DOI:10.16016/j.2097-0927.202405021

当归多糖对 M2 型巨噬细胞分化和功能的影响

张 珂,崔 昭,秦雅含,雷 凡,刘梅芳,彭美玉 261053 山东 潍坊,山东第二医科大学基础医学院,山东省高等学校免疫微环境与炎症性疾病研究特色实验室

[摘要] **目的** 探讨当归多糖(angelica polysaccharide,APS)对 M2 型巨噬细胞分化、功能的影响及其分子机制。**方法** 诱导小鼠骨髓来源的巨噬细胞(bone marrow derived macrophage,BMDM)和 M2 型巨噬细胞,加入 APS 处理(0、80、160、320 μg/mL);分离小鼠腹腔巨噬细胞,加入 APS 处理(0、160 μg/mL)。流式细胞术(flow cytometry, FCM)检测 M2 型巨噬细胞和腹腔巨噬细胞甘露糖受体(mannose receptor, MR)、CD11b、F4/80、CD163、ARG-1 表达水平、凋亡情况以及吞噬能力。根据随机数字法将小鼠分为 2 组,即 APS 灌胃组($n=5$)和对照组($n=5$),FCM 检测外周血和脾脏中巨噬细胞 MR 表达水平。荧光显微镜观察 BMDM 分化的 M2 型巨噬细胞形态;RT-qPCR 检测 M2 型巨噬细胞 MR、ARG-1 的 mRNA 表达水平;免疫荧光检测 M2 型巨噬细胞分化和功能的分子机制。**结果** 与 0 μg/mL APS 组相比,在一定浓度(80~320 μg/mL APS)范围内,随着 APS 浓度的升高,M2 型巨噬细胞的 MR 表达水平降低($P<0.01$);160 μg/mL APS 组腹腔巨噬细胞 MR 表达水平也降低($P<0.01$)。与对照组相比,APS 灌胃组小鼠外周血和脾脏中巨噬细胞 MR 的表达水平也明显下降($P<0.05$)。与 0 μg/mL APS 组相比,80~320 μg/mL APS 组巨噬细胞 CD11b、F4/80、CD163 表达水平升高($P<0.01$);巨噬细胞形态发生变化,由大多呈梭形且有伪足变为大多为类圆形或不规则且少数细胞有伪足;APS 可诱导 M2 型巨噬细胞凋亡($P<0.05$)。与 0 μg/mL APS 组相比,160 μg/mL APS 组 M2 型巨噬细胞吞噬荧光微球的能力升高($P<0.01$),但 ARG-1 的表达水平降低($P<0.01$);M2 型巨噬细胞 MR 和 ARG-1 的 mRNA 表达降低($P<0.05$);160 μg/mL APS 组 M2 型巨噬细胞的磷酸化的信号转导子和转录激活子 6(phosphate acidified-signal transducers and activators of transcription 6, p-STAT6)阳性信号的平均荧光强度明显减低($P<0.05$)。**结论** APS 对 M2 型巨噬细胞的分化和功能均具有双向调控作用,这可能与 APS 可下调信号转导子和转录激活子 6(signal transducers and activators of transcription 6, STAT6)信号通路相关。

[关键词] 当归多糖;甘露糖受体;M2 型巨噬细胞;信号转导子和转录激活子 6
[中图法分类号] R285.5; R329.28; R331.144 [文献标志码] A

Effects of *Angelica* polysaccharide on differentiation and function in M2 macrophages

ZHANG Ke, CUI Zhao, QIN Yahan, LEI Fan, LIU Meifang, PENG Meiyu Key Laboratory of Immune Microenvironment and Inflammatory Disease Research in Universities of Shandong Province, School of Basic Medical Sciences, Shandong Second Medical University, Weifang, Shandong Province, 261053, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of *Angelica* polysaccharide (APS) on the differentiation and function of M2 macrophages and underlying molecular mechanism. **Methods** Mouse bone marrow derived macrophages (BMDM) and M2 macrophages were induced and treated with APS (0, 80, 160, 320 μg/mL); Mouse peritoneal macrophages were isolated and treated with APS (0, 160 μg/mL). Flow cytometry (FCM) was used to detect mannose receptor(MR), CD11b, F4/80, CD163, and ARG-1 expression levels, apoptosis, and phagocytic ability of M2 macrophages and peritoneal macrophages. Mice were randomly divided into APS gavage group and control group, APS was intragastrically administered to

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81972695);山东省高等学校青创人才引育计划;青创科技支持计划(2021KJ106)
[通信作者] 彭美玉,E-mail:pmy-107@163.com

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

mice, and macrophage MR expression level in blood and spleen were detected by FCM. Fluorescence microscopy was used to observe the morphology of BMDM-differentiated M2 macrophages. RT-qPCR was employed to detect the mRNA expression levels of MR and ARG-1 in M2 macrophages. Immunofluorescence assay was performed to detect the expression of the proteins related to molecular mechanism of differentiation and function of M2 macrophages. **Results** Compared with the 0 μg/mL APS group, the MR expression level in the M2 macrophages was decreased with the increase of APS concentration within a certain concentration range (80~320 μg/mL), and the MR expression level in peritoneal macrophages was also decreased in the 160 μg/mL APS treatment group ($P<0.01$). The expression level of macrophage MR was also significantly decreased in peripheral blood and spleen in the APS gavage mice than the control group ($P<0.05$). Compared with the 0 μg/mL APS group, the expression levels of CD11b, F4/80, and CD163 in the macrophages were increased in the 80 ~ 320 μg/mL APS treatment groups ($P<0.01$). The morphology of macrophage had changed, from mostly spindle-shaped and pseudopodia to mostly round or irregular, and even a few cells with pseudopodia. APS induced apoptosis in M2 macrophages ($P<0.05$). Compared with the 0 μg/mL APS group, M2 macrophages treated with 160 μg/mL APS had an increased ability to phagocytose fluorescent microspheres ($P<0.01$), but the expression level of ARG-1 was decreased ($P<0.01$). The mRNA expression of MR and ARG-1 in M2 macrophages was decreased ($P<0.05$). The mean fluorescence intensity of phosphate acidified-signal transducers and activators of transcription 6(p-STAT6)-positive signals in M2 macrophages was significantly reduced in the 160 μg/mL APS-treated group ($P<0.05$). **Conclusion** APS has bidirectional regulation on the differentiation and function of M2 macrophages, which may be associated with its downregulation of signal transducers and activators of transcription 6(STAT6) signaling pathway.

[**Key words**] *Angelica* polysaccharide; mannose receptor; M2 macrophages; signal transducers and activators of transcription 6

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81972695), the Introduction and Cultivation Program for Young Innovative Talents in Science and Technology Support Plan of Colleges and Universities in Shandong Province, and the Science and Technology Support Plan for Youth Innovation of Colleges and Universities of Shandong Province (2021KJ106). Corresponding author: PENG Meiyu, E-mail: pmy-107@163.com

当归多糖(angelica polysaccharide,APS)是从植物当归中提取的一种水溶性成分。它是由葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖、岩藻糖和半乳糖醛酸等组成的多糖。APS具有支持造血、保肝、抗肿瘤、抗炎、免疫调节等多种功能[1]。研究表明,APS是通过与细胞表面的受体结合从而激活多种免疫细胞发挥免疫调节作用[2]。APS能够促进淋巴细胞增殖,增强淋巴细胞的抗肿瘤活性。同时,可以激活自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)和自然杀伤性T细胞(natural killer T cell, NKT)进而发挥免疫应答作用[3]。APS可以促进巨噬细胞增殖,激活巨噬细胞的免疫功能[4]。

巨噬细胞主要来源于骨髓细胞中循环的单核细胞,具有高度的可塑性[5-6]。在不同微环境的作用下,巨噬细胞会分化为不同的表型,主要分为经典途径活化的M1型巨噬细胞和替代途径活化的M2型巨噬细胞[7]。脂多糖和干扰素γ刺激巨噬细胞可以诱导其产生M1型巨噬细胞,主要表达主要组织相容复合物Ⅱ(major histocompatibility complex, MHC-Ⅱ)、CD68、CD86等标志物,能够分泌肿瘤坏死因子α、白细胞介素6和诱导型一氧化氮合酶等细胞因子,从而发挥抗肿瘤、清除病原微生物的作用[8-9]。另一方面,白细胞介素4和白细胞介素13可以诱导M2型巨噬细胞的产生,主要表达CD163、甘露糖受体(mannose receptor, MR/CD206)、CD200受体(CD200 receptor, CD200R)等,通过分泌白细胞介素10、精氨酸酶1(arginase 1, ARG-1)和转化生长因子β来抑制炎症反应,发挥抗炎作用[9-10]。

