

本文引用: 徐 丽, 胡泽玉, 胡明月, 赵 芳, 蔡 雄. 青藤碱通过调控 XCL 抑制 Jurkat 细胞增殖与活化的机制研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(12): 2288-2295.

## 青藤碱通过调控 XCL 抑制 Jurkat 细胞增殖与活化的机制研究

徐 丽<sup>1</sup>, 胡泽玉<sup>1</sup>, 胡明月<sup>2</sup>, 赵 芳<sup>1</sup>, 蔡 雄<sup>1,2\*</sup>

1. 湖南中医药大学中医药科学院, 湖南 长沙 410208; 2. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南 长沙 410007

**[摘要]** **目的** 探究青藤碱对 Jurkat 细胞增殖与活化的影响及其通过调控 XC 基序趋化因子配体(XCL)表达在急性 T 淋巴细胞白血病中的潜在作用机制。**方法** 以人 T 淋巴细胞白血病细胞系(Jurkat, Clone E6-1)为研究对象, 分别以不同浓度的青藤碱(0、150、300、600  $\mu\text{mol/L}$ )处理 24、48、72 h, 通过 CCK-8 检测细胞增殖, 以确定最佳干预浓度和时间; 流式细胞术检测细胞凋亡; 流式细胞术和 ELISA 检测 T 细胞活化标志物 CD25 表达水平及活化后白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )的含量; 转录组测序分析差异表达基因(DEGs)变化, 并对 DEGs 进行 GO 和 KEGG 通路富集分析; 比较各组间 XCL 的基因丰度, qRT-PCR 验证细胞中 XCL1 和 XCL2 mRNA 的表达水平。**结果** 与青藤碱 0  $\mu\text{mol/L}$  组比较, 青藤碱 150  $\mu\text{mol/L}$  组、青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$  组和青藤碱 600  $\mu\text{mol/L}$  组 Jurkat 细胞的存活率、T 细胞活化标志物 CD25 表达水平、细胞上清液中 IFN- $\gamma$  含量均降低( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ,  $P<0.001$ ); Jurkat 细胞的凋亡率升高( $P<0.01$ ,  $P<0.001$ )。与青藤碱 150  $\mu\text{mol/L}$  组比较, 青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$  组和青藤碱 600  $\mu\text{mol/L}$  组 Jurkat 细胞的凋亡率均升高( $P<0.001$ ); 细胞上清液中 IFN- $\gamma$  含量均降低( $P<0.001$ )。与青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$  组比较, 青藤碱 600  $\mu\text{mol/L}$  组 Jurkat 细胞的凋亡率升高( $P<0.001$ ); 细胞上清液中 IFN- $\gamma$  含量降低( $P<0.001$ )。转录组测序结果发现, 青藤碱 0  $\mu\text{mol/L}$  组、青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$  组和青藤碱 600  $\mu\text{mol/L}$  组共获得 97 个 DEGs; GO 富集分析表明, DEGs 显著富集于免疫与炎症反应、对 TNF 的应答及 TNF 介导的信号通路等生物学过程, 涉及的 DEGs 包括 XCL2、XCL1 等; KEGG 通路富集分析进一步表明, XCL 信号通路在青藤碱处理组中明显富集。基因表达水平分析显示, DEGs 中 XCL 在青藤碱 0  $\mu\text{mol/L}$  组中高表达, 而在青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$  组和青藤碱 600  $\mu\text{mol/L}$  组中低表达; 进一步 qRT-PCR 结果证实, 与青藤碱 0  $\mu\text{mol/L}$  组比较, 青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$  组和青藤碱 600  $\mu\text{mol/L}$  组 Jurkat 细胞的 XCL1 和 XCL2 mRNA 表达水平均降低( $P<0.001$ )。**结论** 青藤碱可抑制 Jurkat 细胞增殖与活化, 其分子机制可能与 XCL 表达的下调相关。

**[关键词]** 青藤碱; Jurkat 细胞; 细胞增殖; 细胞活化; 转录组测序; XC 基序趋化因子配体

**[中图分类号]** R285.5

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.12.007

## The mechanism of sinomenine in inhibiting Jurkat cell proliferation and activation through regulation of XCL

XU Li<sup>1</sup>, HU Zeyu<sup>1</sup>, HU Mingyue<sup>2</sup>, ZHAO Fang<sup>1</sup>, CAI Xiong<sup>1,2\*</sup>

1. Academy of Chinese Medical Sciences, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China;

2. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effects of sinomenine (SIN) on Jurkat cell proliferation and activation as well as its potential mechanism of action in acute T-cell lymphoblastic leukemia via regulation of XC motif chemokine ligand (XCL) expression. **Methods** The human T lymphocytic leukemia cell line Jurkat (Clone E6-1) was treated with different concentrations

**[收稿日期]** 2025-08-21

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(82274506); 湖南省自然科学基金面上项目(224JJ5298)。

**[通信作者]** \* 蔡 雄, 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, E-mail: caixiong@hnu.edu.cn。

of SIN (0, 150, 300, 600  $\mu\text{mol/L}$ ) for 24, 48, and 72 hours. Cell proliferation was assessed using the CCK-8 assay to determine the optimal intervention concentration and duration. Apoptosis was measured by flow cytometry. Cell activation and post-activation cytokine levels (IL-6, TNF- $\alpha$ , and IFN- $\gamma$ ) were measured via flow cytometry and ELISA. Flow cytometry and ELISA were employed to measure the expression level of the T cell activation marker CD25, as well as the levels of interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), and interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) after activation. Transcriptome sequencing was performed to analyze differentially expressed genes (DEGs), followed by GO and KEGG pathway enrichment analysis of the DEGs. Gene abundance of XCL was compared across groups. The mRNA expression levels of XCL1 and XCL2 in cells were verified by qRT-PCR.

