

文章编号 1006-8147(2022)04-0366-06

论著

白细胞介素4诱导蛋白1促进肾癌进展的实验研究

魏诗瑶, 来佳丹, 李常颖

(天津医科大学第二医院泌尿外科, 天津市泌尿外科研究所, 天津 300211)

摘要 目的:探讨白细胞介素4诱导蛋白1(IL4I1)在肾透明细胞癌中的表达及在肿瘤发展中的作用。方法:通过数据库分析IL4I1在正常肾组织和肾透明细胞癌组织中的表达及与预后的关系;通过qPCR和FCM比较正常肾细胞HK-2与肾癌细胞系786-O和769-P中IL4I1的表达情况;siRNA干扰786-O细胞系IL4I1表达后通过CFSE增殖实验及细胞划痕实验探究细胞生物学行为的改变;通过GSEA分析和qPCR探究潜在机制。结果:IL4I1在肾透明细胞癌组织中过表达($P<0.001$),提示更短的总生存期($P<0.001$)。IL4I1在肾癌细胞系786-O中mRNA及蛋白水平均过表达($t=16.83, 280.40$, 均 $P<0.001$)。干扰IL4I1表达后,786-O细胞增殖速度减慢,迁移能力下降($F=97.45, P<0.001$),并伴随细胞间黏附分子-1(ICAM1)、血管内皮生长因子A(VEGFa)、基质金属蛋白酶9(MMP9)、程序性细胞死亡蛋白-1(PD-L1)表达水平降低($t=9.031, 8.613, 9.066, 12.66$, 均 $P<0.05$)。GSEA分析显示,在IL4I1高表达的肾透明细胞癌组中,存在细胞周期、P53信号通路、细胞间黏附分子及VEGF信号通路的富集($FDR<0.25, P<0.05$)。结论:IL4I1在肾癌中高表达且与患者不良预后正相关;IL4I1促进肾癌细胞的增殖和迁移。

关键词 IL4I1;肾透明细胞癌;预后;增殖;迁移

中图分类号 R737.11

文献标志码 A

Research of interleukin-4-induced-1 promoting the progression of kidney clear cell carcinoma

WEI Shi-yao, LAI Jia-dan, LI Chang-ying

(Department of Urology, Tianjin Institute of Urology, The Second Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China)

Abstract Objective: To explore the expression and roles of interleukin-4-induced-1 (IL4I1) in kidney clear cell carcinoma (KIRC).**Methods:** Online database was used to analyze the expression of IL4I1 between normal kidney tissue and KIRC, and the influence of IL4I1 in tumor prognosis. Expression of IL4I1 between normal kidney cell line HK-2 and KIRC cell line 786-O and 769-P was verified by qPCR and FCM in KIRC cell lines. The siRNA was used to silence the IL4I1 expression in 786-O cell line. Cell proliferation and migration were measured by CFSE proliferation assay and the wound healing assay. Potential mechanism was predicated by GSEA analysis and qPCR.**Results:** IL4I1 was over-expressed in KIRC ($P<0.001$) and indicated a shorter overall survival ($P<0.001$). IL4I1 was also significantly over-expressed in 786-O cell line in mRNA and protein level($t=16.83, 280.40$, all $P<0.001$). After IL4I1 silence, the proliferation rate and migration ability of 786-O cell line were significantly decreased($F=97.45, P<0.001$), accompanied by decreased expression of intercellular cell adhesion molecule-1 (ICAM1), vascular endothelial growth factor A (VEGFa), matrix metalloproteinase 9 (MMP9) and programmed death-1 (PD-L1)($t=9.031, 8.613, 9.066, 12.66$, all $P<0.05$). GSEA analysis showed the enrichment of cell cycle, P53 signaling pathway, cell adhesion molecules (CAMs), and VEGF signaling pathway in KIRC group which had a higher IL4I1 expression level ($FDR<0.25, P<0.05$). **Conclusion:** IL4I1 is highly expressed in KIRC and positively correlated with poor prognosis. IL4I1 promotes the proliferation and migration of renal cancer cells.**Key words** IL4I1; kidney clear cell carcinoma; prognosis; proliferation; migration

迄今为止癌症仍然是发病率和致死率最高的疾病之一,寻求有效的、新的治疗途径也一直是研究热点。近些年发现,肿瘤与机体代谢之间存在密切联系,氨基酸代谢酶可能在肿瘤发生、发展中发挥重要作用,诸如吡哆胺-2,3-双加氧酶(IDO)、精氨酸酶1(Arg1)及诱导型一氧化氮合酶(iNOS),而白细胞介素4诱导蛋白1(IL4I1)可能是一个新的、有潜力的免疫检查点。

基金项目 天津市自然科学基金(16JCYBJC26500)

