

酸枣叶醇提物对小鼠巨噬细胞 M1 和 M2 型极化的影响

董建新¹, 刘晓光¹, 李晨曦¹, 祁雪慧¹, 朱毓永¹, 王 悅², 单梅华^{1*}

¹河北民族师范学院 生物与食品科学学院, 承德 067000; ²南开大学医学院, 天津 300071

摘要:为探究酸枣叶醇提物(jujube leaves alcohol extract, JLE)对 RAW264.7 细胞 M1 和 M2 型极化的影响。本研究分别采用 LPS 和 IL-4 将 RAW264.7 细胞诱导极化为 M1 和 M2 型巨噬细胞,CCK8 方法检测细胞存活率,Griess 法检测药物对 M1 型细胞释放 NO 的影响,RT-PCR 法检测药物对 M1 和 M2 型细胞标志基因表达的影响,划痕实验和 RT-PCR 法检测经药物处理的 M2 型巨噬细胞上清对 4T1 细胞迁移的影响。结果显示,酸枣叶醇提物可抑制 NO 的释放,下调 M1 型 IL-12p40、IL-1 β 、COX-2 和 M2 型 Arg1、CD206 的表达。并通过 M2 型巨噬细胞降低 4T1 细胞中 MMP-2、MMP-9 和 NF- κ Bp65 的 mRNA 水平,抑制 4T1 细胞的迁移。综上说明酸枣叶醇提物可抑制巨噬细胞 M1 和 M2 型极化,并通过 NF- κ B 通路抑制 4T1 细胞迁移。

关键词:酸枣叶醇提物;RAW264.7 细胞;M1 和 M2 型极化;细胞迁移

中图分类号:R966; R285

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)6-0961-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.6.008

Effect of jujube leaves alcohol extract on M1 and M2 polarization of mouse macrophages

DONG Jian-xin¹, LIU Xiao-guang¹, LI Chen-xi¹, QI Xue-hui¹, ZHU Yu-yong¹, WANG Yue², SHAN Mei-hua^{1*}

¹Department of Biology and Food Science, Hebei Normal University for Nationalities, Chengde 067000, China;

²School of Medicine, Nankai University, Tianjin 300071, China

Abstract: To explore the effect of jujube leaves alcohol extract (JLE) on M1 and M2 polarization of RAW264.7 cells. In this study, RAW264.7 cells were polarized into M1 and M2 macrophages by LPS or IL-4, respectively. CCK8 was used to detect the cell survival rate. Griess method was used to detect the effect of drugs on the release of NO in M1 macrophages. RT-PCR was used to detect the expression of M1 and M2 marker genes. Scratch test and RT-PCR were used to detect the migration of 4T1 cells treated by M2 macrophages culture supernatant. The results showed that the jujube leaves alcohol extract could inhibit the release of NO, down-regulate IL-12p40, IL-1 β and COX-2 in M1 macrophage and Arg1, CD206 in M2 macrophage. Further, it could reduce the mRNA level of MMP-2, MMP-9 and NF- κ Bp65 in 4T1 under the influence of M2 macrophages, and inhibit the migration of 4T1 cells. In conclusion, the jujube leaves alcohol extract can inhibit M1/M2 polarization of macrophages, and inhibit the migration of 4T1 cells through NF- κ B pathway.

Key words: jujube leaves alcohol extract; RAW264.7 cells; M1 and M2 polarization; cell migration

巨噬细胞是免疫系统中重要的组成成员,具有吞噬和抗原提呈等功能。根据不同活化方式及功能,巨噬细胞主要分为 M1 和 M2 两种表型^[1]。M1 型巨噬细胞又称经典活化的巨噬细胞,由 LPS 等诱导产生,高表达 NO 和 TNF- α ,是具有促炎效应的细

胞,可发挥免疫监视的作用。M2 型巨噬细胞又称替代活化型巨噬细胞,由 IL-4、IL-13 和一些细胞因子等诱导产生,高表达 Arg-1 和 CD206,是具有抑炎效应的细胞,在促进血管生成、肿瘤迁移侵袭等方面具有重要作用。近些年研究发现,多种天然药物可以介导巨噬细胞的 M1/M2 型极化,从而调控细胞的不同生理反应。

酸枣 (*Zizyphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chow) 为鼠李科枣属木本科植物。酸枣、酸枣仁和酸枣叶等产品都有很高的药用价

