

南蛇藤多萜调控巨噬细胞M2型极化抑制胃癌增殖与迁移的机制

李丹¹, 沈嘉诚¹, 季凡迪¹, Masataka Sunagawa², 王海波¹, 刘延庆^{1,3*}

(1. 扬州大学医学院国家中医药管理局-胃癌毒邪论治重点研究室, 扬州市肿瘤研究所,

江苏扬州 225001; 2. 昭和大学医学部生理学教研室, 东京 142;

3. 扬州大学附属医院/扬州市第一人民医院, 江苏扬州 225000)

[摘要] 目的:探讨南蛇藤多萜(COE)对巨噬细胞极化的影响,及其抑制胃癌细胞增殖、迁移的作用机制。方法:采用佛波酯(PMA)和白细胞介素(IL)-4、IL-13刺激人急性单核细胞白血病细胞(THP-1),构建M2型巨噬细胞的极化模型,实验分为M0组(PMA 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理)、M2组(PMA 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ +IL-4、IL-13各20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理)、M2+南蛇藤多萜组(PMA 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ +IL-4、IL-13各20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ +COE 10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理)。通过细胞增殖与活性检测(CCK-8)法检测南蛇藤多萜对巨噬细胞活力的影响;5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)实验检测细胞增殖情况;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测巨噬细胞极化标志物白细胞介素-10(IL-10)、分化簇206(CD206)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、分化簇86(CD86)的mRNA表达变化;酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测巨噬细胞上清中IL-10、TNF- α 的含量变化;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测南蛇藤多萜干预巨噬细胞后的条件培养基对胃癌细胞迁移能力的影响。结果:CCK-8、EdU实验结果显示,与M2-CM组比较,M2+南蛇藤多萜-CM组明显抑制胃癌细胞的增殖($P<0.05$, $P<0.01$)。与M0组比较,M2组巨噬细胞中的IL-10、CD206 mRNA表达显著升高($P<0.01$);与M2组比较,M2+南蛇藤多萜组的IL-10、CD206 mRNA表达显著降低($P<0.01$),而TNF- α 、CD86的mRNA表达显著升高($P<0.01$),细胞上清中IL-10水平降低,TNF- α 水平明显升高($P<0.05$, $P<0.01$)。Western blot分析结果表明,与M2-CM组比较,M2+COE-CM组中人胃腺癌细胞系(AGS)、人胃癌细胞HGC-27(HGC-27)和人胃癌细胞MKN28(MKN28)细胞中波形蛋白(Vimentin)、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、蜗牛转录抑制因子(Snail)、锌指蛋白SNAI2(Slug)蛋白的表达水平明显降低($P<0.05$, $P<0.01$)。结论:南蛇藤多萜可通过调控巨噬细胞的极化状态,抑制胃癌细胞的增殖和迁移能力,其作用机制可能与Toll样受体4/核转录因子- κB (TLR4/NF- κB)信号通路调控上皮-间充质转化(EMT)过程密切相关。

[关键词] 南蛇藤多萜; 胃癌; 增殖; 迁移; 巨噬细胞极化

[中图分类号] R276;R285;R256 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)16-0170-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20251423

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20250626.0949.002>

[网络出版日期] 2025-06-26 10:40:14 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>



Mechanisms of *Celastrus orbiculatus* Ethylacetate Extract in Regulating M2 Macrophage Polarization to Inhibit Gastric Cancer Proliferation and Migration

LI Dan¹, SHEN Jiacheng¹, JI Fandi¹, MASATAKA Sunagawa², WANG Haibo¹, LIU Yanqing^{1,3*}

(1. Key Laboratory of Syndrome Differentiation and Treatment of Gastric Cancer of the State Administration of

Traditional Chinese Medicine, Medical College, Yangzhou University/Yangzhou Cancer Research

Institute, Yangzhou 225001, China; 2. Department of Physiology, School of Medicine,

Showa University, Tokyo 142, Japan; 3. Affiliated Hospital of Yangzhou University,

Yangzhou First People's Hospital, Yangzhou 225000, China)

[收稿日期] 2025-03-31

[基金项目] 江苏省研究生科研与实践创新计划资助项目(KYCX24_3843);国家自然科学基金项目(82274603, 82104946);江苏省自然科学基金项目(BK20210817)

[第一作者] 李丹,博士,执业医师,从事中西医结合临床肿瘤学研究,E-mail:lidanzyu@163.com

[通信作者] *刘延庆,教授,主任中医师,博士生导师,从事中西医结合临床肿瘤学研究,E-mail:liuyq@yzu.edu.cn

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of *Celastrus orbiculatus* ethylacetate extract (COE) on macrophage polarization and the underlying mechanisms in inhibiting the proliferation and migration of gastric cancer cells. **Methods:** THP-1 cells were stimulated with phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA), interleukin-4 (IL-4), and interleukin-13 (IL-13) to establish an M2 macrophage polarization model. The cells were divided into three groups: M0 group (treated with PMA at $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), M2 group (treated with PMA at $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ + IL-4 and IL-13 at $20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ each), and M2 + COE group (treated with PMA at $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ + IL-4 and IL-13 at $20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ each, and COE at $10 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$). Cell viability was assessed using the cell counting kit-8 (CCK-8) assay, and cell proliferation was evaluated by the EdU assay. The mRNA expression levels of macrophage polarization markers, including interleukin-10 (IL-10), cluster of differentiation 206 (CD206), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and cluster of differentiation 86 (CD86), were determined by Real-time PCR. The levels of IL-10 and TNF- α in macrophage supernatants were measured by ELISA. Western blot were performed to evaluate the expression of migration-related proteins in gastric cancer cells treated with conditioned medium (CM) from COE-treated macrophages. **Results:** CCK-8 and EdU assays showed that, compared with the M2-CM group, the M2 + COE-CM group significantly inhibited the proliferation of gastric cancer cells ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the M0 group, the mRNA expression levels of IL-10 and CD206 in macrophages were significantly increased in the M2 group ($P < 0.01$). Compared with the M2 group, the M2 + COE group showed significantly decreased mRNA expression of IL-10 and CD206 ($P < 0.01$), while the mRNA expression of TNF- α and CD86 was significantly increased ($P < 0.01$). In addition, the level of IL-10 in the supernatant was decreased, whereas the level of TNF- α was significantly increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Western blot analysis demonstrated that, compared with the M2-CM group, the protein expression levels of Vimentin, MMP-2, MMP-9, Snail, and Slug in AGS, HGC-27, and MKN28 cells were significantly reduced in the M2 + COE-CM group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** COE can inhibit the proliferation and migration of gastric cancer cells by regulating macrophage polarization. The underlying mechanisms may be closely associated with the regulation of the epithelial-mesenchymal transition (EMT) process via the TLR4/NF- κ B signaling pathway.