作者简介 魏诗瑶(1996-),女,硕士在读,研究方向:泌尿系统肿瘤微环境;通信作者:李常颖, E-mail:cli_cvrl@tmu.edu.cn。

IL4I1编码一种分泌性的氨基酸代谢酶,参与苯丙氨酸、精氨酸和色氨酸的代谢^[1-2]。因最初在B细胞上被白细胞介素4(IL-4)诱导表达而得名,其编码基因位于人染色体19q13.33位置。研究发现,IL4I1在抗原呈递细胞及肿瘤相关性巨噬细胞中高表达,能够以分泌的形式作用于免疫突触位置,抑制T细胞的活化增殖和功能,促进调节性T细胞(Treg)和M2巨噬细胞的分化,以及免疫抑制细胞的募集^[3]。目前对IL4I1的研究多集中于黑色素瘤及胶质瘤,而IL4I1在肾癌中的表达情况及其功能尚不明确。

肾透明细胞癌是肾癌中最常见的类型,本研究通过数据库分析了 IL4I1 在肾透明细胞癌中的表达及其与预后之间的关系,探讨 IL4I1 的表达对于肾透明细胞癌细胞生物学功能的影响,并探究了 IL4I1 影响肿瘤发生、发展的潜在信号通路。

1 材料与方法

1.1 数据库分析 通过在线数据库 UALCAN(<http://ualcan.path.uab.edu/index.html>)和 *Kaplan-Meier* 生存分析(<https://www.kmplot.com/analysis/index.php>)分析 IL4I1 在正常肾组织及肾透明细胞癌组织中的表达及与预后的关系。

1.2 细胞系与主要试剂 人肾癌细胞系 786-O、769-P 及人肾近曲小管细胞 HK-2(American Type Culture Collection),胎牛血清(Biological Industries),RPMI-1640、DMEM-F12 细胞培养基(源培生物),青链霉素混合液(索莱宝),Trizol(ThermoFisher Scientific),反转录试剂盒(ThermoFisher Scientific),FastStart Universal SYBR Green Master (Roche),PCR 引物(生工生物),重组 Anti-IL4I1/LAO 抗体(Abcam,ab222102),siRNA 合成(吉玛基因),opti-MEM 培养基(Gibco),X-tremeGENE siRNA 转染试剂(Roche),山羊抗兔 IgG H&L (FITC)(Abcam,ab6717),IC Fixation Buffer(ThermoFisher Scientific),Permeabilization Buffer 10X(ThermoFisher Scientific),CFSE 荧光染料(ThermoFisher Scientific)。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养 正常肾小管细胞系 HK-2 细胞采用 DMEM-F12 完全培养基培养,肾癌细胞系 786-O 和 769-P 细胞系采用 RPMI-1640 完全培养基进行培养,3 种培养基的配置均采用在培养基中添加 10%胎牛血清及 2%青链霉素混合液配置。细胞置于 5% CO₂ 的 37℃恒温培养箱中进行培养,根据 ATCC 推荐比例进行传代。

1.3.2 siRNA 干扰和细胞分组 于吉玛基因订购沉默 IL4I1 的小干扰 RNA(siRNA),siRNA 序列为:上

游 5'-GCAACUAUGUGGUGGAGAAGG-3',下游 5'-CCUUCUCCACCACAUAAGUUGC-3',对照 siRNA 由吉玛基因提供。

根据表达情况选择 786-O 细胞系进行干扰,提前 24 h 于 6 孔板中每孔接种 1×10^5 个细胞,使用 opti-MEM 培养基稀释 X-tremeGENE siRNA 转染试剂及 siRNA 后以 10:2 比例混合并添加于细胞中,培养 24~48 h 至合适密度后收集细胞提取 RNA 检测沉默水平。

siRNA 干扰后的细胞分组为:实验组 786-O-si,对照组 786-O-ctrl。

1.3.3 RNA 提取和实时荧光定量 PCR(qPCR) 去除上清并用预冷的 PBS 洗涤后,在 25 cm² 培养瓶/6 孔板中添加 1 mL/500 μ L Trizol 提取细胞 RNA,利用反转录试剂盒 Thermo Scientific RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit 进行逆转录得到细胞 cDNA。

以 cDNA 为模板,添加 FastStart Universal SYBR Green Master 及相应引物,采用 95℃激活 10 min 后进行 95℃变形 15 s,60℃退火并延长 60 s 进行 40 个循环进行检测,以 GAPDH 作为对照基因,利用 $\Delta\Delta$ Ct 法计算差异倍数。所用到的引物序列及产物大小见表 1。

