

[21]

Zhang J, Gu C, Lawrence D A, *et al.* A plasminogen activator inhibitor type 1 mutant retards diabetic nephropathy in db/db mice by protecting podocytes[J]. *Exp Physiol*, 2014, 99(5): 802-815.

[22]

杜义斌, 吴 晓, 吴 峰, 等. 云南灯盏花胶囊对慢性肾功能衰竭大鼠 TGF- β 1 与 PAI-1 mRNA 表达及肾功能的影响[J]. 上海中医药大学学报, 2014, 28(4): 70-73.

[23]

Song X, Thalacker F W, Nilsen-Hamilton M. Synergistic and multidimensional regulation of plasminogen activator inhibitor type 1 expression by transforming growth factor type β and epidermal growth factor [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(15): 12520-12528.

[24]

杨彦裕, 陈 琳, 魏明刚, 等. 加味当归补血汤通过调控 TGF- β 1/Smads/ILK 的表达对阿霉素肾病大鼠足细胞的保护作用[J]. 中成药, 2015, 37(9): 1877-1883.

[25]

高嘉妍, 张勉之, 张大宁. 补肾活血法治疗慢性肾小球肾炎疗效观察[J]. 天津中医药, 2014, 31(3): 145-147.

[26]

张勉之, 张大宁. 张大宁治疗糖尿病肾病的临床经验[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(8): 3141-3143.

[27]

Rüster C, Wolf G. Renin-angiotensin-aldosterone system and progression of renal disease[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2006, 17(11): 2985-2991.

[28]

Rüster C, Wolf G. Angiotensin II as a morphogenic cytokine stimulating renal fibrogenesis[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22(7): 1189-1199.

[29]

Turner J M, Bauer C, Abramowitz M K, *et al.* Treatment of chronic kidney disease [J]. *Kidney Int*, 2012, 81(4): 351-362.

[30]

王晓杨, 毛宇飞. 川芎嗪及其在肾脏病中的应用[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2005, 6(3): 182-183.

[31]

李 勤, 李秉芝, 刘 宏. 川芎嗪注射液的药理作用和临床应用[J]. 医学综述, 2009, 15(9): 1402-1405.

[32]

陆 敏, 周 娟, 王 飞, 等. 川芎嗪对肾间质纤维化模型大鼠 Smad7 和 SnoN 蛋白表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(1): 84-88.

小檗碱对 A549 细胞增殖、迁移和侵袭的影响

邱胜卫¹, 王 彬², 蔡乃亮¹

(1. 海南省三亚市人民医院中医科, 海南 三亚 572000; 2. 海南省三亚市人民医院呼吸内科, 海南 三亚 572000)

摘要: **目的** 研究小檗碱对肺癌细胞 A549 增殖、迁移和侵袭的影响。**方法** 培养 THP-1 细胞并加入小檗碱后, MTT 法检测细胞增殖。100 ng/mL PMA 和 20 ng/mL IL-4 将 THP-1 细胞诱导成 M2 型肿瘤相关巨噬细胞, 小檗碱预给药后, 随机分为对照组、模型组、小檗碱组, 细胞培养上清与 A549 细胞共培养。RT-PCR、Western blot、ELISA 检测 CD206、IL-10、TGF- β 表达, Transwell 检测细胞迁移和侵袭。**结果** 小檗碱最佳刺激浓度为 20 μ mol/L。与模型组比较, 小檗碱组可显著抑制 CD206、IL-10、TGF- β 表达 ($P<0.05$)。小檗碱可抑制 THP-1 细胞转化为 M2 型肿瘤相关巨噬细胞。**结论** 小檗碱可调节 A549 细胞的增殖、侵袭和迁移, 其机制可能与抑制肿瘤相关巨噬细胞向 M2 型巨噬细胞的转化有关。

关键词: 小檗碱; 肿瘤相关巨噬细胞; 肺癌细胞 A549; 增殖; 侵袭; 迁移

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2019)07-1521-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.07.009

Effects of berberine on the proliferation, migration and invasion of A549 cells

QIU Sheng-wei¹, WANG Bin², CAI Nai-liang¹

(1. Department of Chinese Medicine, Hainan Provincial Sanya People's Hospital, Sanya 572000, China; 2. Department of Respiratory Medicine, Hainan Provincial Sanya People's Hospital, Sanya 572000, China)

