

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2014.03.003

· 基础研究 ·

T4 噬菌体诱导肿瘤相关巨噬细胞向 M1 型再极化

李焱, 于涛, 何琳, 惠林萍, 赵晨阳 (中国医科大学附属第四医院 中心实验室, 辽宁 沈阳 110032)

[摘要] **目的:** 观察 T4 噬菌体对 M2 型巨噬细胞向 M1 型再极化的诱导作用, 并检测再极化的 M1 型巨噬细胞诱导小鼠 Lewis 肺癌细胞凋亡和抑制其侵袭的作用效果。**方法:** 小鼠巨噬细胞 RAW264.7 经白细胞介素-4 (IL-4) 诱导为替代性活化巨噬细胞 (M2 型), 以 T4 噬菌体对 M2 型巨噬细胞再极化诱导; Real-time PCR 检测 IL-4 诱导极化及 T4 噬菌体再极化后巨噬细胞中 *IL-12*、*TNF- α* 、*Arg-1*、*TGF- β* 、*IL-10* 和 *iNOS* 基因 mRNA 的变化, Western blotting 检测巨噬细胞内 iNOS 和 Arg-1 蛋白表达变化, ELISA 法检测巨噬细胞培养上清中 IL-10 和 IL-12 的含量; 流式细胞术和 Transwell 法分别检测 T4 噬菌体再极化巨噬细胞诱导小鼠 Lewis 肺癌细胞凋亡和抑制其侵袭的作用效果。**结果:** RAW264.7 细胞经 IL-4 处理后被诱导成为 M2 型巨噬细胞, 其 *iNOS* 和 *IL-12* mRNA 表达分别下降为对照组的 1/2.5 和 1/6.2, 而 *Arg-1* 和 *IL-10* mRNA 表达分别增加了 161.2 和 120.3 倍。M2 型巨噬细胞经野生型和突变型 T4 噬菌体处理后, *IL-12*、*TNF- α* 、*iNOS* 在 mRNA 和蛋白水平均明显逆转上调, *IL-10*、*TGF- β* 、*Arg-1* 则明显逆转下调, 呈现 M1 型特征; 其中突变型 T4 噬菌体的诱导作用显著强于野生型。野生型和突变型 T4 噬菌体诱导 M1 再极化的巨噬细胞致小鼠 Lewis 肺癌细胞的凋亡率较 M2 型巨噬细胞显著增高 [(35.3 ± 2.44)%、(39.1 ± 2.08)% vs (4.68 ± 0.56)%; 均 $P < 0.01$], 同时, 显著抑制了肺癌细胞的侵袭能力 [侵袭细胞数: (43.8 ± 7.51)、(23.2 ± 4.33) 个 vs (177.5 ± 12.33) 个; 均 $P < 0.01$]。**结论:** T4 噬菌体能够诱导 M2 型巨噬细胞向 M1 型再极化, 并增强巨噬细胞诱导肿瘤细胞凋亡和抑制肿瘤细胞侵袭的能力。

[关键词] T4 噬菌体; 巨噬细胞; 极化; 肺癌; Lewis 细胞; 凋亡; 侵袭

[中图分类号] R734.2; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2014)03-0251-06

Re-polarization of tumor-associated macrophages to M1 macrophages induced by bacteriophage T4

Li Qin, Yu Tao, He Lin, Hui Linping, Zhao Chenyang (Central Laboratory, the Fourth Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110032, Liaoning, China)