[Keywords] *Celastrus orbiculatus* ethylacetate extract; gastric cancer; proliferation; migration; macrophage polarization

胃癌作为一种消化系统的常见肿瘤,在我国呈现出高发病率和死亡率的显著特点。根据2021年全国癌症报告统计,胃癌的年新发病例数约为40.3万例,死亡人数达到20.9万例,位居我国恶性肿瘤发病率及死亡率排名的第三位^[1]。近年来受经济发展及胃镜检查普及的影响,胃癌总体的发病率虽有所降低,但仍属于危害我国人民身体健康的重大疾病之一。肿瘤微环境(TMEs)是一个围绕肿瘤细胞的复杂且动态变化的生态体系。除了肿瘤细胞外,TME还包含多种免疫细胞、成纤维细胞、内皮细胞、各类细胞因子、趋化因子及其受体等成分。这些成分共同调控着肿瘤的生长、侵袭及恶性转化等关键过程,对肿瘤的整体发展和演变具有举足轻重的作用^[2-3]。肿瘤相关巨噬细胞(TAMs)是TME中的一类免疫细胞,被认为是肿瘤发展的主要调控因子,在肿瘤的发展和转移中起着关键作用,与大部分癌症的不良预后有关^[4]。藤类中药在中医药学中有悠久的历史 and 广泛的应用^[5]。南蛇藤系卫矛科南蛇藤属植物,具有多种丰富的药用价值。他又名过山枫、地南蛇、大南蛇、黄藤、降龙草等,常用于祛风除湿、活血解毒、消肿等治疗领域^[6]。从其茎、叶、根皮、种子等不同部位中,已分离鉴定出多种活性成分,包括倍半萜类、三萜类化合物及黄酮类物质,研究表明这些成分具有显著的抗肿瘤、抗炎和抗病毒等多种药理活性^[7]。本课题组首次发现

南蛇藤多萜(COE)在体内外具有显著的抗肿瘤活性^[8]。COE能够抑制多种恶性肿瘤细胞的增殖与转移,并诱导其凋亡,如胃癌、食管癌、肝癌等,显示了COE在抗肿瘤治疗中的广阔前景^[9-11]。多萜类中药成分与巨噬细胞极化的关系是近年来中药研究的热点之一。多萜类化合物可通过调控信号通路影响巨噬细胞从促炎的M1型向抗炎的M2型极化,从而在抗炎、抗肿瘤等方面发挥重要作用。例如人参皂苷能通过抑制脂多糖(LPS)刺激结肠癌HT-29细胞分泌炎症因子白细胞介素(IL)-8而发挥抗炎作用,其作用机制可能与抑制阻断核转录因子- κ B(NF- κ B)信号通路活化有关^[12]。隐丹参酮通过靶向激活腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)信号通路,显著增强巨噬细胞糖酵解代谢活性,促进TAMs向M1型抗肿瘤表型极化,从而有效抑制肝癌细胞的增殖和进展^[13]。但COE是否通过影响巨噬细胞极化抑制胃癌的研究未见明确报道。因此,本研究将围绕巨噬细胞极化,深入探讨COE对胃癌细胞增殖和转移的抑制作用及其潜在机制,旨在为COE的临床应用提供理论支持。

1 材料

1.1 药物 南蛇藤茎购于广州致信药业有限公司,批号070510。

1.2 细胞株 人急性单核细胞白血病细胞(THP-1)细胞、人胃癌细胞株AGS、HGC-27、MKN28均购自

武汉普诺赛生命科技有限公司,货号分别为CL-0233、CL-0022、CL-0107、CL-0291,所有细胞均经过STR鉴定。为了确保细胞的稳定性和实验结果的可靠性,通常使用10~20代的细胞。

1.3 试剂 RPMI 1640细胞培养基(美国Hyclone公司,批号AK30807642);THP-1专用培养基、磷酸盐缓冲液(PBS)缓冲液(武汉普诺赛生命科技有限公司,批号分别为WHAA24A094、WHB824P281);胎牛血清(美国Gibco公司,批号B210665RP);0.25%胰蛋白酶-乙二胺四乙酸(EDTA)消化液、青链霉素混合液(北京索莱宝科技有限公司,批号分别为240005008、240001003);佛波酯(PMA)、人白细胞介素-4(IL-4)、人白细胞介素-13(IL-13)(美国MCE公司,批号分别为4014669、532274、636904);细胞增殖与活性检测(CCK-8)试剂盒、5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)细胞增殖检测试剂盒(武汉亚科因生物技术有限公司,批号分别为ATXH12021、ATXG18161);IL-10、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,批号分别为WZ06T4F08002、WZ050J025500);RNA Easy Fast动物组织/细胞总RNA提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司,批号Y2013);5 $\times$ PrimeScript RT Master Mix(日本Takara公司,批号AIF2347A);EvaGreen 2 $\times$ qPCR Master Mix(加拿大Abm公司,批号JLC-A19393);聚氰基丙烯酸正丁酯(BCA)蛋白浓度测定试剂盒、Western一抗稀释液、二抗稀释液(上海碧云天生物科技股份有限公司,批号分别为060823231225、AZ050、P0258);0.45 μ m聚偏二氟乙烯(PVDF)膜(美国Millipore公司,批号IPVH00010);波形蛋白(Vimentin)、基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9抗体(美国Thermo Fisher公司,批号分别为MA5-16409、MA5-32705、PA5-85197);锌指蛋白SNAI2(Slug)抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,批号12129-1-AP); β -肌动蛋白(β -actin)抗体(美国Sigma公司,批号A3854);蜗牛转录因子(Snail)抗体、辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)、羊抗小鼠IgG(美国CST公司,批号分别为3879、7074、7076);超敏增强化学发光(ECL)化学发光试剂盒(苏州新赛美生物科技有限公司,批号20240918)。