1.3.4 流式细胞技术(FCM) 收集细胞并用预冷的 PBS 洗涤后,加入 IC Fixation Buffer 于 4℃固定 30 min。洗涤后,用蒸馏水稀释为 1×的 Permeabilization Buffer 10X 重悬后以 1:1 000 比例加入 IL4I1 抗体 4℃孵育 30 min。洗涤后用冷 PBS 重悬后以 1:1 000 比例添加山羊抗兔 IgG H&L (FITC) 后 4℃孵育 30 min。洗涤后 PBS 重悬上机检测。

1.3.5 细胞划痕实验 6 孔板中每孔接种 5×10^5 个细胞,待细胞生长至 90%密度后使用 200 μ L 枪头进行细胞划痕,PBS 洗涤至无明显漂浮细胞后更换培养基为无血清 RPMI-1640 培养基,于 0、24、48 h 分别进行定点拍照。使用 Image J 软件进行划痕面积计算。

表 1 引物序列及产物大小

Tab 1 The sequence of primers and length of products

| 引物名称 | 上游序列(5' → 3') | 下游序列(5' → 3') | 产物大小(bp) |
|-------|-------------------------|------------------------|----------|
| IL4I1 | ACTCGCCGAAGACATCTAC | CATCCTCGGACATCAGTCTC | 180 |
| ICAM1 | GTATGAACTGAGCAATGTGCAAG | GTTCACCCGTTCTGGAGTC | 119 |
| VEGFa | AGGGCAGAATCATCACGAAGT | AGGGTCTCGATTGGATGGCA | 75 |
| MMP9 | TGTACCGCTATGCTTACACTCG | GGCAGGGACAGTTGCTTCT | 94 |
| PD-L1 | TGGCATTGCTGAACGCATTT | TGCAGCCAGGTCTAATTGTTTT | 120 |
| GAPDH | ACAACCTTTGGTATCGTGGAAGG | GCCATCACGCCACAGTTTC | 101 |

注: IL4I1:白细胞介素 4 诱导蛋白 1;ICAM1:细胞间黏附分子-1;VEGFa:血管内皮生长因子 A;MMP9:基质金属蛋白酶 9;PD-L1:程序性细胞死亡蛋白-1;GAPDH:甘油醛-3-磷酸脱氢酶

1.3.6 CFSE 增殖实验 消化细胞并洗涤后,用 PBS 重悬为 1×10^6 mL 比例后加入 CFSE 染料至 $10 \mu\text{mol/L}$ 浓度后避光孵育 10 min, 添加 5 倍体积冷 RPMI-1640 完全培养基停止标记并在 4°C 孵育 5 min, 洗涤 3 次后于 6 孔板中每孔接种 1×10^5 个标记后的细胞, 于第 0 天和第 4 天分别在流式细胞分析仪中检测 CFSE 荧光强度。

1.4 生物信息学分析 在 TCGA (The Cancer Genome Atlas) 数据库中下载并整理肾透明细胞癌样本数据 ($n=598$), 根据样本中 IL4I1 基因表达水平, 通过中位值将样本分为 IL4I1 高表达组和 IL4I1 低表达组, 整理后的数据通过 GSEA v4.1.0 软件进行 KEGG 通路富集分析。

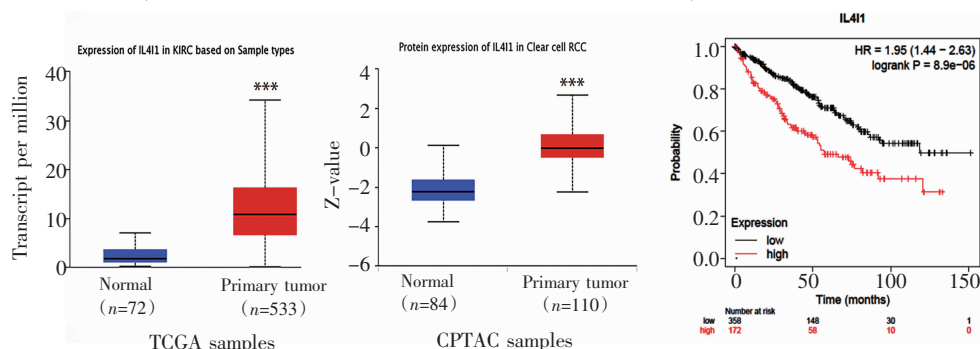
1.5 统计学处理 统计学分析使用 GraphPad Prism 8.3.0 进行。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 来表示, 采用 t 检验或方差分析进行组间比较。 $P < 0.05$ 为

差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IL4I1 的表达及与预后的关系 相较于正常肾组织, IL4I1 在肾透明细胞癌中的 mRNA 和蛋白水平均升高 (均 $P < 0.001$) (图 1A、B)。根据 IL4I1 表达水平将肾透明细胞癌患者分为高、低表达组, 生存分析结果显示 IL4I1 高表达组具有更短的生存期 (OS) ($n=530, P < 0.001$) (图 1C)。

