP不改变抗肿瘤免疫因子的表达水平。

2.5 SABP不影响H22细胞肝癌原位移植瘤中CCL-2和CCL-21的表达水平

SABP组的CCL-2和CCL-21表达水平分别是 (386.72 ± 23.21) ng/g和 (419.34 ± 71.1) ng/g。对照组的表达水平分别是 (495.09 ± 67.66) ng/g和 (388.72 ± 34.87) ng/g。SABP组和对照组CCL-2和CCL-21表达水平差异均无统计学意义 ($P=0.0707$ 和0.5395)。结果表明SABP不影响细胞趋化因子的表达水平。

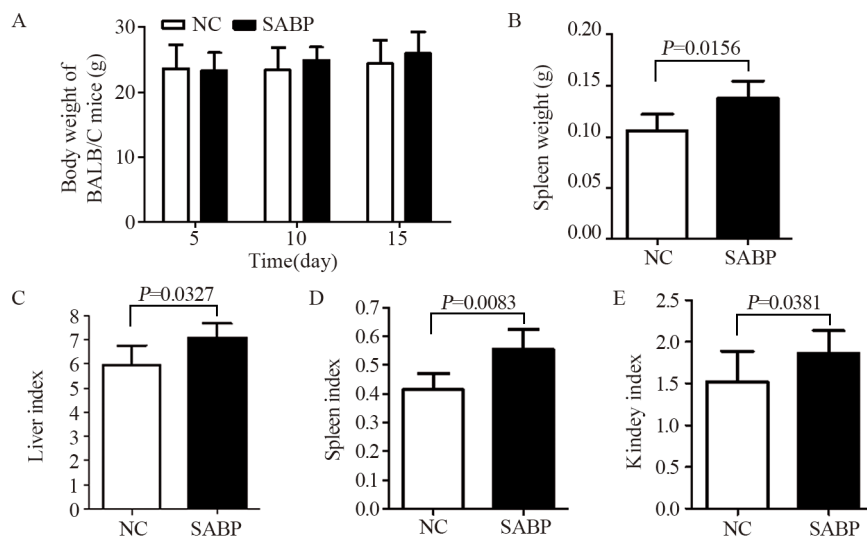


图2 SABP对H22细胞肝癌原位移植瘤小鼠体重(A)、脾重(B)和肝、脾、肾系数(C~E)的影响

Figure 2 Effect of SABP on body weight(A), spleen weight(B) and coefficients of liver, spleen and renal(C~E) of orthotopic transplantation of H22 cell liver cancer in mice

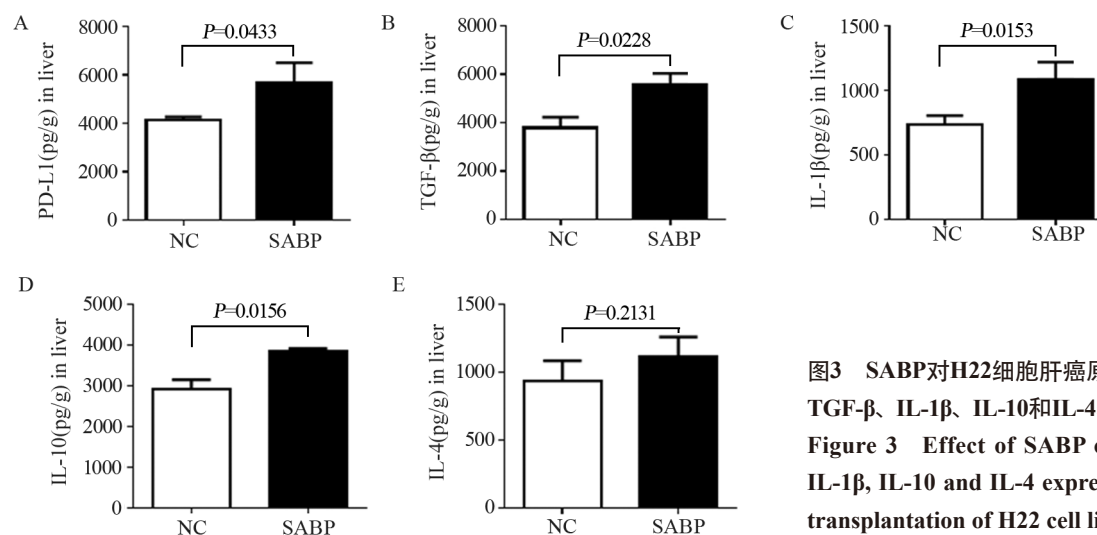


图3 SABP对H22细胞肝癌原位移植瘤PD-L1、TGF- β 、IL-1 β 、IL-10和IL-4表达的影响

Figure 3 Effect of SABP on PD-L1, TGF- β , IL-1 β , IL-10 and IL-4 expression in orthotopic transplantation of H22 cell liver cancer in mice

