

TGF- β 1 对 M2 型巨噬细胞诱导淋巴瘤细胞增殖的影响

谢瑜¹, 黎承平¹, 武坤², 谭琳¹

(1. 昆明医科大学第一附属医院血液内科, 昆明 650032; 2. 昆明医科大学第一附属医院检验科, 昆明 650032)

【摘要】 目的 探讨转化生长因子 β 1 (TGF- β 1) 对 M2 型巨噬细胞诱导淋巴瘤细胞增殖的影响。**方法** 用 TGF- β 1 处理淋巴瘤细胞 Jiyoye, MTT 测定细胞增殖。用 M2 型巨噬细胞培养液上清处理淋巴瘤细胞, 同时给予 TGF- β 1 刺激, MTT 测定细胞增殖, Transwell 小室测定细胞迁移和侵袭, Western blot 测定基质金属蛋白酶-2 (MMP-2)、基质金属蛋白酶-9 (MMP-9)、增殖细胞核抗原 (PCNA)、细胞核增殖抗原 (Ki-67) 蛋白水平。**结果** TGF- β 1 作用后的淋巴瘤细胞增殖能力下降, 细胞侵袭数目、迁移数目明显降低, 细胞中 MMP-2、MMP-9、PCNA、Ki-67 蛋白水平降低, 与未处理的淋巴瘤细胞比较, 差异有显著性 ($P < 0.05$)。M2 型巨噬细胞培养液上清处理后的淋巴瘤细胞增殖能力升高, 细胞侵袭数目和迁移数目增多, 细胞中 MMP-2、MMP-9、PCNA、Ki-67 蛋白水平升高, 与未处理的淋巴瘤细胞比较, 差异有显著性 ($P < 0.05$)。淋巴瘤细胞经 M2 型巨噬细胞培养液上清和 TGF- β 1 处理后细胞增殖能力、细胞侵袭数目、细胞迁移数目及 MMP-2、MMP-9、PCNA、Ki-67 蛋白水平较单纯 TGF- β 1 处理的细胞相比明显升高, 较单纯 M2 型巨噬细胞培养液上清处理后的细胞相比明显降低, 差异有显著性 ($P < 0.05$)。**结论** TGF- β 1 可以降低巨噬细胞诱导淋巴瘤细胞增殖、侵袭和迁移, 作用机制与 MMP-2、MMP-9、PCNA、Ki-67 蛋白表达有关。

【关键词】 巨噬细胞; 淋巴瘤细胞; TGF- β 1; 增殖

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018) 06-0072-07

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.06.013

Effect of TGF- β 1 on the proliferation of lymphoma cells induced by M2 macrophages

XIE Yu¹, LI Chengping¹, WU Kun², TAN Lin¹

(1. Department of Hematology; 2. Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effect of TGF- β 1 on the proliferation of lymphoma cells induced by M2 macrophages. **Methods** TGF- β 1 was used to treat Jiyoye lymphoma cells, and MTT was used to determine the cell proliferation. Lymphoma cells were treated with M2 macrophage culture liquid supernatant and TGF- β 1. MTT assay was used to assess the lymphoma cell proliferation, Transwell assay was used to assess the cell migration and invasion, and Western blot was performed to determine the levels of MMP-2, MMP-9, PCNA and Ki-67 proteins. **Results** The lymphoma cells after TGF- α treatment showed that the proliferation ability, the number of invaded cells and the number of migrated cells, and the levels of MMP-2, MMP-9, PCNA and Ki-67 were significantly decreased, compared with the

untreated lymphoma cells ($P < 0.05$). After treated with the supernatant of M2 type macrophage culture supernatant, the proliferation ability of lymphoma cells, the number of invaded cells and migrated cells, the levels of MMP-2, MMP-9, PCNA and Ki-67 proteins were significantly increased, compared with the untreated lymphoma cells ($P < 0.05$). Compared with the lymphoma cells treated with culture medium supernatant of M2 macrophages alone, the lymphoma cells treated with TGF- β 1 and M2 macrophage culture medium supernatant showed that the proliferation ability, number of invaded and migrated cells, and the protein levels of MMP-2, MMP-9, PCNA and Ki-67 were significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusions** TGF- β 1 can reduce the proliferation, invasion and migration of lymphoma cells induced by macrophages. The mechanism of action is related to the expression of MMP-2, MMP-9, PCNA and Ki-67 proteins.

