

## 人参水提液通过免疫调节 TAMs 影响 A549 增殖

江玉翠, 毕 蕾, 高 静, 陈飞燕, 陈卫平\*

(南京中医药大学基础医学院, 江苏 南京 210023)

**摘要:** 目的 探讨人参水提液(1 g/mL 人参水提液中 R<sub>g1</sub>、Re、R<sub>b1</sub> 的量分别为 1.4、1.17、1.42 mg/mL) 对肿瘤相关巨噬细胞(tumor associated macrophages, TAMs) 的表型调节进而间接抑制肺癌细胞 A549 的增殖。方法 采用佛波酯、IL-4、IL-13 联合处理人急性单核细胞白血病细胞 THP-1 来建立 TAMs 的体外模型; RT-PCR 技术、流式细胞技术、ELISA 用于分析 2.5、5、10、20、40 mg/mL 人参水提液及药物处理 6、12、24、48 h 对 TAMs 的表型调节; 用 Trans-well 上下室共培养体系和上清共培养体系观察 TAMs 对 A549 增殖的抑制。结果 人参水提液能显著上调 TAMs 中 M1 型标志物 IL-12 及 iNOS 的表达水平; 人参水提液双向调控 M2 型标志物(下调甘露糖受体 CD206 和上调 IL-10) 的表达水平。经人参水提液调节的 TAMs 能够显著抑制 A549 增殖且呈剂量依赖性。结论 人参水提液能调节肿瘤微环境中 TAMs 的表型进而抑制 A549 的增殖, 这可能与人参水提液提高了 TAMs 中 M1 型巨噬细胞的比例有关。

**关键词:** 人参水提液; 肿瘤相关巨噬细胞; 免疫调节; 肺癌 A549 细胞

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2016)08-1689-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.08.006

## Research of immune modulation of Ginseng water extracts on TAMs and its regulation effects on cell proliferation of A549

JIANG Yu-cui, BI Lei, GAO Jing, CHEN Fei-yan, CHEN Wei-ping\*

(Department of Preclinical Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

**ABSTRACT:** **AIM** To investigate the phenotype modulation of Ginseng water extracts (WEG, 1 g/L WEG contained 1.4 mg/mL R<sub>g1</sub>, 1.17 mg/mL Re, 1.42 mg/mL R<sub>b1</sub>) on tumor associated macrophages (TAMs) and thus inhibiting cell proliferation of pulmonary cancer cell line A549. **METHODS** TAMs model *in vivo* was established by treating THP-1 with phorbol-12-myristate-13-acetate, IL-4 and IL-13. The influences of dosage (2.5, 5, 10, 20, and 40 mg/mL WEG) and 6, 12, 24, and 48 h medication time on TAMs were analyzed by RT-PCR, flow cytometry, and ELISA. The supernatant co-culture system and Trans-well co-culture system treated with WEG were both used to explore if cell proliferation of A549 was inhibited. **RESULTS** There was significant decrease in the over-expression of M1 markers in TAMs, including IL-12 and iNOS. Moreover, compared with the control group, M2 makers in WEG-treated TAMs represented dual-directional (obviously decreased the expression of mannose receptor CD 206 and increased IL-10). Furthermore, for the co-culture system experiment, the cell proliferation of A549 was inhibited obviously in a concentration dependent manner. **CONCLUSION** WEG can alter the micro-environment and inhibit cell proliferation of A549, which may be related to the increase in the proportion of M1 macrophage.

**KEY WORDS:** Ginseng water extract; tumor associated macrophages; immune modulation; lung cancer cell line A549

收稿日期: 2015-12-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81273638, 81503468); 江苏省高校自然科学基金项目(14KJD360004)

作者简介: 江玉翠(1989—), 女, 硕士, 初级实验师, 从事中药分子药理研究。Tel: (025) 85811959, E-mail: jiangyucuiju@163.com

\* 通信作者: 陈卫平(1959—), 女, 教授, 博士生导师, 从事中药抗肿瘤研究。Tel: (025) 85811923, E-mail: wp2002123@163.com

肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 是指与肿瘤生长过程密切相关的局部内环境, 主要由肿瘤细胞、非肿瘤细胞、细胞外基质及多种细胞因子构成<sup>[1-2]</sup>。TAMs 作为肿瘤微环境中最主要的免疫细胞, 在肿瘤的发生发展过程中起着重要作用<sup>[3-5]</sup>。近年来 TAMs 成为肿瘤治疗新靶点, 主要是通过改变 TAMs 分化方向、阻断 TAMs 招募及杀伤 TAMs 等<sup>[6-7]</sup>。扶正益气是中医治疗肿瘤的基本治法, 人参 (*Panax ginseng*) 作为其代表性药物, 在临床上使用广泛。已有研究表明人参可以通过调节巨噬细胞的免疫功能抑制肿瘤, 但其是否能通过免疫调节 TAMs 进行抗肿瘤尚未有报道。为了进一步探究人参的抗肿瘤机制, 本研究通过建立 THP-1 细胞诱导的 TAMs 体外模型, 研究人参水提液在不同剂量及用药时间的条件下对 TAMs 的调节; 并进一步考察了该调节对 A549 增殖的影响, 以期为人参在抗肿瘤临床应用中提供理论依据。

## 1 材料与仪器

1.1 实验药物 人参 (铜陵禾田中药饮片有限公司, 批号 130901); 人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 均购自江苏省康华医药科技实业中心, 批号分别为 201424、201525、201509, 纯度均 ≥98%; PMA (美国 Sigma 公司, 批号 P8139); IL-13、IL-4 (美国 Peprotech 公司, 批号分别为 051023、051214)。

1.2 细胞株 人急性单核细胞白血病细胞 THP-1 和人肺癌细胞株 A549 均购于中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。

1.3 实验试剂及耗材 Trizol (日本 TaKaRa 公司, 批号 A9501-1); 逆转录试剂盒 (日本 TaKaRa 公司, 批号 AK2801); RT-PCR 试剂盒 (日本 TaKaRa 公司, 批号 RR820A); IL-12、IL-10 ELISA 试剂盒 (南京建成生物科技有限公司, 批号分别为 H20150911、H20150910); CD206-PE 抗体 (美国 eBioscience 公司, 批号 12-2069); IgG1 K-PE 抗体 (美国 eBioscience 公司, 批号 12-4714); 0.4 μm Trans-well 共培养小室 (美国 Corning 公司, 批号 22614025)。

1.4 实验仪器 多功能酶标仪 (Spectramax M5, 美国 Molecular Devices 公司); 倒置相差显微镜 (DFC-259, 德国 Leica 公司); 实时定量荧光 PCR (Step one, 美国 ABI 公司); 流式细胞仪 (FACS Verse, 美国 BD 公司)

## 2 实验方法

2.1 人参水提液的制备 根据传统中药的服用方法, 选取人参水提液作为实验药物; 经 HPLC 检测得人参饮片中 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub> 含有量为 1.0%、1.4%、1.2%, 均符合 2015 年药典标准。取干燥的人参饮片, 加 10 倍量蒸馏水浸泡过夜后回流提取 5 h, 药渣重复提取 3 次, 将收集的提取液合并, 在 60~80 °C 条件下减压浓缩, 离心过滤除菌后配置成不同的质量浓度进行试验; 经 HPLC 检测, 1 g/mL 的受试人参水提液中 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub> 的量分别为 1.4、1.17、1.42 mg/mL。

2.2 TAMs 体外模型建立 参照以往文献报道<sup>[8-9]</sup>, 取对数生长期的 THP-1 细胞, 接种于 6 孔板中, 细胞密度为 1 × 10<sup>6</sup>/mL; 以 320 nmol/L 的 PMA 刺激细胞, 6 h 后加入 20 ng/mL 的 IL-4 及 IL-13; PMA 诱导 48 h 后观察细胞形态变化, 收集细胞与上清, 分别从基因和蛋白水平检测 TAMs 相关标志物的表达水平, 验证模型是否建造成功。

2.3 不同质量浓度人参水提液处理 TAMs TAMs 诱导成功后利用不同质量浓度的人参水提液进行处理。根据预实验的结果发现当人参水提液质量浓度达到 40 mg/mL 时, 对 TAMs 的抑制率已过半, 因此实验分组如下: 对照组为 TAMs, 实验组分别用 2.5、5、10、20、40 mg/mL 的人参水提液处理 TAMs, 每组设置 3 个复孔。处理 24 h 后检测各组 TAMs 中 M1 型与 M2 型相关标志物基因相对表达水平, 48 h 后检测各组 TAMs 上清中相关蛋白因子的表达水平。

2.4 不同用药时间处理 TAMs 根据预实验结果发现 20 mg/mL 的人参水提液处理 48 h 后对 TAMs 的抑制率已过半, 因此用药时间选取 6、12、24、48 h; 人参水提液处理后检测各组 TAMs 中 M1 型与 M2 型相关标志物基因相对表达水平及相关蛋白因子的表达水平。