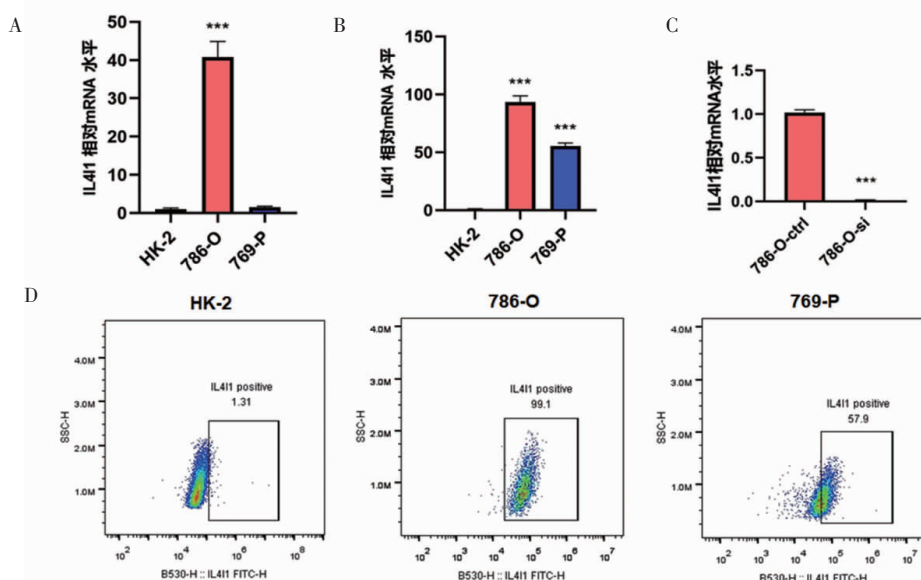
2.2 肾癌细胞系中 IL4I1 的表达和干扰 qPCR 结果显示, 与 HK-2 细胞相比, 肾癌细胞系 786-O 细胞中 IL4I1 过表达 ($t=16.83, P < 0.001$) (图 2A)。FCM 结果显示, 与 HK-2 细胞相比, 786-O 及 769-P 细胞系 IL4I1 蛋白阳性表达细胞比例均增加 ($t=280.40, t=37.11$, 均 $P < 0.001$) (图 2B、D)。siRNA 干扰后, 与对照组相比, 实验组 IL4I1 mRNA 表达水平显著降低 ($t=56.51, P < 0.001$) (图 2C)。



注: 利用 UALCAN 数据库分析 IL4I1 在正常肾组织和肾透明细胞癌组织中的 mRNA (A) 和蛋白 (B) 表达水平; C: IL4I1 表达对肾透明细胞癌患者总生存期 (OS) 的影响, 数据分析来源于 Kaplan-Meier 数据库; *** $P < 0.001$; IL4I1: 白细胞介素 4 诱导蛋白 1

图 1 IL4I1 在肾透明细胞癌中的表达及与预后的关系

Fig 1 The expression of IL4I1 in kidney clear cell carcinoma and its relationship with prognosis



注: A: qPCR 检测 HK-2、786-O、769-P 细胞系 IL4I1 的表达; B、D: FCM 检测 IL4I1 蛋白阳性表达细胞比例; C: qPCR 检测 siRNA 干扰实验组及对照组 IL4I1 的表达; KIRC: 肾透明细胞癌; IL4I1: 白细胞介素 4 诱导蛋白 1; *** $P < 0.001$