**Results** Compared with the 0  $\mu\text{mol/L}$  SIN group, the 150  $\mu\text{mol/L}$ , 300  $\mu\text{mol/L}$ , and 600  $\mu\text{mol/L}$  SIN groups showed decreased cell viability, lower expression of the T cell activation marker CD25, and reduced IFN- $\gamma$  levels in the cell supernatant ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ). The apoptosis rate of Jurkat cells increased in these groups ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ). Compared with the 150  $\mu\text{mol/L}$  SIN group, the 300  $\mu\text{mol/L}$  and 600  $\mu\text{mol/L}$  SIN groups exhibited an elevation in apoptosis rate ( $P < 0.001$ ) and a reduction in IFN- $\gamma$  levels ( $P < 0.001$ ). Compared with the 300  $\mu\text{mol/L}$  SIN group, the 600  $\mu\text{mol/L}$  SIN group displayed increased apoptosis ( $P < 0.001$ ) and decreased IFN- $\gamma$  secretion ( $P < 0.001$ ). Transcriptome sequencing identified 97 DEGs among the 0, 300, and 600  $\mu\text{mol/L}$  SIN groups. GO enrichment analysis indicated that these DEGs were significantly enriched in biological processes related to immune and inflammatory responses, response to TNF, and TNF mediated signaling pathways, involving DEGs such as XCL2 and XCL1. KEGG pathway analysis further revealed marked enrichment of the XCL signaling pathway in SIN treated groups. Expression analysis showed that XCL was highly expressed in the 0  $\mu\text{mol/L}$  SIN group but downregulated in the 300  $\mu\text{mol/L}$  and 600  $\mu\text{mol/L}$  groups. Subsequent qRT-PCR verification confirmed that the mRNA expression levels of both XCL1 and XCL2 were lower in the 300  $\mu\text{mol/L}$  and 600  $\mu\text{mol/L}$  SIN groups compared with the 0  $\mu\text{mol/L}$  SIN group ( $P < 0.001$ ).

**Conclusion** SIN can inhibit the proliferation and activation of Jurkat cells, and its molecular mechanism may be associated with the downregulation of XCL expression.

[**Keywords**] sinomenine; Jurkat cell; cell proliferation; cell activation; transcriptome sequencing; XC motif chemokine ligand

T细胞急性淋巴细胞白血病(T-cell acute lymphoblastic leukemia, T-ALL)是一种血液系统恶性肿瘤,主要由T细胞的异常增殖以及未成熟T细胞前体的克隆性、侵袭性增生引起<sup>[1]</sup>。XC基序趋化因子配体(XC motif chemokine ligand, XCL)是C型趋化因子家族的成员,在T细胞的异常激活和增殖中有着重要作用<sup>[2]</sup>。T-ALL的西医治疗手段相对有限,以高强度化疗药物和造血干细胞移植为主<sup>[3]</sup>。然而,极差的预后和昂贵的治疗费用限制了其临床使用<sup>[4]</sup>。

相较于现代医学,中医的核心优势在于“扶正祛邪”<sup>[5]</sup>。在T-ALL的治疗中,中医疗法能显著增强患者的治疗耐受性,并有效改善其生存质量<sup>[6]</sup>。青藤碱(sinomenine, SIN)是一种从防己科植物青藤中提取出来的吗啡烷类成分,具有抗炎、降压、镇痛、抗心律失常、抗肿瘤等多种药理作用<sup>[7-9]</sup>。研究证实,青藤碱不仅能抑制Jurkat细胞增殖并诱导其凋亡,还能以剂量依赖的方式对MOLT-4细胞产生同样效应<sup>[10-11]</sup>,但具体的机制尚未可知。此外,近期还有研究表明,盐酸青藤碱可有效抑制T-ALL中CEM细胞的增殖<sup>[12]</sup>。因此,本研究以人T淋巴细胞白血病细胞系Jurkat为实验对象,通过转录组测序探索青藤碱影响T-

ALL细胞增殖与活化的具体作用及机制,为青藤碱在T-ALL中的临床应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞系

人T淋巴细胞白血病细胞系(Jurkat, Clone E6-1,批号CL-0129),购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

### 1.2 药物与试剂

青藤碱购自上海陶术生物科技股份有限公司(批号:149443);Jurkat细胞专用培养基购自武汉普诺赛生命科技有限公司(批号:WHAA24F161);胎牛血清购自美国Gibco公司(批号:2300496P);CCK8试剂盒、Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )ELISA试剂盒、功能级CD3单抗及功能级CD28单抗均购自美国eBioscience公司(批号:149443、WZ2482V04196、WE07BH8PH7396、WE10BL20H2868、WW02486R5158、2423731、2452855);FITC标记的CD25抗体购自美国Biolegend公司(批号:3082684);SYBR Green I嵌合荧光法qPCR试剂盒、一步法反

转录试剂盒均购自苏州近岸蛋白质科技股份有限公司(批号:05256502、05275701)。

### 1.3 仪器

全波长多功能酶标仪(美国赛默飞世尔公司,型号:Varioskan Flash);流式细胞仪(美国碧迪医疗器械有限公司,型号:LSRFortessa);荧光定量PCR仪(美国应用生物系统公司,型号:Quantstudio 7 Flex)。

### 1.4 方法

1.4.1 细胞培养 使用 Jurkat 细胞专用培养基进行细胞培养。培养条件为 37 °C、5% CO<sub>2</sub>、100%湿度。待细胞密度达到 3×10<sup>5</sup>~5×10<sup>5</sup> 个/mL 时采用半换液法进行传代。