甘露糖受体(mannose receptor,MR)是一种模式识别受体,主要表达在巨噬细胞表面,其本质是一种跨膜蛋白,由一个富含半胱氨酸的结构域和多个C型凝集素结构域等成分组成。它参与先天性免疫应答,能够特异性地识别以甘露糖、岩藻糖或N-乙酰葡糖胺为末端的配体结合,从而发挥免疫调节的作用[11-12]。研究表明,APS可以与Kupffer细胞的MR结合产生靶向肝脏的作用,对急性肝损伤有保护作用[13]。我们前期研究发现,APS能够促进髓系来源的抑制性细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)的增殖、分化和免疫抑制功能,并与MR的表达水平呈正相关[14]。这些结果提示APS能够与MR相互作用而影响细胞的增殖、分化和功能。然而,APS是否对MR的表达具

有调控作用,并对 M2 型巨噬细胞的分化和功能是否能起到调控作用目前尚不清楚。因此,本研究利用体内、体外试验,检测了 APS 对 M2 型巨噬细胞表达 MR 的影响,以及 APS 对 M2 型巨噬细胞凋亡、分化和功能的影响,并探究了其分子机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

70 只 6~8 周 SPF 级 C57BL/6 雌性小鼠,体质量 20~22 g,购于山东第二医科大学实验动物繁育中心。所有实验步骤经过山东第二医科大学实验动物伦理委员会审核(2022SDL229),符合动物伦理要求。

1.2 实验材料

APS 购自中国山东优科生物科技公司,重组小鼠 IL-4、M-CSF 购自美国 PeproTech 公司,荧光微球购自美国 Polysciences 公司,抗鼠 CD16/32 抗体、抗鼠 CD11b-FITC 抗体、抗鼠 CD206(MR)-percp5.5 抗体、抗鼠 CD163-PE-CY7 抗体、Cell Activation Cocktail 刺激剂购自美国 Biolegend 公司,抗鼠 F4/80-PE 抗体、抗鼠 CD206(MR)-AF647 抗体购自美国 BD 公司,抗鼠 ARG-1-APC 抗体、山羊抗兔抗体购自美国 Invitrogen 公司,抗兔 p-STAT6 抗体购自美国 CST 公司,Alexa Fluor® 647 荧光 Anti-F4/80 抗体购自英国 Abcam 公司,抗荧光淬灭封片剂购自上海翌圣生物科技,山羊血清购自北京中衫金桥公司,FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit with 7-AAD 购自美国 Biolegend 公司,巯基乙酸盐购自中国上海 Sigma-Aldrich 公司,DMEM 培养基购自美国 Gibco 公司,RPMI Medium 1640 培养基购自美国 Gibco 公司,Fixation Buffer、Perm Wash Buffer(10×)购自美国 Biolegend 公司。

1.3 方法

1.3.1 诱导骨髓源性的 M2 型巨噬细胞 诱导骨髓源性巨噬细胞(bone marrow derived macrophage,BMDM):CO_2 吸入法处死 C57BL/6 小鼠,随后分离出股骨和胫骨,用 PBS 将骨髓细胞冲洗到培养皿中,并用红细胞裂解缓冲液裂解红细胞。用含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基将细胞的浓度调整为 3×10^6 个细胞/mL。在 12 孔板的每孔加入 1 mL 的细胞悬液,并且每孔补充终浓度为 20 ng/mL 的重组小鼠 M-CSF,在 CO_2 培养箱中培养 6 d,每隔 2 天半量换液。

诱导 BMDM 分化为 M2 型巨噬细胞:以上体外诱导的 BMDM,在第 6 天半量换液时,加入终浓度为 20 ng/mL IL-4 以诱导其分化为 M2 型巨噬细胞,并同时加入不同浓度的 APS(0、80、160、320 μg/mL),孵育 16 h。

1.3.2 获取小鼠的腹腔巨噬细胞 给小鼠腹腔注射 2 mL 巯基乙酸盐。3 d 后采用 CO_2 吸入法处死小鼠,在小鼠腹部中央剪开一小口,撕开皮肤,暴露小鼠的腹腔。向腹腔内注射 3 mL 预冷的 PBS,同时用手指从两侧轻轻揉压腹壁 2~3 min,回收灌洗液。离心后弃去上清液。用含 10%胎牛血清的 RPMI Medium 1640 培养基将细胞接种在 12 孔板中,2 h 后弃去培养上清,用 PBS 洗去未贴壁的细胞,重复 2 次,得到腹腔巨噬细胞。加入不同浓度的 APS(0、160 μg/mL),孵育 16 h。

1.3.3 巨噬细胞 MR 的检测 APS 处理的 BMDM 诱导分化的 M2 型巨噬细胞和腹腔巨噬细胞分别收集于流式管中,加入抗鼠 CD16/32 抗体封闭 15 min,随后加入抗鼠 CD11b-FITC 抗体、抗鼠 F4/80-PE 抗体进行表面标记染色,随后固定透膜:加入 Fixation Buffer,每管加入 250 μL,混匀后在室温下避光静置 20 min,室温 350×*g*,离心 5 min 弃去上清液。用超纯水将 Perm Wash Buffer(10×)稀释至 1×,每管加入 500 μL 稀释后的 Perm Wash Buffer(1×),室温 350×*g*,离心 10 min,弃去上清液,重复 2 次。加入抗鼠 CD16/32 抗体封闭 15 min 后,加入抗鼠 CD206(MR)-AF647 抗体,4 ℃避光孵育 30 min,流式细胞仪(美国 BD 公司)检测 CD11b、F4/80、CD206(MR)标记物的表达,用 FlowJo 7.6 软件进行分析。

1.3.4 检测巨噬细胞 CD163 的表达 APS 处理的 BMDM 诱导分化的 M2 型巨噬细胞同时加入不同浓度的 APS(0、80、160、320 μg/mL)处理,培养 16 h。收集细胞于流式管中,加入抗鼠 CD16/32 抗体封闭,混匀后放置在 4 ℃冰箱,15 min 后加入抗鼠 CD11b-FITC 抗体、抗鼠 F4/80-PE 抗体、抗鼠 CD163-PE-CY7 抗体表染,4 ℃避光孵育 30 min,用流式细胞仪检测 CD11b、F4/80、CD163 标记物的表达,用 FlowJo 7.6 软件进行分析。

1.3.5 观察 APS 对巨噬细胞形态的影响 APS 处理的 BMDM 诱导分化的 M2 型巨噬细胞加入不同浓度的 APS(0、160、320 μg/mL),孵育 16 h。弃去培养基,每孔加入 1 mL 的 PBS,置于倒置荧光显微镜下观察细胞形态并拍照记录。每孔在显微镜下随机选取 5 个视野。

1.3.6 流式细胞术(flow cytometry, FCM)检测 APS 对 M2 型巨噬细胞的凋亡 APS 处理的 BMDM 诱导分化的 M2 型巨噬细胞加入不同浓度的 APS(0、160、320 μg/mL),孵育 16 h。收集细胞于流式管中。每个流式管加入 1 mL PBS,离心弃去上清液,重复 2 次。加入 100 μL AnnexinV 结合缓冲液重悬细胞,随后加入 5 μL AnnexinV 和 5 μL 7-AAD,轻轻混匀,室温

下避光放置 15 min,用流式细胞仪检测 AnnexinV 和 7-AAD 标记物的表达,用 FlowJo 7.6 软件进行分析。

1.3.7 M2 型巨噬细胞功能的测定 APS 处理的 BMDM 诱导分化的 M2 型巨噬细胞加入不同浓度的 APS(0、160 μg/mL),孵育 16 h。收集细胞于流式管中,加入抗鼠 CD11b-FITC 抗体、抗鼠 F4/80-PE 抗体进行表面标记染色,如上 1.3.3 固定透膜,加入抗鼠 CD16/32 抗体封闭 15 min,随后加入抗鼠 ARG-1-APC 抗体,4 ℃避光孵育 30 min,流式细胞仪检测 CD11b、F4/80、ARG-1 标记物的表达,用 FlowJo 7.6 软件进行分析。

APS 处理的 BMDM 诱导分化的 M2 型巨噬细胞加入不同浓度的 APS(0、160 μg/mL),孵育 12 h。随后每孔加入 FITC 标记的荧光微球,置于 37 ℃避光孵育 2 h。收集细胞于流式管中,再用 PBS 洗涤 3 次,流式细胞仪检测 FITC 标记的荧光微球的荧光强度,用 FlowJo 7.6 软件进行分析。

1.3.8 荧光定量 PCR 检测 M2 型巨噬细胞 MR、ARG-1 mRNA 的表达 APS 处理的 BMDM 诱导分化的 M2 型巨噬细胞加入不同浓度的 APS(0、160 μg/mL),孵育 16 h。使用 TRIzol 法提取细胞 RNA,按照反转录试剂盒进行反转录,将 RNA 反转录为 cDNA,然后进行 PCR 扩增反应。选用 GAPDH 作为内参基因,根据 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法进行计算。GAPDH:(上游引物)5′-TGTCTCCTGCGACTTCAACA-3′,(下游引物)5′-GGTGGTCCAGGGTTTCTTACT-3′;MR:(上游引物)5′-CTCTGTTCAGCTATTGGACGC-3′,(下游引物)5′-CGGAATTTCTGGGATTCAGCTTC-3′;ARG-1:(上游引物)5′-TGTCCCTAATGACAGCTCCTT-3′,(下游引物)5′-GCATCCACCCAAATGACACAT-3′。