1.4 仪器 ICO150型CO₂培养箱(德国Memmert公司);MSC1.2型生物安全柜(美国Thermo公司);AR224CN型电子天平(美国Ahaus公司);EnSpire

型多功能酶标板分析仪(美国PerkinElmer公司);1X73型倒置荧光显微镜(日本Olympus公司);S1000型PCR仪、Mini-Protean Tetra System型垂直电泳仪、Trans-Blot湿法转膜仪、ChemiDoc XRS+型凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司);LightCycler 96型实时荧光定量PCR仪(美国Roche公司)。

2 方法

2.1 COE的制备 南蛇藤茎药材经中国药科大学中药资源研究所王强教授鉴定为卫矛科植物*Celastrus orbiculatus*的茎。南蛇藤提取物的鉴定、提取和纯化由中国药科大学王强教授课题组进行^[14]。根据国家发明专利(专利号ZL200710025343.3)的制备方法,将干燥的南蛇藤茎药材进行粉碎处理,采用95%乙醇进行3次浸提,使用石油醚进行3次萃取分离,再以乙酸乙酯进行3次萃取纯化。将最终获得的提取物进行冷冻干燥处理,得到南蛇藤多萜原粉末。详细的步骤请参照之前的描述^[15-16]。本课题组前期利用高效液相色谱对南蛇藤提取物中的活性成分进行了分离与结构分析,并依据其化学特征进行了分类,研究共鉴定出26种结构各异的化合物,主要包括12种二萜类、8种三萜类及6种苯丙素类成分^[17]。这些结构多样的活性成分从分子结构层面解释了其药物的主要成分,进一步保证了实验的准确性和可重复性。使用前由专人将其研磨成细粉,准确称取0.016 g置于离心管中,加入二甲基亚砜(DMSO)100 μ L助溶。待粉末完全溶解形成黑褐色黏稠液体后,再加入无血清的1640培养基10 mL,随后使用0.22 μ m微孔滤膜进行过滤除菌,最终得到COE储存液,并将其置于4 $^{\circ}$ C冰箱中保存。根据实验方案配制所需浓度(DMSO终体积分数<0.1%)。

2.2 细胞培养 THP-1细胞使用THP-1专用培养基进行培养,人胃癌细胞株AGS、HGC-27、MKN28使用含10%胎牛血清、1%青-链霉素混合液的罗斯韦尔公园纪念研究所(RPMI)1640培养基,所有细胞均置于37 $^{\circ}$ C、5%CO₂的条件下进行培养,将处于对数生长期的细胞用于后续细胞实验。

2.3 诱导巨噬细胞极化 以每皿 1×10^7 个的密度将处于对数生长期的THP-1细胞接种于35 mm细胞培养皿中,加入PMA使其最终质量浓度为100 μ g $\cdot$ L⁻¹,培养24 h后观察是否贴壁并分化为M0型巨噬细胞。移除已分化巨噬细胞的上清液,添加IL-4(20 μ g $\cdot$ L⁻¹)和IL-13(20 μ g $\cdot$ L⁻¹)在新鲜的专用培养基中,继续培养48 h以诱导巨噬细胞从M0向M2型极化。

2.4 CCK-8 法检测细胞活力 将处于指数增长期的 THP-1 细胞诱导成 M0、M2 型巨噬细胞,分别以每孔 1×10^4 个细胞的接种密度均匀铺板于 96 孔板中,随后置于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $5\%\text{CO}_2$ 的细胞培养箱中进行培养。24 h 后分别更换为含 0、10、20、40、80、 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ COE 的 RPMI 1640 培养基,于细胞培养箱中持续孵育 48 h 后,向每孔添加 CCK-8 溶液 $10\text{ }\mu\text{L}$,继续在细胞培养箱中孵育 3 h,随后使用多功能酶标仪在 460 nm 波长下检测各孔的吸光度 A 。

在确定 COE 的最适作用浓度后,将 THP-1 细胞进行分组处理,具体分为以下 3 组:M0 组(PMA 处理组)、M2 组(PMA+IL-4、IL-13 处理组)、M2+COE 组(PMA+IL-4、IL-13+COE 处理组)。各组细胞经药物处理 48 h 后,更换为无血清的 RPMI 1640 培养基,继续培养 24 h 后,收集细胞培养上清液,在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 以 $5\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,离心半径为 12.5 cm 的条件下离心 10 min ,制成条件培养基(CM)。

取对数生长期的 AGS、HGC-27 和 MKN28 细胞,经胰酶消化后制成单细胞悬液(5×10^4 个/mL)后,按照每孔 $100\text{ }\mu\text{L}$ 体系接种于 96 孔板中。培养 24 h 后,将先前的细胞培养基分别更换为 M0-CM 组、M2-CM 组和 M2+COE-CM 组,每组设置 3 个副孔,然后继续在培养箱中培养。24 h 后,加入 CCK-8 溶液进行孵育并检测 A 值,细胞存活率按以下公式计算:细胞存活率= $(A_{\text{药物组}}-A_{\text{溶剂组}})/(A_{\text{空白组}}-A_{\text{溶剂组}}) \times 100\%$ 。

2.5 EdU 检测细胞增殖 取对数生长期的 AGS、HGC-27 和 MKN28 细胞,按照每孔 2×10^4 个的数量接种于 24 孔培养板中,每孔 $100\text{ }\mu\text{L}$ 。培养 24 h 后更换培养基为 M0-CM、M2-CM、M2+COE-CM,继续培养箱中培养 24 h。根据 EdU 细胞增殖检测试剂盒说明书,每孔加入 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 EdU 工作液后继续培养 2 h,去除培养基,向每孔加入 4% 多聚甲醛溶液 $200\text{ }\mu\text{L}$ 以固定细胞,室温下作用 10 min 。随后吸去固定液,并用洗涤液进行 3 次洗涤,每次持续 5 min 。每孔加入 Triton X-100 通透液 $200\text{ }\mu\text{L}$,室温孵育 15 min 后去除通透液,再次使用洗涤液洗涤 3 次,每次 5 min 。去除洗涤液,每孔加入现配的 Click 反应液 $200\text{ }\mu\text{L}$,室温下避光孵育 30 min 。吸除反应液,加入洗涤液洗涤。使用 Hoechst 33342 进行细胞核染色,随后在倒置荧光显微镜下观察实验结果。