1.4.2 CCK-8 法检测细胞增殖 取对数生长期的 Jurkat 细胞,以每孔 5×10<sup>4</sup> 个的密度接种于 96 孔板。课题组前期研究表明,0.5、1、2 mmol/L 青藤碱可抑制 Jurkat 细胞增殖并促进凋亡<sup>[11,13-14]</sup>,但低剂量的青藤碱效果尚不明确。本研究在此基础上,考察更低剂量青藤碱的作用,分别以 0、150、300、600 μmol/L 的青藤碱处理 24、48、72 h。待药物处理结束后,吸弃培养基,更换为含 10 μL CCK-8 试剂的新鲜培养基,37 °C避光孵育 1 h,于 450 nm 波长下检测吸光度。细胞存活率=(对照组吸光度均值-实验组吸光度均值)/(对照组吸光度均值-空白孔吸光度均值)×100%<sup>[10]</sup>。实验重复 3 次,每组设置 6 个复孔。

1.4.3 流式细胞术检测细胞凋亡 分别使用 0、150、300、600 μmol/L 浓度的青藤碱处理 Jurkat 细胞 48 h,收集细胞,350×g 离心 5 min,弃上清;加入 4 °C 预冷的 PBS 洗涤,轻轻重悬细胞并计数,取 5×10<sup>5</sup> 个重悬的细胞,350×g 离心 5 min,弃上清;加入 500 μL Annexin V 结合缓冲液重悬细胞,再加入 5 μL 荧光素标记的 Annexin V 和 5 μL 的细胞核染色液重悬细胞,室温避光孵育 15 min;流式细胞仪检测 Jurkat 细胞凋亡率。

1.4.4 流式细胞术和 ELISA 检测细胞活化及活化后细胞因子的含量 使用含 10 μg/mL CD3 抗体的 Jurkat 细胞专用培养基,在 4 °C 条件下对 48 孔板进行过夜包被;吸去孔板中的液体,向每孔加入 500 μL 密度为 5×10<sup>5</sup> 个/mL 的 Jurkat 细胞悬液,并加入 1 μg/mL CD28 抗体以进行细胞活化;然后加入 0、150、300、600 μmol/L 的青藤碱,24 h 后收集细胞;分别使用可固定活死染料(按 1 μL/mL PBS 配制)和 FITC

标记的 CD25 抗体,对细胞进行可固定活死染色与 CD25 表面染色;采用流式细胞仪检测 T 细胞活化水平。收集各组细胞上清液,按照 ELISA 试剂盒说明书检测上清液中细胞因子 TNF-α、IL-6、IFN-γ 的含量。

1.4.5 转录组测序分析 收集各组细胞,提取 RNA 进行转录组测序,每组进行 3 次生物学重复。以 FDR<0.05 且 |FC|>2 为显著性标准,筛选出差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs),并分别采用火山图和韦恩图可视化 DEGs 的分布模式及各组间的数量关系。使用百迈客云平台([www.biocloud.net](http://www.biocloud.net))进行 GO 和 KEGG 通路富集分析,比较不同组间的基因表达丰度,筛选出青藤碱影响 Jurkat 细胞增殖的关键差异基因。

1.4.6 qRT-PCR 验证关键差异基因表达 各组细胞提取总 RNA,然后将 RNA 反转录为 cDNA,并以此作为模板,于 20 μL 体系中进行 qRT-PCR 分析。XCL1 与 XCL2 基因的相对表达量通过 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法计算得出。引物序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences of qRT-PCR

基因	序列	长度/bp
XCL1	正向: TGCTCTCTCACTGCATACATTG	100
	反向: TGGTGTAGGTCTTGATTCGTGCT	
XCL2	正向: AGACTTCTCATCCTGGCCCT	106
	反向: TCACTCCCTACACCTTCCACA	
GAPDH	正向: GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT	157
	反向: GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG	

1.4.7 统计学分析 利用 SPSS 25.0 软件及 Graph-Pad Prism 8.0.2 进行统计学分析。数据均用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示。实验数据满足正态分布和方差齐性,多组数据间比较使用单因素方差分析,多组间两两数据比较采用 LSD 检验。不符合正态分布时,使用非参数检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 青藤碱抑制 Jurkat 细胞增殖并促进凋亡

CCK-8 结果显示,24、48、72 h 时,与青藤碱 0 μmol/L 组比较,青藤碱 150 μmol/L 组、青藤碱 300 μmol/L 组和青藤碱 600 μmol/L 组 Jurkat 细胞的存活率均降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.001$ ),且细胞存活率随药物浓度

增加与作用时间延长而递减,提示青藤碱对 Jurkat 细胞存活率的抑制呈时间和剂量依赖性。由于青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$  组和青藤碱 600  $\mu\text{mol/L}$  组处理 72 h 后,细胞的存活率均低于 50%,考虑处理 72 h 可能导致细胞死亡过多,进而影响对增殖抑制的评估,故后续实验统一采用 48 h 作为处理时间点。详见图 1。

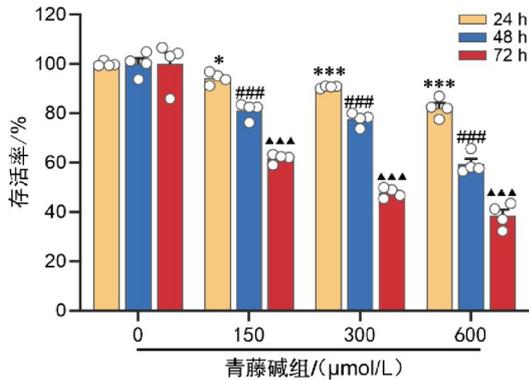


图 1 各组细胞增殖水平比较

**Fig.1** Comparison of cell proliferation levels among groups  
注:与青藤碱 0  $\mu\text{mol/L}$  组比较, \* $P<0.05$ , \*\*\* $P<0.001$ ;与青藤碱 0  $\mu\text{mol/L}$  组比较, ### $P<0.001$ ;与青藤碱 0  $\mu\text{mol/L}$  组比较, ▲▲▲ $P<0.001$ 。

