

棕矢车菊素调节 PD-L1 表达对前列腺癌细胞增殖、凋亡和免疫逃逸的影响

黄 辉, 袁朝勇, 曹钦钰²

遵义市第一人民医院 泌尿外科, 贵州 遵义 563000

摘 要: **目的** 探究棕矢车菊素调节程序性死亡配体-1 (PD-L1) 表达对前列腺癌细胞增殖、凋亡和免疫逃逸的影响。方法 培养人正常前列腺上皮细胞 RWPE-1 和前列腺癌细胞 PC-3, CCK-8 法检测不同浓度 (0、5、10、20、40、80 $\mu\text{mol/L}$) 棕矢车菊素对 RWPE-1 和 PC-3 细胞活力的影响。PC-3 细胞分为对照组、棕矢车菊素 (20、40 $\mu\text{mol/L}$) 组、多西他赛组、棕矢车菊素+重组 PD-L1 组。通过集落形成、Annexin V/PI 双染法和免疫印迹法检测细胞增殖、凋亡及蛋白表达; 流式细胞仪检测共培养体系中 PC-3 细胞凋亡; ELISA 检测共培养上清中 γ 干扰素、颗粒酶 B 含量。**结果** 棕矢车菊素 $\geq 20 \mu\text{mol/L}$ 时 PC-3 细胞活力显著降低 ($P < 0.05$)。与对照组比较, 棕矢车菊素各浓度组 PC-3 细胞集落形成数量, c-myc、增殖细胞核抗原(PCNA)、X 连锁凋亡抑制蛋白 (XIAP)、PD-L1、淋巴细胞激活基因 3 (LAG-3)、B7 同源物 (B7-H3) 蛋白表达均显著降低, PC-3 细胞凋亡率、C-多聚 ADP 核糖聚合酶 (PARP) 蛋白表达以及共培养体系中 PC-3 细胞凋亡率、 γ 干扰素、颗粒酶 B 含量均显著升高 ($P < 0.05$); 与棕矢车菊素 40 $\mu\text{mol/L}$ 组比较, 棕矢车菊素+重组 PD-L1 组 PC-3 细胞集落形成数量, c-myc、PCNA、XIAP、PD-L1、LAG-3、B7-H3 蛋白表达均显著升高, PC-3 细胞凋亡率、C-PARP 蛋白表达以及共培养体系中 PC-3 细胞凋亡率、 γ 干扰素、颗粒酶 B 含量均显著降低 ($P < 0.05$)。**结论** 棕矢车菊素通过下调 PD-L1 等免疫检查点表达抑制前列腺癌细胞增殖及免疫逃逸, 促进凋亡。

关键词: 棕矢车菊素; 前列腺癌; 程序性死亡配体-1; 增殖; 凋亡; 免疫逃逸; 增殖细胞核抗原; X 连锁凋亡抑制蛋白; 淋巴细胞激活基因 3; B7 同源物

中图分类号: R287.3 文献标志码: A 文章编号: 1674 - 5515(2026)01 - 0012 - 07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.01.002

Effects of jaceosidin on proliferation, apoptosis and immune escape of prostate cancer cells by regulating PD-L1 expression

HUANG Hui, YUAN Chaoyong, CAO Qinyu

Department of Urology, The First People's Hospital of Zunyi, Zunyi 563000, China

Abstract: Objective To explore the effects of jaceosidin on the proliferation, apoptosis and immune escape of prostate cancer cells by regulating PD-L1 expression. **Methods** Human normal prostate epithelial cells RWPE-1 and prostate cancer cells PC-3 were cultured. Effects of different concentrations (0, 5, 10, 20, 40, and 80 $\mu\text{mol/L}$) of jaceosidin on the viability of RWPE-1 and PC-3 cells were measured by the CCK-8 method. PC-3 cells were assigned into the control group, the jaceosidin (20 and 40 $\mu\text{mol/L}$) group, docetaxel group, and jaceosidin + recombinant PD-L1 group. Colony formation, Annexin V/PI double staining and Western blotting were used to detect cell proliferation, apoptosis and protein expression. The apoptosis of PC-3 cells in the co-culture system was detected by flow cytometry. ELISA was used to measure the levels of IFN- γ and granzyme B in the co-culture supernatant. **Results** When jaceosidin $\geq 20 \text{ mol/L}$, it has an inhibitory effect on the viability of PC-3 cells ($P < 0.05$). Compared with the control group, the colony formation quantity, and the protein expression of c-myc, PCNA, XIAP, PD-L1, LAG-3, and B7-H3 of PC-3 cells were decreased in the jaceosidin group, but the apoptosis rate of PC-3 cell, the protein expression of C-PARP, and the apoptosis rate of PC-3 cells, interferon- γ and granzyme B content in the co-culture system were higher ($P < 0.05$). Compared with the jaceosidin 40 $\mu\text{mol/L}$ group, the colony formation quantity, protein expression of c-myc, PCNA, XIAP, PD-L1, LAG-3, and B7-H3 of PC-3 cells in the jaceosidin + recombinant PD-L1 group were higher, but the apoptosis rate, C-PARP protein expression, and the apoptosis rate of PC-3 cells,