1.3.9 免疫荧光标记检测 M2 型巨噬细胞 p-STAT6 的表达 将无菌爬片贴于 12 孔细胞培养板的底部,每孔加入小鼠骨髓细胞悬液并按上述 1.3.1 方法,诱导 M2 型巨噬细胞分化,同时加入不同浓度的 APS(0、160 μg/mL)处理,培养 16 h。向 12 孔板中加入多聚甲醛固定 15 min,PBS 缓冲液洗 3 次,每次 5 min;加入甲醇于-20 ℃孵育 10 min,PBS 缓冲液洗 5 min;封闭缓冲液室温封闭 1 h,加入抗 p-STAT6 抗体,4 ℃过夜。第 2 天拿出复温 30 min,PBS 缓冲液洗 3 次,每次 5 min;分别加入 AF488 偶联的山羊抗兔抗体,F4/80-AF647 荧光抗体,室温孵育 1 h,PBS 缓冲液洗 3 次,每次 5 min;将爬片取出盖在滴加了含 DAPI 的抗荧光淬灭封片剂的载玻片上,荧光显微镜下观察并拍照记录,用 Image J 软件进行分析。

1.3.10 小鼠灌胃处理 适应性喂养小鼠 1 周后,按随机数字法将其分为 APS 组、对照组,每组 5 只。APS 组小鼠给予 250 μL APS(200 mg/kg)灌胃,对照组给予等体积的去离子水灌胃,每天 1 次,持续 8 周。

1.3.11 体内巨噬细胞 MR 表达的检测 小鼠经灌胃给药 8 周后,CO_2 窒息法处死小鼠,采集小鼠的心脏外周血,注入含柠檬酸钠流式管中。分离小鼠的脾脏组织,将其剪碎并研磨,用 40 μm 的细胞过滤网研磨过滤,制备脾脏单个细胞悬液。将外周血和脾脏单个细胞悬液分别裂解红细胞,调整细胞浓度为 1×10^6 个/mL,向每个流式管中加入 100 μL 细胞悬液。按照上述 1.3.3 的方法染色,流式细胞仪检测 CD11b、F4/80、CD206(MR)标记物的表达,用 FlowJo 7.6 软件进行分析。

1.4 统计学分析

所有数据使用 GraphPad Prism 8.0.2 软件进行统计学分析和图表绘制,符合正态分布数据 2 组样本间均数差异比较采用配对 t 检验,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,不符合正态分布采用 Kruskal-Wallis 检验,$P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

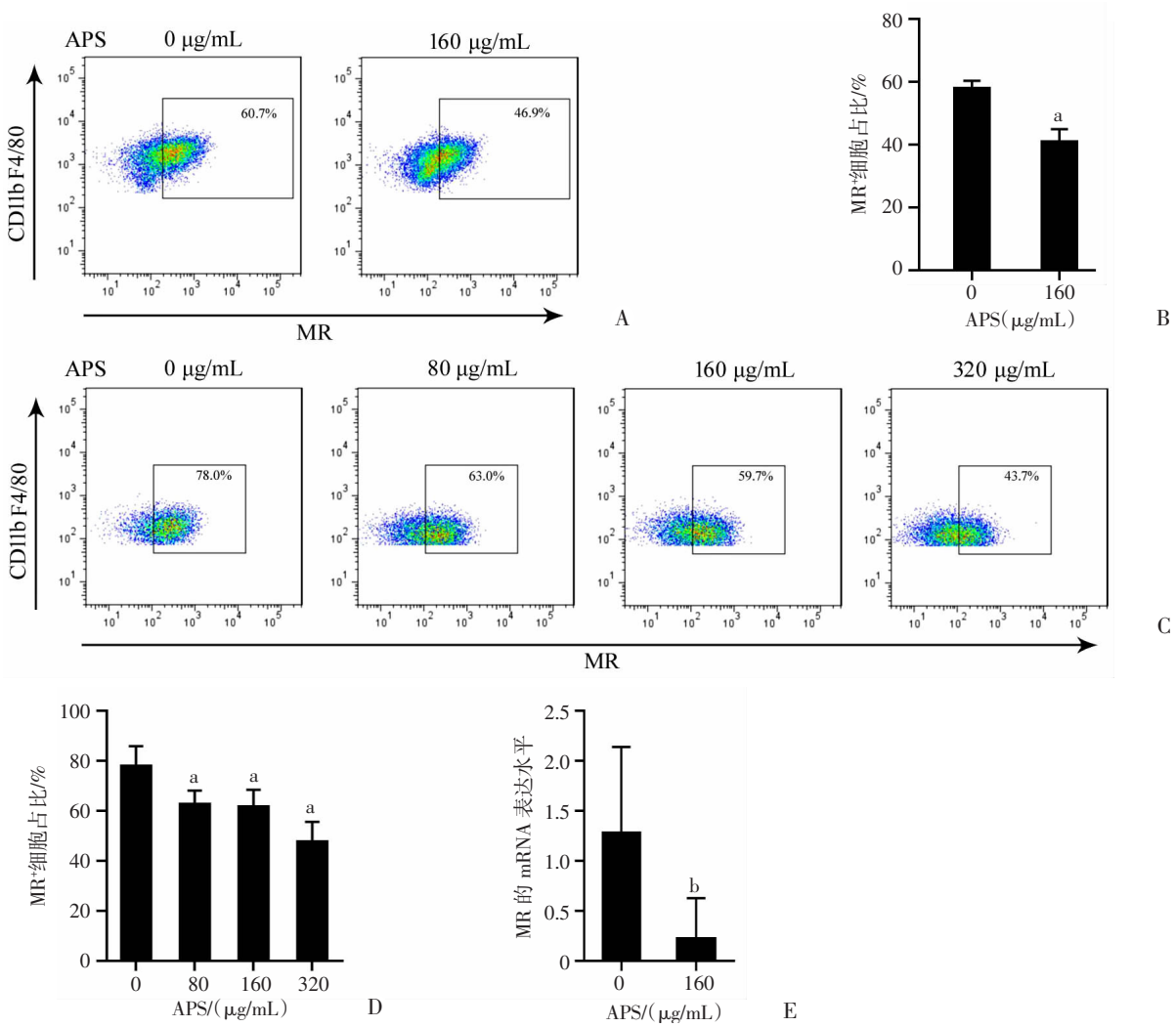
2.1 体外 APS 抑制巨噬细胞 MR 的表达

结果显示,与 0 μg/mL APS 组相比,160 μg/mL APS 组可降低腹腔巨噬细胞表面 MR 的表达水平($P<0.01$,图 1A、B)。表明 APS 可以抑制巨噬细胞 MR 的表达。

MR 是 M2 型巨噬细胞的主要标志物,因此接下来检测了 APS 对 BMDM 诱导分化的 M2 型巨噬细胞 MR 表达的影响。如图 1C、D 所示,在加入重组小鼠 IL-4 诱导 BMDM 分化为 M2 型巨噬细胞的过程中,随着 APS 浓度的升高(80~320 μg/mL),M2 型巨噬细胞表面 MR 表达呈剂量依赖性降低($P<0.01$)。同样地,与 0 μg/mL APS 组相比,160 μg/mL APS 组的 BMDM 分化的 M2 型巨噬细胞 MR mRNA 表达水平也下降($P<0.05$,图 1E)。表明 APS 也可抑制 M2 型巨噬细胞 MR 的表达。

2.2 APS 抑制小鼠体内巨噬细胞 MR 的表达

为了进一步验证在体外实验中发现的 APS 对巨噬细胞 MR 表达影响的结果,随后又检测了 APS 在体内对小鼠巨噬细胞 MR 表达的影响。如图 2 所示,与对照组相比,APS 处理组的小鼠外周血和脾脏中巨噬细胞 MR 的表达均明显下降($P<0.05$)。表明与体外实验一致,APS 在小鼠体内也能够降低巨噬细胞 MR 的表达。



a:$P<0.01$,b:$P<0.05$,与 0 μg/mL APS 组比较

A:腹腔巨噬细胞 MR 最具代表的流式图;B:腹腔巨噬细胞中 MR 细胞的百分比($n=5,\bar{x}\pm s$);C:BMDM 分化的 M2 型巨噬细胞 MR 最具代表的流式图;D:BMDM 分化的 M2 型巨噬细胞中 MR 细胞的百分比($n=5,\bar{x}\pm s$);E:BMDM 分化的 M2 型巨噬细胞 MR 的 mRNA 表达水平($n=6,\bar{x}\pm s$)