2.5 RT-PCR 检测 mRNA 表达 收集各组细胞, 采用传统的 Trizol 法提取细胞的总 RNA; 按照 TaKaRa 公司提供的逆转录试剂盒说明书及 RT-PCR 试剂盒说明书, 将 RNA 逆转录成 cDNA, 在实时荧光定量 PCR 仪上进行目标基因的检测, 其中引物是 Primer Premier 5.0 软件设计并由南京金斯瑞生物有限公司合成, 引物序列见表 1。

2.6 流式细胞技术检测细胞表面标志物 收集对数生长期细胞, 制备成单细胞悬液; 台盼蓝染色进行活细胞计数, 活细胞数大于 90% 方可使用; 取

出  $1 \times 10^6$  个细胞置于试管中, 加入鼠抗人的 CD206-PE 抗体 (藻红蛋白标记的甘露糖受体抗体)  $5 \mu\text{L}$ , 同型对照组加入 IgG1 K-PE (藻红蛋白标记的免疫球蛋白 1Kappa 轻链) 抗体  $5 \mu\text{L}$ ; 孵育 30 ~ 60 min 后 PBS 洗涤, 弃上清, 用  $300 \mu\text{L}$  PBS 重悬后进行流式细胞仪检测。

表 1 引物序列

Tab. 1 Sequences of the primers

基因名称	引物序列	产物/bp
CD206	正向 5'-ATTCCGATGGGTGCCG-3'	320
	反向 5'-TGGCATTGCCTAGTAGCG-3'	
IL10	正向 5'-CAACCTGCCTAACATGCTTCG-3'	331
	反向 5'-GGCATTCTCACCTGCCTCCAC-3'	
ARG1	正向 5'-GGGACCTGCCCTTTGCT-3'	122
	反向 5'-TCCGTTCTTCTTGACTTCTGC-3'	
TGFB	正向 5'-CAGCAACAATTCTGGCGATACCT-3'	140
	反向 5'-CGCTAAGCGAAAGCCCTCAAT-3'	
IL12	正向 5'-GATGTACCAGTGGAGTTCAAGAC-3'	238
	反向 5'-TCTATCAATAGTCACTGCCCGAAT-3'	
iNOS	正向 5'-CAATGGCGTCCCGAGTCAGA-3'	316
	反向 5'-AAGGCGCAGAACCGAGGT-3'	
$\beta$ -Actin	正向 5'-CCCATGCCATCCTCCGCTG-3'	102
	反向 5'-TCTCGGCTGTGGTGAAG-3'	

2.7 ELISA 检测细胞因子表达 收集各组细胞上清, 按照南京建成生物有限公司提供的 ELISA 试剂盒说明书操作, 依次进行样品孵育, 一抗工作液孵育, 二抗工作液孵育及发光液孵育, 孵育完成后立即终止实验, 利用多功能酶标仪检测各孔的吸光度 (A) 值。依据标准曲线及吸光度 (A) 值可计算出各组所测细胞因子的质量浓度。

2.8 MTT 法检测细胞增殖 收集对数生长期细胞, 调整细胞密度至  $5 \times 10^4/\text{mL}$  后铺板; 孵育培养 12 h 进行加药处理, 药物作用结束后, 加  $5 \text{ mg/mL}$  的 MTT 溶液  $20 \mu\text{L}$  继续培养 4 h; 吸去培养液, 每孔加入  $150 \mu\text{L}$  的 DMSO, 将板子置于摇床上低速振荡 10 min; 多功能酶标仪检测各孔的吸光度 (A) 值。按照公式计算出各组细胞的抑制率 (IR),  $\text{IR} = (1 - A_{\text{药物组均值}}/A_{\text{对照组均值}}) \times 100\%$ 。

2.9 上清共培养体系的建立 依据不同质量浓度对 TAMs 调节作用的结果, 选择 5、10、20 mg/mL 的人参水提液作为上清共培养体系的用药质量浓度。TAMs 模型建造成功, 分别加入以上 3 个质量浓度的人参水提液进行处理, 24 h 后收集上清备用; 采用上清处理 A549 细胞, 在对照组中加入 TAMs 的上清, 在实验组中分别加入不同质量浓度药物处理的 TAMs 上清, 每组设置 5 个复孔。上清