收稿日期: 2025-11-19

基金项目: 遵义市科技计划项目[遵市科合 HZ 字 (2024) 20 号]

作者简介: 黄 辉, 男, 主治医师, 硕士, 研究方向为泌尿外科。E-mail: hczi5r@163.com

interferon- γ and granzyme B content in the co-culture system were lower ($P < 0.05$). **Conclusion** Jaceosidin inhibits the proliferation and immune escape of prostate cancer cells and promotes apoptosis by down-regulating the expression of immune checkpoints such as PD-L1.

Key words: jaceosidin; prostate cancer; PD-L1; proliferation; apoptosis; immune escape; PCNA; XIAP; LAG-3; B7-H3

前列腺癌是全世界男性癌症相关死亡的主要原因之一,其发病率在全球男性恶性肿瘤中位居第 2 位,且近年来呈年轻化和发病率上升趋势,严重威胁男性健康^[1]。其中肿瘤细胞的异常增殖、凋亡抵抗及免疫逃逸是导致治疗失败的关键机制^[2]。据报道,程序性死亡配体-1 (PD-L1)/PD-1 通路作为肿瘤免疫逃逸的核心通路,已成为免疫治疗的重要靶点^[3]。研究显示,在前列腺癌中,肿瘤细胞和肿瘤微环境均可高表达 PD-L1,其通过与 T 细胞表面的 PD-1 结合,传递抑制性信号,导致 T 细胞功能耗竭,从而介导肿瘤的免疫逃逸^[4]。针对前列腺癌增殖失控、凋亡抵抗及免疫逃逸的核心问题,寻找兼具抑制肿瘤细胞生长与调节免疫微环境的药物成为研究热点。天然产物通过其多成分、多靶点的协同作用,调控前列腺癌中的多个恶性生物学过程,从而发挥抗癌功效^[5-6]。棕矢车菊素是一种天然黄酮类化合物,已有研究证实其具有抗炎、抗氧化及抗肿瘤活性^[7]。已有研究显示,棕矢车菊素可通过调控多个信号通路抑制胃癌、肺癌等肿瘤细胞的增殖并诱导凋亡^[7-8]。因此,本研究旨在探究棕矢车菊素对前列腺癌细胞增殖、凋亡及免疫逃逸的影响,并阐明其与 PD-L1 表达调控的关系,为前列腺癌的治疗提供新的候选药物和作用靶点。

1 材料与方法

1.1 材料

人正常前列腺上皮细胞 RWPE-1 (HTX155C) 和前列腺癌细胞 PC-3 (HTX3047) 均购自美国 ATCC; 棕矢车菊素 (质量分数 98.07%, 批号 HY-N0831)、多西他赛 (质量分数 99.94%, 批号 HY-B0011)、重组人 PD-L1 蛋白 (批号 HY-P73361)、RPMI-1640 培养基 (批号 HY-K3004)、CCK-8 检测试剂盒 (批号 HY-K0301)、Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒 (批号 HY-K1073)、RIPA 裂解液 (批号 HY-K1001)、PKH26 红色荧光染料 (批号 HY-D1451) 均购自美国 MCE 公司; Keratinocyte-SFM 培养基 (批号 17005042) 购自美国 Gibco 公司; 兔抗人 c-myc (批号 5605)、增殖细胞核抗原 (PCNA, 批号 13110)、X 连锁凋亡抑制蛋白 (XIAP, 批号

14334)、C-多聚 ADP 核糖聚合酶 (PARP, 批号 94885)、PD-L1 (批号 60475)、淋巴细胞激活基因 3 (LAG-3, 批号 15372)、B7 同源物 (3B7-H3, 批号 14058)、 β -肌动蛋白 (β -actin, 批号 4970) 均购自美国 CST 公司; 人 CD8⁺ T 细胞分选试剂盒 (批号 37659E) 购自上海; γ 干扰素 (批号 ml077386)、人颗粒酶 B (批号 ml060098) ELISA 试剂盒均购自上海酶联生物公司。

1.2 方法

1.2.1 CCK-8 法检测棕矢车菊素对 RWPE-1 和 PC-3 的细胞活力 RWPE-1 细胞采用 Keratinocyte-SFM 培养基培养, PC-3 细胞采用 RPMI-1640 培养基培养, 2 种细胞均置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养, 待细胞融合度超过 70% 进行传代培养, 取对数期生长的 RWPE-1 和 PC-3 细胞分别以 5×10^3 个/孔接种于 96 孔板培养 24 h。待细胞贴壁后分别添加终浓度 0 (对照)、5、10、20、40、80 $\mu\text{mol/L}$ 棕矢车菊素溶液培养 24 h^[9]。同时设置不加细胞的空白组, 培养结束后, 每孔加入 10 μL CCK-8 试剂孵育 2 h, 酶标仪测定各孔吸光度 (A) 值, 计算细胞活力。

$$\text{细胞活力} = (A_{\text{实验}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