2.6 Real-time PCR 检测 IL-10、分化簇 206 (CD206)、TNF- α 、分化簇 86(CD86) mRNA 表达水平 收集 M0-CM 组、M2-CM 组、M2+COE-CM 组的

细胞,按照 RNA Easy Fast 动物组织/细胞总 RNA 提取试剂盒的说明书提取总 RNA。在冰浴条件下,于 RNase-free 的 PCR 管中加入 RNA 样品 $1\,000\text{ ng}$,随后加入 $5 \times \text{PrimeScript RT Master Mix } 2\text{ }\mu\text{L}$,最后用 RNase-free 水补足至总体积 $20\text{ }\mu\text{L}$ 。将上述 $20\text{ }\mu\text{L}$ 反应溶液置于 PCR 仪中,设置程序反转录合成 cDNA。根据 EvaGreen $2 \times \text{qPCR Master Mix}$ 试剂说明书,对巨噬细胞相关标志物 IL-10、CD206、TNF- α 、CD86 的 mRNA 水平进行测定。反应条件: $95\text{ }^\circ\text{C}$, 600 s ; $95\text{ }^\circ\text{C}$, 10 s ; $55\text{ }^\circ\text{C}$, 10 s ; $72\text{ }^\circ\text{C}$, 10 s , 45 个循环; $95\text{ }^\circ\text{C}$, 10 s , $65\text{ }^\circ\text{C}$, 60 s , $97\text{ }^\circ\text{C}$, 1 s 。以 β -actin 作为内参,使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目标基因的相对表达水平。相关引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer Sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
IL-10	上游 CTTGCTGGAGGACTTTAAGGGTTAC	25
	下游 CTTGATGTCTGGGTCTTGGTTCTC	24
CD206	上游 TTCAGTGGACCATCGAGGAAGAGG	24
	下游 ATGGCAACACACCCTGGCTTTC	22
TNF- α	上游 CTCATCTACTCCCAGGTCCTCTTC	24
	下游 CGATGCGGCTGATGGTGTG	19
CD86	上游 TGTGGAACCAACACAATGGAGAGG	24
	下游 AAACACGCTGGGCTTCATCAGATC	24
β -actin	上游 GCACTCTTCCAGCCTTCCTCCC	22
	下游 GCGGATGTCCACGTCACACTTC	22

2.7 ELISA 检测 IL-10、TNF- α 蛋白表达 对应孔板中加入 $100\text{ }\mu\text{L}$ 标准品工作液和 M0-CM 组、M2-CM 组、M2+COE-CM 组的样品,在 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下孵育 1.5 h ,移除板内液体后,向每孔加入生物素化抗体工作液 $100\text{ }\mu\text{L}$,并于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下孵育 1 h 。孵育完成后弃去板内液体,使用洗涤液洗涤板孔。接着向每孔内加入 HRP 酶结合物工作液 $100\text{ }\mu\text{L}$,将孔板在 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下继续孵育 0.5 h 。最后完全弃除板内液体,并对板孔进行洗涤,每孔加入 TMB 溶液 $90\text{ }\mu\text{L}$, $37\text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 $15\sim 30\text{ min}$ 。每孔加入终止液 $50\text{ }\mu\text{L}$ 以停止显色反应,使用多功能酶标仪检测 450 nm 波长下各孔的吸光度 A ,处理数据结果。

2.8 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测蛋白表达水平 将 AGS、HGC-27 和 MKN28 细胞接种于 6 孔板,培养其贴壁至合适数目,分别加入 M0-CM 组、M2-CM 组、M2+COE-CM 组培养 24 h ,提取细胞总

蛋白后采用BCA法定量,进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白质。电泳完成后,将蛋白质电转印到PVDF膜上,随后使用TBST对PVDF膜进行洗涤。再将膜置于5%封闭液中,在室温条件下封闭2 h。TBST溶液洗膜,加入一抗(1:1 000),4℃孵育过夜,TBST洗膜后加入HRP标记的二抗(1:2 000)孵育2 h,TBST溶液洗膜,滴加适量的超敏型ECL化学发光液,采用凝胶成像系统拍照观察结果,使用Image J软件进行条带的灰度值分析。

2.9 统计学处理 本研究采用SPSS 16.0统计软件进行相关数据的分析处理。计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,多组组间比较采用完全随机设计的单因素方差分析(ANOVA),组间两两比较用最小显著差异法(LSD)检验进行分析,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 COE对巨噬细胞活力的影响 运用肿瘤免疫评估资源(TIMER)分析肿瘤与浸润免疫细胞的关系,结果显示巨噬细胞与胃癌存在相关性($P<0.01$),巨噬细胞与胃癌的关联性图见增强出版附加材料。CCK-8结果显示,与空白组比较,20、40、80、160 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ COE对巨噬细胞 THP-1 的活力有显著抑制作用($P<0.01$),且呈浓度依赖性,但COE不影响M2型巨噬细胞的增殖,见表2,表明其仅影响巨噬细胞的活化状态,调控极化相关通路而非增殖。因此选择10 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的COE用于后续的实验。

表2 COE对THP-1和M2细胞增殖的抑制作用($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 2 Inhibitory effect of COE on proliferation of THP-1 cells and M2 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

细胞	组别	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	吸光度 A
THP-1	空白组		2.00±0.42
	COE组	10	1.81±0.40
		20	1.59±0.42 ¹⁾
		40	1.04±0.42 ¹⁾
		80	0.35±0.01 ¹⁾
M2	空白组	160	0.28±0.01 ¹⁾
	COE组		1.58±0.25
		10	1.54±0.22
		20	1.51±0.22
		40	1.49±0.21
		80	1.49±0.23
		160	1.49±0.23