[Abstract] **Objective:** To analyse T4 phage-induced M1 re-polarization of tumor-associated M2 type macrophages, and to evaluate the ability of re-polarized M1 macrophages on apoptosis and metastasis of mouse Lewis lung cancer cells *in vitro*. **Methods:** Mouse macrophage RAW264.7 cells were induced into M2 type macrophages by interleukin-4 (IL-4), which were subsequently induced to re-polarize with T4-bacteriophage. In both IL-4-induced M2 macrophages and T4 re-polarized-macrophages, mRNA levels of *IL-12*, *TNF- α* , *Arg-1*, *TGF- β* , *IL-10* and *iNOS* were analyzed by Real-time PCR, and protein levels of iNOS and Arg-1 were determined by Western blotting. The effect of T4-phage-induced re-polarization on the apoptosis and metastasis of Lewis lung cancer cells were evaluated by the flow cytometry and transwell assays, respectively. **Results:** RAW264.7 cells were successfully induced into an M2 phenotype with a significant increase in mRNA levels of *Arg-1* and *IL-10* (161.2 and 120.3 folds, respectively), together with a significant decrease in *iNOS* and *IL-12* mRNA levels (3.3 and 7.8 folds, respectively). Both wild-type and the soc-hoc-T4 bacteriophages effectively induce M1 re-polarization of M2 type macrophages, but the induction activity of the soc-hoc-T4 phages was significantly stronger than that of the wild-type ($P < 0.05$). Both wild-type and polarized M1 type macrophages more effectively induced apoptotic cell death ([35.3 ± 2.44]%, [39.1 ± 2.08]% vs [4.68 ± 0.56]%, $P < 0.01$) and suppressed the

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No. 81001028)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81001028)

[作者简介] 李焱 (1975 -), 男, 辽宁省沈阳市人, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事肿瘤防治的基础研究。E-mail: qinli75@hotmail.com

[通信作者] 李焱 (Li Qin, corresponding author), E-mail: qinli75@hotmail.com

[优先发表] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.3872/j.issn.1007-385X.2014.03.003.html>

invasive capability in Lewis lung cancer cells ($[43.8 \pm 7.51]\%$, $[23.2 \pm 4.33]\%$ vs $[177.5 \pm 12.33]\%$, $P < 0.01$), as compared with M2 macrophages. **Conclusion:** T4 bacteriophages can induce M1 re-polarization of M2 type macrophages, which results in an increase in apoptotic cell death and a decrease in invasive activity in Lewis lung cancer cells *in vitro*.

[**Key words**] T4 bacteriophage; macrophage; polarization; lung cancer; Lewis cell; apoptosis; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2014, 21(3): 251-256]

肿瘤组织中的免疫抑制以及肿瘤细胞对机体免疫监视的逃逸是目前肿瘤治疗面临的重要课题。炎症细胞、基质细胞与肿瘤细胞共同构成了肿瘤免疫抑制微环境,其中巨噬细胞是浸润最多的炎症细胞,在机体抗肿瘤免疫中发挥着重要的作用^[1]。肿瘤微环境中的巨噬细胞分为经典活化(M1)型和替代性活化(M2)型两种:M1型巨噬细胞具有抗肿瘤功能;M2型即是肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs),具有促进肿瘤细胞增殖和转移的作用^[2-4]。多个临床研究^[5-7]已经证实,多种恶性肿瘤组织中均含有较大数量的具有M2表型的TAMs,其水平与肿瘤患者预后呈负相关。寻找能够有效干预TAMs的形成或诱导其向M1型再极化的新方法或新药物,是当前抗肿瘤免疫治疗热点。

T4噬菌体是目前已知的最大的细菌病毒之一,在其基础上建立的噬菌体展示技术平台具有较好的抗肿瘤免疫治疗作用,但是T4噬菌体对肿瘤免疫抑制微环境中TAMs的影响尚未见报道。本研究通过比较野生型及突变型T4噬菌体诱导TAMs分泌表达炎症细胞因子的作用,评价T4噬菌体对TAMs的再极化作用,观察再极化后的巨噬细胞对小鼠Lewis肺癌细胞增殖和侵袭的影响,为寻找干预TAMs促进其向M1型再极化的新方法作一基础性探索。

1 材料与方法

1.1 噬菌体、细胞株及主要试剂

野生型及Hoc/Soc衣壳蛋白缺失突变型(简称突变型)T4噬菌体由Catholic University of America噬菌体实验室提供。小鼠巨噬细胞RAW264.7和小鼠Lewis肺癌(LLC)细胞购自中科院上海细胞库。IL-4购自美国Perprotech公司,LPS购自美国Sigma公司,细胞总RNA提取及cDNA合成试剂盒购自天根生化科技有限公司。Real-time PCR试剂盒购自Invitrogen公司,引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。RPM 1640培养基、胎牛血清、Trypsin购自美国Hyclone公司,蛋白裂解液和BCA蛋白浓度测定试剂盒均购自碧云天生物技术研究所,兔抗鼠iNOS和Arg-1多克隆抗体购自美国