【Key words】 macrophages; lymphoma cells; TGF- β 1; proliferation

淋巴瘤是一种发生在造血系统的血液肿瘤,在全部的恶性肿瘤中约占 1.13%,肿瘤的发生除了与肿瘤细胞的生长有关以外,还与微环境有关,微环境包括基质细胞、白细胞等,其中巨噬细胞是白细胞的重要组成部分^[1-2]。巨噬细胞有 M1 和 M2 型,其中 M2 型巨噬细胞是目前公认的能够诱导淋巴瘤细胞增殖、侵袭、迁移的巨噬细胞^[3-4]。转化生长因子 β 1 (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1) 是具有多种功能的生长因子,人体内的几乎所有细胞都可以合成 TGF- β 1,其可以对细胞免疫功能、增殖等进行调控,并且与肿瘤的发生有关^[5-6]。目前的研究显示,TGF- β 1 对不同的肿瘤细胞的生长作用不同,并且 TGF- β 1 在癌症早期可以发挥抗肿瘤作用,而在癌症的中、后期发挥促进肿瘤发展的作用^[7]。研究表明,TGF- β 1 能够抑制淋巴瘤细胞增殖^[8]。本实验拟通过探讨 TGF- β 1 对巨噬细胞诱导淋巴瘤细胞增殖、侵袭、迁移的影响,为以后研究肿瘤的发病机制和寻找有效的治疗方法提供基础。

1 材料和方法

1.1 材料

人单核细胞 THP-1 和淋巴瘤细胞 Jiyoye 均购自于中科院细胞库。

1.2 主要试剂及仪器

二喹啉甲酸(bicinchoninic acid,BCA)蛋白浓度检测试剂盒购自碧云天研究所;RPMI1640 购自美国 Sigma;蛋白提取试剂盒购自德国 Qiagen;基质金属蛋白酶-9(matrix metalloprotease 9, MMP-9)抗体、增殖细胞核抗原(PCNA)抗体、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloprotease 2, MMP-2)抗体、细胞核增殖抗原(Ki-67)抗体购自于美国 CTS;辣根过氧化物标记的 IgG 购自于碧云天;胎牛血清购自于杭州四季青; β 肌动蛋白(β -actin)抗体购自于美国 Abcam;TGF- β 1 购自美国 Biovision;3K18 低温高速离心机

购自美国 Sigma;MK3 酶标仪、371 型 CO₂ 培养箱购自美国 Thermo。

1.3 实验方法

1.3.1 MTT 测定 TGF- β 1 对淋巴瘤增殖影响

淋巴瘤细胞 Jiyoye 培养于含有 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 中,将细胞种植于 96 孔板中(种植密度为每孔 4000 个细胞),并且在细胞中添加 TGF- β 1,使其最终浓度为 0、0.2、0.4、0.8、1.6 ng/mL。将细胞放在 37℃,5% CO₂ 培养箱培养 48 h。培养结束后,在每孔中依次添加 10 μ L 的 MTT,再继续孵育 4 h。把孔中的上清液吸除掉,再添加 150 μ L 的 DMSO。10 min 以后,酶标仪测定 540 nm 各组的 OD 值。分组情况如表 1。