收稿日期:2020-03-06 接受日期:2020-05-28

基金项目:陕西省肿瘤精准医学重点实验室开放课题 (KLTPM-SX2019-A3); 河北省高等学校科学技术研究资助项目 (QN2019301); 承德市基础研究项目 (201903A047); 河北民族师范学院塞罕坝专项 (ZD2017004)

*通信作者 Tel:86-018830435163; E-mail: smeihsa2012@163.com

值^[2],其中酸枣仁在镇静、安神、抗血压等方面疗效显著,而酸枣叶的研究相对较少。黄酮类化合物具有良好的抗炎、抗肿瘤、抗氧化等功效^[3,4]。有文献报道,酸枣叶醇提物富含芦丁、槲皮素-3-O- α -L-(鼠李糖)(1→6) β -D-半乳糖等黄酮类物质^[5]。本研究探究酸枣叶醇提物对巨噬细胞M1/M2型极化的影响,以期验证酸枣叶的药用功效。充分探究酸枣叶的功能及作用机制,将有利于综合开发利用天然药物资源,为抗炎、抗肿瘤治疗提供新的策略。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞系

小鼠单核巨噬细胞系RAW264.7由南开大学医学院王悦教授实验室馈赠,小鼠乳腺癌细胞系4T1购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

1.1.2 实验药物与试剂

酸枣叶采自河北省承德市双桥区冯营子镇崔梨沟,酸枣叶醇提物由本校生物资源开发实验室提取,并用RPMI1640基础培养基配制为1 g/mL的储存液。胎牛血清(美国Gibco公司,批号:42F0266K);RPMI1640培养基(以色列BI公司,批号:01-100-1A);胰蛋白酶(以色列BI公司,批号:0032018);青霉素-链霉素(以色列BI公司,批号:1831739);脂多糖LPS(索莱宝,批号:L8880);IL-4(索莱宝,批号:P00207);CCK8试剂盒(碧云天,批号:C0042);第一链cDNA合成试剂盒(诺唯赞,批号:R111-01/02);NO试剂盒(南京建成,批号:A012-1-2);引物(上海生工)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

小鼠单核巨噬细胞RAW264.7和小鼠乳腺癌细胞4T1均使用添加10%胎牛血清、1%青霉素-链霉素的RPMI1640基础培养基培养,置于37℃、5%CO₂的培养箱中培养,取对数生长期的细胞进行后续试验。

1.2.2 CCK8法检测酸枣叶醇提物对RAW264.7 M1和M2型细胞的增殖影响

将RAW264.7细胞接种至96孔板,37℃5%CO₂培养。M1型:细胞分为对照组、M1模型组、M1加药组(浓度分别为1.6、3.2、6.4 mg/mL),每组设置三个复孔。M1模型组使用LPS处理12 h;加药组则药物预处理1 h,再LPS处理12 h。M2型:

细胞分为对照组、M2模型组、M2加药组(浓度分别为1.6和3.2 mg/mL)。M2模型组使用20 ng/mL的IL-4诱导培养48 h;加药组先用IL-4诱导36 h,再加入药物共培养12 h。上述分组处理完毕后,移除原培养基,加入含10% CCK8溶液的培养基,37℃孵育4 h,酶标仪检测450 nm波长处OD值,并计算不同处理组的细胞活力。实验重复三次。

$$\text{细胞存活率} = \frac{(\text{OD}_{\text{实验组}} - \text{OD}_{\text{空白组}})}{(\text{OD}_{\text{对照组}} - \text{OD}_{\text{空白组}})} \times 100\%$$

1.2.3 Griess法检测酸枣叶醇提物对RAW264.7 M1型细胞NO分泌的影响

将RAW264.7细胞以2×10⁵个/孔的密度接种至12孔板,分组处理同“1.2.2”。药物预处理1 h,LPS作用12 h后,收集细胞上清液,3 000 rpm离心20 min。取上清100 μL,使用Griess试剂盒测定各组NO含量,利用紫外分光光度计测定550 nm波长处的OD值。实验重复三次。