注:与空白组比较¹⁾ $P<0.01$

3.2 COE抑制M2型巨噬细胞极化对胃癌细胞增殖能力的影响 AGS、HGC-27和MKN28细胞在M0-CM中生长良好,细胞形态正常。与M0组比较,加入M2-CM后细胞的活力显著增加,表明M2型巨噬细胞的条件培养基能够促进胃癌细胞的增殖($P<0.05$)。与M2组比较,加入M2-COE-CM后AGS、HGC-27和MKN28细胞的增殖明显受到抑制,细胞活力明显下降,表明M2型巨噬细胞与COE共培养上清具有抑制胃癌细胞增殖的作用, ($P<0.05, P<0.01$)。见表3、图1。

表3 CM对胃癌细胞AGS、HGC-27和MKN28增殖的抑制作用的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Inhibitory effect of CM on proliferation of gastric cancer cells AGS, HGC-27, MKN28 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

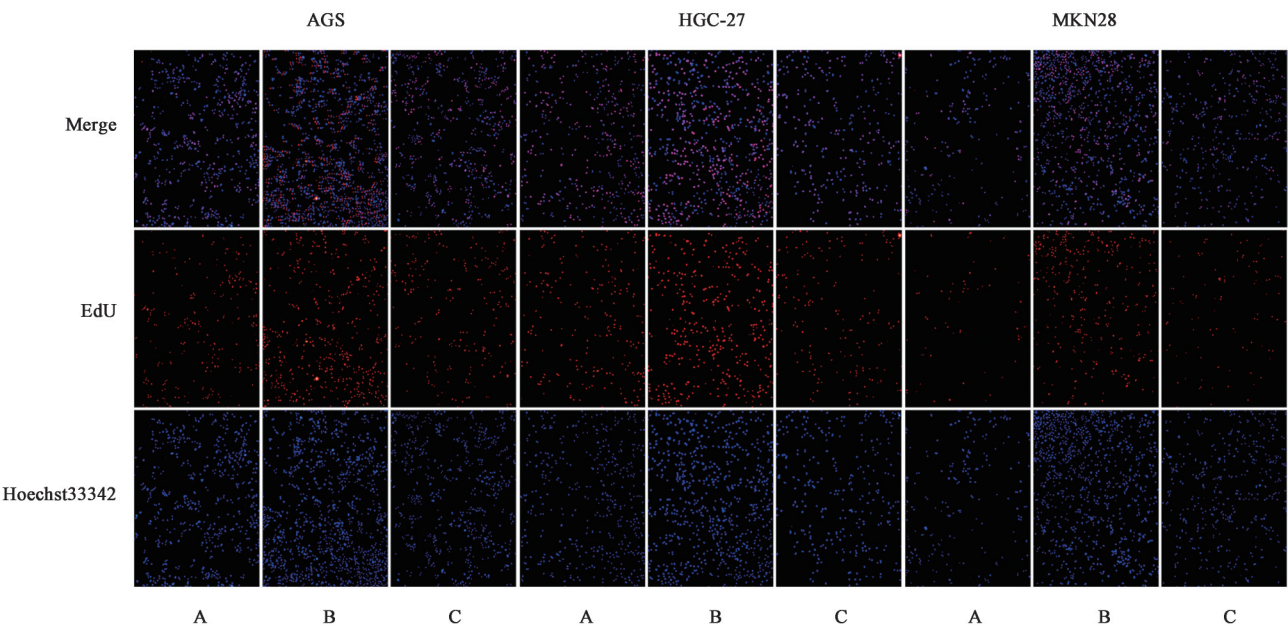
组别	吸光度 A		
	AGS	HGC-27	MKN28
M0组	1.81±0.14	1.75±0.07	1.19±0.11
M2组	2.40±0.12 ¹⁾	1.97±0.15 ¹⁾	1.53±0.18 ¹⁾
M2+COE组	1.49±0.13 ³⁾	1.55±0.11 ⁴⁾	0.79±0.12 ⁴⁾

注:M0组给药质量浓度PMA 100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$;M2组给药质量浓度PMA 100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ +IL-4、IL-13 20 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$;M2+COE组给药质量浓度PMA 100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ +IL-4、IL-1320 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ +COE 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$;与M0组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与M2组比较³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$ (表4-表8同)

3.3 COE对巨噬细胞极化相关标志物mRNA表达水平的影响 相较于M0组,经IL-4、IL-13诱导的M2组中的IL-10、CD206 mRNA表达水平出现显著上调($P<0.01$),表明成功诱导了M2型巨噬细胞的极化。与M2组比较,经COE处理的M2+COE组中IL-10和CD206 mRNA表达水平显著降低($P<0.01$),表明COE处理能抑制M2型巨噬细胞的极化。同时,M2+COE组中TNF- α 和CD86 mRNA表达水平出现显著升高($P<0.01$)。见表4。

3.4 COE对巨噬细胞上清中细胞因子水平的影响 ELISA检测结果表明,与M0组比较,M2组细胞上清中IL-10水平显著降低($P<0.01$);而M2+COE组细胞上清中IL-10水平较M2组显著升高($P<0.01$),表明COE处理抑制了M2型巨噬细胞的极化。同时,M2+COE组细胞上清中TNF- α 的水平明显降低($P<0.05$),表明COE处理促进了M1型巨噬细胞的极化。见表5。

3.5 COE抑制M2型巨噬细胞极化对胃癌细胞Vimentin、MMP-2、MMP-9、Snail、Slug蛋白表达的影响 与M2组比较,M2+COE组中AGS、HGC-27和MKN28细胞中Vimentin、MMP-2、MMP-9、Snail、



注:A.M0-CM组;B.M2-CM组;C.M2+COE-CM组(图2同)

图1 M0、M2、M2+COE上清对AGS、HGC-27和MKN28细胞增殖能力的影响(标尺200 μm)

Fig. 1 Impact of M0, M2, and M2+COE supernatants on proliferation of AGS, HGC-27, and MKN28 cells (Scale 200 μm)

表4 COE对IL-10、CD206、TNF-α和CD86 mRNA表达水平的影响(̄x±s, n=3)

Table 4 Effect of COE on mRNA expression levels of IL-10, CD206, TNF-α, and CD86 (̄x±s, n=3)

组别	IL-10	CD206	TNF-α	CD86
M0组	0.93±0.01	1.08±0.05	0.94±0.04	0.93±0.04
M2组	2.01±0.07 ²⁾	47.60±0.03 ²⁾	0.57±0.09 ²⁾	0.24±0.03 ²⁾
M2+COE组	0.85±0.04 ⁴⁾	15.07±0.04 ⁴⁾	1.16±0.02 ⁴⁾	0.67±0.07 ⁴⁾