ABSTRACT: AIM To study the effects of berberine on the proliferation, migration and invasion of lung cancer A549 cells. **METHODS** Berberine was added with cultured THP-1 cells, after which cell proliferation was exam-

收稿日期: 2018-09-22

基金项目: 三亚市医疗卫生科技创新项目 (2017YW05)

作者简介: 邱胜卫 (1981—), 男, 主治医师, 研究方向为呼吸疾病。Tel: (0898) 88557733-4301, E-mail: qiushengwei33@126.com

ined by MTT assay. THP-1 cells induced into M2 tumor-associated macrophages with 100 ng/mL PMA and 20 ng/mL IL-4 were then pre-administered with berberine and divided into control group, model group and berberine group, cell culture supernatant was co-cultured with A549 cells. The expressions of CD206, IL-10 and TGF- β were detected by RT-PCR, Western blot and ELISA, cell migration and invasion were detected by Transwell.

RESULTS The optimal stimulation concentration of berberine was 20 μ mol/L. Compared with the model group, the berberine group demonstrated significantly up-regulated expressions of M2 markers CD206, IL-10 and TGF- β ($P < 0.05$). Berberine inhibited the transformation of THP-1 cells into M2 type tumor-associated macrophages.

CONCLUSION Berberine can regulate the proliferation, invasion and migration of A549 cells, whose mechanisms may contribute to the inhibition of transformation of tumor-associated macrophages into M2 macrophages.

KEY WORDS: berberine; tumor-associated macrophages; lung cancer A549 cells; proliferation; invasion; migration

肿瘤微环境是指肿瘤发生、发展、转移等过程中肿瘤细胞所处的内外环境，主要包括肿瘤细胞、肿瘤局部浸润的免疫细胞、活性介质、间质细胞共同构成的局部内环境^[1]，其中作为局部浸润的免疫细胞中最主要的免疫细胞——肿瘤相关巨噬细胞参与肿瘤转移和侵袭、免疫调节、血管和淋巴管形成，在肿瘤发生发展过程中起着至关重要的作用^[2-3]。在胃癌组织中发现大量肿瘤相关巨噬细胞浸润，而且胃癌大小、淋巴结转移、TNM 分期与其有关^[4]；临床数据显示，其大量浸润是造成乳腺癌预后不良的主要原因^[5]，可通过分泌多种细胞因子及趋化因子来降低放疗、化疗的敏感性，促进乳腺癌侵袭、浸润和转移，还可促进相关血管生成^[6]，目前已将其作为多种肿瘤治疗靶点及潜在预后指标。

小檗碱也称为黄连素，是从黄连中分离得到的主要有效成分，用于治疗肠道细菌感染引起的腹泻^[7]，它除了具有抗炎、抗微生物等作用外，还可用于抗肿瘤，其机制大多为抑制肿瘤细胞增殖和转移、造成肿瘤细胞代谢功能紊乱、诱导肿瘤细胞凋亡等^[8-9]，在多种肿瘤中影响相关巨噬细胞极化^[10-12]，但其是否通过免疫调节肿瘤相关巨噬细胞来最终发挥抑制肿瘤发生发展目前尚无报道。研究证实，肿瘤相关巨噬细胞和肿瘤微环境与肺癌发生、发展、转移等多种生物学特性密切相关^[13]，故本实验通过 THP-1 细胞诱导 M2 型肿瘤相关巨噬细胞，研究小檗碱对与其共培养肺癌 A549 细胞增殖、迁移和侵袭的影响，以期为该成分在肺癌临床治疗中提供实验依据。

1 材料

小檗碱（批号 110715-200911）购于中国食品药品检定研究院，含量 99%。人肺癌 A549 细胞

株、人急性单核细胞白血病细胞 THP-1 均购于中国科学院上海生命科学院细胞库。二甲基亚砜（批号 S16065）、Matrigel 胶购于美国 Sigma 公司；RPMI 1640 培养基（批号 20150714）、胰蛋白酶（批号 25200-78）、胎牛血清（批号 20150618）购于美国 Gibco 公司；青霉素、链霉素购于赛默飞世尔生物化学制品有限公司；Trizol 试剂（批号 16827454）购于美国 Invitrogen 公司；MTT 检测试剂盒（批号 140705）购于碧云天生物技术有限公司；ELISA 检测试剂盒（批号 D710323-0048）、实验所用引物均购于或合成于上海生工生物工程有限公司；BCA 蛋白定量试剂盒（批号 D9109B）、ECL 发光检测试剂盒（批号 IH0028）购于大连宝生物工程有限公司；逆转录试剂盒（批号 RR048A）、RT-PCR 试剂盒（批号 RR421A）购于日本 TaKaRa 公司；IL-10 抗体、TGF- β 抗体及辣根过氧化物酶标记的二抗均购于美国 Novus Biologicals 公司；Transwell 小室（孔径 8.0 μ m，直径 6.5 mm）购于美国 Corning 公司。