1.2.2 PC-3 细胞分组及处理 将对数生长期的 PC-3 细胞分为对照组、棕矢车菊素 (20、40 $\mu\text{mol/L}$) 组、多西他赛 50 nmol/L 组^[10]、棕矢车菊素 (40 $\mu\text{mol/L}$) + 重组 PD-L1 (1 $\mu\text{g/mL}$) 组^[11]。除对照组加入等体积培养基外, 其余各组按上述浓度加入相应药物培养 24 h, 其中棕矢车菊素 + 重组 PD-L1 组先加入重组 PD-L1 预处理 2 h 后再加入棕矢车菊素培养 24 h。所有细胞均以 2×10^5 个/孔接种于 6 孔板, 培养 48 h 后进行后续实验。

1.2.3 集落形成检测棕矢车菊素对 PC-3 细胞的集落数的影响 将处理后的各组 PC-3 细胞以 1×10^5 个/孔的密度接种于 6 孔板, 连续培养 14 d。培养结束后, 先后经过 4% 多聚甲醛固定 30 min 以及 0.1% 结晶紫染色 20 min, 显微镜下计数细胞集落数, 每组设 6 个复孔。

1.2.4 Annexin V/PI 双染法结合流式细胞术检测棕矢车菊素对 PC-3 细胞凋亡率的影响 收集处理 48 h

后的各组 PC-3 细胞, Annexin V-FITC 重悬细胞, 再加入 5 μ L Annexin V-FITC 和 10 μ L PI 染色液混匀, 避光孵育 15 min。流式细胞仪检测细胞凋亡情况, Flow Jo 软件分析凋亡率。

1.2.5 免疫印迹法检测棕矢车菊素对 PC-3 细胞的增殖、凋亡及免疫检查点相关蛋白的影响 收集处理 48 h 后的各组 PC-3 细胞, RIPA 裂解液裂解 30 min, 离心吸取上清液即为总蛋白。蛋白变性后进行 SDS-PAGE 电泳, 转移至 PVDF 膜上, 5%脱脂牛奶封闭 2 h。分别加入 c-myc (1:1 000)、PCNA (1:2 000)、XIAP (1:1 000)、C-PARP (1:1 000)、PD-L1 (1:1 000)、LAG-3 (1:1 000)、B7-H3 (1:1 000) 及 β -actin (1:5 000) 一抗, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。补充 HRP 标记的二抗 (1:5 000) 孵育 1 h。ECL 显影后 Image J 软件分析各蛋白条带的灰度值。

1.2.6 流式细胞仪检测棕矢车菊素共培养体系中的 PC-3 细胞凋亡 按照 CD8⁺ T 细胞分选试剂盒从 6 位健康人外周血单个核细胞中分离纯化人外周血 CD8⁺ T 细胞, 本研究经过医院伦理会批准 (2024-KY-09015)。将处理 48 h 后的各组 PC-3 细胞以 1×10^4 个/孔接种于 24 孔板, 同时补充 CD8⁺ T 细胞, 细胞比例为 1:5, 共培养 24 h。收集共培养体系中的细胞, 利用共培养前经 PKH26 红色荧光染料标记的 PC-3 细胞, 通过流式细胞术设门圈定 PKH26 阳性细胞群, 按 1.2.5 项下方法进行 Annexin V/PI 双染, 进而特异性检测 PC-3 细胞凋亡率。

1.2.7 ELISA 检测棕矢车菊素对 PC-3 细胞共培养上清中 γ 干扰素、颗粒酶 B 水平的影响 收集按照 1.2.6 项下共培养体系的上清液, 离心吸取上清。按照 γ 干扰素和颗粒酶 B ELISA 试剂盒说明书操作, 分别补充标准品和样品孵育 90 min, 添加生物素化抗体, 孵育 60 min, 再次洗涤后加入 HRP 酶结合物孵育 30 min, 最后加入底物显色液避光孵育 15 min, 终止反应。酶标仪测定 A 值, 根据标准曲线计算上清液中 γ 干扰素和颗粒酶 B 的浓度。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 26.0 统计软件进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析和 LSD-*t* 检验。

2 结果

2.1 棕矢车菊素对 RWPE-1 和 PC-3 细胞活力的影响

如表 1 所示, 棕矢车菊素 0、5、10、20、40、80 μ mol/L 对 RWPE-1 正常细胞活力均无显著影响; 而当棕矢车菊素 ≥ 20 μ mol/L 时, 对 PC-3 细胞活力显著降低 ($P < 0.05$)。因此, 在后续研究中为了保证 PC-3 细胞具有一定存活状态 (过高浓度可能导致细胞大量死亡, 干扰实验结果) 以完成相关检测, 选择棕矢车菊素 20、40 μ mol/L 进行后续实验。