1.2.4 RT-PCR法检测酸枣叶醇提物对RAW264.7 M1和M2型细胞因子表达的影响

将RAW264.7细胞接种至12孔板,分组处理方式同“1.2.2”。用Trizol裂解细胞,提取各组细胞总RNA,逆转录得到cDNA,再以cDNA为模板进行PCR扩增。扩增产物在1.5%琼脂糖凝胶中电泳,GelRed染色后利用凝胶成像系统观察,并用ImageJ软件对电泳条带进行灰度分析。实验重复3次。采用β-actin为内参,M1型细胞目的基因为IL-12p40、IL-1β、COX-2,M2型细胞目的基因为Arg1和CD206。引物序列见表1。

1.2.5 细胞划痕实验检测酸枣叶醇提物对4T1细胞迁移能力的影响

1.2.5.1 条件培养基的制备

将RAW264.7细胞以2×10⁵个/孔的密度接种至12孔板,37℃5%CO₂培养。将细胞分为对照组、M2模型组、M2加药组(浓度分别为1.6和3.2 mg/mL)。对照组细胞仅用完全培养基培养;M2模型组细胞用含20 ng/mL的IL-4的完全培养基培养36 h后,再加入含IL-4的无血清培养基培养12 h;M2加药组细胞先用IL-4诱导培养36 h后,再加入药物与含IL-4的无血清培养基共培养12 h。收集各组细胞上清,3 000 rpm离心20 min,即可得到四组条件培养基(conditioned medium, CM)。收集的条件培养基可直接用于实验或保存于-80℃。

表 1 引物序列和产物长度

Table 1 Primer sequence and product length

基因 Gene	序列 Sequence(5'→3')	长度 Length (bp)
IL-12p40	F:AGCTGCCGTTCCCTCGTAGAGA R:AAAGCCAACCAAGCAGAAGA	772
IL-1 β	F:TGACGGACCCAAAAGATGA R:CTGCTGCGAGATTGAAGCT	1592
COX-2	F:GAAGTCTTGCTCTGGTCCT R:GCAATGCGGTCTGATACTGG	432
Arg1	F:AGAGACCACGGGACCTGGC R:GGGAGTCACCCAGGAGAACCC	350
CD206	F:GCTGAATCCCAGAAATTCCGC R:ATCACAGGCATACAGGGTGCAC	119
β -actin	F:CGTTGACATCCGTAAAGACCC R: AACAGTCCGCCTAGAAGCAC	281

1.2.5.2 划痕实验

将 4T1 细胞以 2×10^5 个/孔的密度接种至 12 孔板,37 °C 5% CO₂ 培养。待 4T1 细胞铺满后,用吸管尖端在 12 孔板底部轻划一条力度和角度一致、粗细均匀的直线,弃除原有培养基,用 PBS 洗两次。向各孔中加入添加 4% 血清的不同组别的条件培养基,置于细胞培养箱中培养。倒置显微镜下观察 0 和 12 h 的划痕距离并拍照,每样品随机选取 3 个视野,计算细胞迁移能力。

1.2.6 RT-PCR 法检测 4T1 细胞中 MMP-2、MMP-9 及 NF- κ Bp65 的表达变化

将 4T1 细胞以 2×10^5 个/孔的密度接种至 12 孔板,37 °C 5% CO₂ 培养 24 h 后,向各孔中加入添加 4% 血清的不同组别的条件培养基继续培养 24 h。收集细胞,提取总 RNA 进行 RT-PCR 的检测。实验重复 3 次。采用 β -actin 为内参,4T1 细胞目的基因为 MMP-2、MMP-9 以及 NF- κ Bp65。

1.2.7 统计学处理

应用 SPSS 19.0 软件进行统计学处理,显著性

水准 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 酸枣叶醇提物不影响 RAW264.7 M1 和 M2 型细胞的增殖

如图 1 显示,在对照组、LPS 诱导的 M1 模型组以及 1.6 ~ 6.4 mg/mL 浓度酸枣叶醇提物处理组中,RAW264.7 细胞存活率无明显变化($P > 0.05$) ; 在对照组、IL-4 诱导的 M2 模型组以及 1.6 ~ 3.2 mg/mL 浓度酸枣叶醇提物处理组中,细胞增殖不受影响($P > 0.05$)。可见,在上述浓度范围内,该药物无细胞毒性。