Santa Cruz公司, β -actin抗体及HRP标记二抗购自中杉金桥生物技术有限公司,ECL化学发光试剂盒购自美国Pierce公司,IL-10、IL-12的ELISA检测试剂盒购自美国R&D公司,Annexin/PI凋亡检测试剂盒购自南京凯基生物科技发展有限公司,Transwell小室购自美国Corning公司。

1.2 细胞培养

小鼠LLC细胞和巨噬细胞RAW264.7在含10%胎牛血清的DMEM培养基中置于37℃、5%CO₂及饱和湿度的培养箱中培养,用0.05%胰酶消化后传代。

1.3 IL-4对RAW264.7细胞的M2型诱导及T4噬菌体对其M1再极化的诱导

M2型RAW264.7巨噬细胞的诱导采用IL-4刺激法^[8]。原始RAW264.7细胞(以下简称M0型)以 1×10^6 /ml密度铺于6孔板内,贴壁培养24h后,按照下述方法设计各实验及对照组,每组设3个平行孔。IL-4诱导组:M0型巨噬细胞中加入20 ng/ml IL-4处理36h;噬菌体处理组:IL-4处理M0型巨噬细胞24h后加入 2×10^8 /ml的野生型或突变型T4噬菌体处理12h;空白对照组:M0型巨噬细胞加入等体积培养基培养36h;阳性对照组:IL-4诱导M0型巨噬细胞24h后加入1 μ g/ml的LPS,处理12h。上述各组细胞经处理后,以PBS洗3次后收集细胞。实验重复3次。

1.4 Real-time PCR检测不同处理因素诱导对巨噬细胞相关基因mRNA表达的影响

各组细胞总RNA提取及cDNA合成按照天根生化科技有限公司RNAsimple试剂盒和TIANscript cDNA第一链合成试剂盒进行,获得cDNA后直接进行Real-time PCR检测或储存于-20℃备用。Real-time PCR采用SYBR荧光法以检测不同处理因素诱导后巨噬细胞各基因mRNA表达水平,引物序列见表1。反应条件为95℃培养10s,95℃变性5s、退火20s,72℃延伸10s,共45个循环;以GAPDH为内参照。目的基因mRNA表达水平采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式计算。实验重复3次。

表 1 Real-time PCR 引物序列
Tab. 1 Sequences of Real-time PCR primers

Gene	Primer sequence (5'-3')	Length (bp)	Genebank ID
<i>IL-12</i>	GGAAGCACGGCAGCAGAATA	180	NM_008352.2
	AACTTGAGGGAGAAGTAGGAATGG		
<i>TNF-α</i>	AAAATTCGAGTGACAAGCCTGTAG	181	NM_013693.3
	CCCTTGAAGAGAACCTGGGAGTAG		
<i>Arg-1</i>	CAGAAGAATGGAAOAGTCAG	250	NM_007482.3
	GGTGACTCCCTGCATATCTG		
<i>TGF-β</i>	CACAGTACAGCAAGGTCCTTGC	106	NM_011577.1
	AGTAGACGATGGGCAGTGGCT		
<i>IL-10</i>	GGTTGCCAAGCCTTATCGGA	191	NM_010548.2
	ACCTGCTCCACTGCCTTGCT		
<i>iNOS</i>	CCCTTCCGAAGTTTCTGGCAGCAGC	497	NM_010927.3
	CCAAAGCCACGAGGCTCTGACAGCC		
<i>GAPDH</i>	TGAAGCAGGCATCTGAGGG	210	NM_008084.2
	CGAAGGTGGA AGAGTGGGAG		

1.5 Western-blotting 检测巨噬细胞内 iNOS 和 Arg-1 蛋白的表达

对照组、IL-4 诱导组及噬菌体处理组细胞总蛋白提取及蛋白浓度测定按照试剂盒操作说明书进行。70 μg 总蛋白经 SDS-PAGE 分离后电转移至 PVDF 膜上,脱脂牛奶封闭 2 h,一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,TBST 洗涤 3 次,辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育 2 h,TBST 洗涤 3 次,加入 ECL 试剂发光显影。实验重复 3 次。