表 1 CCK-8 法检测不同浓度棕矢车菊素对 RWPE-1 和 PC-3 细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 1 Effects of different concentrations of jaceosidin on the viability of RWPE-1 and PC-3 cells detected by the CCK-8 method ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

棕矢车菊素/(μ mol $\cdot$ L ⁻¹)	细胞活力/%	
	RWPE-1	PC-3
0	98.66 $\pm$ 1.02	97.21 $\pm$ 2.01
5	95.15 $\pm$ 4.11	94.02 $\pm$ 6.48
10	96.65 $\pm$ 3.24	88.18 $\pm$ 7.16
20	94.18 $\pm$ 6.22	80.16 $\pm$ 8.15*
40	93.16 $\pm$ 5.62	54.20 $\pm$ 4.16*
80	90.19 $\pm$ 6.18	28.16 $\pm$ 2.65*

与棕矢车菊素 0 μ mol $\cdot$ L⁻¹ 组比较: * $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs jaceosidin 0 μ mol $\cdot$ L⁻¹ group.

2.2 棕矢车菊素对 PC-3 细胞集落数量的影响

如图 1、表 2 所示, 与对照组比较, 棕矢车菊素各浓度组 PC-3 细胞集落形成数量显著降低 ($P < 0.05$), 且呈浓度相关性; 与棕矢车菊素 40 μ mol/L 组比较, 棕矢车菊素+重组 PD-L1 组 PC-3 细胞集落形成数量显著升高 ($P < 0.05$)。

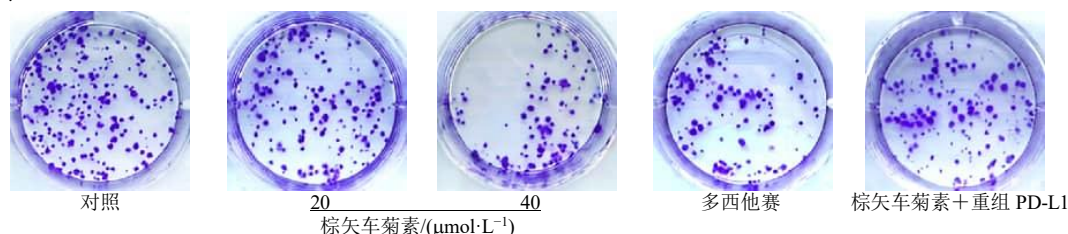


图 1 棕矢车菊素对 PC-3 细胞细胞集落数的影响

Fig. 1 Effect of jaceosidin on the colony number of PC-3 cells

表 2 各组 PC-3 细胞集落形成数量 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 2 Number of colony formation of PC-3 cells in each group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	浓度	集落形成数/个
对照	—	95.62±8.97
棕矢车菊素	20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	78.16±6.59*
	40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	51.23±4.13**
多西他赛	0.05 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	54.13±5.62**
棕矢车菊素 + 重组 PD-L1	40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ + 1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	67.26±6.05&

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与棕矢车菊素 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较: # $P < 0.05$; 与棕矢车菊素 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较: & $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs jaceosidin 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ group;

& $P < 0.05$ vs jaceosidin 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ group.

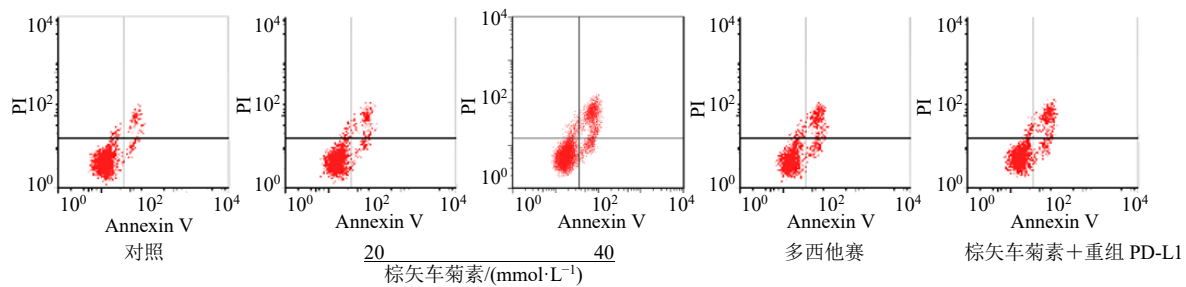


图 2 Annexin V/PI 双染法结合流式细胞术检测 PC-3 细胞凋亡率

Fig. 2 Detection of apoptosis rate of PC-3 cells using Annexin V/PI double staining combined with flow cytometry

表 3 各组 PC-3 细胞凋亡率比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 3 Comparison of apoptosis rates of PC-3 cells in each group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	浓度	凋亡率/%
对照	—	5.02±0.54
棕矢车菊素	20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	10.38±1.25*
	40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	24.12±2.06**
多西他赛	0.05 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	22.28±2.45**
棕矢车菊素 + 重组 PD-L1	40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ + 1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	15.87±1.55&

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与棕矢车菊素 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较: # $P < 0.05$; 与棕矢车菊素 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组比较: & $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs jaceosidin 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ group;

& $P < 0.05$ vs jaceosidin 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ group.