图 2 IL4I1 在肾透明细胞癌细胞系中的表达和沉默

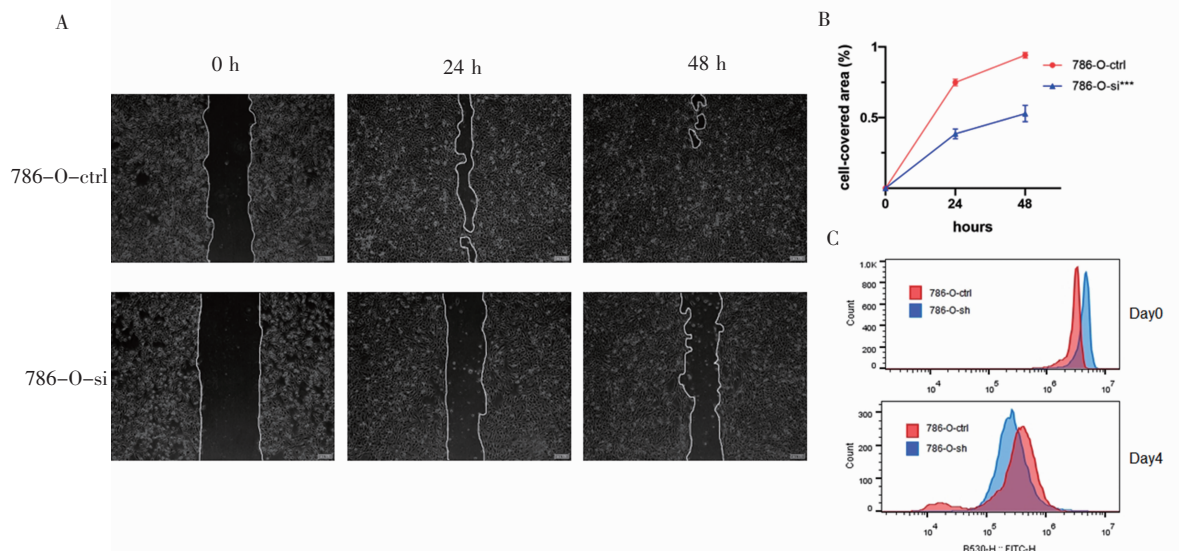
Fig 2 The expression and silence of IL4I1 in tumor cells of KIRC

2.3 沉默 IL4I1 基因表达对于肾透明细胞癌细胞生物学功能的影响 干扰 IL4I1 表达后,细胞划痕实验结果显示,与对照组相比,实验组细胞迁移能力明显减弱($F=97.45, P<0.001$)(图 3A、3B);CFSE 增殖实验结果显示,与对照组相比,实验组细胞增殖速度减慢(图 3C)。

2.4 与 IL4I1 表达及功能相关的机制探究 KEGG 通路富集结果显示,与细胞增殖相关的细胞周期信号通路、P53 信号通路以及细胞迁移能力相关的

VEGF 通路和 CAM 通路在肾透明细胞癌 IL4I1 高表达组显著富集($FDR<0.25, P<0.05$)(图 4A)。

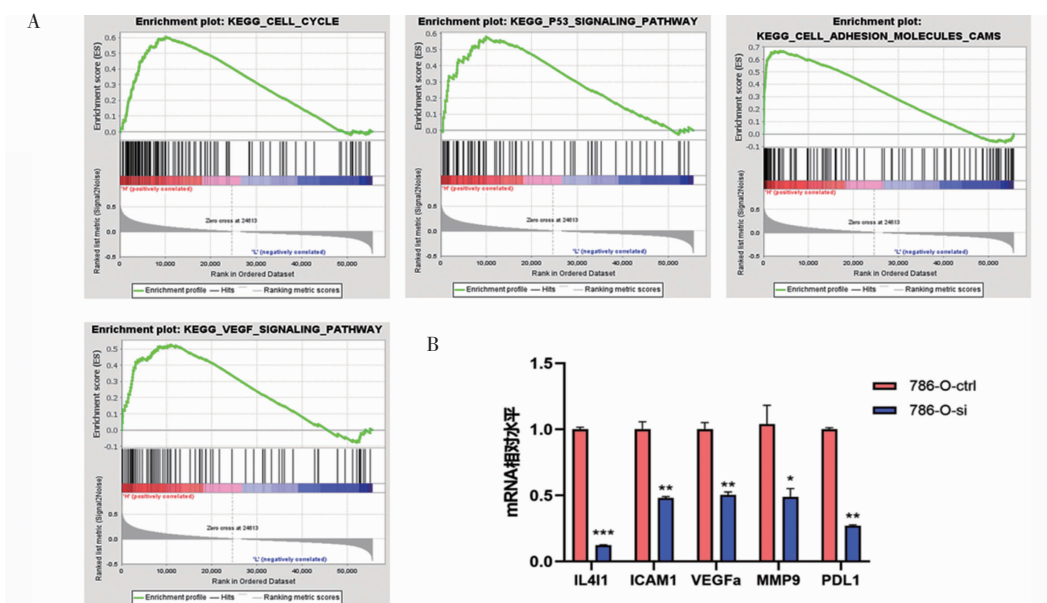
进一步相关富集通路重点基因的 mRNA 水平检测的 qPCR 结果显示,在沉默 IL4I1 后,与对照组相比,实验组细胞间黏附分子-1(ICAM1)、基质金属蛋白酶 9(MMP9)以及血管内皮生长因子 A(VEGFa)表达水平都显著降低($t=9.031, 8.613, 9.066$, 均 $P<0.05$)。此外,实验组细胞程序性死亡-配体 1(PD-L1)表达水平也显著降低($t=12.66, P<0.05$)(图 4B)。