表 1 各组分处理情况

Tab.1 Processing of the cells in each group	
分组 Groups	作用方式 Treatment of the lymphoma cells
0	0 ng/mL 的 TGF- β 1 处理淋巴瘤细胞 Treatment with 0 ng/mL TGF- β 1
0.2	0.2 ng/mL 的 TGF- β 1 处理淋巴瘤细胞 Treatment with 0.2 ng/mL TGF- β 1
0.4	0.4 ng/mL 的 TGF- β 1 处理淋巴瘤细胞 Treatment with 0.4 ng/mL TGF- β 1
0.8	0.8 ng/mL 的 TGF- β 1 处理淋巴瘤细胞 Treatment with 0.8 ng/mL TGF- β 1
1.6	1.6 ng/mL 的 TGF- β 1 处理淋巴瘤细胞 Treatment with 1.6 ng/mL TGF- β 1

1.3.2 巨噬细胞诱导分化及分组处理

THP-1 细胞培养于 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 中,在实验前用 M-CSF 将巨噬细胞诱导分化为 M2 型巨噬细胞。实验分为 Control、TGF- β 1、M2、M2 + TGF- β 1 共 4 组细胞。Control 为常规培养的 Jiyoye 细胞;TGF- β 1 为用 0.4 ng/mL 的 TGF- β 1 培养的 Jiyoye 细胞;M2 为用 M2 型巨噬细胞培养液上清培养的 Jiyoye 细胞;M2 + TGF- β 1 为用 M2 型巨噬细胞培养液上清培养的 Jiyoye 细胞,同时在培养液中添加 0.4 ng/mL 的 TGF- β 1。Control、TGF- β 1、M2、M2

+TGF- β 1 细胞按照上述方法分组处理以后,MTT 法测定 48 h 的增殖情况。诱导分化步骤如下^[9]:取约 7×10^6 个细胞接种到 T25 细胞瓶内,0 d 时在细胞培养液中添加 20 ng/mL 的 M-CSF,在第 5 天时用含有 20 ng/mL M-CSF、20 ng/mL IL-4、20 ng/mL IL-13、20 ng/mL IL-6 的培养液诱导分化。诱导分化共 9 d。

1.3.3 Transwell 小室测定侵袭和迁移

Jiyoye 细胞用不含血清的培养液悬浮,接种于 Transwell 小室中,按照 Control、TGF- β 1、M2、M2 + TGF- β 1 分组处理,另外在小室的下室中添加含血清的培养液。分别用基质胶湿化(侵袭)和无基质胶湿化(迁移)的孔径为 8 μ m 的 Transwell 小室按照上述方法处理,培养 48 h 以后,把上室取出,取棉签把上室中没有穿膜的细胞擦掉,然后置于甲醇溶液中固定 10 min,再用 0.1% 结晶紫染色以后,放在倒置显微镜下对穿膜的细胞进行统计,每组样品随机选 5 个视野。

1.3.4 Western blot 分析 MMP-2、MMP-9、PCNA、Ki-67 蛋白表达

Control、TGF- β 1、M2、M2 + TGF- β 1 细胞按照上述方法分组处理培养 48 h 以后,提取细胞总蛋白,用 BCA 法对蛋白定量。分别配制 10% 分离胶、5% 浓缩胶进行电泳。按照每孔添加 50 μ g 样品进行变性处理。80 V 的电压条件下电泳 30 min;120 V 的电压条件下电泳直到染料进入到凝胶底部。在 200 mA 恒流条件下把蛋白转移到硝酸纤维素膜上,转膜时间约为 60 min。取膜,用 5% 脱脂奶粉于室温环境封闭 1.5 h,在 1:600、1:600、1:800、1:800 稀释的 MMP-2、MMP-9、PCNA、Ki-67 一抗中 4 $^{\circ}$ C 孵育 12 h,再把膜放在 1:3000 稀释的二抗中室温孵育 2 h。用 ECL 发光以后,Image J 测定条带灰度值,以 β -actin 为内参。