2.2 酸枣叶醇提物抑制 RAW264.7 M1 型细胞 NO 的释放

由图 2 可知,与对照组相比,LPS 诱导的 M1 模型组细胞中 NO 释放量明显上升($P < 0.05$)。与 M1 模型组相比,酸枣叶醇提物在 3.2 ~ 6.4 mg/mL 浓度范围内显著下调 NO 释放水平($P < 0.05$),而在 1.6 mg/mL 无统计学意义($P > 0.05$)。NO 释放量在 1.6 ~ 6.4 mg/mL 酸枣叶醇提物浓度范围内呈

表 2 引物序列和产物长度

Table 2 Primer sequence and product length

基因 Gene	序列 Sequence(5'→3')	长度 Length (bp)
MMP-2	F:GAATGCCATCCCTGATAACCT R:GCTTCCAAACTTCACGCTCTT	127
MMP-9	F:ACAGCCAACATGACCAAG R:TGCCACCAGGAACAGG	249
NF- κ Bp65	F:ACTGCCGGATGGCTACTAT R:TCTGGATTGCTGGCTAATGG	126
β -actin	F:CGTTGACATCCGTAAAGACCC R: AACAGTCCGCCTAGAAGCAC	281

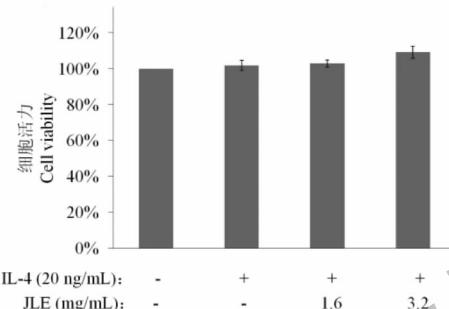
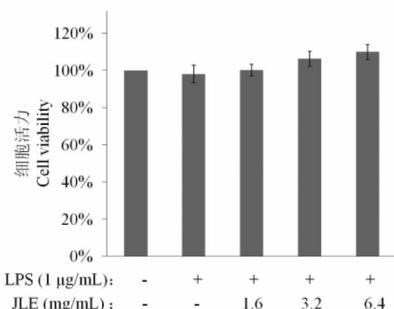


图 1 酸枣叶醇提物对 M1、M2 型巨噬细胞增殖的影响

Fig. 1 Effect of JLE on proliferation of M1 and M2 macrophages

现明显的浓度依赖性。

2.3 酸枣叶醇提物抑制 M1 型巨噬细胞极化

采用 RT-PCR 检测 RAW264.7 细胞中 M1 型细胞因子 IL-12p40、IL-1 β 和 COX-2 的表达。结果如图 3 所示,与对照组相比,LPS 诱导的 M1 模型组显著上调了上述基因的 mRNA 表达水平($P < 0.05$),不同浓度处理的酸枣叶醇提物则可以抑制 IL-12p40、COX-2 和 IL-1 β mRNA 表达($P < 0.05$)。并且 IL-12p40 和 COX-2 的表达在 1.6 ~ 6.4 mg/mL 酸枣叶醇提物浓度范围内存在剂量依赖关系,而 IL-1 β 的表达在最低浓度 1.6 mg/mL 就被完全抑制。

2.4 酸枣叶醇提物抑制 M2 型细胞因子表达

RT-PCR 检测 RAW264.7 细胞中 M2 型细胞因子 Arg1 和 CD206 的 mRNA 水平。结果表明,与对照组相比,IL-4 诱导的 M2 模型组中标志基因的表

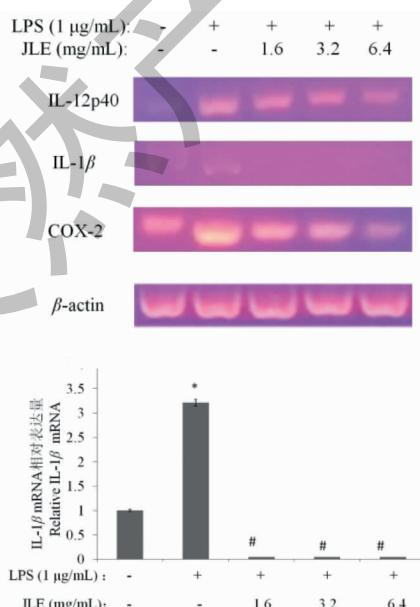


图 3 酸枣叶醇提物对 M1 型细胞因子 IL-12p40、IL-1 β 和 COX-2 表达的影响

Fig. 3 Effect of JLE on the expression of M1 cytokines IL-12p40, IL-1 β and COX-2