表5 COE对IL-10、TNF-α表达水平的影响(̄x±s, n=3)

Table 5 Effect of COE on expression of IL-10, TNF-α levels (̄x±s, n=3)

组别	IL-10	TNF-α
M0组	291.11±15.57	98.96±4.08
M2组	275.12±21.08 ²⁾	133.56±7.55
M2+COE组	345.91±13.25 ⁴⁾	36.86±5.37 ³⁾

Slug蛋白的表达水平明显降低($P<0.05$, $P<0.01$)。见图2,表6-表8。

4 讨论

肿瘤的发生发展常以“虚、毒”为核心病机^[18]。

表6 CM对AGS细胞中Vimentin、MMP-2、MMP-9、Snail、Slug蛋白表达的影响(̄x±s, n=3)

Table 6 Effect of CM on expression of Vimentin, MMP-2, MMP-9, Snail, and Slug proteins in AGS Cells (̄x±s, n=3)

组别	Vimentin/β-actin	MMP-2/β-actin	MMP-9/β-actin	Snail/β-actin	Slug/β-actin
M0组	0.57±0.16	1.35±0.24	0.82±0.19	1.32±0.19	0.76±0.15
M2组	0.64±0.18	1.27±0.24	0.97±0.16	1.76±0.17 ²⁾	0.41±0.19
M2+COE组	0.27±0.14 ³⁾	0.80±0.24 ⁴⁾	0.52±0.19 ⁴⁾	1.38±0.21 ⁴⁾	0.37±0.16 ³⁾

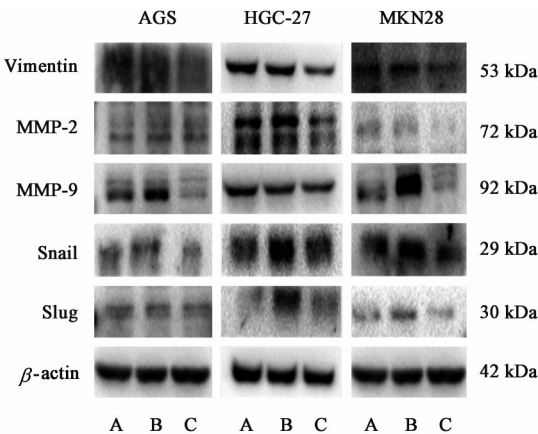


图2 AGS、HGC-27和MKN28细胞Vimentin、MMP-2、MMP-9、Snail、Slug的蛋白电泳

Fig. 2 Electrophoresis of protein expression of Vimentin, MMP-2, MMP-9, Snail, and Slug in AGS, HGC-27, and MKN28 cells

中医理论认为,气虚不固,阳虚毒结,癌毒流注是肿瘤形成的重要病理基础。现代医学研究表明,这一病机与肿瘤免疫微环境的形成密切相关。癌毒流注可促进免疫抑制细胞的分化及免疫抑制微环境

表 7 CM 对 HGC-27 细胞中 Vimentin、MMP-2、MMP-9、Snail、Slug 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 7 Effect of CM on expression of Vimentin, MMP-2, MMP-9, Snail, and Slug proteins in HGC-27 Cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	Vimentin/ β -actin	MMP-2/ β -actin	MMP-9/ β -actin	Snail/ β -actin	Slug/ β -actin
M0 组	0.71 $\pm$ 0.09	2.08 $\pm$ 0.29	0.93 $\pm$ 0.05	1.36 $\pm$ 0.20	0.52 $\pm$ 0.32
M2 组	0.65 $\pm$ 0.11	2.14 $\pm$ 0.35	0.87 $\pm$ 0.05	1.88 $\pm$ 0.21 ²⁾	1.35 $\pm$ 0.33 ²⁾
M2+COE 组	0.47 $\pm$ 0.10 ⁴⁾	1.42 $\pm$ 0.33 ⁴⁾	0.77 $\pm$ 0.07 ³⁾	1.63 $\pm$ 0.22 ³⁾	0.94 $\pm$ 0.34 ⁴⁾

表 8 CM 对 MKN28 细胞中 Vimentin、MMP-2、MMP-9、Snail、Slug 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 8 Effect of CM on expression of Vimentin, MMP-2, MMP-9, Snail, and Slug Proteins in MKN28 Cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	Vimentin/ β -actin	MMP-2/ β -actin	MMP-9/ β -actin	Snail/ β -actin	Slug/ β -actin
M0 组	0.74 $\pm$ 0.12	0.29 $\pm$ 0.06	0.64 $\pm$ 0.31	1.07 $\pm$ 0.12	0.74 $\pm$ 0.14
M2 组	0.61 $\pm$ 0.10	0.17 $\pm$ 0.01	1.19 $\pm$ 0.03 ²⁾	1.32 $\pm$ 0.12	0.80 $\pm$ 0.13
M2+COE 组	0.48 $\pm$ 0.10 ⁴⁾	0.12 $\pm$ 0.06 ³⁾	0.39 $\pm$ 0.03 ⁴⁾	1.04 $\pm$ 0.13 ⁴⁾	0.48 $\pm$ 0.13 ³⁾

的形成,而胃癌细胞则可通过多种机制逃避免疫系统的监视,实现异常增殖。其中,TAMs在塑造抑制性肿瘤免疫微环境和介导免疫逃逸中发挥着关键作用^[19]。从病理生理学角度来看,胃癌微环境中的 TAMs 通常表现出特定的 M2 型活化表型。这种表型能够显著促进肿瘤的侵袭和转移,并且与胃癌患者的不良预后密切相关^[20]。YAN 等^[21]的研究进一步证实,TAMs 高水平浸润与胃癌的侵袭性特征之间存在显著正相关,可作为胃癌患者的独立预后因素。此外,上皮-间质转化(EMT)过程在肿瘤细胞与 TAMs 的相互作用中扮演着重要角色,通过复杂的细胞间信号传导促进肿瘤的迁移、侵袭和转移^[22]。在分子机制层面,EMT 的核心特征是上皮细胞标志物[如上皮型钙黏蛋白(E-cadherin)、细胞角蛋白]的下调和间充质细胞标志物[如神经型钙黏蛋白(N-cadherin)、Vimentin、纤连蛋白]的上调^[23]。其中,Vimentin 作为一种重要的中间丝蛋白,在细胞内结构稳定、细胞迁移和肿瘤侵袭中发挥关键作用^[24],其在肿瘤中的高表达往往与疾病的恶性程度及预后不良密切相关。Snail 和 Slug 属于锌指结构转录因子,可通过结合 E-cadherin 等靶基因启动子的 E-box 区域,抑制其表达,从而推动 EMT 的进程^[25]。在肿瘤侵袭转移过程中,MMPs 家族发挥着重要作用。作为锌依赖性内切蛋白酶,MMPs 能降解细胞外基质和基底膜,其中的 MMP-2 和 MMP-9 在多种肿瘤(包括胃癌)的侵袭和迁移中发挥着重要作用^[26]。