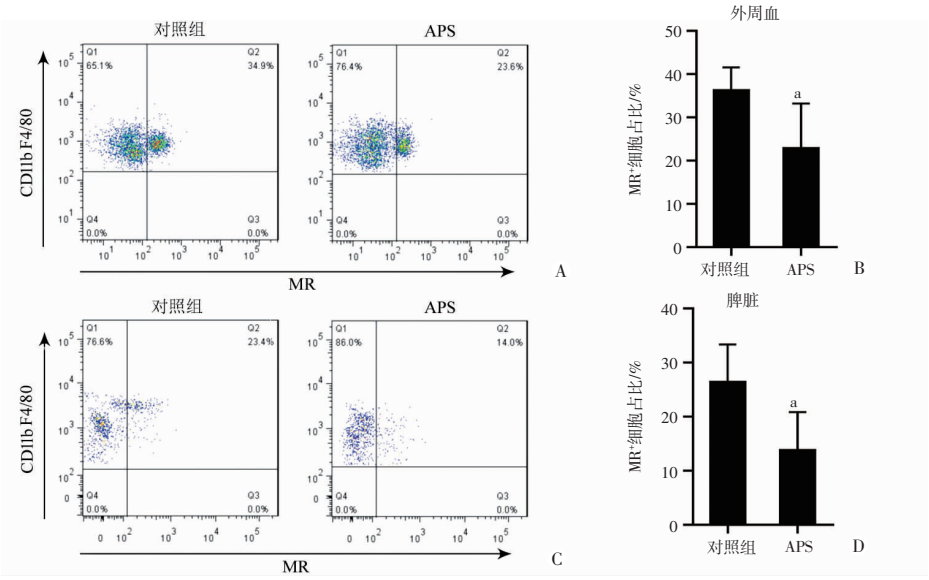
图 1 APS 对巨噬细胞 MR 的影响

2.3 APS 升高 M2 型巨噬细胞 CD163 的表达

如图 3A、C 所示,FSC-A 和 FSC-H 去除细胞黏连体,CD11bF4/80 设门选定 BMDM,BMDM 门内由 CD163 选定为 M2 型巨噬细胞。与 0 μg/mL APS 组相比,80、160、320 μg/mL APS 组 CD11bF4/80 巨噬细胞的百分比显著增加($P<0.01$)。同时,如图 3B、D 所示,APS 组 CD11bF4/80 巨噬细胞的 CD163 表达水平与 0 μg/mL APS 组相比也显著升高($P<0.01$)。表明 APS 可升高 M2 型巨噬细胞 CD163 的表达。

2.4 APS 改变巨噬细胞的形态

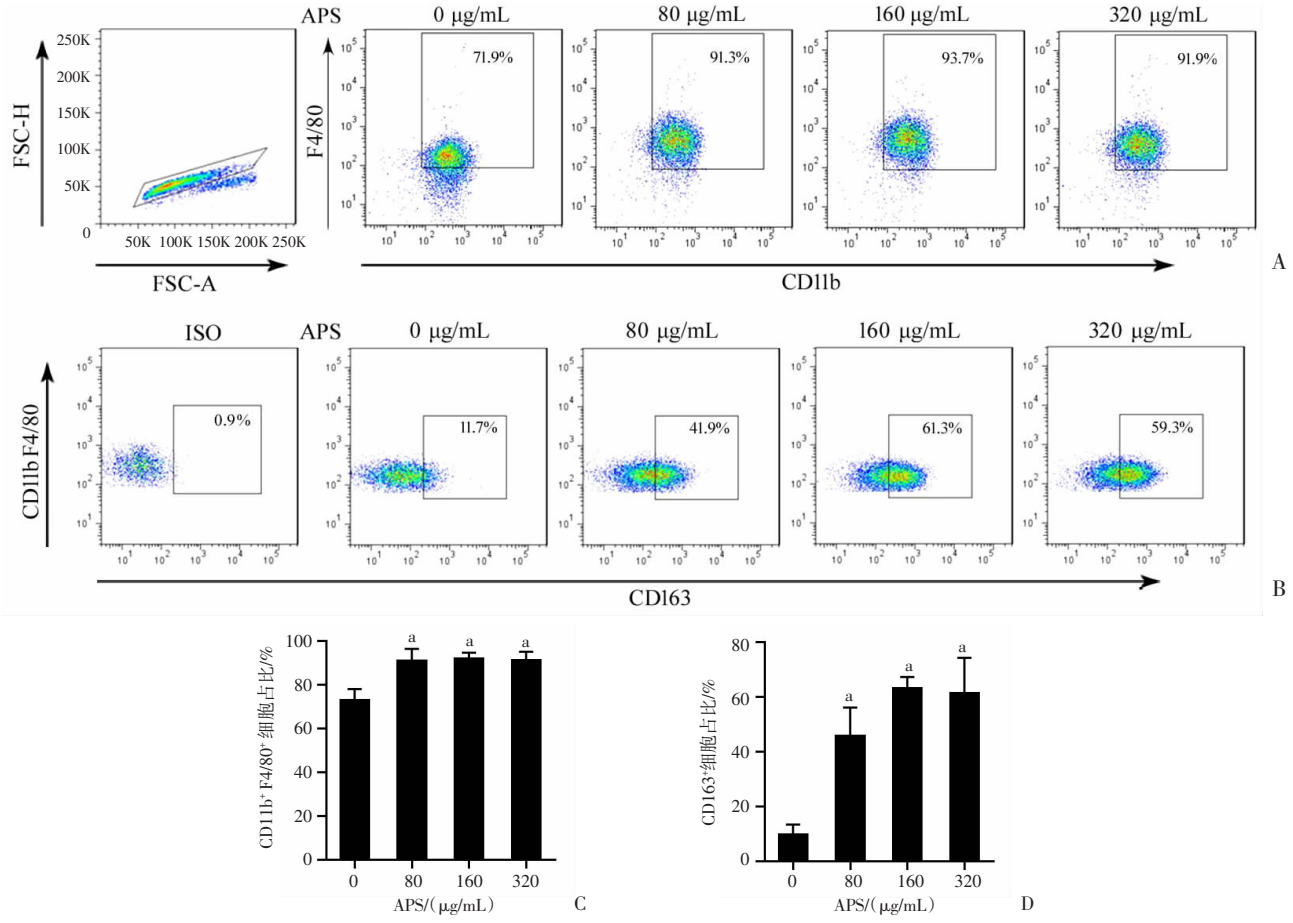
因有研究发现,APS 对细胞生物学功能的影响可能与其对细胞形态的影响相关,因此在诱导 BMDM 分化为 M2 型巨噬细胞的过程中,用显微镜观察了 APS 对巨噬细胞形态的影响。镜下观察了 BMDM 的形态,如图 4A 所示,细胞呈扁平状,有较多突起。M2 型巨噬细胞形态特点为细胞呈长索状,有细长伪足。镜下观察 0 μg/mL APS 组细胞大多呈梭形,并且具有较长的伪足,边界较为清楚;160 μg/mL APS 组细胞大多为类圆形或不规则,少数细胞具有伪足,部分细胞边界不清;320 μg/mL APS 组细胞形态大多数不规则并且边界不清,并且可以观察到细胞数量明显减少。并且对视野下的梭形细胞进行统计,与 0 μg/mL APS 组相比较,160、320 μg/mL APS 组视野中梭形细胞所占总细胞比例明显降低($P<0.05$,图 4B)。表明 APS 可以影响巨噬细胞的形态,使其 M2 型巨噬细胞的比例减少。



a:$P<0.05$,与对照组比较

A:小鼠外周血中巨噬细胞 MR 最具代表的流式图;B:MR 细胞在外周血巨噬细胞中的比例;C:小鼠脾脏中巨噬细胞 MR 的典型流式代表图;D:MR 细胞在脾脏巨噬细胞中的比例

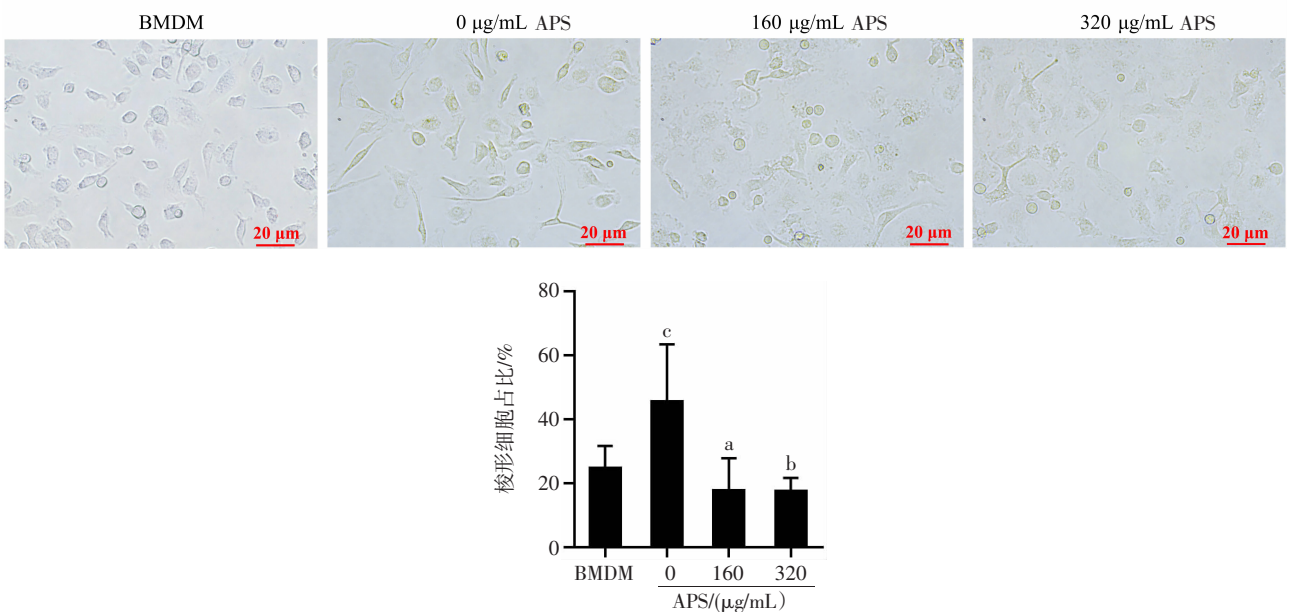
图 2 APS 在体内对小鼠巨噬细胞 MR 表达的影响 ($n=10,\bar{x}\pm s$)