处理 48 h 后进行 A549 细胞增殖实验检测。

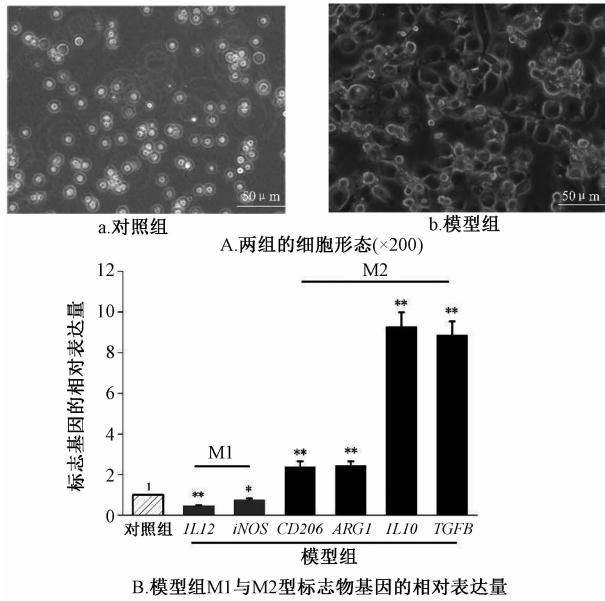
2.10 Trans-well 上下室共培养体系的建立  $0.4 \mu\text{m}$  的 Trans-well 共培养小室, 仅允许细胞因子通过, 因此可用作细胞共培养体系的建立。在上室中接种 THP-1 细胞, 经 PMA 等药物诱导成 TAMs 后吸去培养液放入共培养体系中, 同时在下室中接种 A549 细胞; 在对照组中加入无血清的 1640 培养液, 实验组中分别加入含有 5、10、20 mg/mL 人参水提液的 1640 培养液。共培养 48 h 后进行 A549 细胞增殖实验检测。

2.11 数据分析 利用 SPSS 15.0 统计软件对实验数据进行统计学处理, 计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间比较采用  $t$  检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间比较采用 LSD 检验,  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

### 3 实验结果

3.1 THP-1 细胞诱导 TAMs 体外模型的验证 体外诱导 THP-1 48 h 后, 细胞形态及相关基因表达变化见图 1。由图 1A 可以看出, 细胞体积变大, 由悬浮变为贴壁, 且有触角形成; 图 1B 说明相对于对照组, 模型组的 M1 型标志物基因表达水平降低且具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); M2 型标志物基因表达水平显著性提高 ( $P < 0.01$ ), 这与 TAMs 是偏向 M2 型的表型相符合。流式结果表明诱导后的细胞 M2 型特异标志物表达显著提高 ( $P < 0.01$ ), 见图 2。ELISA 检测相关因子表达结果如图 3 所示, 与对照组比较, 模型组细胞具有高表达 IL-10 ( $P < 0.01$ )、低表达 IL-12 ( $P < 0.01$ ) 的特点, 说明诱导后的细胞表型偏向 M2 型。综上所述说明 TAMs 体外模型建造成功。

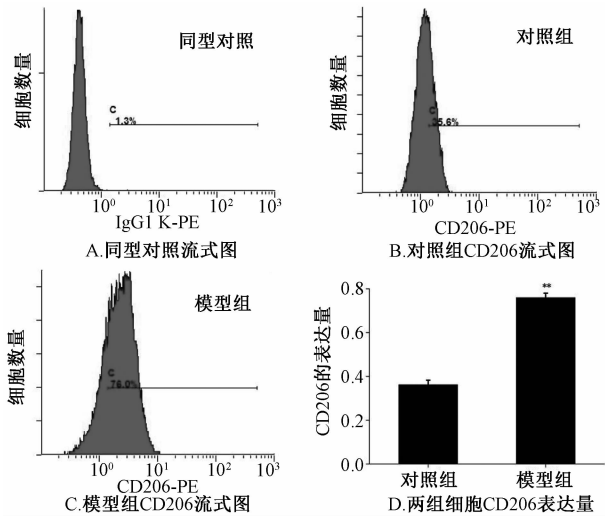
3.2 不同质量浓度人参水提液对 TAMs 的影响 采用不同质量浓度人参水提液处理 TAMs 24 h 后, RT-PCR 检测各组细胞 M1 型及 M2 型标志基因, 结果如图 4 所示。一定质量浓度人参水提液能上调 TAMs 中 M1 型标志基因 IL12 及 iNOS 的表达水平 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 而对于 TAMs 中 M2 型标志基因则是双向调节, 不仅下调 CD206 表达, 同时也上调 IL10 表达 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 以上调节均具有一定的剂量依赖性, 综合各基因的表达变化发现 5、10、20 mg/mL 人参水提液调节作用较好。由图 5 可以看出, 5 mg/mL 与 10 mg/mL 的人参水提液处理 TAMs 能下调 CD206 表达水平且具有一定的剂量依赖性。图 6 ELISA 结果表明一定质量浓度的人参水提液能明显上调细胞因子 IL-12 的表



注：与对照组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$

**图1 模型组与对照组细胞形态及相关基因表达的结果 ( $n = 3$ )**

**Fig. 1 Cell morphology and the relative level of mRNA expression of the control group and the model group ( $n = 3$ )**