达显著上调($P < 0.05$),表示 M2 型巨噬细胞诱导成功;而加药组 Arg1 和 CD206 的表达均被显著抑

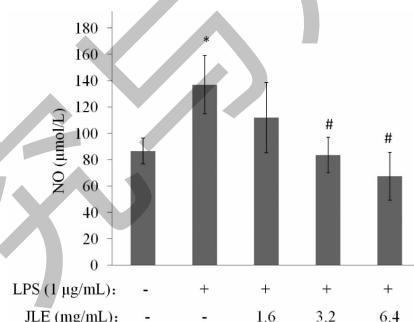
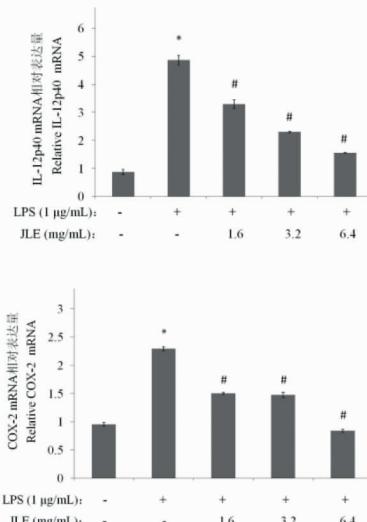


图 2 酸枣叶醇提物对 RAW264.7 细胞中 NO 释放的影响

Fig. 2 Effect of JLE on the release of NO in RAW264.7 cells
注:与对照组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, # $P < 0.05$ 。下同。

Note: Compared with control, * $P < 0.05$; Compared with model group, # $P < 0.05$. The same below.



制,且在 1.6~3.2 mg/mL 浓度范围内呈现出良好

的浓度依赖关系。

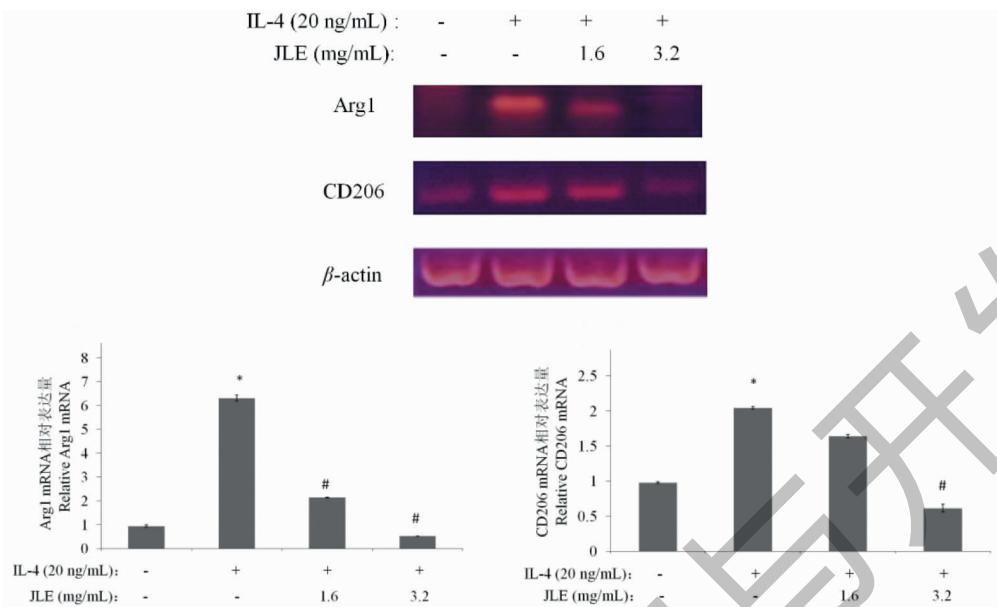


图 4 酸枣叶醇提物对 M2 型细胞标志基因 Arg1 和 CD206 表达的影响

Fig. 4 Effect of JLE on the expression of M2 marker gene Arg1 and CD206

2.5 酸枣叶醇提物通过 M2 型巨噬细胞抑制 4T1 细胞迁移

采用划痕实验检测 4T1 细胞迁移情况。图 5 中,与对照组相比,M2 型巨噬细胞上清处理 4T1 细

胞 12 h 时,划痕宽度明显变窄,细胞迁移能力显著增强($P < 0.05$);3.2 mg/mL 酸枣叶醇提物处理的 M2 型巨噬细胞上清则明显阻碍划痕的愈合,从而抑制 4T1 细胞的迁移能力($P < 0.05$)。