流式结果显示,与青藤碱 0  $\mu\text{mol/L}$  组比较,青藤碱 150  $\mu\text{mol/L}$  组、青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$  组和青藤碱 600  $\mu\text{mol/L}$  组 Jurkat 细胞的凋亡率均升高 ( $P<0.01$ ,  $P<0.001$ );与青藤碱 150  $\mu\text{mol/L}$  组比较,青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$  组和青藤碱 600  $\mu\text{mol/L}$  组 Jurkat 细胞的凋亡率均升高 ( $P<0.001$ );与青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$

组比较,青藤碱 600  $\mu\text{mol/L}$  组 Jurkat 细胞的凋亡率升高 ( $P<0.001$ )。详见图 2。

### 2.2 青藤碱抑制 Jurkat 细胞活化

与青藤碱 0  $\mu\text{mol/L}$  组比较,青藤碱 150  $\mu\text{mol/L}$  组、青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$  组和青藤碱 600  $\mu\text{mol/L}$  组 Jurkat 细胞的 T 细胞活化标志物 CD25 表达水平均降低 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ );青藤碱 150  $\mu\text{mol/L}$  组、青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$  组和青藤碱 600  $\mu\text{mol/L}$  组间比较差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。此外,ELISA 结果显示,与青藤碱 0  $\mu\text{mol/L}$  组比较,青藤碱 150  $\mu\text{mol/L}$  组、青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$  组和青藤碱 600  $\mu\text{mol/L}$  组 Jurkat 细胞上清液中 IFN- $\gamma$  含量均降低 ( $P<0.001$ );与青藤碱 150  $\mu\text{mol/L}$  组比较,青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$  组和青藤碱 600  $\mu\text{mol/L}$  组 Jurkat 细胞上清液中 IFN- $\gamma$  含量均降低 ( $P<0.001$ );与青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$  组比较,青藤碱 600  $\mu\text{mol/L}$  组 Jurkat 细胞上清液中 IFN- $\gamma$  含量降低 ( $P<0.001$ )。各组间 TNF- $\alpha$  和 IL-6 的含量差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。详见图 3—4。

### 2.3 转录组测序分析

2.3.1 DEGs 变化 转录组测序结果发现,青藤碱 0  $\mu\text{mol/L}$  组、青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$  组和青藤碱 600  $\mu\text{mol/L}$  组共获得 97 个 DEGs。其中青藤碱 0  $\mu\text{mol/L}$  组与青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$  组共鉴定出 21 个 DEGs (10 个上调、11 个下调);青藤碱 0  $\mu\text{mol/L}$  组与青藤碱 600  $\mu\text{mol/L}$  组则鉴定出 76 个 DEGs (15 个上调、61 个下调)。青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$  组和青藤碱 600  $\mu\text{mol/L}$  组共有 9 个重叠的 DEGs,其中 4 个上调、5 个下调。详见图 5。

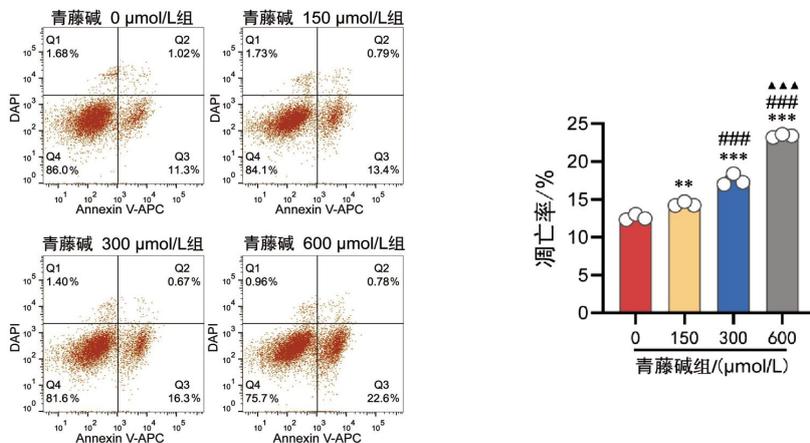


图 2 各组细胞凋亡率的变化

**Fig.2** Changes in cell apoptosis rates of each group

注:与青藤碱 0  $\mu\text{mol/L}$  组相比, \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ ;与青藤碱 150  $\mu\text{mol/L}$  组比较, ### $P<0.001$ ;与青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$  组比较, ▲▲▲ $P<0.001$ 。