注:A:40×视野下 siRNA 干扰实验组和对照组细胞划痕变化情况;B:A 的量化折线图;C: CFSE 染色标记后 siRNA 干扰实验组及对照组荧光强度变化;KIRC:肾透明细胞癌;IL4I1:白细胞介素 4 诱导蛋白 1

图 3 IL4I1 的表达影响肾透明细胞癌细胞的增殖和迁移

Fig 3 The proliferation and migration of KIRC cells influenced by expression of IL4I1



注:A: KEGG 通路富集分析 IL4I1 高表达肾癌组富集通路;B:qPCR 检测富集通路相关基因 mRNA 表达水平;KIRC: 肾透明细胞癌;IL4I1: 白细胞介素 4 诱导蛋白 1;ICAM1: 细胞间黏附分子-1;VEGFa:血管内皮生长因子 A;MMP9:基质金属蛋白酶 9;PD-L1:细胞程序性死亡-配体 1; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

图 4 肾透明细胞癌与 IL4I1 表达及功能相关的潜在通路

Fig 4 The related potential pathway of IL4I1 in expression and function in KIRC

3 讨论

肾细胞癌是常见的泌尿系统肿瘤之一,其中肾透明细胞癌约占总体的65%~85%^[4]。肾癌相对较易诊断,但由于早期无明显症状,很多患者在确诊时已发展为晚期肾癌及转移癌,存在无法根治性切除的情况^[5],迫切需求探究肾癌治疗的新手段。

近年肿瘤与代谢的关系备受关注。有研究观点认为肿瘤是一种代谢性疾病,肿瘤中存在的代谢重编程影响着肿瘤的发生发展^[6]。2017年批准上市的第一个针对肿瘤代谢的抗癌药物——主要异柠檬酸脱氢酶2(IDH2)抑制剂恩西地平(Enasidenib),使靶向代谢的肿瘤治疗成为可能^[7]。

肾透明细胞癌与代谢异常密切相关,其胞质中存在的脂质异常积累导致的代谢重编程是其不同于其他肾癌的一大特征^[8]。本研究发现IL4I1这种特殊的氨基酸代谢酶在肾透明细胞癌中存在显著过表达,并且指示不良预后。

作为一种免疫调节酶,IL4I1被发现在以树突状细胞为主的抗原呈递细胞中和肿瘤相关性巨噬细胞中高表达^[9]。IL4I1可以被抗原呈递细胞合成并释放,抑制免疫突触的稳定形成,下调T细胞CD3 ζ 链的膜暴露影响CD8⁺T细胞活化^[10-11]。IL4I1介导的局部必需氨基酸的消耗以及有毒产物的产生形成不利于抗肿瘤免疫的环境,从而进一步限制肿瘤杀伤性T细胞的增殖和功能^[11,12]。最新一项研究发现IL4I1的高表达可以抑制CD8⁺T细胞向记忆表型的分化从而限制对于肿瘤的长效免疫^[10]。此外,IL4I1可以促进Treg细胞及M2型巨噬细胞的分化,可以参与调节MDSC的分化,以及对于这些免疫抑制性细胞的募集^[1,13-14]。

既往认为IL4I1是乳腺癌和胶质瘤重要的预后标志物^[9]。在最新的两项研究中,IL4I1被发现在体外实验中能够影响胶质瘤细胞和卵巢癌细胞的迁移能力,以及促进卵巢癌细胞的增殖,并且在小鼠模型中被证实IL4I1的表达与肿瘤生长密切相关^[2,15]。IL4I1的表达还与黑色素瘤的前哨淋巴结侵袭、较高肿瘤分期以及快速复发相关,往往提示较短的总生存期^[1,3]。

本研究发现IL4I1在肾透明细胞癌中存在过表达并且指示预后不良。干扰IL4I1表达后发现肾透明细胞癌细胞的增殖速度及迁移能力下降,IL4I1可能是因此促进肾癌的发展和转移。KEGG通路富集分析显示在IL4I1高表达的肾透明细胞癌组中存在49个通路显著富集,而在低表达组中无通路显著富集。其中,与细胞增殖密切相关的细胞周期通路及P53信号通路,以及与肿瘤细胞迁移发展转移

密切相关的CAM通路及VEGF信号通路显著富集。而在干扰IL4I1表达后,肾癌细胞表达ICAM1、VEGF α 、MMP9及PD-L1的mRNA水平显著降低。

ICAM1可以降低肿瘤细胞间的黏附能力,使肿瘤细胞脱落入血,从而完成肿瘤的转移,ICAM1也参与肿瘤血管生成^[16]。VEGF α 能特异性促进细胞的分裂增殖和迁移,对于肿瘤的新生血管生成十分重要^[17]。研究显示,MMP9能够通过降解细胞外基质(ECM)从而在肿瘤的转移和侵袭中发挥重要作用^[18]。这可能有利于IL4I1影响肿瘤转移的相关机制的研究,从而为靶向IL4I1提供指导。