性; 与棕矢车菊素 40 $\mu\text{mol/L}$ 组相比, 棕矢车菊素 + 重组 PD-L1 组 PC-3 细胞 c-myc、PCNA、XIAP、PD-L1、LAG-3、B7-H3 蛋白相对表达量显著升高, C-PARP 蛋白表达显著降低 ($P < 0.05$)。

2.5 棕矢车菊素对共培养体系中 PC-3 细胞凋亡率的影响

如图 4、表 5 所示, 与对照组比较, 棕矢车菊素组共培养体系中 PC-3 细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.05$), 且呈浓度相关性; 与棕矢车菊素 40 $\mu\text{mol/L}$

2.3 棕矢车菊素对 PC-3 细胞凋亡的影响

如图 2、表 3 所示, 与对照组比较, 棕矢车菊素组 PC-3 细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.05$), 且呈浓度相关性; 与棕矢车菊素 40 $\mu\text{mol/L}$ 组比较, 棕矢车菊素 + 重组 PD-L1 组 PC-3 细胞凋亡率显著降低 ($P < 0.05$)。

2.4 棕矢车菊素对 PC-3 细胞增殖、凋亡及免疫检查点相关蛋白表达的影响

如图 3 和表 4 结果显示, 与对照组比较, 棕矢车菊素组 PC-3 细胞中 c-myc、PCNA、XIAP、PD-L1、LAG-3、B7-H3 蛋白相对表达量显著降低, C-PARP 蛋白表达显著升高 ($P < 0.05$), 且呈浓度相关

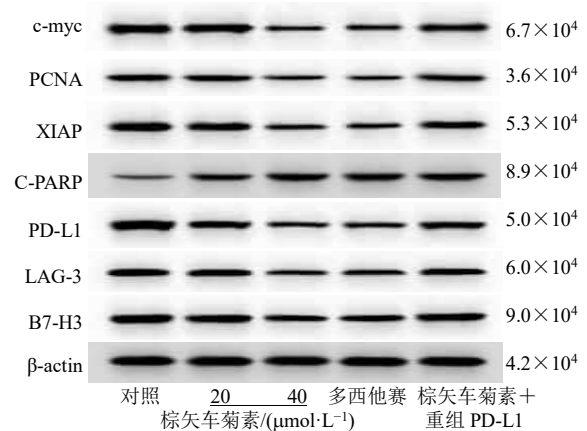


图 3 棕矢车菊素对 PC-3 细胞增殖、凋亡及免疫检查点相关蛋白的影响

Fig. 3 Effects of jaceosidin on the proliferation, apoptosis and immune checkpoint-related proteins of PC-3 cells

组比较, 棕矢车菊素 + 重组 PD-L1 组 PC-3 细胞凋亡率显著降低 ($P < 0.05$)。

2.6 棕矢车菊素对共培养上清中 γ 干扰素、颗粒酶 B 水平的影响

如表 6 所示, 与对照组比较, 棕矢车菊素组共培养体系中 PC-3 细胞 γ 干扰素和颗粒酶 B 含量均

表 4 各组 PC-3 细胞增殖、凋亡及免疫检查点相关蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 Comparison of proliferation, apoptosis and expression of immune checkpoint-related proteins in PC-3 cells of each group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	浓度	蛋白相对表达量						
		c-myc	PCNA	XIAP	C-PARP	PD-L1	LAG-3	B7-H3
对照	—	0.85±0.06	0.79±0.06	0.80±0.06	0.21±0.03	0.87±0.04	0.79±0.05	0.80±0.06
棕矢车菊素	20 μmol·L ⁻¹	0.54±0.05*	0.62±0.05*	0.61±0.05*	0.42±0.06*	0.56±0.06*	0.60±0.06*	0.61±0.05*
	40 μmol·L ⁻¹	0.30±0.04*#	0.36±0.04*#	0.34±0.04*#	0.67±0.05*#	0.30±0.04*#	0.32±0.05*#	0.40±0.04*#
多西他赛	0.05 μmol·L ⁻¹	0.36±0.04*#	0.41±0.05*#	0.35±0.03*#	0.64±0.06*#	0.33±0.03*#	0.35±0.04*#	0.42±0.05*#
棕矢车菊素 + 重组 PD-L1	40 μmol·L ⁻¹ + 1 μg·mL ⁻¹	0.47±0.05&	0.53±0.05&	0.50±0.05&	0.51±0.05&	0.48±0.05&	0.49±0.05&	0.53±0.04&

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与棕矢车菊素 20 μmol·L⁻¹ 组比较: # $P < 0.05$; 与棕矢车菊素 40 μmol·L⁻¹ 组比较: & $P < 0.05$ 。
* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs jaceosidin 20 μmol·L⁻¹ group; & $P < 0.05$ vs jaceosidin 40 μmol·L⁻¹ group.