2 方法

2.1 细胞增殖检测 采用 MTT 法。将处于对数生长期的 THP-1 细胞以 5×10^3 /孔密度接种于 96 孔细胞培养板中，置于 37 $^{\circ}$ C 培养箱中培养 12 h，分别用 0、5、10、20、50 μ mol/L 小檗碱处理，每组设置 3 个平行复孔，分别处理 24、48、72 h 后，每孔细胞中添加 5 mg/mL MTT 溶液 20 μ L，置于 37 $^{\circ}$ C 培养箱中继续孵育 4 h，弃去上清液，再向每孔细胞中添加 100 μ L 二甲基亚砜，避光充分振荡混匀，待沉淀完全溶解后，酶联免疫检测仪于 490 nm 波长处检测光密度值（OD 值），计算细胞增殖率，公式为增殖率 = （实验组 OD 值/对照组 OD 值） $\times 100\%$ 。

2.2 细胞诱导和分组 参照文献 [14], 将处于对数生长期的 THP-1 细胞以 3×10^5 /孔密度接种于 6 孔板中, 将细胞分为 3 组: 对照组细胞直接加入终浓度 100 nmol/L 的 PMA 处理 72 h, THP-1 细胞转化为巨噬细胞; 模型组细胞在加入终浓度 100 nmol/L PMA 处理 6 h 后, 加入终浓度 20 ng/mL IL-4 继续诱导 66 h, 此时 THP1 细胞转化为 2 型巨噬细胞; 小檗碱组先加入终浓度 20 μ mol/L 小檗碱预处理 1 h 后, 再加入终浓度 100 nmol/L PMA 处理 6 h, 最后加入终浓度 20 ng/mL IL-4 诱导 66 h。各组细胞经 PBS 洗涤后, 不同激活状态的巨噬细胞更换 1 mL 无血清 RPMI 1640 培养基培养 24 h 后, 收集上清液和细胞。

2.3 CD206、IL-10、TGF- β 表达检测 采用 RT-PCR 法。各组细胞以 Trizol 法提取总 RNA, 紫外分光光度计检测浓度和纯度后, 选取两者都达到要求的 RNA, 采用逆转录试剂盒合成 cDNA, 将其质量浓度调整为 50 ng/ μ L, RT-PCR 试剂盒进行检测, 实时荧光定量 PCR 仪检测目标基因。反应条件为 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 45 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 40 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 终延伸 10 min。以 β -actin 为内标, 以相对定量 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 检测细胞中 CD206、IL-10、TGF- β 表达。

2.4 IL-10、TGF- β 表达检测 采用 Western blot 法。各组细胞中加入蛋白裂解液, 置冰上裂解 30 min 后提取蛋白, BCA 试剂盒测定蛋白浓度, 取 120 μ g, 10% 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白, 半干法转移凝胶上的蛋白至 PVDF 膜上, 于 5% 小牛血清封闭液中封闭 4 h, 分别加入 IL-10 一抗 (1 : 1 000 倍稀释)、TGF- β (1 : 1 000 倍稀释) 进行杂交, 摇床上 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, TBS 洗膜后, 加入二抗 (1 : 1 500 倍稀释) 进行杂交, 室温孵育 2 h。TBS 洗涤后, ECL 化学发光试剂盒进行发光, 暗室中曝光拍照, Image J 图像分析系统分析各条带灰度值, 以 β -actin 为内标蛋白, 以相对灰度值表示 IL-10、TGF- β 蛋白相对表达。

2.5 IL-10 水平检测 采用 ELISA 法。将各组细胞培养上清按照相应 ELISA 检测试剂盒说明书进行操作, 分别为一抗工作液进行孵育, 洗去未结合成分; 二抗工作液进行孵育, 洗去未结合成分; 发光工作液进行孵育, 待孵育完成后需立即终止反应, 酶标仪上检测各孔 OD 值, 参照标准曲线检测 IL-10 水平。