3 讨论

肝癌的主要临床表现属于中医学“积聚”、“癥瘕”以及“肝积”等范畴。气滞血瘀湿热痰浊是肝癌发生的病理基础。丹参 (*Salvia miltiorrhiza*) 味苦微寒, 归心肝经, 是一味活血化淤药, 同时还具有磨坚破滞、消癥除瘤的作用, 具有“一味丹参, 功同四物”之说。丹参素 (danshensu, DSS)、丹酚酸A (salvianolic acid A, Sal-A)、丹酚酸B (salvianolic acid B, Sal-B) 以及原儿茶醛 (protocatechuic aldehyde, PAL) 是丹参主要的水溶性成分。丹参素能降低蛋白激酶B (protein kinase B, PKB) 活性, 从而抑制肝癌SMMC-7721细胞生长^[5]。丹酚酸B通过激活线粒体途径, 抑制AKT/mTOR通路使肝癌细胞降解, 促进肝癌细胞的凋亡^[6]。原儿茶醛靶向抑制肝癌细胞Wilms肿瘤蛋白1 (Wilms tumor1, WT1) 的表达, 进而发挥抗肝癌作用^[7]。上述研究均表明, 丹参中主要水溶性成分均具有抑制肝癌细胞生长的作用。

SABP是丹参的四种水溶性成分的组合, 本课题组前期研究也已证实SABP有一定的抗氧化作用。有研究发现, 丹参注射液治疗能有效提高原发性肝癌患者免疫球蛋白水平, 刺激CD3⁺T细胞和CD4⁺T细胞的增殖, 改善肝癌患者的免疫功能^[8]。本研究发现, SABP能抑制H22细胞肝癌原位移植瘤的生长。有研究报道, 丹参能使小鼠脾脏树突状细胞增加^[9]。本研究发现, SABP处理15天荷瘤小鼠的脾指数显著升高。有研究表明丹酚酸B通过抗氧化, 发挥对肾缺血再灌注损伤的保护作用, 恢复肾脏的功能^[10]。本研究显示, SABP处理提高了H22细胞肝癌原位移植瘤模型的肾系数, 说明SABP无肾毒性。SABP不改变荷瘤小鼠的体重, 因此SABP可能是通过调节免疫发挥抗肿瘤的作用。

高表达程序性死亡配体1 (programmed death ligand-1, PD-L1) 的肿瘤细胞通过与T细胞表面的程序性死亡配体1 (programmed death ligand-1, PD-1) 相结合导致肿瘤浸润性淋巴细胞 (tumor Infiltrating Lymphocytes, TILs) 功能的耗竭, 从而导致效应T细胞的功能被抑制。PD-L1基因的敲除有助于肝脏中小鼠CD8⁺T细胞的积累, 表明PD-L1是调节肝脏CD8⁺T细胞聚集和清除的关键蛋白。因此SABP通过促进PD-L1的表达, 促进免疫抑制微环境的形成。骨髓来源的抑制细胞产生的TGF- β 促进CD8⁺T细胞上PD-1的表达, 从而导致对肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 中PD-1/PD-L1阻断的抵抗^[11]。另外升高的TGF- β 还可以阻断未成

熟的T细胞向Th1细胞分化, 促进其向调节性T细胞 (regulatory cell, Treg) 亚群转化, 并抑制树突细胞的抗原呈递功能, 抑制CD8⁺T细胞产生IFN- γ 的产生, 从而造成肿瘤细胞的免疫逃逸^[12]。IL-1 β 通过调节M2型巨噬细胞促进HCC细胞的迁移^[13], M2型巨噬细胞到肿瘤组织的浸润与预后不良有关^[14]。另外, 由于巨噬细胞表达CCL-2受体, 因此CCL-2对巨噬细胞具有趋化性, 这种信号分子在巨噬细胞的募集过程中发挥作用^[15]。但是在本研究中发现SABP可以促进IL-1 β 的表达, 但并不改变CCL-2的表达量, 所以我们推断SABP可能通过促进IL-1 β 表达, 促进M2型巨噬细胞到肿瘤组织的浸润。