1.6 ELISA 法检测各组细胞培养上清液中 IL-10 和 IL-12 的含量

采用双抗体夹心 ELISA 法,按试剂盒说明书进行操作,检测各组细胞培养上清液中 IL-10 和 IL-12 的含量。每组设 6 个平行孔,实验重复 3 次。

1.7 Transwell 法检测再极化的 M1 型巨噬细胞对肿瘤细胞凋亡和侵袭能力的影响

M1 型再极化巨噬细胞与肿瘤细胞的共培养按照文献^[9]采用 Transwell 小室法进行,实验重复 3 次。下室接种 LLC 细胞 2×10^5 个,待细胞贴壁后在上室接种 3 倍于 LLC 细胞的对照组、IL-4 诱导组以及 T4 噬菌体处理组巨噬细胞 (6×10^5 个),37 $^{\circ}\text{C}$ 共培养 48 h 后收集重悬下室细胞。(1)凋亡分析:采用流式细胞仪 Annexin V-FITC/PI 双标法,按照凋亡

检测试剂盒操作说明操作。(2)侵袭能力测定:上室加入以预冷的无血清 RPMI 1640 培养基稀释 Matrigel 约 100 μl ,室温放置 2 h 后,加入 100 μl 约 2.5×10^4 个用无血清 RPMI 1640 培养基重悬的细胞;下室加入 600 μl 10% 血清的 RPMI 1640 培养基,培养 24 h,吸除培养基后用 PBS 冲洗 3 次,4% 多聚甲醛室温固定 30 min,结晶紫染色 20 h,PBS 冲洗 3 次;用棉签把上室的 Matrigel 刷掉后干燥封片,在显微镜下照相并进行细胞计数。

1.8 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 19.0 统计软件,多组间比较采用方差分析(ANOVA),以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-4 诱导 RAW264.7 巨噬细胞向 M2 型极化

结果显示,IL-4 诱导后的 M0 型巨噬细胞中 *IL-12* 和 *iNOS* 基因 mRNA 水平分别下降为空白对照组的 1/6.2 和 1/2.5,而 *IL-10*、*Arg-1* 和 *TGF- β* mRNA 分别上调了 120.3、161.2 和 4.8 倍,*TNF- α* mRNA 无显著变化。结果表明,IL-4 诱导后,M0 型巨噬细胞表达较高的 *IL-10* 和 *Arg-1* mRNA,显著降低了 *IL-12* 和 *iNOS* mRNA 水平,表明 IL-4 诱导巨噬细胞从

M0 型向 M2 型极化成功。

2.2 T4 噬菌体处理改变 M2 型巨噬细胞中相关因子的表达

Real-time PCR 检测经噬菌体处理前后 M2 型巨噬细胞表型指标的变化。结果(图 1)显示,野生型或突变型 T4 噬菌体处理后, M2 型巨噬细胞 *IL-12* mRNA 水平较 IL-4 诱导组分别上调了 45.3 和 62.2 倍, *TNF- α* mRNA 水平上调了 25.7 和 44.1 倍, *iNOS* mRNA 水平上调了 21.2 和 29.3 倍, 而 *Arg-1* mRNA 表达下调至原来的 1/3.1 和 1/5.2, *IL-10* mRNA 下调至 1/2.5 和 1/5, *TGF- β* mRNA 水平分别下降至 1/0.4 和 1/0.3。上述细胞因子基因表达的变化表明,野生型和突变型 T4 噬菌体均有效地诱导 M2 巨噬细胞向 M1 型的再极化,其中突变型噬菌体的诱导作用显著优于野生型噬菌体。