2.6 共培养对 A549 细胞增殖的影响 采用 MTT

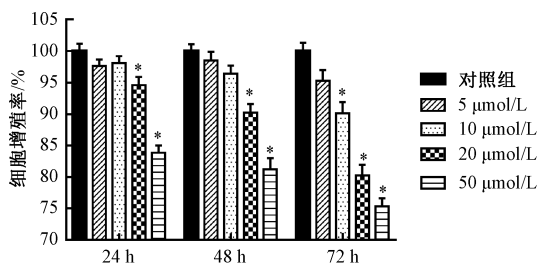
法。将单核细胞 THP1 诱导为肿瘤相关巨噬细胞后, 收集各组不同激活状态的巨噬细胞上清液, 将其与 A549 细胞共培养 24、48、72 h 后, 检测对 A549 细胞增殖的影响, 方法同“2.1”项。

2.7 细胞侵袭和迁移能力检测 采用 Transwell 实验。Matrigel 胶以无血清培养基稀释后, 加到 Transwell 小室的上室中, 置于 37 $^{\circ}$ C 培养箱中静置 30 min, 制备 Matrigel 基质胶涂层。将各组细胞用 0.25% 胰蛋白酶消化, PBS 洗涤后用无血清培养基重悬细胞制成单细胞悬液, 将细胞密度调整为 2×10^5 /mL, Transwell 上室加入 200 μ L 细胞悬液, 下室加入各组不同激活状态的巨噬细胞上清液 500 μ L, 37 $^{\circ}$ C 培养箱中培养 24 h, 取出 Transwell 小室, 拭去上室细胞及碎片, 结晶紫染色, PBS 清洗在倒置显微镜下观察小室滤膜下室附着的细胞, 随机选取 5 个视野, 计数穿过膜的细胞数, 统计细胞侵袭能力。同法检测各组细胞迁移能力, Transwell 上室滤膜不经 Matrigel 基质胶涂覆, 其余步骤同 Transwell 侵袭实验。

2.8 统计学分析 通过 SPSS 21.0 软件进行处理, 数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 组内比较采用单因素方差分析, 组间比较采用 SNK-q 检验, 每组数据代表 3 个生物学重复。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 小檗碱对 THP-1 细胞增殖的影响 图 1 显示, 处理 48 h 后 0、5、10 μ mol/L 小檗碱对 THP-1 细胞增殖无显著影响 ($P > 0.05$); 浓度从 20 μ mol/L 开始增加时, 细胞增殖率逐渐降低, 并随着作用时间延长呈反比, 与对照组比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 浓度为 50 μ mol/L 时, 处理 THP-1 细胞 24、48、72 h 后细胞增殖率均显著下降 ($P < 0.05$), 表明有一定毒副作用, 故选择 20 μ mol/L 进行后续实验。

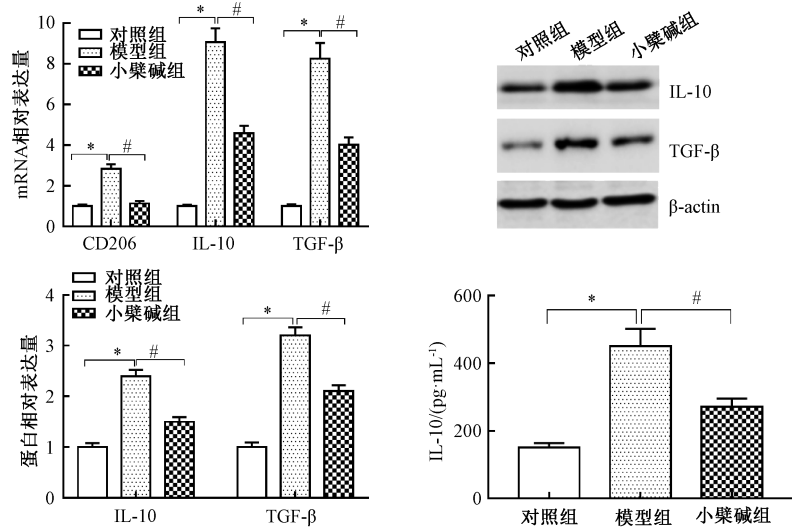


注: 与对照组比较, * $P < 0.05$

图 1 小檗碱对 THP-1 细胞增殖的影响

Fig. 1 Effect of berberine on THP-1 cell proliferation

3.2 小檗碱对 THP-1 细胞转化为 M2 型肿瘤相关巨噬细胞的影响 图 2 显示, 与对照组比较, 模型组 CD206、IL-10、TGF-β 表达显著升高 ($P < 0.05$), 表明肿瘤相关巨噬细胞诱导成功, 而且诱导后的细胞表型为 M2 型; 与模型组比较, 小檗碱组三者表达显著降低 ($P < 0.05$)。