1.4 统计学方法

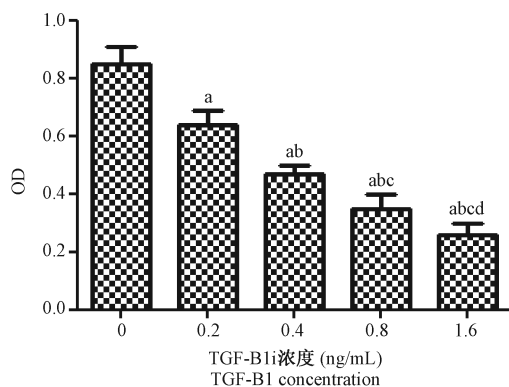
实验数据采用 SPSS 21.0 统计分析,计量资料以平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组差异比较采用单因素方差分析,组间比较采用 SNK-q 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 TGF- β 1 对淋巴瘤细胞增殖的影响

结果见图 1 中所示,用 0、0.2、0.4、0.8、1.6 ng/mL 浓度的 TGF- β 1 处理后的细胞 OD 值分别为:0.85 $\pm$ 0.06、0.64 $\pm$ 0.05、0.47 $\pm$ 0.03、0.35 $\pm$ 0.05、

0.26 $\pm$ 0.04。0、0.2、0.4、0.8、1.6 ng/mL 浓度的 TGF- β 1 处理后的细胞 OD 值比较,经单因素方差分析,差异具有显著性($P < 0.001$),0.2、0.4、0.8、1.6 ng/mL 浓度的 TGF- β 1 作用后的淋巴瘤细胞 OD 值明显低于 0 ng/mL ($P < 0.05$)。0.4、0.8、1.6 ng/mL 浓度的 TGF- β 1 作用后的淋巴瘤细胞 OD 值明显低于 0.2 ng/mL ($P < 0.05$)。0.8、1.6 ng/mL 浓度的 TGF- β 1 作用后的淋巴瘤细胞 OD 值明显低于 0.4 ng/mL ($P < 0.05$)。1.6 ng/mL 浓度的 TGF- β 1 作用后的淋巴瘤细胞 OD 值明显低于 0.8 ng/mL ($P < 0.05$)。TGF- β 1 可以抑制淋巴瘤细胞的增殖。TGF- β 1 对淋巴瘤细胞半数抑制浓度约为 0.4 ng/mL,所以采用 0.4 ng/mL 的 TGF- β 1 作后续实验。



注:与 0 ng/mL 相比,^a $P < 0.05$;与 0.2 ng/mL 相比,^b $P < 0.05$;与 0.4 ng/mL 相比,^c $P < 0.05$;与 0.8 ng/mL 相比,^d $P < 0.05$ 。

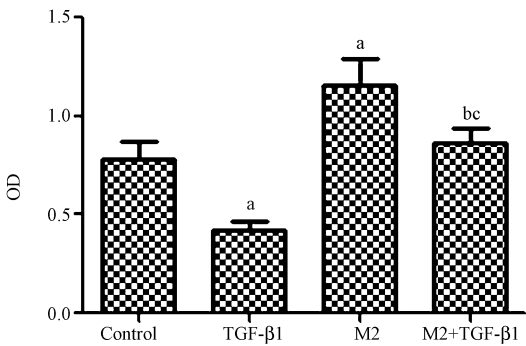
图 1 TGF- β 1 对淋巴瘤细胞增殖的影响

Note. Compared with 0 ng/mL treatment, ^a $P < 0.05$. Compared with 0.2 ng/mL treatment, ^b $P < 0.05$. Compared with 0.4 ng/mL treatment, ^c $P < 0.05$. Compared with 0.8 ng/mL treatment, ^d $P < 0.05$.