近年研究发现,多萜类中药可通过 Toll 样受体 4(TLR4)/NF- κ B 信号通路调控 EMT 过程,具有重要抗肿瘤作用。TLR4 作为先天免疫系统的关键模式识别受体,在病原体识别和免疫信号转导中扮

演核心角色。其通过激活下游转录调控网络,尤其是介导 NF- κ B 等关键转录因子的核转位,进而调控多种炎症介质的表达,最终协调机体的炎症免疫应答^[27-28]。值得注意的是,NF- κ B 作为炎症调控中枢,能够启动促炎细胞因子基因的转录程序,导致炎症因子的大量产生和释放^[29]。VUMMIDIGIRIDHAR 等^[30]的研究发现雷公藤甲素抑制 TLR4 二聚化及下游髓样分化因子 88/TIR 结构域衔接蛋白诱导干扰素- β (MyD88/TRIF)适配蛋白募集。雷公藤红素通过逆转 EMT 抑制人结肠癌细胞增殖并减轻结肠异种移植肿瘤的生长,可通过阻断 NF- κ B,减少 Snail 转录,上调 E-cadherin 的表达^[31]。冬凌草甲素显著抑制乳腺癌细胞 MDA-MB-231 细胞迁移和侵袭,降低 MMP-2/MMP-9 活化,抑制 NF- κ B 的表达^[32]。本实验研究从分子水平和细胞层面深入探讨了 COE 的作用机制。研究发现,COE 能够抑制 M2 型巨噬细胞极化,抑制胃癌细胞的增殖能力和迁移运动,下调转移相关蛋白 Vimentin、MMP-2、MMP-9、Snail、Slug 的表达水平。这些发现为深入理解 COE 治疗胃癌的多靶点作用机制提供了重要线索。

从免疫微环境的角度,TAMs 主要分为两种极化类型:M1 型和 M2 型。M1 型巨噬细胞能够分泌大量细胞因子,如 IL-2、IL-6、TNF- α ,具有高度杀伤性,主要通过增强炎症反应、杀菌能力、吞噬作用及抑制肿瘤生长来发挥其功效。而 M2 型巨噬细胞则分泌 IL-10、IL-13、转化生长因子- β (TGF- β)等具有免疫抑制性的抗炎细胞因子,对肿瘤生长起促进作用^[33-34]。这两种极化类型的巨噬细胞在肿瘤微环境中发挥着截然不同的作用,共同影响着肿瘤的进展和转归。本实验结果表明,经 COE 处理后 IL-10 和 CD206 的表达水平降低,TNF- α 和 CD86 的表达水

平升高,表明COE处理能抑制M2型巨噬细胞的极化,促进M1型巨噬细胞的极化,从而改善肿瘤免疫微环境。

综上,COE通过调节巨噬细胞的极化状态,能够显著抑制胃癌细胞的增殖和迁移能力,其潜在机制与TLR4/NF- κ B信号通路调控EMT过程密切相关。然而,目前的研究仍处于初步阶段,未来需要开展更多体内外实验,以深入探究COE、巨噬细胞极化与胃癌之间的复杂关系,以期为COE的临床应用提供更坚实的理论基础和实验支持。