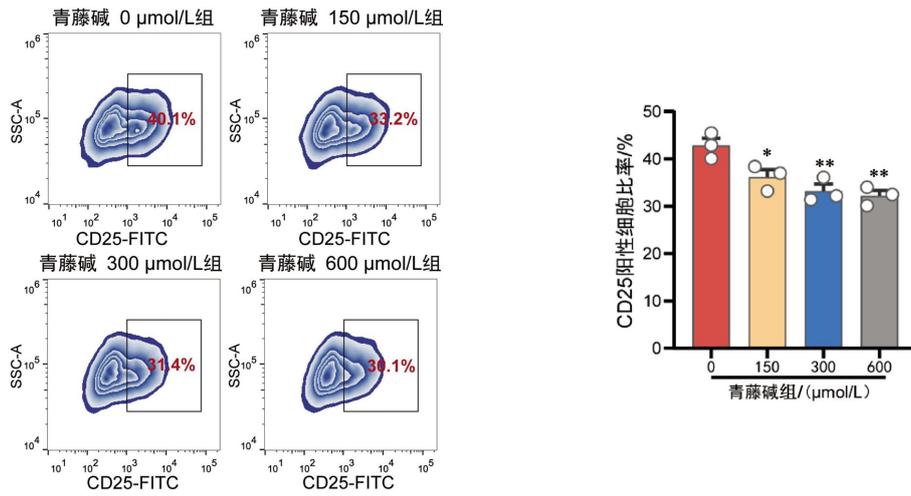


图 3 各组细胞 CD25 表达的变化

Fig.3 Changes in CD25 expression in cells of each group

注:与青藤碱 0 μmol/L 组比较,\*P<0.05,\*\*P<0.01。

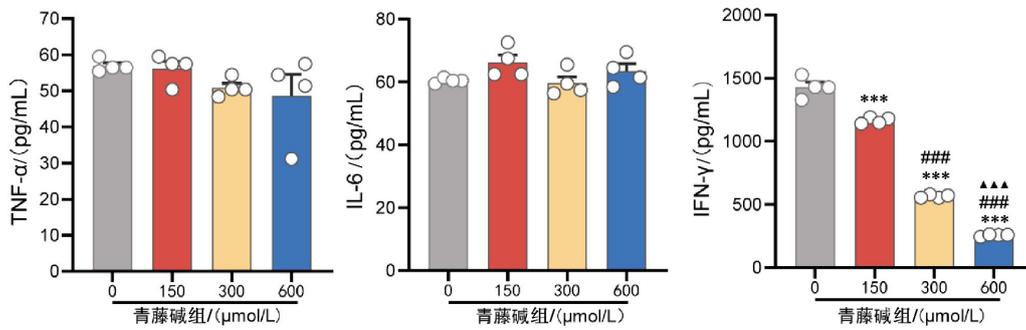


图 4 各组细胞上清液中 TNF-α、IL-6、IFN-γ 含量的变化

Fig.4 Changes in TNF-α, IL-6, and IFN-γ levels in cell culture supernatant of each group

注:与青藤碱 0 μmol/L 组比较,\*\*\*P<0.001;与青藤碱 150 μmol/L 组比较,###P<0.001;与青藤碱 300 μmol/L 组比较,▲▲▲P<0.001。

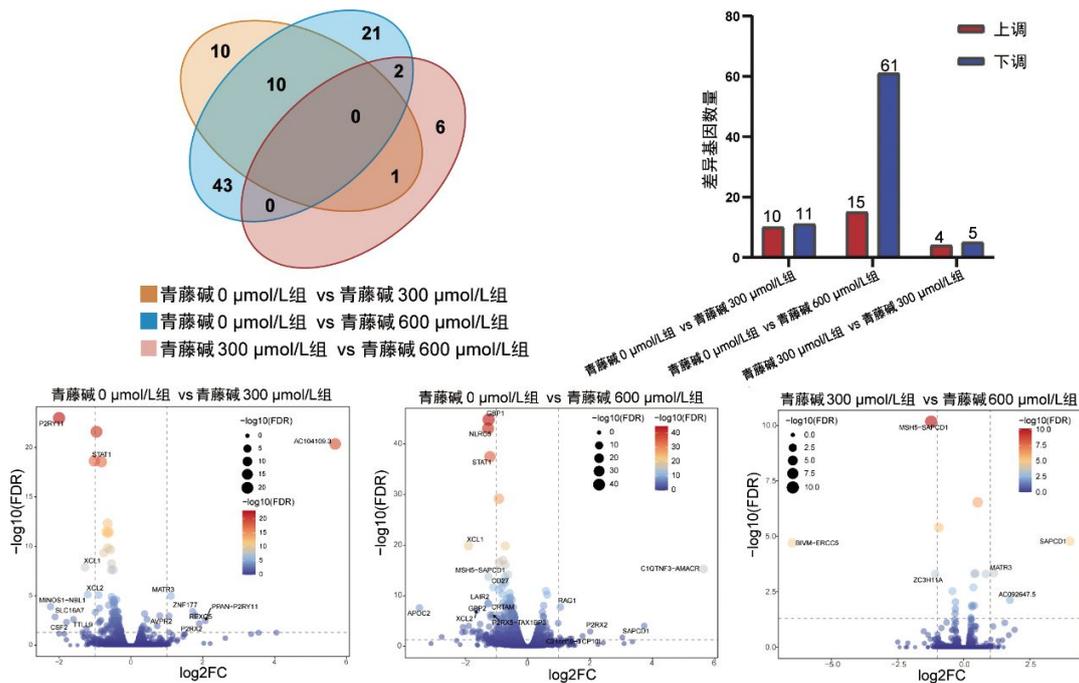


图 5 各组细胞 DEGs 的变化

Fig.5 Changes in DEGs in cells of each group

注:A.DEGs 韦恩图;B.DEGs 数量变化;C.DEGs 火山图

2.3.2 DEGs 富集分析 GO 富集分析表明,DEGs 显著富集于免疫与炎症反应、对 TNF 的应答及 TNF 介导的信号通路等生物学过程。涉及的 DEGs 包括 CXCR3、ACKR2、TNFRSF1B、CCL4、TNFSF6B、HLA-DOB、LAIR2、RAG1、CSF2、IL3、XCL2、XCL1、CD27 和 STAT1。KEGG 通路富集分析进一步表明,XCL 信号通路、趋化因子信号通路、NOD 样受体信号通路和 TNF 信号通路在青藤碱处理组中富集,其中 XCL 信号通路富集最显著。详见图 6—7。

### 2.4 qRT-PCR 验证 XCL1 和 XCL2 的 mRNA 表达

基于转录组测序数据的基因表达水平分析显示,这些 DEGs 中 XCL 在青藤碱 0  $\mu\text{mol/L}$  组中高表达,而在青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$  组和青藤碱 600  $\mu\text{mol/L}$  组中低表达。进一步 qRT-PCR 验证结果证实,与青藤碱 0  $\mu\text{mol/L}$  组比较,青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$  组和青藤

碱 600  $\mu\text{mol/L}$  组 Jurkat 细胞的 XCL1 和 XCL2 mRNA 表达水平均降低( $P<0.001$ );青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$  组和青藤碱 600  $\mu\text{mol/L}$  组间比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。详见图 8—9。