Fig. 1 Effect of TGF- β 1 on the proliferation of lymphoma cells

2.2 TGF- β 1 对巨噬细胞诱导淋巴瘤细胞增殖影响

结果见图 2 中所示,Control、TGF- β 1、M2、M2 + TGF- β 1 细胞 OD 值分别为:0.78 $\pm$ 0.09、0.42 $\pm$ 0.05、1.16 $\pm$ 0.13、0.86 $\pm$ 0.08。4 组细胞 OD 值比较差异有显著性($P < 0.001$),TGF- β 1 细胞 OD 值明显低于 Control ($P < 0.05$)。M2 细胞明显高于 Control ($P < 0.05$)。M2 + TGF- β 1 细胞 OD 值明显高于 TGF- β 1,并且低于 M2 ($P < 0.05$)。M2 型巨噬细胞诱导淋巴瘤细胞增殖,TGF- β 1 可以减弱 M2 型巨噬细胞对淋巴瘤细胞增殖的诱导作用。



注:与 Control 相比,^a*P* < 0.05;与 TGF-β1 相比,^b*P* < 0.05;与 M2 相比,^c*P* < 0.05。

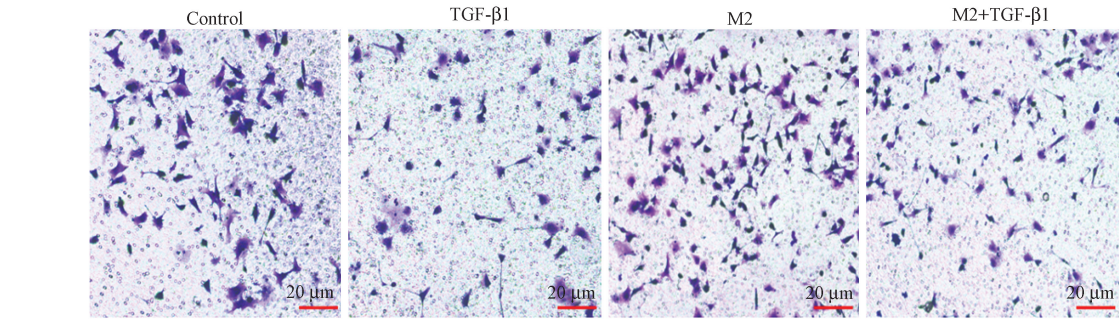
图2 TGF-β1 对巨噬细胞诱导的淋巴瘤细胞增殖影响

Note. Compared with the control group, ^a*P* < 0.05. Compared with the TGF-β1-treated group, ^b*P* < 0.05. Compared with the M2-treated group, ^c*P* < 0.05.

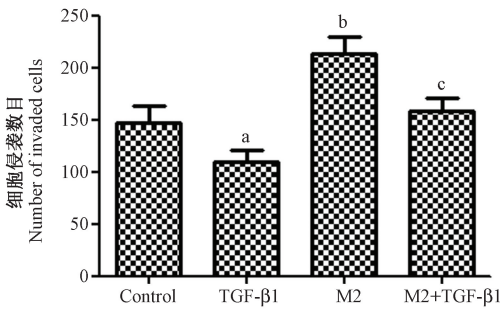
Fig.2 Effect of TGF-β1 on the proliferation of lymphoma cells induced by macrophages

2.3 TGF-β1 对巨噬细胞诱导的淋巴瘤细胞侵袭影响

图 3 所示, Control、TGF-β1、M2、M2 + TGF-β1



A



B

注:(A)Transwell 小室测定细胞侵袭结果;(B)各组细胞侵袭数目;与 Control 相比,^a*P* < 0.05;与 TGF-β1 相比,^b*P* < 0.05;与 M2 相比,^c*P* < 0.05。