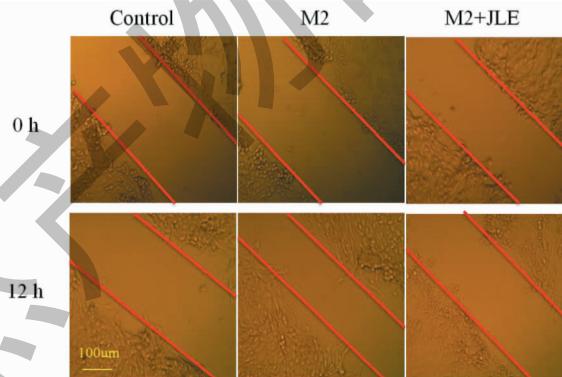


图 5 酸枣叶醇提物通过 M2 型巨噬细胞对 4T1 细胞迁移的影响

Fig. 5 Effect of JLE on 4T1 cell migration through M2 macrophages

2.6 酸枣叶醇提物通过 M2 型巨噬细胞抑制 4T1 细胞迁移相关基因的表达

RT-PCR 检测迁移相关基因的表达。如图 6 所示,与对照组相比,M2 型巨噬细胞上清处理 4T1 细胞 24 h 时,MMP-2 和 MMP-9 和 NF-κBp65 的 mRNA 表达量显著增加($P < 0.05$);而各剂量组的酸枣叶醇提物均可通过 M2 型巨噬细胞显著下调 MMP-2、MMP-9 和 NF-κBp65 mRNA 的表达($P < 0.05$),且

存在剂量依赖关系。

3 讨论

巨噬细胞具有较强的吞噬和抗原提呈等免疫功能,可在不同条件下被诱导分化成为 M1 型和 M2 型巨噬细胞。LPS 可以促进炎症因子的释放,同时启动 iNOS 转录,释放 NO,促使巨噬细胞向 M1 型极化^[6,7],从而介导巨噬细胞的炎症反应^[8,9]。本研究发现 M1 模型组的 IL-12p40、IL-1 β 和 COX-2 mRNA