### 3 讨论

T-ALL 是一种由 T 细胞的异常生长增殖和未成熟 T 细胞前体侵袭性、克隆性增生引起的血液系统疾病,其中 T 细胞的异常增殖和活化在 T-ALL 的发病机制中有着重要作用<sup>[15]</sup>。不成熟的 T 细胞前体恶性增殖和一系列遗传和表观遗传病变极大影响了细胞发育、分化和细胞功能,是 T-ALL 疾病发生和恶化的关键因素<sup>[16-17]</sup>。T-ALL 患者常伴有浸润器官的风险,这不仅导致疾病复发,更与预后不良有关<sup>[18]</sup>。研究表明,复发性 T-ALL 患者无事件生存率小于

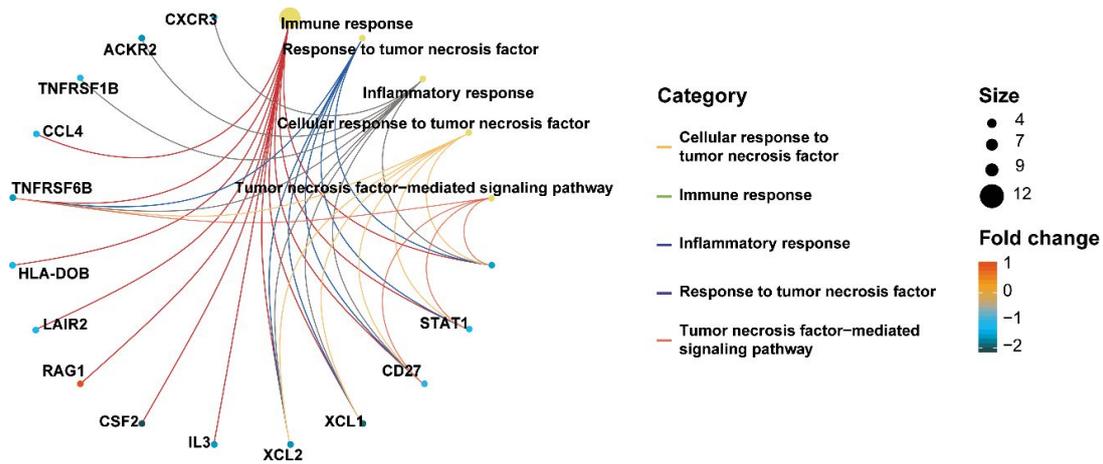


图 6 DEGs 的 GO 富集分析

Fig.6 GO enrichment analysis of DEGs

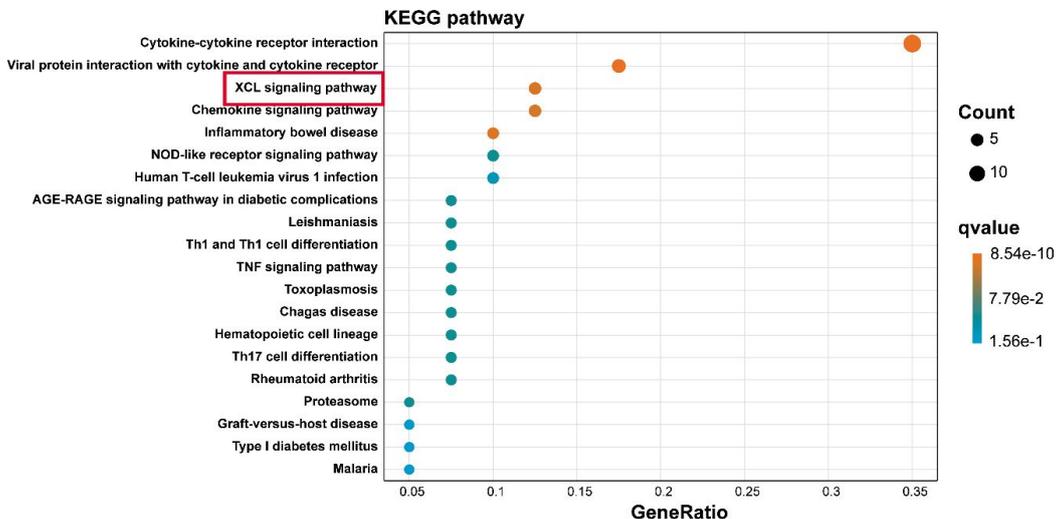


图 7 DEGs 的 KEGG 富集分析

Fig.7 KEGG enrichment analysis of DEGs

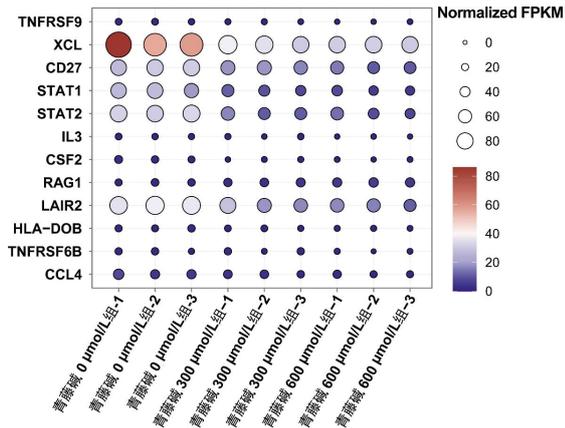


图 8 各组之间基因表达丰度比较

Fig.8 Comparison in gene expression abundance among cell groups

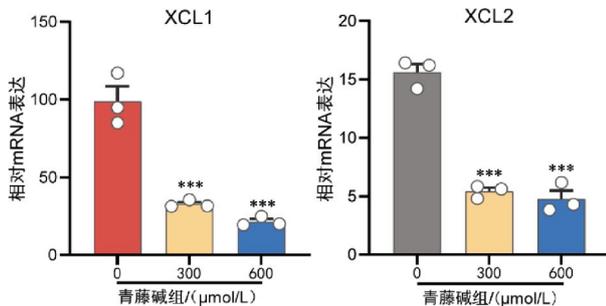


图 9 各组细胞 XCL1 及 XCL2 的 mRNA 表达水平比较

Fig.9 Comparison of mRNA expression levels of XCL1 and XCL2 among cell groups

注:与青藤碱 0  $\mu\text{mol/L}$  组比较,\*\*\* $P < 0.001$ 。

15%<sup>[19]</sup>, T-ALL 成年患者 5 年总体生存率仅为 40%~60%<sup>[20]</sup>。《中国成人急性淋巴细胞白血病诊断与治疗指南(2024 年版)》<sup>[21]</sup>的推荐治疗方案显示, T-ALL 仍以长春新碱、柔红霉素联合泼尼松的经典方案为治疗支柱, 新药与新策略的临床转化仍相对滞后。青藤碱是一种从防己科植物青藤中提取出来的吗啡烷类成分, 具有抗炎、降压、镇痛、抗心律失常和抗肿瘤等多种药理学作用<sup>[7-9]</sup>。先前研究表明, 剂量为 0.5、1、2 mmol/L 的青藤碱可抑制 Jurkat 细胞增殖并促进其凋亡, 但具体机制尚未可知<sup>[10-11]</sup>。本研究发现, 低剂量(150、300 和 600  $\mu\text{mol/L}$ )青藤碱可呈时间和浓度依赖性抑制 Jurkat 细胞增殖; 此外, 青藤碱还可诱导 Jurkat 细胞凋亡, 抑制 Jurkat 细胞的 T 细胞活化标志物 CD25 的表达及 IFN- $\gamma$  的分泌。以上结果提示, 青藤碱在调控 Jurkat 细胞增殖、活化及凋亡过程中发挥重要作用。