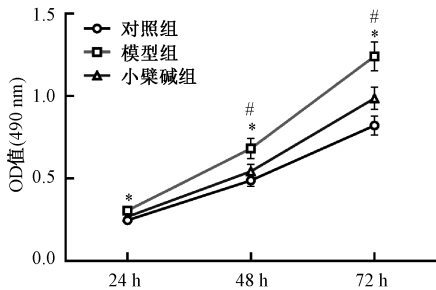


注: 与对照组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, # $P < 0.05$

图 2 小檗碱对 THP-1 细胞转化为 M2 型肿瘤相关巨噬细胞的影响

Fig. 2 Effect of berberine on the conversion of THP-1 cells into M2 tumor-associated macrophages

3.3 小檗碱对 A549 细胞增殖的影响 图 3 显示, 模型组上清培养液共培养的 A549 细胞在 24、48、72 h 的 OD 值均显著高于对照组 ($P < 0.05$), 而小檗碱组均显著低于模型组 ($P < 0.05$)。



注: 与对照组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, # $P < 0.05$

图 3 小檗碱对 A549 细胞增殖的影响

Fig. 3 Effect of berberine on A549 cell proliferation

3.4 小檗碱对 A549 细胞迁移的影响 图 4 显示, 模型组上清培养液共培养的 A549 细胞迁移能力显著高于对照组 ($P < 0.05$), 而小檗碱组显著低于模型组 ($P < 0.05$)。

3.5 小檗碱对 A549 细胞侵袭的影响 图 5 显示, 模型组上清培养液共培养的 A549 细胞侵袭能力显著高于对照组 ($P < 0.05$), 而小檗碱组显著低于模型组 ($P < 0.05$)。

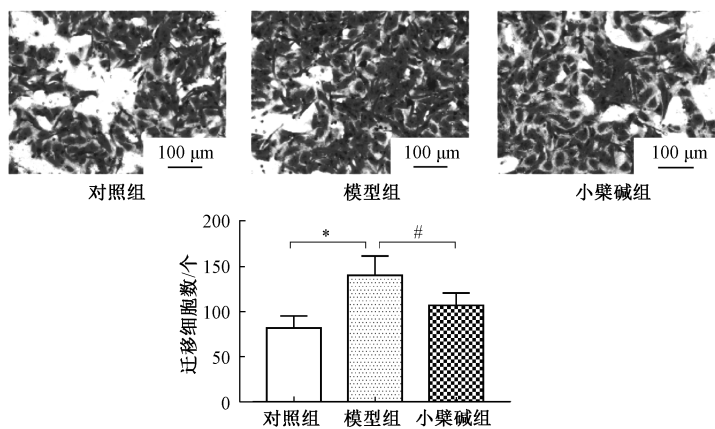
4 讨论

肺癌是一种常见的肺部恶性肿瘤, 其发病率和

死亡率正逐年上升, 给人类健康和生命造成严重影响, 其发病原因目前尚不十分明确, 但其增殖、侵袭和转移恶性生物学特性是导致患者死亡的主要原因, 也是治疗难点^[15]。研究表明, 肿瘤微环境与肿瘤细胞能在特定器官发生和转移紧密相关^[16], 它是由大量不同类型细胞构成的局部病理环境, 免疫细胞是主要组成, 参与抗肿瘤免疫反应的激活, 发挥清除肿瘤细胞作用, 还可被肿瘤细胞募集, 促进免疫细胞的长, 在肿瘤行为学特性中发挥举足轻重的作用^[17]。

肿瘤相关巨噬细胞是免疫细胞的成员之一, 组织类型、肿瘤类型、肿瘤分期等多项因素影响其异质性, 它具有的表型及功能与浸润到肿瘤组织的部位相关, 在肿瘤发展不同阶段其表型也不同, 慢性炎症阶段大多呈 M1 型, 浸润及血管生成阶段则大多呈 M2 型^[18]。其中, M1 型可分泌一些促炎细胞因子、趋化因子; M2 型可分泌多种抗炎分子, 如 CD206、IL-10、TGF-β 等^[19-20]。本实验发现, 由单核细胞 THP1 诱导成的肿瘤巨噬细胞 CD206、IL-10、TGF-β 表达均上调, 表明它们具有 M2 分子表型, 故将其用于后续实验。