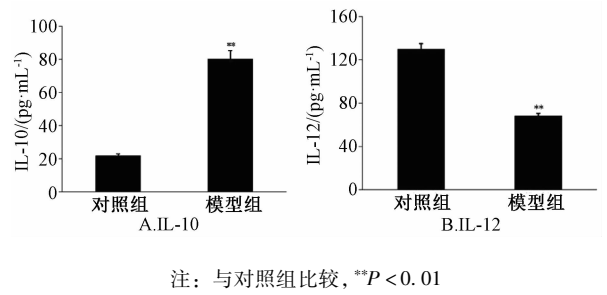
注：与对照组比较，\*\*  $P < 0.01$

**图2 CD206 蛋白表达的流式结果 ( $n = 3$ )**

**Fig. 2 Flow cytometry results of protein CD206 ( $n = 3$ )**

达 ( $P < 0.01$ )，也能显著提高 IL-10 的表达 ( $P < 0.01$ )。

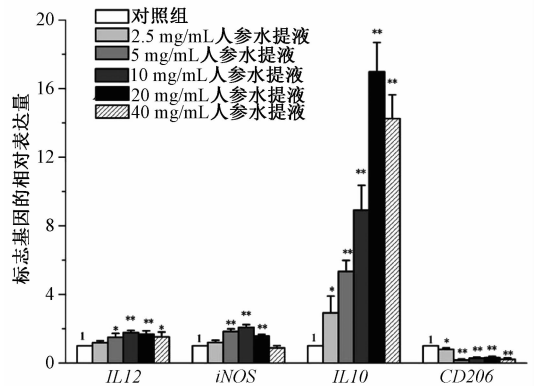
**3.3 不同用药时间对 TAMs 的影响** 采用 20 mg/mL 人参水提液处理 TAMs，不同时间点收集细胞，RT-PCR 检测各组细胞的 M1 型及 M2 型标志基因，如图 7 所示，结果表明，标志基因表达



注：与对照组比较，\*\*  $P < 0.01$

**图3 细胞因子 IL-10 及 IL-12 的 ELISA 结果 ( $n = 3$ )**

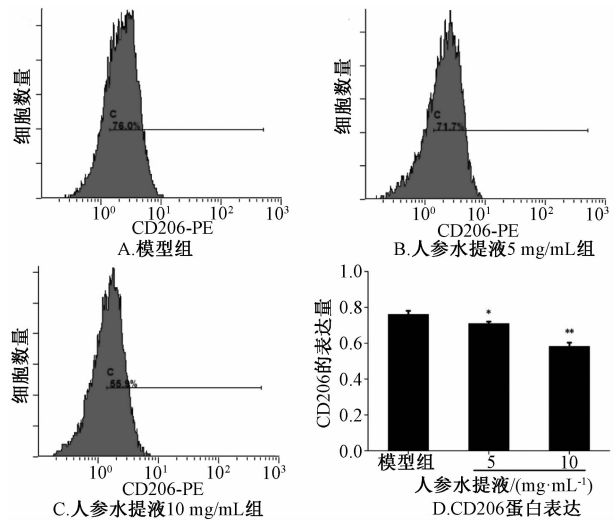
**Fig. 3 ELISA results of cytokines IL-10 and IL-12 ( $n = 3$ )**



注：与对照组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$

**图4 不同质量浓度的人参水提液对 TAMs 相关基因表达的调节 ( $n = 3$ )**

**Fig. 4 Regulation of the related gene expression levels in TAMs by different concentrations of WEG ( $n = 3$ )**

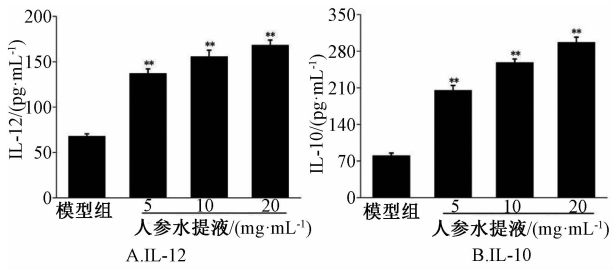


注：与对照组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$

**图5 CD206 蛋白表达的流式结果 ( $n = 3$ )**

**Fig. 5 Flow cytometry results of protein CD206 ( $n = 3$ )**

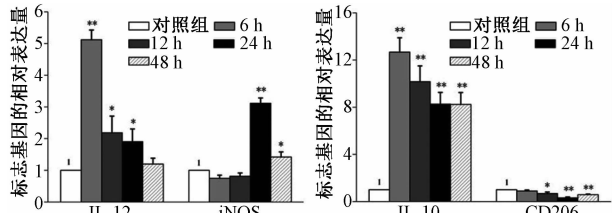
水平的变化具有一定的时间依赖性，IL12 及 IL10 的表达水平在药物处理 6 h 后变化明显 ( $P <$