Western blotting 检测结果(图 2A)显示,与 IL-4 诱导组噬菌体比较,突变型 T4 噬菌体及野生型 T4 噬菌体处理组巨噬细胞 Arg-1 蛋白的表达量均显著降低[(35.6 ± 2.34)、(42.8 ± 1.28) vs (79.4 ± 7.20), 均 $P < 0.01$], 而 iNOS[(96.6 ± 3.12)、(80.2 ± 1.58) vs (37.2 ± 1.24), 均 $P < 0.01$] 表达水平显著增加。ELISA 法检测巨噬细胞表型重要指

标 IL-10 和 IL-12 的蛋白表达结果(图 2B)显示, IL-4 处理巨噬细胞能够显著降低 IL-12 的表达,同时诱导增加 IL-10 的表达。而 T4 噬菌体,特别是突变型噬菌体能够逆转 IL-4 造成的这种变化,促进 IL-12 的分泌表达,并降低 IL-10 的表达。

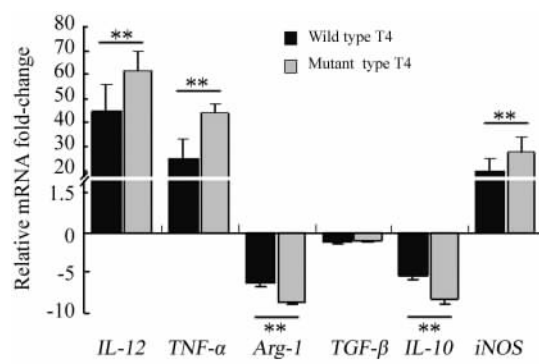


图 1 野生型及突变型 T4 噬菌体诱导巨噬细胞向 M1 表型再极化后相关细胞因子基因 mRNA 水平变化($n = 3$)
Fig. 1 Relative mRNA fold-change of cytokine genes in M1-repolarized macrophage cells treated with wild-type or mutant T4 bacteriophages($n = 3$)

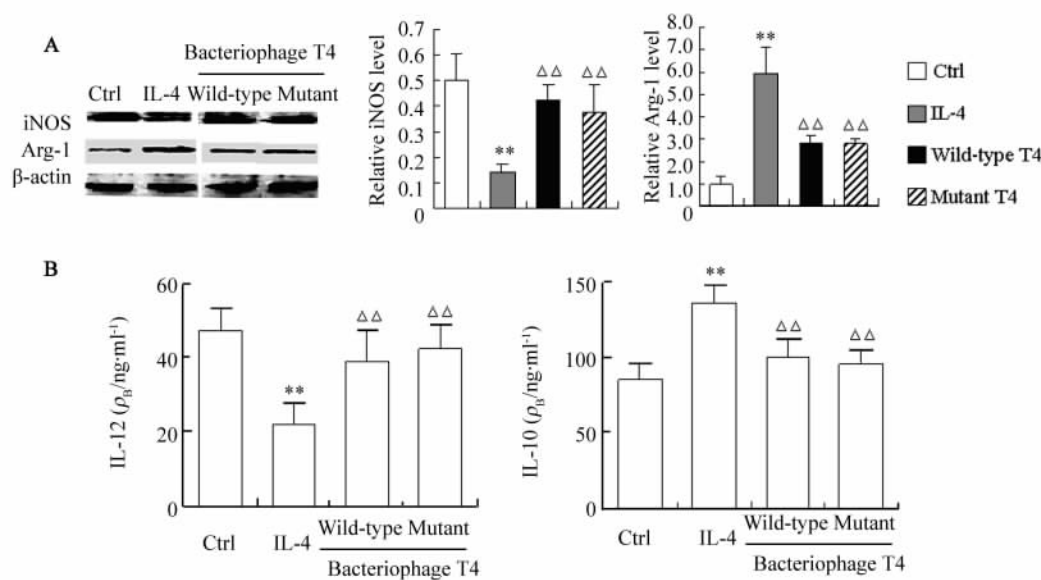


图 2 野生型及突变型 T4 噬菌体诱导巨噬细胞向 M1 再极化后相关表型蛋白 iNOS、Arg-1 (A) 和 IL-10、IL-12 (B) 水平的变化($n = 3$)

Fig. 2 Changes of the relative expression level of iNOS, Arg-1 (A) and IL-10, IL-12 (B) in M1-repolarized macrophage cells treated with wild-type or mutant T4 bacteriophages