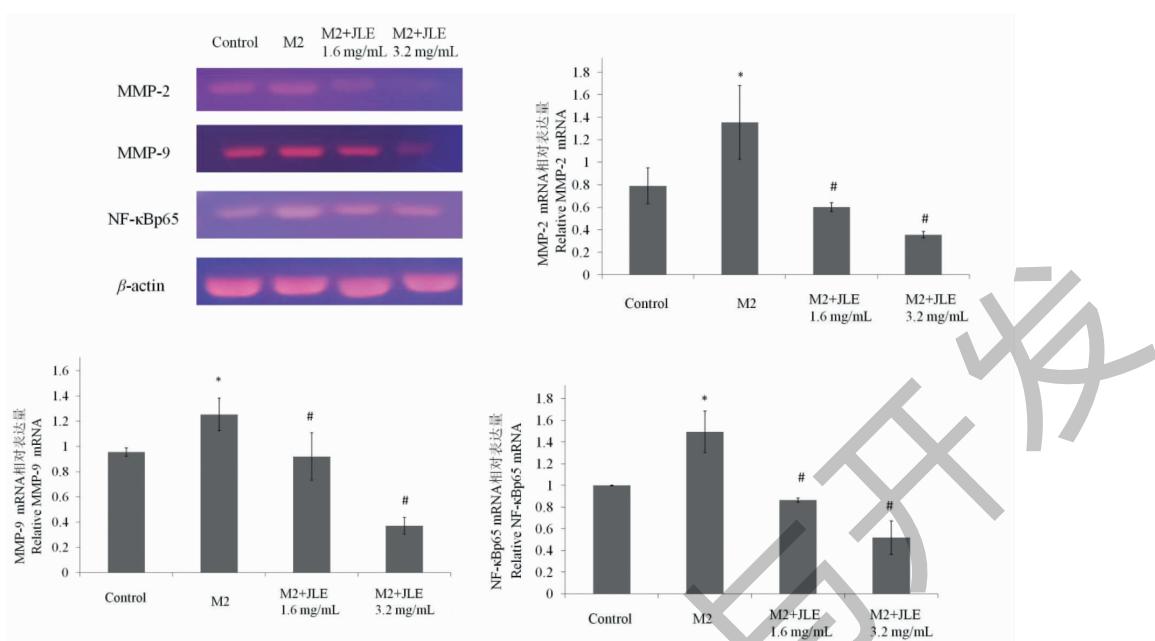


图 6 酸枣叶醇提物通过 M2 型巨噬细胞对 4T1 细胞中 MMP-2、MMP-9 和 NF-κBp65 mRNA 表达的影响

Fig. 6 Effect of JLE on the expression of MMP-2, MMP-9 and NF-κBp65 mRNA in 4T1 through M2 macrophages

表达量与对照组相比大幅度提升, NO 分泌量也显著增多。而 M1 加药组在 1.6 ~ 6.4 mg/mL 酸枣叶醇提物浓度范围内, 上述炎症因子的 mRNA 表达量和 NO 含量均呈现出不同程度的下降趋势, 表明酸枣叶醇提物可显著抑制巨噬细胞的 M1 型极化。

巨噬细胞经 IL-4、IL-10、肿瘤细胞相关因子等诱导可得到 M2 型巨噬细胞。其高表达精氨酸酶 I (Arg1)、甘露糖受体 (mannose receptor, MR/CD206) 等细胞因子, 可促进组织修复, 抑制肿瘤细胞生长转移等免疫过程^[10,11]。本实验结果表明 M2 模型组中标志基因 Arg1 和 CD206 的表达较对照组显著提升。而 M2 加药组在 1.6 ~ 3.2 mg/mL 酸枣叶醇提物浓度范围处理时, 二者的 mRNA 表达量均明显降低, 且呈现较好的浓度依赖性。表明该药物不仅可抑制 M1 型极化, 对 M2 型的诱导也有较强的抑制作用。

在肿瘤微环境中, M2 型巨噬细胞作为其中主要的基质细胞, 可以通过分泌多种细胞因子、趋化因子来促进肿瘤细胞的迁移侵袭^[12]。有研究表明多种天然药物可通过逆转 M2 型巨噬细胞的极化来抑制肿瘤细胞的迁移^[13]。本研究进一步从肿瘤微环境的角度, 探究酸枣叶醇提物通过调节巨噬细胞的极性对肿瘤细胞迁移的影响, 从而深入阐释酸枣叶醇提物的药用功效。M2 型巨噬细胞参与肿瘤转移的途径之一为: 释放多种基质金属蛋白酶 MMP-2、

MMP-9 等, 降解细胞外基质, 从而促进新生血管的建立, 参与肿瘤转移^[14]。MMP-2 和 MMP-9 在维持降解和重塑细胞外基质的动态平衡过程中发挥着重要作用^[15], 抑制 MMP 活性是肿瘤治疗的又一新靶点^[16]。MMP-2 和 MMP-9 是 NF-κB 信号通路下游相关蛋白。NF-κB 是细胞内重要的核转录因子, NF-κBp65 是该家族成员中重要的功能性亚单位^[17]。有许多研究报道 NF-κB 对肿瘤侵袭迁移非常重要, 其机制之一为转录调控迁移相关基因的表达^[18,19]。一些天然化合物如姜黄素和槲皮素, 可以靶向 NF-κB 的活性来抑制乳腺癌转移^[20]。本研究发现酸枣叶醇提物处理的 M2 型巨噬细胞上清可明显阻碍划痕的愈合, 显著抑制 4T1 细胞的迁移能力。其机制可能是通过抑制 NF-κB 信号通路来降低细胞迁移相关基因 MMP-2 和 MMP-9 的表达。

综上所述, 酸枣叶醇提物不仅能够抑制巨噬细胞的 M1 型极化, 具有良好的抗炎活性; 还可以抑制 M2 型细胞因子的表达, 调控 M2 型巨噬细胞极化, 并进而通过 NF-κB 信号通路阻滞 4T1 乳腺癌细胞的迁移。以上研究可以为酸枣叶作为保健、治疗药物提供可靠依据。

参考文献

- Li MZ, Shen LL, Qu X. Significance and progress of tumor-associated macrophages in tumor immunotherapy [J]. Lett