a:$P<0.01$,与 0 μg/mL APS 组比较

A:BMDM 最具代表的流式图;B:BMDM 分化的 M2 型巨噬细胞最具代表的流式图 ISO:同型对照抗体;C:骨髓细胞中分化为巨噬细胞的比例($n=7,\bar{x}\pm s$);D:BMDM 分化的 M2 型巨噬细胞中 CD163 细胞的比例($n=5,\bar{x}\pm s$)

图 3 APS 对 M2 型巨噬细胞 CD163 表达的影响



a:$P<0.01$,b:$P<0.05$,与 0 μg/mL APS 组比较;c:$P<0.05$,与 BMDM 组比较

A:BMDM、0 μg/mL APS 组、160 μg/mL APS 组、320 μg/mL APS 组细胞的形态;B:梭形细胞的百分比 ($n=5$,$\bar{x}\pm s$)

图 4 APS 对巨噬细胞形态的影响

2.5 高浓度的 APS 促进 M2 型巨噬细胞凋亡

因上述显微镜下观察发现 320 μg/mL APS 组巨噬细胞数量明显减少,所以接下来检测了 APS 对 BMDM 分化的 M2 型巨噬细胞凋亡的影响。如图 5A、B 所示,与 0 μg/mL APS 组相比,160 μg/mL APS 组 M2 型巨噬细胞晚期凋亡没有显著变化,但 320 μg/mL APS 组 M2 型巨噬细胞晚期凋亡明显升高($P<0.01$);与 0 μg/mL APS 组相比,160、320 μg/mL APS 组 M2 型巨噬细胞早期凋亡均升高($P<0.05$,图 5A、C);与 0 μg/mL APS 组相比,160、320 μg/mL APS 组 M2 型巨噬细胞总凋亡比例也均升高($P<0.05$,图 5A、D)。表明 APS 可以诱导 M2 型巨噬细胞凋亡,并呈浓度依赖性。因 160 μg/mL APS 组细胞凋亡比例相对较少,为避免细胞凋亡情况会影响检测结果,后续 APS 对 M2 型巨噬细胞功能和分子机制的实验只选用了 160 μg/mL 的 APS 进行处理。

2.6 APS 对 M2 型巨噬细胞功能的影响

与 0 μg/mL APS 组相比,160 μg/mL APS 组的 M2 型巨噬细胞 ARG-1 的表达水平明显下降($P<0.01$,图 6A、B),同样地,ARG-1 的 mRNA 表达水平也明显下降($P<0.05$,图 6C)。

因表达 MR,吞噬功能也是 M2 型巨噬细胞的主要功能之一,并且上述研究发现 APS 可以抑制 M2 型巨噬细胞 MR 的表达,因此又检测了 APS 对 M2 型巨噬细胞吞噬荧光微球的影响。如图 6D、E 所示,与 0 μg/mL APS 组相比,APS 处理组 M2 型巨噬细胞吞噬荧光微球的平均荧光强度显著增加($P<0.01$)。

这些结果表明 APS 对 M2 型巨噬细胞的功能可起到双向调控作用,即一方面可抑制其 ARG-1 的表达水平,另一方面又可增强其吞噬颗粒的能力。

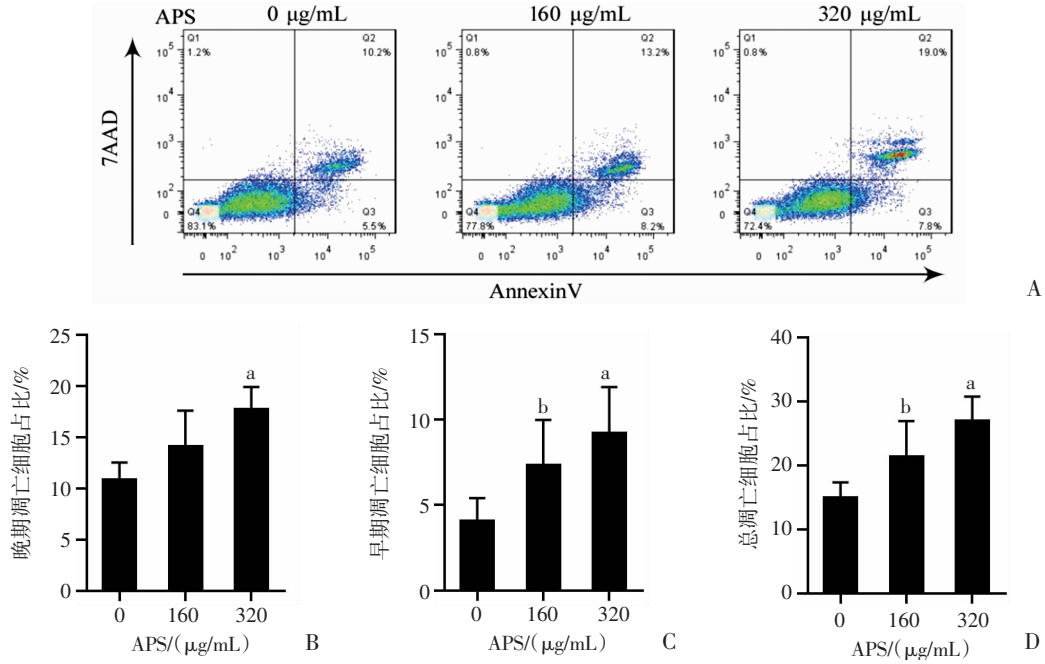
2.7 APS 抑制 M2 型巨噬细胞 STAT6 信号通路的磷酸化水平

如图 7 所示,DAPI 染色标记细胞核,F4/80 阳性细胞质为红色,磷酸化的信号转导子和转录激活子 6(phosphate acidified-signal transducers and activators of transcription 6, p-STAT6)阳性显示绿色荧光。与 0 μg/mL APS 组相比,160 μg/mL APS 组的 p-STAT6 的阳性信号平均荧光强度明显减低($P<0.01$)。表明 APS 可抑制 M2 型巨噬细胞信号转导子和转录激活子 6(signal transducers and activators of transcription 6, STAT6)的磷酸化。