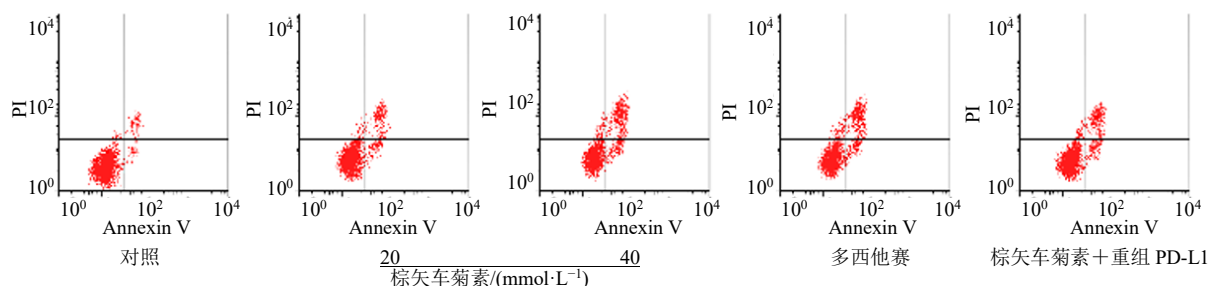


图 4 流式细胞仪检测棕矢车菊素对共培养体系中 PC-3 细胞凋亡的影响

Fig. 4 Flow cytometry analysis of the effect of jaceosidin on apoptosis of PC-3 cells in the co-culture system

表 5 各组共培养体系中 PC-3 细胞凋亡率 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 5 Apoptosis rate of PC-3 cells in each group of co-culture system ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	浓度	PC-3 细胞凋亡率/%
对照	—	4.52±0.54
棕矢车菊素	20 μmol·L ⁻¹	11.25±1.32*
	40 μmol·L ⁻¹	26.05±2.16*#
多西他赛	0.05 μmol·L ⁻¹	24.16±1.87*#
棕矢车菊素 + 重组 PD-L1	40 μmol·L ⁻¹ + 1 μg·mL ⁻¹	17.24±1.62&

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与棕矢车菊素 20 μmol·L⁻¹ 组比较: # $P < 0.05$; 与棕矢车菊素 40 μmol·L⁻¹ 组比较: & $P < 0.05$ 。
* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs jaceosidin 20 μmol·L⁻¹ group; & $P < 0.05$ vs jaceosidin 40 μmol·L⁻¹ group.

表 6 各组 PC-3 细胞凋亡率、 γ 干扰素和颗粒酶 B 含量比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 6 Comparison of apoptosis rate, interferon- γ content and granzyme B content of PC-3 cells in each group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	浓度	γ 干扰素/(pg·mL ⁻¹)	颗粒酶 B/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	120.15±13.65	37.26±6.25
棕矢车菊素	20 μmol·L ⁻¹	241.24±18.65*	156.29±20.16*
	40 μmol·L ⁻¹	468.26±24.69*#	278.21±21.65*#
多西他赛	0.05 μmol·L ⁻¹	448.26±30.05*#	251.39±24.02*#
棕矢车菊素 + 重组 PD-L1	40 μmol·L ⁻¹ + 1 μg·mL ⁻¹	315.19±20.15&	205.29±20.16&

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与棕矢车菊素 20 μmol·L⁻¹ 组比较: # $P < 0.05$; 与棕矢车菊素 40 μmol·L⁻¹ 组比较: & $P < 0.05$ 。
* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs jaceosidin 20 μmol·L⁻¹ group; & $P < 0.05$ vs jaceosidin 40 μmol·L⁻¹ group.

显著升高 ($P < 0.05$), 且呈浓度相关性; 与棕矢车菊素 40 μmol/L 组比较, 棕矢车菊素 + 重组 PD-L1 组 γ 干扰素和颗粒酶 B 含量显著降低 ($P < 0.05$)。

3 讨论

前列腺癌的治疗瓶颈在于晚期肿瘤的耐药性和免疫抑制微环境的形成, 传统化疗药物如多西他赛虽能延缓病情进展, 但易引发骨髓抑制、神经毒性等不良反应, 且无法彻底逆转肿瘤免疫逃逸^[12-14]。PC-3 细胞是一种雄激素非依赖性前列腺癌细胞系, 其生物学特性与晚期前列腺癌高度相似, 是研究前列腺癌增殖、凋亡及免疫逃逸机制的理想细胞模型^[14]。本研究以 PC-3 细胞为对象, 系统探讨棕矢