注：与对照组比较，\*\* $P < 0.01$

图6 细胞因子IL-10及IL-12的ELISA结果 ( $n = 3$ )

Fig. 6 ELISA results of cytokines IL-10 and IL-12 ( $n = 3$ )

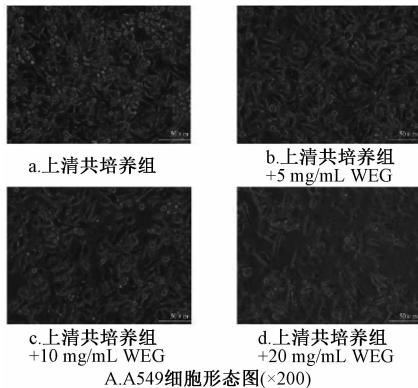


注：与对照组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\* $P < 0.01$

图7 不同用药时间对TAMs相关基因表达的影响 ( $n = 3$ )

Fig. 7 Effects of different medication time on the expression level of IL-10 and IL-12 in TAMs ( $n = 3$ )

0.01)，而*iNOS*及*CD206*的表达水平在药物处理24 h后变化明显 ( $P < 0.01$ )；ELISA结果发现



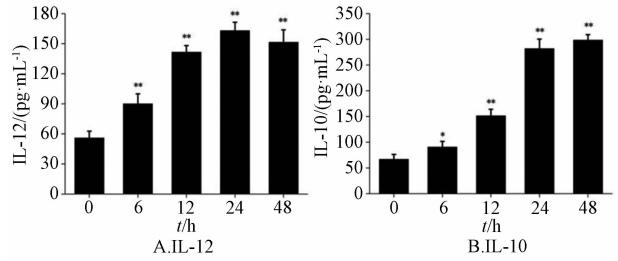
注：与对照组比较，\*\* $P < 0.01$

图9 不同质量浓度人参水提液对上清共培养体系中A549细胞形态及增殖的影响 ( $n = 5$ )

Fig. 9 Effects of different concentrations WEG on the cell morphology and the cell proliferation of A549 in the supernatant co-culture system ( $n = 5$ )

3.5 人参水提液对Trans-well上下室共培养体系中A549增殖的影响 5、10、20 mg/mL人参水提液对Trans-well上下室共培养体系及单独培养体系中A549细胞的影响如图10所示。由图可以看出，在上下室共培养体系下，TAMs对A549细胞的生长具有明显的促进作用 ( $P < 0.01$ )，经人参水提

*IL12*及*IL10*的表达量在药物处理6 h后有所增加 ( $P < 0.05$ )，在24 h后*IL12*及*IL10*表达量变化显著 ( $P < 0.01$ )，见图8。

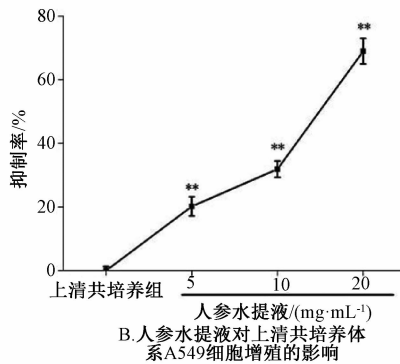


注：与对照组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\* $P < 0.01$

图8 不同用药时间对TAMs中IL-10及IL-12表达量的影响 ( $n = 3$ )

Fig. 8 Effects of different medication time on the expression level of IL-10 and IL-12 in TAMs ( $n = 3$ )

3.4 人参水提液对上清共培养体系中A549增殖的影响 经5、10、20 mg/mL人参水提液处理的TAMs，其上清对A549细胞形态及增殖的影响结果见图9。可以看出，与上清共培养组相比，人参水提液处理后的TAMs上清培养液能显著抑制A549的增殖 ( $P < 0.01$ )，且具有一定的剂量依赖性，说明人参水提液对TAMs的调节可以进一步抑制A549的增殖。



液处理后，体系中A549细胞增殖显著性地被抑制 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )，并且表现出一定的剂量依赖性；而同等质量浓度的人参水提液对单独培养的A549细胞增殖具有一定的促进作用，综合以上结果说明人参水提液能够通过调节TAMs进而抑制A549细胞增殖。