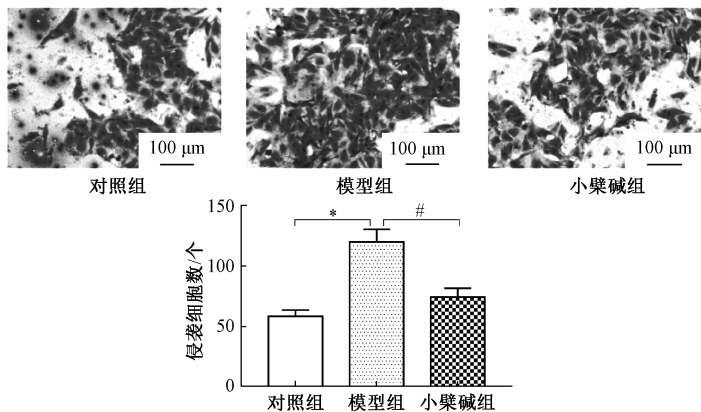
小檗碱具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等多种药理活性, 但其作用机制目前尚不清楚。体内实验中, 小鼠灌胃小檗碱后细菌感染存活率明显升高; 体外



注：与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$

图 4 小檗碱对 A549 细胞迁移的影响

Fig. 4 Effect of berberine on A549 cell migration



注：与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$

图 5 小檗碱对 A549 细胞侵袭的影响

Fig. 5 Effect of berberine on A549 cell invasion

实验中,小檗碱处理小鼠巨噬细胞后可增强炎症小体活化,促进成熟 IL-1 β 释放及细胞凋亡,表明该成分可通过增强巨噬细胞抗菌功能来达到抗菌消炎作用;在小鼠皮下移植结肠癌 CT26 细胞后用小檗碱治疗移植瘤,发现其生长明显受到抑制,而且 CD206、CD68 阳性细胞数显著增多,表明该成分是通过调节肿瘤相关巨噬细胞形成来抑制肿瘤生长^[21];本实验发现,与模型组相比小檗碱组 M2 型巨噬细胞标志物 CD206、IL-10、TGF- β 表达明显降低,表明该成分可抑制巨噬细胞向 M2 型转化。另外,小檗碱可抑制脂多糖、白细胞介素-4 诱导小鼠巨噬细胞 RAW264.7 细胞向 M2 型极化,在维持 M1/M2 动态平衡中发挥作用^[22],与本实验结果一致;可抑制家族性腺瘤性息肉病(FAP)动物模型 Apc (Min/+) 小鼠肠道息肉的生长,其作用机制与其诱导息肉组织中的肿瘤相关巨噬细胞分

化,抑制环氧合酶-2 表达有关^[23];可抑制 LPS 诱导巨噬细胞相关炎症因子的释放,抑制 JNK、IKK β 信号通路激活,介导脂肪细胞的糖代谢功能恢复^[24];可抑制子宫内膜癌细胞转移,抑制细胞分泌 IL-8 及与肿瘤巨噬细胞共培养的子宫内膜癌细胞增殖^[11];本实验通过不同激活状态的肿瘤相关巨噬细胞培养上清与肺癌 A549 细胞共培养,发现小檗碱可抑制 A549 细胞增殖、迁移和侵袭,与以上研究一致。

综上所述,小檗碱可通过作用于肿瘤相关巨噬细胞来抑制肺癌 A549 细胞的增殖、侵袭和迁移,可能与其调控肿瘤巨噬细胞表型有关,但它在体内是否发挥同样作用仍需进一步证实。本实验可为肺癌治疗提供理论依据,也为抗肿瘤机制研究提供新方向。

参考文献:

[1] Munn D H, Mellor A L. IDO in the tumor microenvironment; inflammation, counter-regulation and tolerance[J]. *Trends Immunol*, 2016, 37(3): 193-207.

[2] Yang J, Li X, Liu X, *et al.* The role of tumor-associated macrophages in breast carcinoma invasion and metastasis[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(6): 6656-6664.

[3] Ngambenjawong C, Gustafson H H, Pun S H. Progress in tumor-associated macrophage (TAM) -targeted therapeutics [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2017, 114: 206-221.