血清中高水平的IL-10与HCC患者的不良预后有关。IL-10可通过NF- κ B和STAT3信号通路促进肿瘤细胞PD-L1的表达^[16]。IL-10抑制T细胞产生IL-2和IFN- γ , 并直接影响T细胞的分化和增殖。IL-10也可诱导肝癌中Treg的分化, Treg扩张与HCC的侵袭性和患者较差的生存期密切相关^[17]。我们的研究发现SABP促进IL-10的表达, 类似研究发现, 应用丹酚酸B和原儿茶醛后IL-10的表达水平升高^[18-19]。IL-10促进辅助性T细胞分化为Th2。这为癌细胞提供了逃避免疫系统的机会^[20]。IL-7作为T细胞发育和成熟T细胞稳态的关键细胞因子, 促进T细胞增殖^[21]。IL-7刺激增加了外周和肝驻留CD8⁺T细胞的细胞毒性, 这个过程伴随着CD8⁺T细胞上PD-1表达的下调^[22]。前期的研究发现, SABP不改变IL-7、IL-2和IFN- γ 的表达水平, 所以SABP发挥抗肿瘤作用不是基于正向调控抗肿瘤免疫应答。

以上研究表明, SABP可以促进肿瘤免疫抑制微环境的形成, 主要是通过提高免疫抑制因子PD-L1、TGF- β 、IL-1 β 和IL-10的水平发挥作用, 而没有通过改善抗肿瘤免疫的IFN- γ 、IL-7、IL-18和IL-2来发挥抗肿瘤作用, 也没有改变肿瘤相关的趋化因子CCL-2和CCL-21。丹参水溶性成分SABP可以发挥抗肿瘤的作用, 但是并没有通过正向调节抗肿瘤免疫发挥抗肿瘤的效果, 反而提高免疫抑制信号分子的表达水平促进免疫抑制微环境形成, 影响SABP的抗肿瘤作用。后期本课题组将进一步探讨SABP发挥抗肿瘤作用机制, 联合相关免疫治疗药物PD-1单抗或PD-L1单抗, 观察SABP的抗肿瘤作用。

参考文献:

- [1] Siegel RL, Miller KD, Fedewa SA, *et al.* Colorectal cancer statistics, 2017[J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(3): 177-193.
- [2] Zhang J, An SJ, Fu JQ, *et al.* Mixed Aqueous Extract of *Salvia*