3 讨论

3.1 APS 对 M2 型巨噬细胞分化的影响

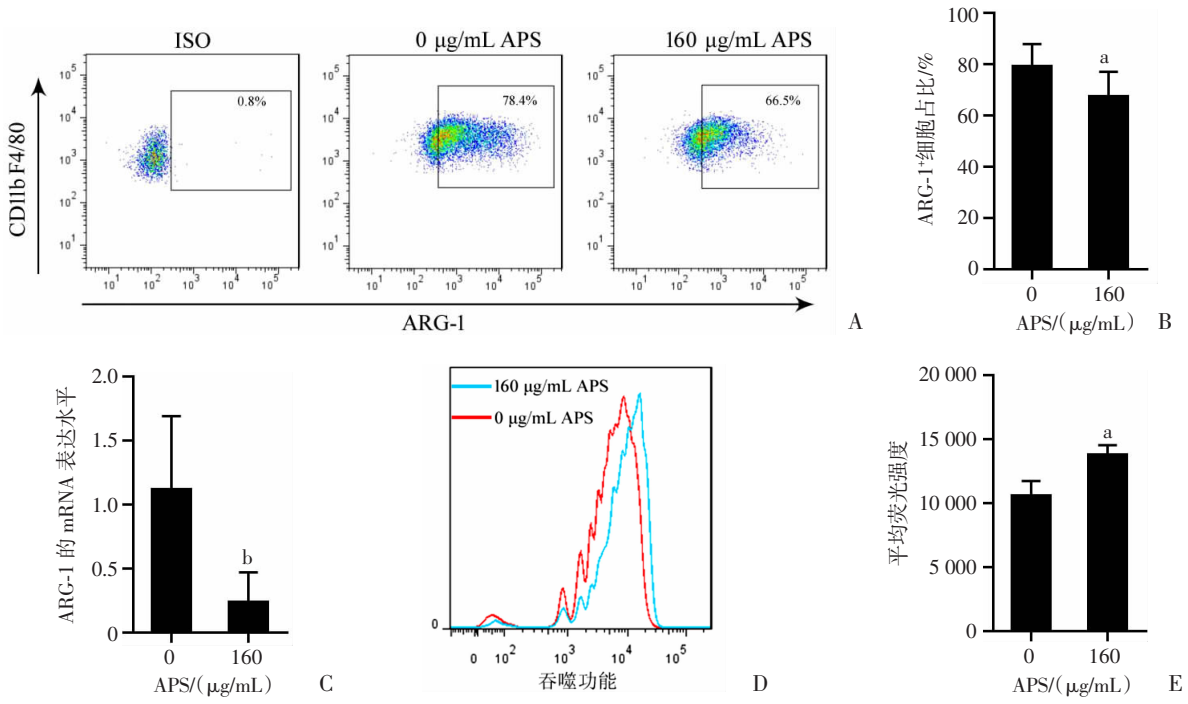
MR 是巨噬细胞表面表达的主要模式识别受体之一,它能够与甘露糖、岩藻糖或 N-乙酰葡糖胺为末端的配体结合,促进巨噬细胞活化、抗原递呈和免疫反应。大部分 MR 分布在胞内内吞途径上,大约 10%的 MR 分布于细胞表面。MR 与配体结合后可被内吞到被膜小泡,内吞后的MR在内体酸性环境中释放出配



a:$P<0.01$,b:$P<0.05$,与 0 μg/mL APS 组比较

A:最具代表的流式图;B:M2 型巨噬细胞晚期凋亡的比例;C: M2 型巨噬细胞早期凋亡的比例;D:M2 型巨噬细胞总凋亡比例

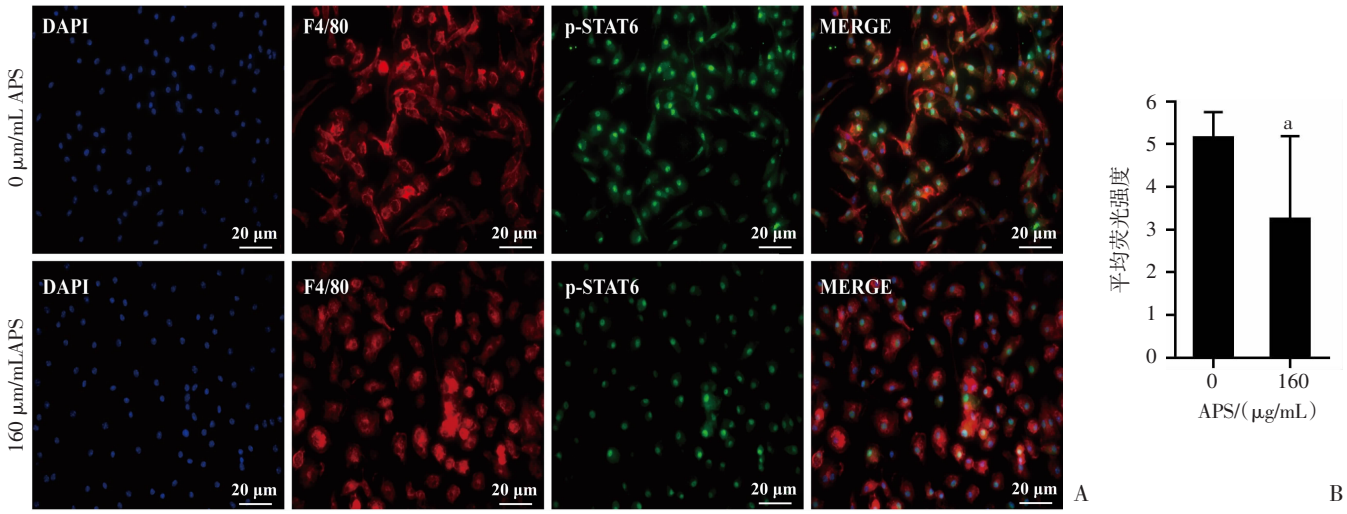
图 5 APS 对 M2 型巨噬细胞凋亡的影响 ($n=6,\bar{x}\pm s$)



a:$P<0.01$,b:$P<0.05$, 与 0 μg/mL APS 组比较

A:M2 型巨噬细胞分泌 ARG-1 最具代表的流式图;B:M2 型巨噬细胞中 ARG-1 细胞的比例($n=8,\bar{x}\pm s$);C:M2 型巨噬细胞 ARG-1 mRNA 的表达水平($n=3,\bar{x}\pm s$);D:M2 型巨噬细胞吞噬荧光微球最具代表的流式图;E:M2 型巨噬细胞吞噬荧光微球的平均荧光强度($n=5,\bar{x}\pm s$)

图 6 APS 对 M2 型巨噬细胞功能的影响



A:最具代表的流式图;B:p-STAT6 阳性信号的平均荧光强度($n=6$,$\bar{x}\pm s$) a:$P<0.05$,与 0 μg/mL APS 组比较

图 7 APS 对 M2 型巨噬细胞 STAT6 信号通路的影响

体后,MR 重新回到胞膜。因此,MR 是循环于胞膜和初级内体之间的,并可继续参与配体的内吞[15]。研究发现,大黄多糖可以升高小鼠腹腔巨噬细胞表面 MR 的活性,黑灵芝多糖可以升高小鼠腹腔巨噬细胞表面 MR 的表达[16]。因研究发现 APS 可以与 Kupffer 细胞的 MR 结合,MR 的表达水平与 APS 对 MDSCs 生物学功能的调控呈正相关,因此本研究首先检测了 APS 对腹腔巨噬细胞 MR 表达的影响。结果显示 APS 体外、体内均可降低巨噬细胞、M2 型巨噬细胞 MR 的表达和 MR mRNA 水平,推测 APS 可能通过与 MR 结合后,下调巨噬细胞 MR 的表达,其详细机制将进一步探讨。

巨噬细胞具有显著的异质性,具有动态的功能和表型[6]。巨噬细胞在受到环境信号、细胞因子等刺激时,会产生特定的表型[17]。APS 能够将 RAW264.7 细胞系分化的 M1 型巨噬细胞重新极化为 M2 型巨噬细胞。APS 可以抑制 LPS 诱导的 M1 型巨噬细胞释放白细胞介素 6、肿瘤坏死因子-α 等促炎因子,同时上调 M2 型巨噬细胞抗炎因子 IL-10、ARG-1 的表达[18-19]。前期研究发现 APS 对 MDSCs 分化和功能的调控作用与其细胞表面 MR 的表达水平成正相关[14],这可推测 APS 与 MR 结合后,可能对巨噬细胞分化和功能也具有调控作用。除 MR 外,CD163 也是 M2 型巨噬细胞膜表面的主要标志物之一,它可参与巨噬细胞对病原体的结合和吞噬,并参与抗炎、抗氧化和免疫调节[20]。本研究发现,在体外诱导 BMDM 往 M2 型巨噬细胞分化的过程中,APS 虽然可抑制 M2 型巨噬细胞标志物 MR 的表达水平,但是可升高其另一标志物 CD163 的表达水平,同时 CD11b 和 F4/80 的表达水平也升高。这些结果可推测 APS 对 M2 型巨噬细胞的分化具有双向调控作用,其详细机制和 APS 对 M2 型巨噬细胞的其他表面标志物,如 CD200R 的影响,还需要继续探讨。

3.2 APS 对巨噬细胞形态的影响

研究表明,中药多糖可以通过影响巨噬细胞的形态而发挥免疫调节功能[21]。猪苓多糖处理后,巨噬细胞的形态发生显著的改变,细胞体积由小变大,细胞形态由长梭形变成椭圆形,细胞贴壁能力减弱[22]。木犀草素可以使 RAW264.7 极化的 M1 型巨噬细胞体积变小[20]。APS 可以使 RAW264.7 系分化的 M1 型巨噬细胞的伪足减少,细胞呈现多角形[19]。本研究发现 APS 使 M2 型巨噬细胞由大多呈梭形且有伪足变为大多为类圆形或不规则且少数细胞有伪足。这些结果可表明 APS 可影响巨噬细胞的形态,但其详细机制需要进一步探讨。