图3 TGF-β1 对巨噬细胞诱导淋巴瘤细胞侵袭影响

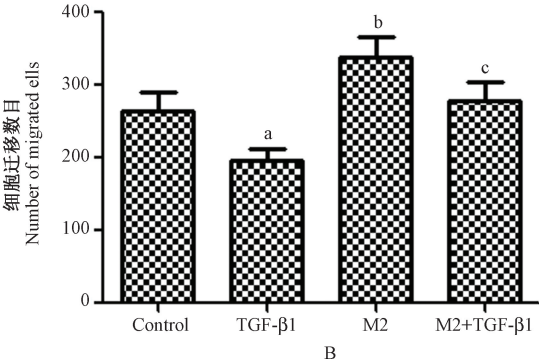
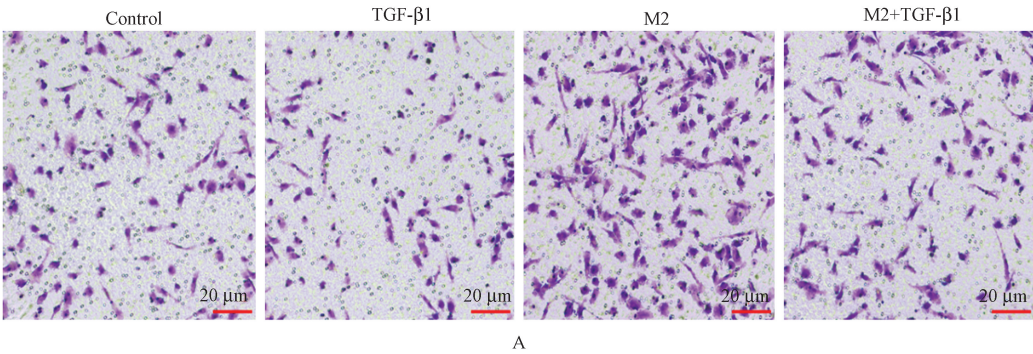
Note. (A)Transwell chamber for measuring cell migration. (B) Number of migrated cells in each group. Compared with the control group, ^a*P* < 0.05. Compared with the TGF-β1-treatment group, ^b*P* < 0.05. Compared with the M2-treated group, ^c*P* < 0.05.

Fig.3 Effect of TGF-β1 on the invasion of macrophage-induced lymphoma cells

细胞侵袭细胞数目分别为:147.28±13.92、110.35±10.64、213.92±16.79、158.67±13.26。4 组细胞侵袭细胞数目整体比较差异有显著性(*P* < 0.001), TGF-β1 侵袭细胞数目明显低于 Control (*P* < 0.05)。M2 侵袭细胞数目明显高于 Control (*P* < 0.05)。M2 + TGF-β1 侵袭细胞数目明显高于 TGF-β1,并且低于 M2(*P* < 0.05)。M2 型巨噬细胞诱导淋巴瘤细胞侵袭,TGF-β1 可以减弱 M2 型巨噬细胞对淋巴瘤细胞侵袭的诱导作用。

2.4 TGF-β1 对巨噬细胞诱导的淋巴瘤细胞迁移影响

图 4 所示, Control、TGF-β1、M2、M2 + TGF-β1 迁移细胞数目分别为:264.31±25.87、195.82±17.59、338.57±28.64、278.65±25.83。4 组迁移细胞数目整体比较差异有显著性(*F* = 16.723, *P* < 0.001), TGF-β1 迁移细胞数目明显低于 Control (*P* < 0.05)。M2 迁移细胞数目明显高于 Control (*P* < 0.05)。M2 + TGF-β1 迁移细胞数目明显高于 TGF-β1,并且低于 M2(*P* < 0.05)。M2 型巨噬细胞诱导淋巴瘤细胞迁移,TGF-β1 可以减弱 M2 型巨噬细胞对淋巴瘤细胞迁移的诱导作用。



注:(A)Transwell 小室测定细胞迁移;(B)各组细胞迁移数目;与 Control 相比,^a $P < 0.05$;与 TGF-β1 相比,^b $P < 0.05$;与 M2 相比,^c $P < 0.05$ 。

图 4 TGF-β1 对巨噬细胞诱导的淋巴瘤细胞迁移影响

Note. (A)Transwell chamber for measuring cell migration. (B)Number of migrated cells in each group. Compared with the control group, ^a $P < 0.05$. Compared with the TGF-β1-treated group, ^b $P < 0.05$. Compared with the M2-treated group, ^c $P < 0.05$.