- Miltiorrhiza Reduces Blood Pressure through Inhibition of Vascular Remodelling and Oxidative Stress in Spontaneously Hypertensive Rats[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 40(1-2): 347-360.
- [3] 李湘平, 宋周焯, 钟海英, 等. 丹参多酚酸盐对裸鼠HCC系人肝癌细胞株SMMC-7721移植瘤的影响[J]. 中南大学学报(医学版), 2015, 40(2): 158-164. [Li XP, Song ZY, Zhong HY, *et al*. Effect of depsides salts from *Salvia miltiorrhiza* on human hepatoma cell line SMMC-7721 subcutaneous xenografts in nude mice[J]. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao (Yi Xue Ban)*, 2015, 40(2): 158-164.]
- [4] 侯杰罗, 焦成斌, 杨彦民, 等. H22昆明鼠肝癌原位模型的建立[J]. 黑龙江医药科学, 2015, 38(1): 78-79. [Hou JL, Jiao CB, Yang YM, *et al*. Establishment of H22 Kunming mouse liver cancer orthotopic model[J]. *Heilongjiang Yi Yao Ke Xue*, 2015, 38(1): 78-79.]
- [5] 刘珊琳, 刘冠中, 程建, 等. 蛋白激酶对活性氧调节7721人肝癌细胞生长的影响[J]. 生物化学与生物物理学报, 2002, 34(1): 67-72. [Liu SL, Liu GZ, Cheng J, *et al*. Influence of PKB on ROS regulation of proliferation in human 7721 hepatoma cells[J]. *Sheng Wu Hua Xue Yu Sheng Wu Wu Li Xue Bao*, 2002, 34(1): 67-72.]
- [6] Gong L, Di C, Xia X, *et al*. AKT/mTOR signaling pathway is involved in salvianolic acid B-induced autophagy and apoptosis in hepatocellular carcinoma cells[J]. *Int J Oncol*, 2016, 49(6): 2538-2548.
- [7] Guo X, Zhao Y, Yan H, *et al*. Single tumor-initiating cells evade immune clearance by recruiting type II macrophages[J]. *Genes Dev*, 2017, 31(3): 247-259.
- [8] 朱亚玲, 易峰涛. 复方丹参注射液联合伽马刀治疗对原发性肝癌患者免疫功能的影响[J]. 中西医结合肝病杂志, 2020, 30(2): 111-113. [Zhu YL, Yi FT. The effect of γ knife the combined application of danshen injections on immune function in patients with primary liver cancer[J]. *Zhong Xi Yi Jie He Gan Bing Za Zhi*, 2020, 30(2): 111-113.]
- [9] 王斌, 胡岳山, 李杰芬. 丹参注射液对小鼠脾脏树突状细胞增殖的影响[J]. 河南中医学院学报, 2005, 20(6): 22-23. [Wang B, Hu YS, Li JF. Effect of Injection *Salvia miltiorrhiza* Bunge on Proliferation of Dendritic cells from mouse spleen[J]. *Henan Zhong Yi Xue Yuan Xue Bao*, 2005, 20(6): 22-23.]
- [10] 唐桂毅, 李靖菲, 李琳, 等. 丹酚酸B对大鼠肾缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中成药, 2012, 34(9): 1639-1643. [Tang GY, Li JF, Li L, *et al*. Protective effects of salvianolic acid B on renal ischemia reperfusion injury in rats[J]. *Zhong Cheng Yao*, 2012, 34(9): 1639-1643.]
- [11] Chen X, Wang L, Li P, *et al*. Dual TGF- β and PD-1 blockade synergistically enhances MAGE-A3-specific CD8(+) T cell response in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Int J Cancer*, 2018, 143(10): 2561-2574.
- [12] Batlle E, Massagué J. Transforming Growth Factor- β Signaling in Immunity and Cancer[J]. *Immunity*, 2019, 50(4): 924-940.
- [13] Zhang Q, Wang H, Mao C, *et al*. Fatty acid oxidation contributes to IL-1 β secretion in M2 macrophages and promotes macrophage-mediated tumor cell migration[J]. *Mol Immunol*, 2018, 94: 27-35.
- [14] Lin EY, Pollard JW. Tumor-associated macrophages press the angiogenic switch in breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(11): 5064-5066.
- [15] Qian B, Deng Y, Im JH, *et al*. A distinct macrophage population mediates metastatic breast cancer cell extravasation, establishment and growth[J]. *PLoS One*, 2009, 4(8): e6562.
- [16] Chen J, Li G, Meng H, *et al*. Upregulation of B7-H1 expression is associated with macrophage infiltration in hepatocellular carcinomas[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2012, 61(1): 101-108.
- [17] Shen X, Li N, Li H, *et al*. Increased prevalence of regulatory T cells in the tumor microenvironment and its correlation with TNM stage of hepatocellular carcinoma[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2010, 136(11): 1745-1754.
- [18] Chen T, Liu W, Chao X, *et al*. Salvianolic acid B attenuates brain damage and inflammation after traumatic brain injury in mice[J]. *Brain Res Bull*, 2011, 84(2): 163-168.
- [19] Xu Y, Jiang WL, Zhang SP, *et al*. Protocatechuic aldehyde protects against experimental sepsis *in vitro* and *in vivo*[J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2012, 110(4): 384-389.
- [20] Kim WS, Kim H, Kwon KW, *et al*. Cisplatin induces tolerogenic dendritic cells in response to TLR agonists via the abundant production of IL-10, thereby promoting Th2- and Tr1-biased T-cell immunity[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(23): 33765-33782.
- [21] Mackall CL, Fry TJ, Gress RE. Harnessing the biology of IL-7 for therapeutic application[J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11(5): 330-342.
- [22] Teng D, Ding L, Cai B, *et al*. Interleukin-7 enhances anti-tumor activity of CD8(+) T cells in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Cytokine*, 2019, 118: 115-123.

[编辑: 尤婷婷; 校对: 邱颖慧]

作者贡献:

李圣豪: 实验实施, 论文撰写

郝立园、国英琳: 数据分析, 论文修订

彭晴、丁静茹: 数据收集、整理及分析

石新丽: 实验设计, 论文审核