【利益冲突】 本文不存在任何利益冲突。

【参考文献】

- [1] XIA C F, DONG X S, LI H, et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: Profiles, trends, and determinants [J]. Chin Med J, 2022, 135(5): 7.
- [2] QUAIL D F, JOYCE J A. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis [J]. Nat Med, 2013, 19(11): 1423-1437.
- [3] HANAHAN D, COUSSENS L M. Accessories to the crime: Functions of cells recruited to the tumor microenvironment [J]. Cancer Cell, 2012, 21(3): 309-322.
- [4] QIAN B Z, POLLARD J W. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis [J]. Cell, 2010, 141(1): 39-51.
- [5] DING Y, ZHAO D, WANG T, et al. Medicinal patterns of vines used in Chinese herbal medicine: A quantitative study [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 319(2): 117184.
- [6] 胡奇志, 胡成刚. 黔产南蛇藤属药用植物资源调查研究 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(7): 2.
HU Q Z, HU C G. Investigation on the medicinal plant resources of *Celastrus* in Guizhou [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2013, 24(7): 2.
- [7] 金凤. 南蛇藤提取物通过DJ-1调控肿瘤干细胞抑制人食管鳞癌侵袭转移的作用及机制研究 [D]. 扬州: 扬州大学, 2019.
JIN F. Research on the anti-metastasis effects of *Celastrus orbiculatus* extracts in suppressing cancer stem-like cells by inhibiting DJ-1 in human esophageal squamous cell carcinoma [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2019.
- [8] CHU Z W, ZHU M, LUO Y Y, et al. Terpene extract from the stem of *Celastrus orbiculatus* inhibits actin cytoskeleton remodelling in gastric cancer cells by regulating the protein interaction between PTBP1 and ACTN4 [J]. J Pharm Anal, 2024, 14(8): 101021.
- [9] TAO L, YIN Z, NI T, et al. The ethyl acetate extract from *Celastrus orbiculatus* promotes apoptosis of gastric cancer cells through mitochondria regulation by PHB [J]. Front Pharmacol, 2021, 28(12): 635467.
- [10] 金凤, 刘延庆, 钱亚云, 等. 南蛇藤提取物对人食管鳞癌TE-8细胞凋亡的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(8): 3474-3477.
- [11] JIN F, LIU Y Q, QIAN Y Y, et al. Effects of *Celastrus orbiculatus* extract on apoptosis in human esophageal squamous carcinoma TE-8 cells [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2017, 32(8): 3474-3477.
- [12] CHU Z, SHI X, CHEN G, et al. COE inhibits vasculogenic mimicry by targeting EphA2 in hepatocellular carcinoma, a research based on proteomics analysis [J]. Front Pharmacol, 2021, 31(12): 619732.
- [13] 吕耀春. 人参皂苷Rd对人结肠癌细胞系表达炎症因子的影响 [D]. 银川: 宁夏医科大学, 2025.
LV Y C. Effect of ginsenoside rd on the expression of inflammatory cytokines in human colonic carcinoma cell line [D]. Yinchuan: Ningxia Medical University, 2025.
- [14] JIANG T, HUANG J B, XU C Y, et al. Arsenic trioxide cooperate cryptotanshinone exerts antitumor effect by medicating macrophage polarization through glycolysis [J]. J Immunol Res, 2022, 8: 2619781.
- [15] 咎珂, 陈筱清, 王强, 等. 南蛇藤茎的化学成分研究 [J]. 中草药, 2007, 38(10): 1455-1457.
ZAN K, CHEN X Q, WANG Q, et al. Chemical constituents in stem of *Celastrus orbiculatus* [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2007, 38(10): 1455-1457.
- [16] 张舰, 许运明, 刘延庆. 南蛇藤提取物体外抑瘤作用研究 [J]. 中药药理与临床, 2006, 22(S1): 99-101.
ZHANG J, XU Y M, LIU Y Q. Research on the antitumor effects of *Celastrus orbiculatus* extracts in vitro [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2006, 22(S1): 99-101.
- [17] ZHANG H, QIAN Y Y, LIU Y Q, et al. *Celastrus orbiculatus* extract induces mitochondrial-mediated apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells [J]. J Tradit Chin Med, 2012, 32(4): 621-626.
- [18] JIANG W, SHAN T Z, XU J J, et al. Cytotoxic abietane and kaurane diterpenoids from *Celastrus orbiculatus* [J]. J Nat Med, 2019, 73(4): 841-846.
- [19] 匡子禹, 闫宁哲, 刘可, 等. 从免疫编辑角度探讨恶性肿瘤“虚-毒”互作病机及其辨治 [J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(12): 20.
KUANG Z Y, YAN N Z, LIU K, et al. Discussion on the pathogenesis of "deficiency-toxicity" interaction of malignant tumors and differentiation and treatment from the perspective of immunoeediting [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2024, 39(12): 20.
- [20] SHI T, ZHANG Y P, WANG Y, et al. DKK1 promotes tumor immune evasion and impedes Anti-PD-1 treatment by inducing immunosuppressive macrophages in gastric cancer [J]. Cancer Immunol Res, 2022, 10(12): 1506-1524.
- [21] ZHANG C, WEI S S, DAI S L, et al. The NR₁₀₉/FUBP1/c-Myc axis regulates TAM polarization and remodels the tumor microenvironment to promote cancer development [J]. J Immunother Cancer, 2023, 11(5): e006230.
- [22] YAN Y, ZHANG J, LI J H, et al. High tumor-associated

- macrophages infiltration is associated with poor prognosis and may contribute to the phenomenon of epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer [J]. *Onco Targets Ther*, 2016, 9: 3975-3983.
- [22] YANG C G, DOU R Z, WEI C, et al. Tumor-derived exosomal microRNA-106b-5p activates EMT-cancer cell and M2-subtype TAM interaction to facilitate CRC metastasis [J]. *Mol Ther*, 2021, 29(6): 2088-2107.
- [23] GUIDALBERTO M, MONICA F. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) 2021 [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (10) : 5848.
- [24] KAREN M R, JOHN E E, MILOS P, et al. Roles of vimentin in health and disease [J]. *Genes Dev*, 2022, 36 (7-8) : 391-407.
- [25] SIMONE B, HARALD S, THOMAS B, et al. Dynamic EMT: A multi-tool for tumor progression [J]. *EMBO J*, 2021, 40 (18): e108647.
- [26] NATALIA M, ANA I R L, EMMA M S, et al. Emerging roles of MT-MMPs in embryonic development [J]. *Dev Dyn*, 2022, 251(2): 240-275.
- [27] HYO J K, HYEMIN K, JEONG H L, et al. Toll-like receptor 4 (TLR4) : New insight immune and aging [J]. *Immun Ageing*, 2023, 20(1): 67.
- [28] ZHANG Y S, LIANG X J, BAO X F, et al. Toll-like receptor 4 (TLR4) inhibitors: Current research and prospective [J]. *Eur J Med Chem*, 2022, 235: 114291.
- [29] HUI Y, LIN L B, ZHANG Z Q, et al. Targeting NF- κ B pathway for the therapy of diseases: Mechanism and clinical study [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 209.
- [30] VUMMIDIGIRIDHAR P, MOUL D, RUTH D, et al. MyD88-dependent and independent pathways of Toll-like receptors are engaged in biological activity of triptolide in ligand-stimulated macrophages [J]. *BMC Chem Biol*, 2010, 12(10): 3.
- [31] LIN L J, SUN Y, WANG D X, et al. Celastrol ameliorates ulcerative colitis-related colorectal cancer in mice via suppressing inflammatory responses and epithelial-mesenchymal transition [J]. *Front Pharmacol*, 2016, 13 (6): 320.
- [32] WANG S P, ZHONG Z F, WAN J B, et al. Oridonin induces apoptosis, inhibits migration and invasion on highly-metastatic human breast cancer cells [J]. *Am J Chin Med*, 2013, 41(1): 177-96.
- [33] CHEN S Z, ABDULLAH F, LIU Q, et al. Macrophages in immunoregulation and therapeutics [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 22, 8(1): 207.
- [34] MALYSHEV I, MALYSHEV Y. Current concept and update of the macrophage plasticity concept: Intracellular mechanisms of reprogramming and M3 macrophage "switch" phenotype [J]. *Biomed Res Int*, 2015: 341308.

[责任编辑 张丰丰]