XCL1 和 XCL2 凭借其独特的蛋白结构, 在功能上区别于其他趋化因子, 并参与自身免疫疾病、肾炎、

结核及艾滋病等多种疾病的进展<sup>[2,22]</sup>。二者主要由 CD8<sup>+</sup>T 细胞和自然杀伤细胞产生, 通过共同受体 XC 基序趋化因子受体 1(XC motif chemokine receptor 1, XCR1)介导下游信号通路, 既参与抗原提呈, 又进一步调控 T 细胞与 NK 细胞的活化<sup>[23]</sup>。已有研究表明, T-ALL 患者血清中 XCL1 含量增加与患者的预后不良及生存期短有关<sup>[24-25]</sup>。TAMURA 等<sup>[26]</sup>报道, 肿瘤源性 XCL1 与 CD8<sup>+</sup>T 细胞活化水平呈正相关, 并通过直接促进肿瘤增殖以发挥促癌功能。ZHANG 等<sup>[27]</sup>发现, 在中枢神经系统中, XCL 通过其受体 XCR1, 介导树突状细胞的聚集与 T 细胞的激活和增殖。LI 等<sup>[28]</sup>则证实, 趋化因子家族的另一成员 C-X-C 基序趋化因子配体 5 可通过调控 MiR-410-3p 抑制 Jurkat 细胞和 CD4<sup>+</sup>T 细胞的增殖。本研究通过将不同剂量青藤碱处理的 Jurkat 细胞进行转录组学分析, 发现对照组与青藤碱 300  $\mu\text{mol/L}$  组、青藤碱 600  $\mu\text{mol/L}$  组共有 97 个 DEGs。GO 富集分析表明, 这些 DEGs 显著富集于免疫与炎症反应、对 TNF 的应答及 TNF 介导的信号通路等生物学过程; KEGG 通路富集分析进一步表明, 青藤碱的作用与 XCL 信号通路、趋化因子信号通路、NOD 样受体信号通路和 TNF 信号通路的富集相关, 提示这些通路可能是其发挥作用的关键机制。研究发现 TNF 相关弱凋亡诱导因子是 TNF 家族的一个成员, 对胶原诱导性关节炎小鼠血清中的 XCL1 等趋化因子具有调控作用<sup>[29]</sup>。在本研究中, KEGG 富集分析得到的多个信号通路中, XCL 信号通路富集最显著, 后续的基因表达水平分析也发现, XCL mRNA 的表达水平在对照组和青藤碱处理组中存在显著差异; 进一步 qRT-PCR 结果表明, 不同剂量的青藤碱处理均能下调 Jurkat 细胞中 XCL1 和 XCL2 的 mRNA 表达水平。

综上所述, 本研究发现青藤碱可抑制 Jurkat 细胞的增殖与活化, 其作用机制可能与调控 XCL 表达有关。然而, 其通过下调 XCL 表达进而影响 T-ALL 的具体分子机制尚待深入阐明, 且其在 T-ALL 中的疗效仍需后续临床数据验证。未来, 本课题组将围绕上述问题开展深入的功能性实验与临床转化研究, 以期对 T-ALL 治疗提供新策略。

## 参考文献

- [1] LYU A, NAM S H, HUMPHREY R S, et al. Cells and signals of the leukemic microenvironment that support progression of T-

- cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL)[J]. *Experimental & Molecular Medicine*, 2024, 56(11): 2337-2347.
- [2] SYED M, DISHMAN A F, VOLKMAN B F, et al. The multifaceted role of XCL1 in health and disease[J]. *Protein Science*, 2025, 34(2): e70032.
- [3] OH B L Z, SHIMASAKI N, COUSTAN-SMITH E, et al. Fratri-cide-resistant CD7-CAR T cells in T-ALL[J]. *Nature Medicine*, 2024, 30(12): 3687-3696.
- [4] 吴 珺, 陆爱东, 张乐萍, 等. 儿童核心结合因子相关性急性髓系白血病疗效及预后因素分析[J]. *中华血液学杂志*, 2019, 40(1): 52-57.
- [5] 李春波, 田 菲. 基于扶正祛邪治法论恶性肿瘤的中西医结合治疗[J]. *内蒙古中医药*, 2020, 39(7): 149-151.
- [6] 吴 庆, 潘 铭, 黄建霞, 等. 扶正祛邪法辅助化疗治疗急性髓系白血病疗效及对血清酸脱氢酶、 $\beta_2$ -微球蛋白及 C 反应蛋白水平的影响[J]. *中医临床研究*, 2021, 13(13): 10-13.
- [7] 黄 红, 胡明月, 徐 丽, 等. 青藤碱免疫抑制作用机制的研究进展[J]. *中草药*, 2022, 53(1): 261-269.
- [8] 孙越华, 朱 清, 李俊旭, 等. 青藤碱抗炎免疫与抗肿瘤作用研究新进展[J]. *中国药理学通报*, 2015, 31(8): 1040-1043.
- [9] 戴宗顺, 张 逢, 林 也, 等. 青藤碱配伍芍药苷协同增效抗胶原诱导性关节炎作用机制研究[J]. *湖南中医药大学学报*, 2023, 43(12): 2143-2149.
- [10] 黄 蓉, 刘 凯, 郝敬全, 等. 青藤碱通过调控 SPHK2/MCL1 通路诱导线粒体依赖性细胞凋亡改善急性淋巴细胞白血病[J]. *西部医学*, 2024, 36(10): 1419-1426.
- [11] 范炎峰, 荆 玲, 刘宽浩, 等. 青藤碱对人急性 T 淋巴细胞白血病细胞增殖与凋亡的影响及其机制[J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(10): 1199-1203.
- [12] 康林之, 刘振帅, 魏佳旭, 等. 盐酸青藤碱抑制急性 T 淋巴细胞白血病 CEM 细胞株的作用及转录组学分析[J]. *中国组织工程研究*, 2025, 29(31): 6674-6680.
- [13] LI G J, SU Z L, TANG Y Y, et al. Specific inhibition of glutamine synthase involved in the metabolic pathway of amino acids is associated with anti-arthritic effects of sinomenine hydrochloride[J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2025, 13: 1658089.
- [14] LI J J, LI L, LI S, et al. Sinomenine hydrochloride protects IgA nephropathy through regulating cell growth and apoptosis of T and B lymphocytes[J]. *Drug Design, Development and Therapy*, 2024, 18: 1247-1262.
- [15] PATEL J, GAO X L, WANG H Z. An update on clinical trials and potential therapeutic strategies in T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(8): 7201.
- [16] ROY U, RAGHAVAN S C. Deleterious point mutations in T-cell acute lymphoblastic leukemia: Mechanistic insights into leukemogenesis[J]. *International Journal of Cancer*, 2021, 149(6): 1210-1220.
- [17] GIANNI F, BELVER L, FERRANDO A. The genetics and mechanisms of T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2020, 10(3): a035246.
- [18] BELVER L, FERRANDO A. The genetics and mechanisms of T cell acute lymphoblastic leukaemia[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2016, 16(8): 494-507.
- [19] HORTON T M, WHITLOCK J A, LU X M, et al. Bortezomib reinduction chemotherapy in high-risk ALL in first relapse: A report from the Children's Oncology Group[J]. *British Journal of Haematology*, 2019, 186(2): 274-285.
- [20] MARKS D I, PAIETTA E M, MOORMAN A V, et al. T-cell acute lymphoblastic leukemia in adults: Clinical features, immunophenotype, cytogenetics, and outcome from the large randomized prospective trial (UKALL XII/ECOG 2993)[J]. *Blood*, 2009, 114(25): 5136-5145.
- [21] 中国抗癌协会血液肿瘤专业委员会, 中华医学会血液学分会白血病淋巴瘤学组. 中国成人急性淋巴细胞白血病诊断与治疗指南(2024年版)[J]. *中华血液学杂志*, 2024, 45(5): 417-429.
- [22] 余 磊, 杨贵波. C 型趋化因子 XCL1 研究进展[J]. *世界华人消化杂志*, 2017, 25(7): 602-609.
- [23] FERRY A, MEMPEL K M, MONELL A, et al. The XCL1-XCR1 axis supports intestinal tissue residency and antitumor immunity[J]. *The Journal of Experimental Medicine*, 2025, 222(2): e20240776.
- [24] 侯 芳, 李志瑶, 刘瀚翔, 等. 急性淋巴细胞白血病患者血清 PGRN、XCL1 与危险度分层和预后的关系[J]. *现代生物医学进展*, 2023, 23(23): 4537-4541.
- [25] 宋 辉, 于艺冰, 郭媛媛, 等. 成人急性淋巴细胞白血病患者血清 XCL1、NSE 变化及其临床意义[J]. *国际检验医学杂志*, 2021, 42(13): 1589-1592, 1597.
- [26] TAMURA R, YOSHIHARA K, NAKAOKA H, et al. XCL1 expression correlates with CD8-positive T cells infiltration and PD-L1 expression in squamous cell carcinoma arising from mature cystic teratoma of the ovary[J]. *Oncogene*, 2020, 39(17): 3541-3554.
- [27] ZHANG M K, HAN X N, YAN L Y, et al. Inflammatory response in traumatic brain and spinal cord injury: The role of XCL1-XCR1 axis and T cells[J]. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 2024, 30(6): e14781.
- [28] LI B, SUN N, YANG F H, et al. Plasma-derived small extracellular vesicles from VKH patients suppress T cell proliferation via microRNA-410-3p modulation of CXCL5 axis[J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2023, 64(12): 11.
- [29] PERPER S J, BROWNING B, BURKLY L C, et al. TWEAK is a novel arthritogenic mediator[J]. *Journal of Immunology*, 2006, 177(4): 2610-2620.