** $P < 0.01$ vs Ctrl group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs IL-4 treated group($n = 3$)

2.3 T4 噬菌体诱导再极化的 M1 巨噬细胞明显促进小鼠 LLC 细胞的凋亡

流式细胞术检测结果(图 3)显示,以未经任何处理的 LLC 细胞作为对照组,其自发凋亡率为 $(6.16 \pm 1.38)\%$,IL-4 诱导 M2 型巨噬细胞共培养组 LLC 细胞凋亡率为 $(4.68 \pm 0.56)\%$,经野生型及突变型 T4 噬菌体诱导再极化巨噬细胞共培养组 LLC 细胞凋亡率分别为 $(35.3 \pm 2.44)\%$ 和 $(39.1 \pm 2.08)\%$,说明经 T4 噬菌体诱导再极化后的 M1 巨噬细胞对肿瘤细胞的诱导凋亡作用较 IL-4 诱导组巨噬细胞明显增强(均 $P < 0.01$)。

2.4 T4 噬菌体诱导 M1 再极化巨噬细胞明显抑制 LLC 细胞的侵袭能力

Transwell 侵袭实验结果(图 4)显示,经野生型及突变型 T4 噬菌体诱导再极化巨噬细胞共培养组 LLC 细胞穿过人工基底膜 Matrigel 和微孔膜的细胞数较单纯 LLC 细胞对照组和 IL-4 诱导 M2 型巨噬细胞共培养组明显减少[(43.8 ± 7.51) 、 (23.2 ± 4.33) 个 *vs* (165.2 ± 11.08) 、 (177.5 ± 12.33) 个,均 $P < 0.01$],说明 T4 巨噬细胞诱导再极化 M1 型巨噬细胞可以降低 LLC 细胞的侵袭能力。

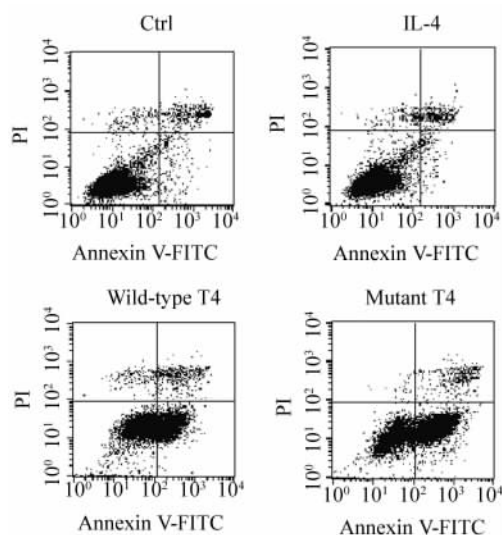


图 3 T4 噬菌体诱导再极化的 M1 巨噬细胞促进 LLC 细胞凋亡

Fig. 3 M1-repolarized macrophage cells induced by T4 bacteriophages treatment promote the apoptosis of LLC cells

3 讨论

恶性肿瘤的发生、发展、侵袭和转移是多因素共同参与的复杂过程,其中肿瘤细胞通过多种机制使

宿主免疫功能异常,从而逃避机体的免疫监视和杀伤,这是肿瘤转移和复发的主要机制之一。因此,通过有效干预手段增强免疫系统对肿瘤细胞的识别、杀伤能力,改善肿瘤微环境中处于免疫功能抑制状态的肿瘤浸润性树突状细胞及肿瘤相关巨噬细胞的功能,逆转肿瘤微环境中的免疫抑制效应,是当前肿瘤治疗和抗肿瘤药物研究的热点^[10]。

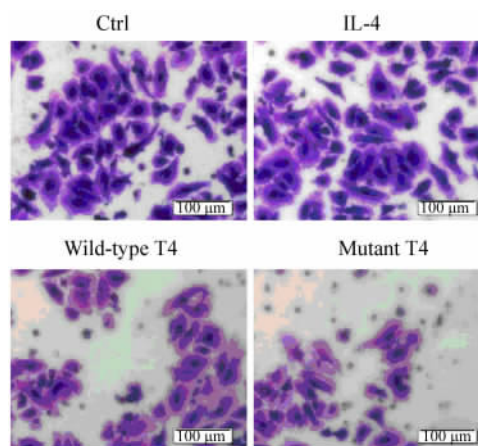


图 4 T4 噬菌体诱导 M1 表型再极化巨噬细胞降低小鼠肺癌 LLC 细胞的侵袭能力

Fig. 4 M1-repolarized macrophage cells induced by T4 bacteriophages treatment suppressed the invasion ability of mouse LLC cells