车菊素的抗前列腺癌作用及分子机制,为晚期前列腺癌的治疗提供了新的实验依据。

棕矢车菊素作为一种天然黄酮类化合物,已被证实具有广泛的抗肿瘤活性。董永杰等^[15]研究发现棕矢车菊素通过激活 cGAS-STING 信号通路,有效抑制结直肠癌 HCT116 细胞增殖、促进其凋亡,并增强自然杀伤细胞的杀伤活性,从而逆转肿瘤免疫逃逸。Ojulari 等^[16]报道棕矢车菊素能通过调控 Bax/Bcl-2 蛋白表达平衡、激活 PARP 凋亡执行因子,显著诱导 MCF-7 乳腺癌细胞发生早期和晚期凋亡,呈现剂量相关性。本研究结果显示,棕矢车菊素对正常前列腺上皮细胞 RWPE-1 活力无显著影响,但浓度 $\geq 20 \mu\text{mol/L}$ 时对 PC-3 细胞活力起抑制作用,提示棕矢车菊素对前列腺癌细胞具有选择性毒性。进一步对细胞增殖表明,棕矢车菊素组 PC-3 细胞集落形成数量显著减少,且 c-myc、PCNA 等增殖相关蛋白表达降低,这与 Liu 等^[7]研究中棕矢车菊素下调胃癌细胞 c-myc 表达的结果一致,说明棕矢车菊素可通过抑制增殖相关蛋白的表达来抑制前列腺癌细胞增殖。Annexin V/PI 双染实验显示棕矢车菊素能显著上调 PC-3 细胞凋亡率,同时下调抗凋亡蛋白 XIAP 表达、上调促凋亡蛋白 C-PARP 表达,与 Chen 等^[8]中棕矢车菊素诱导肺癌细胞凋亡的机制相似。此外,进一步结果表明棕矢车菊素可下调 PC-3 细胞中 PD-L1、LAG-3、B7-H3 的蛋白表达,这与 Chen 等^[17]发现的黄酮类化合物可下调肿瘤细胞免疫检查点分子表达的结论相符。提示棕矢车菊素可能通过多靶点调控发挥抗前列腺癌作用。

既往研究表明,PD-L1/PD-1 通路是肿瘤免疫逃逸的关键通路,PD-L1 在肿瘤细胞表面表达后,与 T 细胞表面的 PD-1 结合,进而抑制 T 细胞的活化、增殖及细胞因子分泌,从而逃避免疫监视^[18]。研究表明,PD-L1 的表达水平与前列腺癌恶性程度及预后密切相关,下调 PD-L1 表达可有效增强 T 细胞的抗肿瘤免疫功能^[19]。另外,除经典的免疫调节功能外,近年研究表明 PD-L1 本身可作为内在致癌信号分子,可通过反向信号传导激活细胞内信号通路(如 PI3K/Akt、mTOR 等),进而促进细胞周期进程和增强凋亡抵抗。本研究中,棕矢车菊素+重组 PD-L1 组的 PC-3 细胞增殖能力较棕矢车菊素 40 mmol/L 组回升,凋亡率降低,且共培养体系中 γ 干扰素、颗粒酶 B 含量减少,PC-3 细胞凋亡率下降,外源性回补 PD-L1 部分逆转了棕矢车菊素对 PC-3

细胞增殖的抑制和凋亡的诱导作用,表明棕矢车菊素通过下调 PD-L1,不仅解除了对 T 细胞的抑制,也可能直接干扰了 PD-L1 介导的促增殖和抗凋亡细胞内信号,这为理解棕矢车菊素的多效性抗肿瘤机制提供了新方向。这一结果与 Quan 等^[20]研究中“回补 PD-L1 可减弱中药提取物对非小细胞肺癌的免疫增强作用”的结论一致,证实棕矢车菊素是通过下调 PD-L1 表达来发挥抑制增殖、诱导凋亡及增强免疫功能的作用。同时,棕矢车菊素对 LAG-3、B7-H3 的下调作用也可能协同增强免疫效应。以往研究证实 LAG-3 通过结合 MHC II 分子抑制 T 细胞活性,B7-H3 则可通过多种途径促进肿瘤免疫逃逸,3 者的共同下调进一步强化了棕矢车菊素的免疫调节效果^[21]。