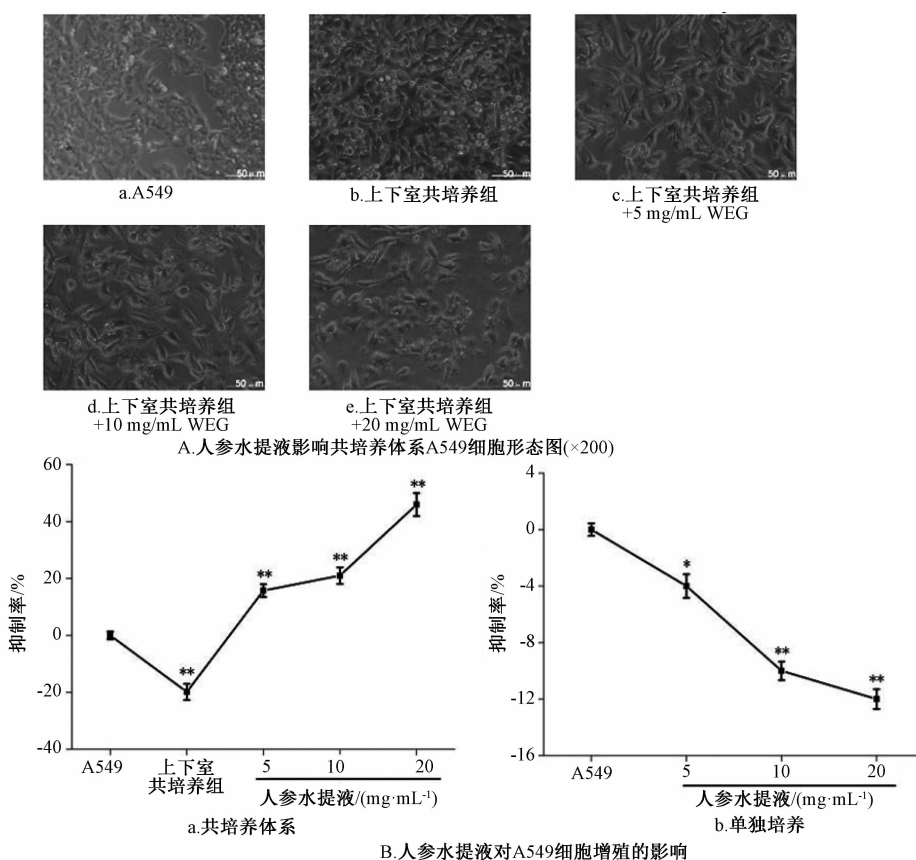


图 10 人参水提液对 Trans-well 上下室共培养体系与单独培养体系中 A549 细胞的不同影响 ( $n = 5$ )

Fig. 10 Different effects of WEG on A549 in the Trans-well co-culture system and the single culture system ( $n = 5$ )

#### 4 讨论

目前,大量研究表明 TME 在维持和促进肿瘤发生、发展、转移及复发中发挥着重要作用<sup>[10-11]</sup>。TAMs 是 TME 中最主要的免疫细胞,在微环境信号因子的刺激影响下其表现出独特的表型与功能。近期研究表明, TAMs 的表型会随着肿瘤的发生发展过程而变化,慢性炎症阶段其表型偏向 M1 型,而在肿瘤浸润、血管新生阶段,其表型则偏向 M2 型<sup>[12]</sup>。不同表型表现出不同功能,多数研究表明浸润的 TAMs 可以通过分泌相关细胞因子、生长因子及趋化因子等促进肿瘤的发展及转移。因此干预 TAMs 成为近年来肿瘤治疗研究的新方向,改变 TAMs 的功能、减少 TAMs 数量对肿瘤的生长均有抑制效果<sup>[13-14]</sup>。

中医药是治疗肿瘤的特色医学,尤其在肿瘤免疫治疗方面起着举足轻重的作用,而目前中医药与肿瘤微环境之间的免疫调节关系研究还尚未成熟,对 TAMs 的表型逆转及功能调节也尚未有明确报道。人参在肿瘤治疗中具有重要作用,其抗肿瘤机

制广泛,主要包括调节免疫功能抑制肿瘤细胞生长,抑制肿瘤细胞的浸润与转移,诱导细胞凋亡等。其中人参的免疫调节抗肿瘤机制可以通过调节巨噬细胞及树突状细胞的免疫功能等<sup>[15]</sup>。而 TAMs 作为一类特殊的免疫细胞,人参是否可以调节其表型与功能仍有待研究。