- Biotechnol(生物技术通讯),2018,29(4):558-563.
- 2 Shang LN,Fang YG,Zhao Q,et al. Development on *Zizyphus jujube* leaf chemical components and pharmacological effects of Semen Ziziphi Spinosae[J]. Med Res Edu(医学研究与教育),2017,34(2):62-69.
- 3 Wang Y,Wang QS,Luo H,et al. Effects of ar-turmerone on the migration,invasion and apoptosis of human squamous cell carcinoma A431 cells[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2019,31:870-877.
- 4 Seelinger G,Merfort I,Schempp CM. Anti-oxidant,anti-inflammatory and anti-allergic activities of luteolin[J]. Plant Med,2008,74:1667-1677.
- 5 Che Y,Zheng BQ,Teng YR,et al. Chemical constituents from the leaves of *Ziziphus jujuba* var. *spinosa*[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药),2012,34:686-688.
- 6 Xing J,Li R,Li N,et al. Anti-inflammatory effect of procyanidin B1 on LPS-treated THP1 cells via interaction with the TLR4-MD-2 heterodimer and p38 MAPK and NF- κ B signaling[J]. Mol Cell Biochem,2015,407(1/2):89-95.
- 7 Zhang Y,Zhang B,Xu DQ,et al. Tanshinone IIA attenuates seawater aspiration-induced lung injury by inhibiting macrophage migration inhibitory factor[J]. Biol Pharm Bull,2011,24:1052-1057.
- 8 Annunziata M,Valentina R,Lisa DM,et al. M1 and M2 macrophage recruitment during tendon regeneration induced by amniotic epithelial cell allotransplantation in ovine[J]. Res Vet Sci,2016,105:92-102.
- 9 Li XH. Study on anti-inflammation effect and mechanisms of rhein[D]. Beijing:Peking Union Medical College(中国协和医科大学),2010.
- 10 Buchacher T,Ohradanova-Repic A,Stockinger H,et al. M2 polarization of human macrophages favors survival of the intracellular pathogen chlamydia pneumonia[J]. PLoS One,2015,10(11):e0143593.
- 11 Nguyen KD,Qiu YF,Cui XJ,et al. Alternatively activated macrophages produce catecho-lamines to sustain adaptive thermogenesis[J]. Nature,2011,480(7375):104-108.
- 12 Wang RR,Liu H. Advances in research on tumor-associated macrophages as potential target of anti-tumor therapy[J]. Chin J Clin Oncol(中国肿瘤临床),2014,41:745-748.
- 13 Wang YL,Tan X,Yang XL,et al. Total flavonoid from Glycyrrhizae Radix et Rhizoma and its ingredient isoliquiritigenin regulation M2 phenotype polarization of macrophages[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志),2015,40:4475-4481.
- 14 Geng XQ. Research progress on the role of M2-type tumor-related macrophages in tumors and new ideas of tumor therapy[J]. Chin J Pract Intern Med(中国实用内科杂志),2014,34(S1):169-171.
- 15 Wu DR,Li H,Wang C,et al. Effects of growth differentiation factor 15-siRNA on proliferation,invasion and NF- κ B signaling pathway of human pituitary adenoma cells HPAs[J]. J Zhengzhou Univ:Med Sci(郑州大学学报:医学版),2019,54:681-684.
- 16 Jiang HF,Bai X,Niu HY,et al. Effects of daphnoretin on invasion and migration of A549 lung cancer cells[J]. Pract Pharm Clin Rem(实用药物与临床),2016,19(2):131-135.
- 17 Chen Z,Chang YW,Li ZZ,et al. Expression and significance of NF-kappa B,MMP-9,MICA in pituitary adenoma tissues[J]. Shandong Med J(山东医药),2015,55(3):1-4.
- 18 Huber MA,Beug H,Wirth T. Epithelial-mesenchymal transition:NF-kappaB takes center stage[J]. Cell Cycle,2004,3:1477-1480.
- 19 Han J,Li SY,Li Q,et al. IL-4 Activated macrophages promote Hela cell migration and invasion by producing CCL18[J]. J Sun Yat-sen Univ:Med Sci(中山大学学报:医学科学版),2017,38(1):49-55.
- 20 Xu XL,Tian CY,Geng YF,et al. Research progress on the mechanism of the nuclear factor B signaling pathway in the development and treatment of cervical and breast cancer[J]. Shandong Med J(山东医药),2019,59(18):99-103.