3.3 APS 诱导 M2 型巨噬细胞凋亡

植物多糖是天然植物的提取物,具有一定的生物相容性以及较低的毒副作用[23]。植物多糖对细胞的毒性一般取决于多糖的种类、浓度以及作用时间等。研究表明,木犀草素浓度达到一定值时,巨噬细胞收缩缓慢,并出现凋亡小体[20]。硒化当归多糖对腹腔巨噬细胞的安全浓度范围是 3.125~250.000 μg/mL[24]。本研究发现 160 μg/mL APS 仅对 M2 型巨噬细胞的早期凋亡有上调作用,而 320 μg/mL APS 对 M2 型巨噬细胞的早期凋亡和晚期凋亡均有促进作用。另外,在 APS 改变 M2 型巨噬细胞形态的研究中也发现 APS 高浓度(320 μg/mL)组的 M2 型巨噬细胞数量明显减少。这些结果意味着 APS 可以诱导 M2 型巨噬细胞凋亡并呈浓度依赖性,可提示 APS 的使用需要控制在一

定安全浓度范围内,其详细机制将继续探究。

3.4 APS 对 M2 型巨噬细胞功能的影响

巨噬细胞活化最显著的特征之一是吞噬活性的增加[25]。巨噬细胞的吞噬作用与多种受体有关,包括 MR、Dectin-1 以及清道夫受体等[26]。M2 型巨噬细胞可以通过增强吞噬作用发挥抗炎功能[27]。MR 参与先天免疫应答,能够识别具有共同特征的聚糖,参与病原体的吞噬作用,如 HIV 的包膜糖蛋白、酵母甘露聚糖、细菌荚膜等[28-29]。MR 与多糖结合后,可以增加巨噬细胞的吞噬活性[30]。研究表明,芦荟多糖与 MR 结合后,增加巨噬细胞的吞噬能力和内吞作用。芦荟多糖可以上调巨噬细胞表面 MHC-Ⅱ分子以及 IgGFc 段受体,从而增强巨噬细胞的抗原呈递能力以及清除抗体-抗原或抗体-肿瘤细胞复合体的能力[31]。研究表明,APS 增强了库普弗细胞的中性红吞噬作用,激活了库普弗细胞的免疫功能[4]。APS 增强了腹腔巨噬细胞对 FITC-大肠杆菌的吞噬作用。本研究结果表明 APS 可以升高巨噬细胞吞噬微球的能力,这与其它研究证明 APS 可以升高巨噬细胞吞噬能力的结果相一致[24]。但是有研究表明 APS 与 MR 结合后,降低了腹腔巨噬细胞对甘露糖化的牛血清白蛋白的吞噬作用,且呈剂量依赖性,这与 APS 和 MR 的结合有关,APS 结合了 MR 与聚糖结合的结构域,从而降低了 MR 与甘露糖化牛血清白蛋白的结合[32]。考虑到本研究发现 APS 可以抑制 M2 型巨噬细胞表达 MR,因此可推测 APS 可抑制 M2 型巨噬细胞吞噬具有糖基结构物质的能力,但对其吞噬颗粒性物质的能力具有上调作用,其详细机制需要进一步探讨。

M2 型巨噬细胞发挥抗炎作用的主要方式之一是通过分泌 ARG-1。ARG-1 是尿素循环的一种酶,能够降解 L-精氨酸,产生 L-鸟氨酸和尿素。研究表明,ARG-1 消耗 L-精氨酸可以抑制 T 细胞增殖。同时,研究发现产生的 L-鸟氨酸能够促进组织愈合[33]。在巨噬细胞中,ARG-1 的表达和功能受到多种因素的调节。有研究表明,巨噬细胞的形态会影响 ARG-1 的分泌。巨噬细胞的伪足伸展越长,ARG-1 的分泌水平则越高[34]。本研究发现 APS 可使 M2 型巨噬细胞 ARG-1 表达水平下降,加之 APS 也可使 M2 型巨噬细胞的形态大多变为类圆形且伪足变短,因此可推测 APS 下调 M2 型巨噬细胞 ARG-1 的表达与 APS 影响巨噬细胞的形态相关。由于 M2 型巨噬细胞能够分泌多种细胞因子,比如白细胞介素 10、转化生长因子 β 等,而本研究只检测了 APS 对 M2 型巨噬细胞分泌 ARG-1 的影响,也没有探究其可能涉及的分子机制,这些都将继续进行相关探究。

3.5 APS 下调 M2 型巨噬细胞 STAT6 信号通路

STAT6 是转录因子家族的一员,STAT6 通路的信号级联反应开始于细胞因子受体的参与[35]。STAT6 通路的激活需要其磷酸化,主要由 IL-4 和 IL-13 刺激,IL-4 与其受体结合后,STAT6 发生磷酸化,磷酸化的 STAT6 形成二聚体易位进入细胞核内,参与 M2 型巨噬细胞典型基因的转录,比如 MR、ARG-1 等[17,36]。研究表明,白头翁皂苷 A3 可以抑制 IL-4、IL-13 激活的巨噬细胞 STAT6 的磷酸化水平,并且同时下调了 MR 的表达[37]。木犀草素可以升高 STAT6 的磷酸化水平,并升高 MR 以及相关抗炎细胞因子的表达[20]。研究表明姜黄素处理组的 RAW264.7 细胞中 MR、ARG-1 的蛋白水平以及 STAT6 的磷酸化升高,用 STAT6 的抑制剂来氟米特处理后,MR、ARG-1 的 mRNA 以及蛋白水平显著降低。由此可知,来氟米特可以抑制姜黄素诱导的 MR、ARG-1 的上调,表明 STAT6 是 MR、ARG-1 上游调节因子[38]。这些研究都表明 STAT6 对 MR 和 ARG-1 的表达至关重要。本研究发现 APS 可降低 M2 型巨噬细胞 STAT6 的磷酸化水平。但因为本研究没有通过干预 STAT6 信号通路来确认 APS 是否通过调控 STAT6 来影响 M2 型巨噬细胞的分化和功能,所以只能推测 APS 抑制 M2 型巨噬细胞 MR 的表达,可能与其影响 STAT6 信号通路相关,其确切机制将继续探讨。

综上所述,APS 对 M2 型巨噬细胞的分化和功能均具有双向调控作用。即一方面,APS 可升高 M2 型巨噬细胞 CD163 的表达,但抑制 MR 的表达;另一方面,APS 可升高 M2 型巨噬细胞吞噬微球的能力,但又能改变其形态,降低其 ARG-1 的表达,并在高浓度时诱导其凋亡。这可能与 APS 可下调 STAT6 信号通路相关。这些结果为 APS 的免疫调节功能提供了新的机制,可为临床应用 APS 治疗和预防疾病提供新的理论依据。

参考文献:

[1] NAI J J, ZHANG C, SHAO H L, *et al*. Extraction, structure, pharmacological activities and drug carrier applications of *Angelica sinensis* polysaccharide[J]. Int J Biol Macromol, 2021, 183: 2337-2353. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.05.213.

[2] 余国庆, 陈晓明. 多糖免疫受体研究进展[J]. 温州医学院学报, 2012, 42(4): 396-401. DOI: 10.13771/j.cnki.33-1386/r.2012.04.004.
YU G Q, CHEN X M. Research progress of polysaccharide immune receptor[J]. J Wenzhou Med Coll, 2012, 42(4): 396-401. DOI: 10.13771/j.cnki.33-1386/r.2012.04.004.

[3] KIMS H, LEES W, PARKH J, *et al*. Anti-cancer activity of *Angelica gigas* by increasing immune response and stimulating natural killer and natural killer T cells[J]. BMC Complement Altern Med, 2018, 18(1): 218. DOI: 10.1186/s12906-018-2277-7.

[4] WANG J, XIAX Y, PENGR X, *et al*. Activation of the immunologic function of rat Kupffer cells by the polysaccharides of *Angelica sinensis*[J]. Acta Pharm Sin, 2004, 39(3): 168-171.

[5] RUYTINX P, PROOST P, VAN DAMME J, *et al*. Chemokine-induced macrophage polarization in inflammatory conditions[J]. Front Immunol, 2018, 9: 1930. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01930.

[6] ZHOU K W, CHENG T, ZHAN J Y, *et al*. Targeting tumor-associated macrophages in the tumor microenvironment[J]. Oncol Lett, 2020, 20(5): 234. DOI: 10.3892/ol.2020.12097.

[7] XIA T T, ZHANG M, LEI W, *et al*. Advances in the role of STAT3 in macrophage polarization[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1160719. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1160719.

[8] KADOMOTO S, IZUMI K, MIZOKAMI A. Macrophage polarity and disease control[J]. Int J Mol Sci, 2021, 23(1): 144. DOI: 10.3390/ijms23010144.

[9] CHENG Y X, SONG S Y, WU P Y, *et al*. Tumor associated macrophages and TAMs-based anti-tumor nanomedicines[J]. Adv Healthc Mater, 2021, 10(18): e2100590. DOI: 10.1002/adhm.202100590.

[10] BASHIR S, SHARMA Y, ELAHI A, *et al*. Macrophage polarization: the link between inflammation and related diseases[J]. Inflamm Res, 2016, 65(1): 1-11. DOI: 10.1007/s00011-015-0874-1.

[11] VANDER ZANDEH J P, NITSCHE D, SCHLAUTMANN L, *et al*. The mannose receptor: from endocytic receptor and biomarker to regulator of (meta)inflammation[J]. Front Immunol, 2021, 12: 765034. DOI: 10.3389/fimmu.2021.765034.