此外,Sadik等^[2]研究发现了IL4I1可以通过代谢色氨酸产生中间代谢产物犬尿喹啉酸(KynA),活化AHR调控相关基因的转录,促进肿瘤转移以及抑制CD8⁺T细胞的增殖和增强免疫抑制性细胞的募集。他们同时发现在部分应用抗PD-1/PD-L1效果不佳的恶性黑色素瘤患者中出现IL4I1和IDO1表达水平的增高,并且在联用IDO1抑制剂后没有改善。这提示IL4I1可能是改善现有免疫疗法的一个可能方向,而笔者的研究也发现IL4I1的表达会影响PD-L1的表达,这可能是肿瘤免疫逃逸的机制之一。

近期也有对小鼠肿瘤局部注射IL4I1抑制剂后观察到肿瘤明显体积减小的报道^[19],也是IL4I1能够作为一个肿瘤治疗靶点的有利证据之一。目前针对IL4I1的有效安全的抑制剂也在研究中^[20]。总之,IL4I1可以通过影响肿瘤细胞的增殖和迁移能力从而影响肾透明细胞癌的发展,是一个有潜力的针对肾透明细胞癌靶向治疗的检查点。

参考文献:

- [1] BOD L, LENGAGNE R, WROBEL L, et al. IL4-induced gene 1 promotes tumor growth by shaping the immune microenvironment in melanoma[J]. *Onco Immunol*, 2017, 6(3): e1278331.
- [2] SADIK A, SOMARRIBAS PATTERSON L F, ÖZTÜRK S, et al. IL4I1 is a metabolic immune checkpoint that activates the AHR and promotes tumor progression[J]. *Cell*, 2020, 182(5): 1252-1270.
- [3] MOLINIER-FRENKEL V, PRÉVOST-BLONDEL A, CASTEL-LANO F. The IL4I1 enzyme: a new player in the immunosuppressive tumor microenvironment[J]. *Cells*, 2019, 8(7): 757.
- [4] CAMPBELL S, UZZO R G, ALLAF M E, et al. Renal mass and localized renal cancer: AUA guideline[J]. *J Urol*, 2017, 198(3): 520-529.
- [5] EAU Guidelines: Renal cell carcinoma | Uroweb[EB/OL]. [2021/12/23]. <https://uroweb.org/guideline/renal-cell-carcinoma/>.
- [6] WISHART D S. Is cancer a genetic disease or a metabolic disease? [J]. *EBioMedicine*, 2015, 2(6): 478-479.
- [7] FDA APPROVES NEW TARGETED TREATMENT FOR RELAPSED OR REFRACTORY ACUTE MYELOID LEUKEMIA | FDA[EB/OL]. [2021/12/23]. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/>

- fda-approves-new-targeted-treatment-relapsed-or-refractory-a-cutaneous-myceloid-leukemia.
- [8] SUDARSHAN S, KARAM J A, BRUGAROLAS J, et al. Metabolism of kidney cancer: from the lab to clinical practice [J]. *Eur Urol*, 2013, 63(2): 244–251.
- [9] BOULLAND M, MARQUET J, MOLINIER-FRENKEL V, et al. Human IL4I1 is a secreted l-phenylalanine oxidase expressed by mature dendritic cells that inhibits T-lymphocyte proliferation [J]. *Blood*, 2007, 110(1): 220–227.
- [10] PUIFFE M L, DUPONT A, SAKO N, et al. IL4I1 accelerates the expansion of effector CD8(+) T cells at the expense of memory precursors by increasing the threshold of T-cell activation [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 600012.
- [11] AUBATIN A, SAKO N, DECROUY X, et al. IL4-induced gene 1 is secreted at the immune synapse and modulates TCR activation independently of its enzymatic activity [J]. *Eur J Immunol*, 2018, 48(1): 106–119.
- [12] RAMSPOTT J P, BEKKAT F, BOD L, et al. Emerging role of IL-4-Induced gene 1 as a prognostic biomarker affecting the local T-cell response in human cutaneous melanoma [J]. *J Invest Dermatol*, 2018, 138(12): 2625–2634.
- [13] COUSIN C, AUBATIN A, LE GOUVELLO S, et al. The immunosuppressive enzyme IL4I1 promotes FoxP3(+) regulatory T lymphocyte differentiation [J]. *Eur J Immunol*, 2015, 45(6): 1772–1782.
- [14] GAO Y, SHANG W, ZHANG D, et al. Lnc-C/EBP β modulates differentiation of MDSCs through downregulating IL4i1 with C/EBP β LIP and WDR5 [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1661.
- [15] ZHAO H, TENG Y, HAO W, et al. Single-cell analysis revealed that IL4I1 promoted ovarian cancer progression [J]. *J Transl Med*, 2021, 19(1): 454.
- [16] 庄敏敏, 张云艳. ICAM-1 在肿瘤中的研究进展 [J]. *实用肿瘤学杂志*, 2018, 32(1): 82–86.
- [17] CLAESSEON-WELSH L, WELSH M. VEGFA and tumour angiogenesis [J]. *J Intern Med*, 2013, 273(2): 114–127.
- [18] HUANG H. Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) as a cancer biomarker and MMP-9 biosensors: recent advances [J]. *Sensors (Basel)*, 2018, 18(10): 3249.
- [19] MACKINNON A, BHUPATHI D, CHEN J, et al. 705 Anti-tumor activity of CB-668, a potent, selective and orally bioavailable small-molecule inhibitor of the immuno-suppressive enzyme interleukin 4 (IL-4)-induced gene 1 (IL4I1) [J]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(Suppl 3): A423.
- [20] PRESSET M, DJORDJEVIC D, DUPONT A, et al. Identification of inhibitors of the immunosuppressive enzyme IL4I1 [J]. *Bioorganic Chemistry*, 2020, 94: 103463.