本实验对人参是否调节 TAMs 进行了探究,结果表明,一定质量浓度的人参水提液可以明显上调体外诱导的 TAMs 中 M1 型标志物,如 IL-12、iNOS; 而人参水提液对 M2 型标志物的调节却具有双向性,既以下调 CD206,也可以上调 IL-10,这可能与人参水提液的成分复杂相关联,该机制还有待进一步研究。另外,通过上清共培养体系和 Trans-well 共培养体系研究人参水提液对 TAMs 的调节是否影响 A549 的增殖,结果发现,上清共培养体系中,经人参水提液处理过的 TAMs 上清能明显抑制 A549 细胞的增殖;同时, Trans-well 共培养条件下,采用人参水提液处理的体系中 A549 的增殖明显被抑制,结合同等质量浓度人参水提液促进

正常培养条件下 A549 增殖的结果,说明人参水提液可以通过调节 TAMs 进而抑制 A549 细胞的增殖。另外,本研究中发现 5、10、20 mg/mL 人参水提液对正常培养条件下 A549 细胞增殖具有一定的促进作用,并未有抑制作用,这可能与本研究中选用的人参水提液质量浓度有关。

本研究提示,一定质量浓度的人参水提液可以重塑 TAMs,表现在既可上调 M1 型标志物,又可双向调节 M2 型标志物。同时,该重塑可以进一步显著抑制肺癌 A549 细胞的增殖,这可能主要与人参水提液可以明显提高 TAMs 中 M1 型巨噬细胞的比例有关,其内在机制我们将进行进一步研究;人参水提液是否也可以通过重塑 TAMs 影响 A549 其他的肿瘤学行为仍待研究。综上我们初步推断人参调节并重塑 TAMs 表型可能是其抗肿瘤机制研究的新方向。

#### 参考文献:

[ 1 ] Mantovani A, Romero P, Palucka A K, *et al.* Tumor immunity: Effector response to tumor and role of the microenvironment [J]. *Lancet*, 2008, 371(9614): 771-783.

[ 2 ] Fang H, Declerck Y A. Targeting the tumor microenvironment: From understanding pathways to effective clinical trials [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(16): 4965-4977.

[ 3 ] Sica A, Larghi P, Mancino A, *et al.* Macrophage polarization in tumor progression [J]. *Semin Cancer Biol*, 2008, 18(5): 349-355.

[ 4 ] Bingle L, Brown N J and Lewis C E. The role of tumor-associated macrophages in tumor progression: implications for new anti-cancer therapies [J]. *J Pathol*, 2002, 196(3): 254-265.

[ 5 ] Coffelt S B, Hughes R, Lewis C E. Tumor-associated macrophages: effectors of angiogenesis and tumor progression [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1796(1): 11-18.

[ 6 ] Huang Z, Zhang Z P, Jiang Y C, *et al.* Targeted delivery of oligonucleotides into tumor-associated macrophages for cancer immunotherapy [J]. *J Control Release*, 2012, 158(2): 286-292.

[ 7 ] Aharinejad S, Abraham D, Paulus P, *et al.* Colony-stimulating factor-1 antisense treatment suppresses growth of human tumor xenograft in mice [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(18): 5317-5324.

[ 8 ] Auwex J. The human leukemia cell line, THP-1: A multifaceted model for the study of monocyte-macrophage differentiation [J]. *Experientia*, 1991, 47(1): 22-31.

[ 9 ] Caris I, Tuceanu C, Lerescu L. Influence of tumor cell culture supernatants on macrophage functional polarization; *in vitro* models of macrophage-tumor environment interaction [J]. *Tumori*, 2011, 97(5): 647-654.

[ 10 ] Graves E E, Maity A, Le Q T. The tumor microenvironment in non-small-cell lung cancer [J]. *Semin Radiat Oncol*, 2010, 20(3): 156-163.

[ 11 ] Reisfeld R A. The tumor microenvironment: a target for combination therapy of breast cancer [J]. *Crit Rev Oncog*, 2013, 18(1-2): 115-133.

[ 12 ] Biswas S K, Sica A, Lewis C E. Plasticity of macrophage function during tumor progression: regulation by distinct molecular mechanisms [J]. *J Immunol*, 2008, 180(4): 2011-2017.

[ 13 ] Lin E Y, Nguyen A V, Russell R G, *et al.* Colony-stimulating factor 1 promotes progression of mammary tumors to malignancy [J]. *J Exp Med*, 2001, 193(6): 727-740.

[ 14 ] Aharinejad S, Paulus P, Sioud M, *et al.* Colony-stimulating factor-1 blockade by antisense oligonucleotides and small interfering RNAs suppresses growth of human mammary tumor xenografts in mice [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(15): 5378-5384.

[ 15 ] 任莉莉,魏影非,杜惠兰. 人参抗肿瘤作用研究进展 [J]. *中成药*, 2005, 27(8): 947-950.