肿瘤微环境中的巨噬细胞主要分为 M1 和 M2 两种表型。M1 表现为 IL-10^{low} 和 IL-12^{high},同时高表达诱导型 iNOS 和 TNF,具有抗肿瘤活性;而 M2 型则表现为 IL-12^{low} 和 IL-10^{high},同时高表达 TGF- β 和 Arg-1 等标志物。通常 M2 型巨噬细胞具有较低的抗原提呈能力,并通过分泌免疫抑制性细胞因子介导肿瘤免疫逃逸。目前认为,在大多数恶性肿瘤中,TAMs 通常表现为 M2 表型,其促进肿瘤组织血管生成、参与肿瘤细胞浸润和侵袭、增加肿瘤的恶性程度。因此,TAMs 已经成为当前抗肿瘤生物治疗和免疫治疗的主要靶点。研究表明,M2 型巨噬细胞或 TAMs 具有一定的可塑性,在所处微环境改变或外界诱因如 LPS 或 IFN- γ 的刺激下可发生再极化,即由 M2 型向 M1 型分化^[8, 11],但巨噬细胞功能极化可塑性的分子机制目前尚不明确。

T4 噬菌体是目前已知的最大的细菌病毒之一,在其基础上建立的噬菌体展示技术平台具有较好的抗肿瘤免疫治疗作用。首先,T4 噬菌体能够直接与肿瘤细胞结合并影响肿瘤细胞整合素信号通路,抑

制肿瘤细胞侵袭和增殖^[12]。其次, T4 噬菌体还能够通过激活肿瘤微环境中的树突状细胞等免疫细胞, 逆转肿瘤微环境中的免疫抑制状态, 抑制肿瘤增殖^[13]。再次, T4 噬菌体作为化疗增敏剂在体内外模型中被证实具有增强化疗药物细胞毒作用的效果^[14]。最后, 以基因组敲除衣壳蛋白 HOC 和 SOC 基因突变型 T4 噬菌体为基础的展示技术平台也表现出较好的抗肿瘤效果^[15-16]。本实验的主要目的是研究 T4 噬菌体诱导 TAMs 或 M2 型巨噬细胞向具有肿瘤杀伤活性的 M1 表型再极化的作用效果, 检测诱导再极化后的巨噬细胞对肿瘤细胞凋亡诱导和抑制侵袭的能力。本研究首次发现 T4 噬菌体能够显著上调 M2 型巨噬细胞中 *IL-12*、*TNF- α* 和 *iNOS* 的表达, 同时下调 *Arg-1*、*TGF- β* 和 *IL-10* 的表达水平。同时, 还发现 LLC 细胞与经 T4 噬菌体再极化处理的巨噬细胞共培养后, 其侵袭能力较 M2 型噬菌体共培养组显著降低, 且肿瘤细胞的凋亡率显著提高。上述结果表明, 野生型和突变型 T4 噬菌体均具有诱导 M2 型巨噬细胞向 M1 型再极化的作用, 再极化的 M1 型具有显著诱导肿瘤细胞凋亡和抑制肿瘤细胞侵袭的作用。