(2021-12-24 收稿)

(上接第 352 页)

- [6] MA W, LONG Y T. Quinone/hydroquinone-functionalized biointerfaces for biological applications from the macro- to nano-scale [J]. *Chem Soc Rev*, 2014, 43(1): 30–41.
- [7] BHATTARAI N, KORHONEN E, TOPPILA M, et al. Resvega alleviates hydroquinone-induced oxidative stress in ARPE-19 cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(6): 11–19.
- [8] MA C, HE N, ZHAO Y, et al. Antimicrobial mechanism of hydroquinone [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2019, 189(4): 1291–1303.
- [9] SREENIVASAN C C, THOMAS M, KAUSHIK R S, et al. Influenza A in bovine species: a narrative literature review [J]. *Viruses*, 2019, 11(6): 32–50.
- [10] VALADI H, EKSTRÖM K, BOSSIOS A, et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells [J]. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(6): 654–659.
- [11] EKSTRÖM K, VALADI H, SJÖSTRAND M, et al. Characterization of mRNA and microRNA in human mast cell-derived exosomes and their transfer to other mast cells and blood CD34 progenitor cells [J]. *J Extracell Vesicles*, 2012, 1(5): 20–35.
- [12] YAMASHITA T, TAKAHASHI Y, TAKAKURA Y. Possibility of exosome-based therapeutics and challenges in production of exosomes eligible for therapeutic application [J]. *Biol Pharm Bull*, 2018, 41(6): 835–842.
- [13] WU D, CHEN J S, CHANG D C, et al. Mir-434-5p mediates skin whitening and lightening [J]. *Clin Cosmet Investig Dermatol*, 2008, 1: 19–35.
- [14] ZHONG J, XIA B, SHAN S, et al. High-quality milk exosomes as oral drug delivery system [J]. *Biomaterials*, 2021, 277: 121126.
- [15] GAO X, RAN N, DONG X, et al. Anchor peptide captures, targets, and loads exosomes of diverse origins for diagnostics and therapy [J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(444): 386–395.
- [16] SCHLESSINGER D I, ANORUO M, SCHLESSINGER J. Biochemistry, Melanin [A]. In: *StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC., 2022.*
- [17] MANN T, GERWAT W, BATZER J, et al. Inhibition of human tyrosinase requires molecular motifs distinctively different from mushroom tyrosinase [J]. *J Invest Dermatol*, 2018, 138(7): 1601–1608.
- [18] HARIRI R, SAEEDI M, AKBARZADEH T. Naturally occurring and synthetic peptides: Efficient tyrosinase inhibitors [J]. *J Pept Sci*, 2021, 27(7): e3329.
- [19] BAE I S, KIM S H. Milk exosome-derived microRNA-2478 suppresses melanogenesis through the Akt-GSK3 β pathway [J]. *Cells*, 2021, 10(11): 638–651.
- [20] 黄硕, 刘凤. 栀子叶乙醇提取物对 B16 黑色素瘤细胞黑色素生成及酪氨酸酶活性的影响 [J]. *中国当代医药*, 2020, 27(36): 5–17.
- [21] SEBARATNAM D F, VENUGOPAL S S, FREW J W, et al. Diffuse melanosis cutis: a systematic review of the literature [J]. *J Am Acad Dermatol*, 2013, 68(3): 482–488.

(2021-12-22 收稿)