[4] 余长艳, 甄丽娜, 李洪滨, 等. 肿瘤相关巨噬细胞在三阴性乳腺癌中的表达与临床病理因素及预后关系的研究[J]. *实用肿瘤学杂志*, 2017, 31(1): 1-6.

[5] 宣奇佳, 张清媛. 肿瘤相关巨噬细胞与乳腺癌关系的研究进展[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2014, 19(1): 78-81.

[6] 吕 倩, 尹水平, 王 弦, 等. CD68 和 CD206 阳性巨噬细胞在乳腺癌组织中的浸润及对预后影响[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2016, 32(3): 252-257.

[7] Chen C, Tao C, Liu Z, *et al.* A randomized clinical trial of berberine hydrochloride in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [J]. *Phytother Res*, 2015, 29 (11): 1822-1827.

[8] Mccubrey J A, Lertpiriyapong K, Steelman L S, *et al.* Effects of resveratrol, curcumin, berberine and other nutraceuticals on aging, cancer development, cancer stem cells and microRNAs [J]. *Aging (Albany NY)*, 2017, 9(6): 1477-1536.

[9] Liu X, Ji Q, Ye N, *et al.* Berberine inhibits invasion and metastasis of colorectal cancer cells via COX-2/PGE2 mediated JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. *PloS One*, 2015, 10 (5): e0123478.

[10] Wen C, Wu L, Fu L, *et al.* Berberine enhances the anti-tumor activity of tamoxifen in drug-sensitive MCF-7 and drug-resistant MCF-7/TAM cells [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14 (3): 2250-2256.

[11] Li J, Xue X O, Liu X L, *et al.* Effect of berberine on human endometrial carcinoma cell line Ishikawa co-cultured with TAM [J]. *J Beijing Univ Tradit Chin Med*, 2011, 34(7): 448-452.

[12] 陈 博, 万敬员. 小檗碱对氧化型低密度脂蛋白诱导巨噬细胞促炎细胞因子和活性氧的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2017, 35(11): 2752-2755.

[13] Liu R, Wei S, Chen J, *et al.* Mesenchymal stem cells in lung cancer tumor microenvironment; their biological properties, influence on tumor growth and therapeutic implications [J]. *Cancer Lett*, 2014, 353(2): 145-152.

[14] Gocheva V, Wang H W, Gadea B B, *et al.* IL-4 induces cathepsin protease activity in tumor-associated macrophages to promote cancer growth and invasion[J]. *Genes Dev*, 2010, 24(3): 241-255.

[15] Dziedzic D, Rudzinski P, Langfort R, *et al.* Results of surgical treatment and impact on T staging of non-small-cell lung cancer adjacent lobe invasion[J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2016, 50 (3): 423-427.

[16] Van O E, Laoui D, Keirsse J, *et al.* Mechanisms driving macrophage diversity and specialization in distinct tumor microenvironments and parallelisms with other tissues[J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 127.

[17] Gowal S, de Giacomo M, Le Boudec J Y. Comment on: a validated mathematical model of cell-mediated immune response to tumor growth[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(17): 8419-8421.

[18] 李晓曦, 郭 宁, 曹雪涛. 肿瘤相关巨噬细胞促进肿瘤生长与转移的研究现状[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2008, 15 (1): 78-81.

[19] Ball M S, Shipman E P, Kim H, *et al.* CDDO-Me redirects activation of breast tumor associated macrophages[J]. *PloS One*, 2016, 11(2): e0149600.

[20] Dong P, Ma L, Liu L, *et al.* CD86⁺/CD206⁺, diametrically polarized tumor-associated macrophages, predict hepatocellular carcinoma patient prognosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17 (3): 320.

[21] 李 健, 郝 钰, 张玉丽, 等. 小檗碱对 CT26 皮下移植瘤组织中肿瘤相关巨噬细胞的影响[J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2011, 20(3): 203-206.

[22] Zimetti F, Adorni M P, Ronda N, *et al.* The natural compound berberine positively affects macrophage functions involved in atherogenesis[J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2015, 25(2): 195-201.

[23] Piao M, Cao H, He N N, *et al.* Berberine inhibits intestinal polyps growth in Apc (min/+) mice via regulation of macrophage polarization [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 2016: 5137505.

[24] 梁 舒, 张 炎, 郭 超, 等. 小檗碱通过抑制巨噬细胞炎症反应改善脂肪细胞糖代谢异常[J]. *中药药理与临床*, 2016, 32(5): 35-38.