本研究中另外一个有趣的发现是突变型 T4 噬菌体较野生型噬菌体具有更好的提升 M2 型巨噬细胞表达 *IL-12*、*TNF- α* 和 *iNOS* 等炎症因子的表达, 以及下调其 *IL-10* 和 *TGF- β* 等免疫抑制因子表达的生物活性; 突变型噬菌体诱导再极化的巨噬细胞较野生型诱导的巨噬细胞对小鼠 LLC 肺癌细胞具有更强的诱导凋亡和抑制侵袭能力。上述结果提示, 突变型 T4 噬菌体可能具有更佳的诱导 M2 巨噬细胞再极化的能力。尽管这一现象以及 T4 噬菌体诱导 M2 型巨噬细胞向 M1 表型再极化作用的分子机制还有待于从细胞形态学及表观遗传学角度进一步研究^[17], 但是深入开展以突变型 T4 噬菌体为基础的肿瘤细胞增殖抑制、化疗药物增敏以及其对肿瘤免疫细胞的活化作用等多方面的研究, 将为抗肿瘤免疫治疗药物的开发和肿瘤的综合治疗提供新的研究方向。

[参 考 文 献]

- [1] Mantovani A. Cancer: Inflaming metastasis [J]. Nature, 2009, 457(7225): 36-37.
[2] Mantovani A, Sozzani S, Locati M, et al. Macrophage polariza-

tion: Tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes [J]. Trends Immunol, 2002, 23 (11): 549-555.

- [3] 李康, 郭强, 王翠妮, 等. M1 和 M2 型巨噬细胞表型的比较分析 [J]. 现代免疫学, 2008, 28(3): 177-182.
[4] 孙涛, 葛春林. 肿瘤相关巨噬细胞的研究进展 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2011, 18(6): 686-691.
[5] Hiroshi K, Hiroyuki S, Yuko M, et al. Significance of M2-polarized tumor-associated macrophage in pancreatic cancer [J]. J Surgical Res, 2011, 167(2): e211-219.
[6] Sica A, Schioppa T, Mantovani A, et al. Tumour-associated macrophages are a distinct M2 polarized population promoting tumour progression: Potential targets of anti-cancer therapy [J]. Eur J Cancer, 2006, 42(6): 717-727.
[7] Luo Y, Zhou H, Krueger J, et al. Targeting tumor associated macrophages as a novel strategy against breast cancer [J]. Clin Invest, 2006, 116(8): 2132-2141.
[8] 杨琴, 张志仁, 姜曼, 等. 小鼠巨噬细胞功能极化可塑性的初步探讨 [J]. 免疫学杂志, 2013, 29(2): 104-109.
[9] 朱亚飞, 高国兰, 杨小荣. 巨噬细胞对卵巢癌细胞 SKOV3 生物学功能的影响 [J]. 现代妇产科进展, 2012, 21(2): 94-97.
[10] Eggermont AM. Therapeutic vaccines in solid tumors: Can they be harmful? [J]. Eur J Cancer, 2009, 45(12): 2087-2090.
[11] Coscia M, Quaglino E, Iezzi M, et al. Zoledronic acid repolarizes tumour-associated macrophages and inhibits mammary carcinogenesis by targeting the mevalonate pathway [J]. J Cell Mol Med, 2010, 14(12): 2803-2815.
[12] Dabrowska K, Opolski A, Wietrzyk J, et al. Anticancer activity of bacteriophage T4 and its mutant HAPI in mouse experimental tumour models [J]. Anticancer Res, 2004, 24(6): 3991-3995.
[13] Pajtasz-Piasecka E, Rossowska J, Dum D, et al. Bacteriophages support anti-tumor response initiated by DC-based vaccine against murine transplantable colon carcinoma [J]. Immunol Lett, 2008, 116(1): 24-32.
[14] Szczaurska-Nowak K, Dabrowska K, Celka M, et al. Antitumor effect of combined treatment of mice with cytostatic agents and bacteriophage T4 [J]. Anticancer Res, 2009, 29(6): 2361-2370.
[15] Ren S, Fengyu, Zuo S, et al. Inhibition of tumor angiogenesis in lung cancer by T4 phage surface displaying mVEGFR2 vaccine [J]. Vaccine, 2011, 29(34): 5802-5811.
[16] 李崧, 赵晨阳, 惠林萍, 等. 特异性杀伤肝癌细胞的噬菌体化疗药物载体的构建 [J]. 中国生物制品学杂志, 2013, 26(6): 829-833.
[17] McWhorter FY, Wang 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.

[收稿日期] 2014 - 03 - 01 [修回日期] 2014 - 04 - 25

[本文编辑] 阮芳铭