综上,棕矢车菊素下调 PD-L1 等免疫检查点分子的表达,抑制前列腺癌细胞增殖、诱导细胞凋亡,并增强 CD8⁺ T 细胞的抗肿瘤免疫功能,从而逆转肿瘤免疫逃逸。本研究证实棕矢车菊素对前列腺癌的免疫调节作用,并阐明其与 PD-L1 表达调控的关系,为天然产物在前列腺癌免疫治疗中的应用提供了新的参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Guruvayurappan G K, Frankenbach-Désor T, Laubach M, et al. Clinical challenges in prostate cancer management: Metastatic bone-tropism and the role of circulating tumor cells [J]. *Cancer Lett*, 2024, 606: 217310.
- [2] Liu Q, Guan Y J, Li S L. Programmed death receptor (PD-1)/PD-ligand (L)1 in urological cancers: The "all-around warrior" in immunotherapy [J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1): 183.
- [3] Tsai M Y, Lu C K, Shu L H, et al. *Antrodia cinnamomea* formula suppresses prostate cancer progression via immune modulation and PD-1/PD-L1 pathway inhibition [J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(6): 2684.
- [4] Žvirblė M, Vaicekauskaitė I, Survilā Ž, et al. Liquid-based diagnostic panels for prostate cancer: The synergistic role of soluble PD-L1, PD-1, and mRNA biomarkers [J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(2): 704.
- [5] Zou B, Long Y, Gao R S, et al. Nanodelivery system of traditional Chinese medicine bioactive compounds: Application in the treatment of prostate cancer [J]. *Phytomedicine*, 2024, 135: 155554.
- [6] 吴威,洪霖,戴思思,等. 土当归醋酸乙酯部位化学成分

- 分研究及抗前列腺癌活性评价 [J]. 中草药, 2025, 56(6): 1903-1915.
- [7] Liu J, Li S M, Tang Y J, *et al.* Jaceosidin induces apoptosis and inhibits migration in AGS gastric cancer cells by regulating ROS-mediated signaling pathways [J]. *Redox Rep*, 2024, 29(1): 2313366.
- [8] Chen Z J, Yang Z Y, Liu Y Y, *et al.* Jaceosidin overcomes osimertinib resistance in lung cancer by inducing G2/M cycle arrest through targeting DDB1 [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2025, 499: 117327.
- [9] Guo Q R, Zhou W M, Zhang G B, *et al.* Jaceosidin inhibits the progression and metastasis of NSCLC by regulating miR-34c-3p/Integrin $\alpha 2 \beta 1$ axis [J]. *Heliyon*, 2023, 9(5): e16158.
- [10] Sheng T T, Su H, Yao L, *et al.* RhoB regulates prostate cancer cell proliferation and docetaxel sensitivity via the PI3K-AKT signaling pathway [J]. *BMC Cancer*, 2025, 25(1): 354.
- [11] Li J N, Liu X Y, Qi F T, *et al.* Immune modulatory effects of PD-1/PD-L1 in myasthenia gravis: Insights from peripheral blood mononuclear cell analysis [J]. *FASEB J*, 2025, 39(15): e70827.
- [12] Raychaudhuri R, Lin D W, Montgomery R B. Prostate cancer: A review [J]. *JAMA*, 2025, 333(16): 1433-1446.
- [13] Petrylak D P, Ratta R, Matsubara N, *et al.* Pembrolizumab plus docetaxel versus docetaxel for previously treated metastatic castration-resistant prostate cancer: The randomized, double-blind, phase III KEYNOTE-921 trial [J]. *J Clin Oncol*, 2025, 43(14): 1638-1649.
- [14] García-Pérez A I, Rubio V, Herráez A, *et al.* Cytotoxicity of esculetin compared with vinblastine and paclitaxel in PC-3 prostate cancer cells [J]. *Curr Oncol*, 2025, 32(9): 526.
- [15] 董永杰, 董静, 岳峰, 等. 棕矢车菊素通过调节 cGAS-STING 信号通路影响结直肠癌细胞免疫逃逸的机制研究 [J]. 中国免疫学杂志, 2025, 41(3): 634-639.
- [16] Ojulari O V, Chae J B, Lee S G, *et al.* Apoptotic effect of jaceosidin on MCF-7 human breast cancer cells through modulation of ERK and p38 MAPK pathways [J]. *Nat Prod Res*, 2021, 35(24): 6049-6053.
- [17] Chen J, Zhao Y, Wang X L, *et al.* Hyperoside inhibits RNF8-mediated nuclear translocation of β -catenin to repress PD-L1 expression and prostate cancer [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2024, 24(6): 464-476.
- [18] Lee D, Cho M, Kim E, *et al.* PD-L1: From cancer immunotherapy to therapeutic implications in multiple disorders [J]. *Mol Ther*, 2024, 32(12): 4235-4255.
- [19] Fu M L, Li J X, Xuan Z D, *et al.* NDR1 mediates PD-L1 deubiquitination to promote prostate cancer immune escape via USP10 [J]. *Cell Commun Signal*, 2024, 22(1): 429.
- [20] Quan Z H, Yang Y, Zheng H M, *et al.* Clinical implications of the interaction between PD-1/PD-L1 and PI3K/AKT/mTOR pathway in progression and treatment of non-small cell lung cancer [J]. *J Cancer*, 2022, 13(13): 3434-3443.
- [21] Rugamba A, Kang D Y, Sp N, *et al.* Silibinin regulates tumor progression and tumorsphere formation by suppressing PD-L1 expression in non-small cell lung cancer (NSCLC) cells [J]. *Cells*, 2021, 10(7): 1632.

[责任编辑 高源]