[12] CUMMINGSR D. The mannose receptor ligands and the macrophage glycome[J]. Curr Opin Struct Biol, 2022, 75: 102394. DOI: 10.1016/j.sbi.2022.102394.

[13] 宋之臻. 当归多糖肝靶向作用及保护急性肝损伤机理的研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2016.
SONG Z Z. The liver-specific targeting and Hepatoprotective mechanism research of Angelica Sinensis Polysaccharide on acute liver injury[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2016.

[14] SHEN J, ZHANG M Y, ZHANG K, *et al*. Effect of *Angelica* polysaccharide on mouse myeloid-derived suppressor cells[J]. Front Immunol, 2022, 13: 989230. DOI: 10.3389/fimmu.2022.989230.

[15] ZHU Y X, LI X M, SCHUCHMANE H, *et al*. Dexamethasone-mediated up-regulation of the mannose receptor improves the delivery of recombinant glucocerebrosidase to Gaucher macrophages[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2004, 308(2): 705-711. DOI: 10.1124/jpet.103.060236.

[16] 帅小雪, 李文娟, 刘丹凤, 等. 黑灵芝多糖对小鼠腹腔巨噬细胞甘露糖受体的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(23): 262-267. DOI: 10.7506/spkx1002-6630-201423051.
SHUAI X X, LI W J, LIU D F, *et al*. Effect of polysaccharides from *Ganoderma atrum* on mannose receptor of mouse peritoneal macrophages[J]. Food Sci, 2014, 35(23): 262-267. DOI: 10.7506/spkx1002-6630-201423051.

[17] SICA A, MANTOVANI A. Macrophage plasticity and polarization: *in vivo* veritas[J]. J Clin Invest, 2012, 122(3): 787-795. DOI: 10.1172/JCI59643.

[18] CHEN Y, DUAN J A, QIAN D W, *et al*. Assessment and comparison of immunoregulatory activity of four hydrosoluble fractions of *Angelica sinensis in vitro* on the peritoneal macrophages in ICR mice[J]. Int Immunopharmacol, 2010, 10(4): 422-430. DOI: 10.1016/j.intimp.2010.01.004.

[19] 倪杰. 羌活醇、黄芩素、当归多糖对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞极化的影响[D]. 南京: 南京中医药大学, 2022.
NI J. Effects of notopterol, baicalin and Angelica polysaccharide on LPS-induced polarization of RAW264.7 cells[D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2022.

[20] WANG S X, CAO M, XU S H, *et al*. Luteolin alters macrophage polarization to inhibit inflammation[J]. Inflammation, 2020, 43(1): 95-108. DOI: 10.1007/s10753-019-01099-7.

[21] 李淑芳, 史天洁, 左绍远. 植物多糖免疫活性研究进展[J]. 安徽农业科学, 2020, 48(10): 16-18. DOI: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.10.004.
LI S F, SHI T J, ZUO S Y. Research progress in immune activity of plant poylsaccharides[J]. J Anhui Agric Sci, 2020, 48(10): 16-18. DOI: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.10.004.

[22] 谭庆龙, 周昌园, 刘春萍, 等. 猪苓多糖对人巨噬细胞形态及免疫功能的影响[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(5): 1891-1896.
TAN Q L, ZHOU C Y, LIU C P, *et al*. Investigation on the effects of *Polyporus* polysaccharides on morphological changes and immune function in human macrophages[J]. China JTraditChinMedPharm, 2018, 33(5): 1891-1896.

[23] 刘思扬, 陆雅琦, 海日汉, 等. 功能性植物多糖及其应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(21): 444-453. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021110234.
LIU S Y, LU Y Q, HAI R H, *et al*. Research progress on

plant functional polysaccharides and its application[J]. Sci Technol Food Ind, 2022, 43(21): 444-453. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021110234.

[24] GAO Z Z, LIU K H, TIAN W J, *et al*. Effects of selenizing *Angelica* polysaccharide and selenizing garlic polysaccharide on immune function of murine peritoneal macrophage[J]. Int Immunopharmacol, 2015, 27(1): 104-109. DOI: 10.1016/j.intimp.2015.04.052.

[25] WANG M C, JIANG C X, MA L P, *et al*. Preparation, preliminary characterization and immunostimulatory activity of polysaccharide fractions from the peduncles of *Hovenia dulcis*[J]. Food Chem, 2013, 138(1): 41-47. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.09.098.

[26] 赵丽, 金周雨, 荆波, 等. 多糖受体与巨噬细胞吞噬作用关系研究进展[J]. 食品科学, 2019, 40(21): 311-316. DOI: 10.7506/spkx1002-6630-20181127-309.
ZHAO L, JIN Z Y, JING B, *et al*. Recent progress in the relationship between polysaccharide receptor and macrophage phagocytosis[J]. Food Sci, 2019, 40(21): 311-316. DOI: 10.7506/spkx1002-6630-20181127-309.

[27] YUNNA C, MENGRU H, Lei W, *et al*. Macrophage M1/M2 polarization[J]. Eur J Pharmacol, 2020, 877: 173090. DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173090.

[28] 徐明. 甘露糖受体在免疫调节中的作用[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2002, 18(6): 673-675. DOI: 10.13423/j.cnki.cjcmi.002617.
XU M. The role of mannose receptor in immune regulation[J]. J Cell Mol Immunol, 2002, 18(6): 673-675. DOI: 10.13423/j.cnki.cjcmi.002617.

[29] BORGGREN M, JANSSON M. The evolution of HIV-1 interactions with coreceptors and mannose C-type lectin receptors[J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2015, 129: 109-140. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2014.10.004.

[30] 赖梦亭, 肖平, 方悦悦, 等. 中药多糖免疫调节作用机制研究进展[J]. 中草药, 2023, 54(10): 3337-3348. DOI:10.7501/j.issn.0253-2670.2023.10.031.
LAI M T, XIAO P, FANG Y Y, *et al*. Research progress on immune regulation mechanism of traditional Chinese medicine polysaccharide[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(10): 3337-3348. DOI:10.7501/j.issn.0253-2670.2023.10.031.

[31] LIU C, LEUNGM Y, KOONJ C, *et al*. Macrophage activation by polysaccharide biological response modifier isolated from *Aloe* vera L. var. chinensis (Haw.) Berg[J]. Int Immunopharmacol, 2006, 6(11): 1634-1641. DOI: 10.1016/j.intimp.2006.04.013.

[32] 郭振军, 刘莉, 张维璐, 等. 大黄、当归多糖对巨噬细胞甘露糖受体作用的研究[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2008,24(5): 514-516. DOI: 10.13423/j.cnki.cjcmi.004669.
GUO Z J, LIU L, ZHANG W L, *et al*. Study on the effect of rhubarb and *Angelica* polysaccharide on mannose receptor in macrophages[J]. Chin J Cell Mol Immunol, 2008, 24(5): 514-516. DOI: 10.13423/j.cnki.cjcmi.004669.

[33] MUNDER M. Arginase: an emerging key player in the mammalian immune system[J]. Br J Pharmacol, 2009, 158(3): 638-651. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2009.00291.x.

[34] MCWHORTERF Y, WANG T T, NGUYEN P, *et al*. Modulation of macrophage phenotype by cell shape[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(43): 17253-17258. DOI: 10.1073/pnas.1308887110.

[35] HUANG H, ZHENG Y Z, LI L F, *et al*. The roles of post-translational modifications and coactivators of STAT6 signaling in tumor growth and progression[J]. Future Med Chem, 2020, 12(21): 1945-1960. DOI: 10.4155/fmc-2020-0224.

[36] KARPATHIOU G, PAPOUDOU-BAI A, FERRAND E, *et al*. STAT6: a review of a signaling pathway implicated in various diseases with a special emphasis in its usefulness in pathology[J]. Pathol Res Pract, 2021, 223: 153477. DOI: 10.1016/j.prp.2021.153477.

[37] 范泽萍, 陈兰英, 刘鹏, 等. 白头翁皂苷 A3 通过 M2 型巨噬细胞提高人结肠癌 SW480 细胞对 5-FU 的化疗敏感性[J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(18): 1868-1875. DOI: 10.13286/j.1001-5213.2022.18.04.
FAN Z P, CHEN L Y, LIU P, *et al*. Effect of anemoside A3 in improving chemosensitivity of human colon cancer SW480 cells to 5-FU through M2 macrophages[J]. Chin J Hosp Pharm, 2022, 42(18): 1868-1875. DOI: 10.13286/j.1001-5213.2022.18.04.

[38] GAO S S, ZHOU J, LIU N, *et al*. Curcumin induces M2 macrophage polarization by secretion IL-4 and/or IL-13[J]. J Mol Cell Cardiol, 2015, 85: 131-139. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2015.04.025.

(**收稿**:2024-05-08;**修回**:2024-08-19)
(编辑 刘秋池)