Fig. 4 Effect of TGF-β1 on the migration of macrophage-induced lymphoma cells

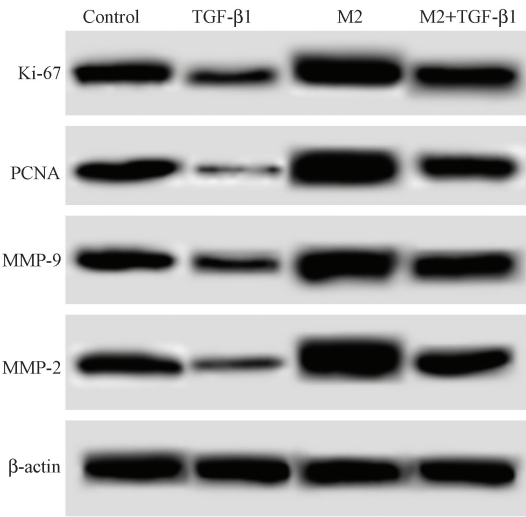


图 5 Western blot 法测定 TGF-β1 对巨噬细胞培养液上清作用后的淋巴瘤细胞中 MMP-2、MMP-9、PCNA、Ki-67 蛋白水平影响

2.5 TGF-β1 对巨噬细胞培养液上清作用后的淋巴瘤细胞中 MMP-2、MMP-9、PCNA、Ki-67 蛋白水平影响

图 5 和表 1 所示,TGF-β1 细胞中 MMP-2、MMP-9、PCNA、Ki-67 蛋白水平明显低于 Control ($P < 0.05$)。M2 细胞中 MMP-2、MMP-9、PCNA、Ki-67 蛋白水平明显高于 Control ($P < 0.05$)。M2 + TGF-β1 细胞中 MMP-2、MMP-9、PCNA、Ki-67 蛋白水平明显高于 TGF-β1,并且低于 M2 ($P < 0.05$)。M2 型巨噬细胞诱导淋巴瘤细胞表达 MMP-2、MMP-9、PCNA、Ki-67,TGF-β1 可以减弱 M2 型巨噬细胞诱导的淋巴瘤细胞表达 MMP-2、MMP-9、PCNA、Ki-67 作用。

3 讨论

肿瘤细胞的恶性增殖与肿瘤的发生有关,除此以为,肿瘤组织中还含有非肿瘤细胞,这些非肿瘤细胞主要由基质细胞、白细胞等组成,并且白细胞以巨噬细胞为主^[10]。巨噬细胞具有多向分化潜能,在不同的微环境下,巨噬细胞的功能、活化程度等

Fig. 5 Effect of TGF-β1 on the levels of MMP-2, MMP-9, PCNA and Ki-67 proteins in the lymphoma cells treated with supernatant of macrophage culture fluid. Results of Western blot assay

表 1 TGF-β1 对巨噬细胞培养液上清作用后的淋巴瘤细胞中 MMP-2、MMP-9、PCNA、Ki-67 蛋白水平影响

Tab.1 Effect of TGF-β1 on the levels of MMP-2, MMP-9, PCNA, Ki-67 proteins in the lymphoma cells after treated with supernatant of the macrophage culture medium

分组 Groups	MMP-2	MMP-9	PCNA	Ki-67
Control	0.92 ± 0.09	0.96 ± 0.10	0.98 ± 0.08	0.97 ± 0.09
TGF-β1	0.26 ± 0.03 ^a	0.38 ± 0.04 ^a	0.19 ± 0.02 ^a	0.41 ± 0.05 ^a
M2	1.51 ± 0.16 ^a	1.39 ± 0.12 ^a	1.32 ± 0.15 ^a	1.35 ± 0.13 ^a
M2 + TGF-β1	1.05 ± 0.11 ^{bc}	1.09 ± 0.13 ^{bc}	0.99 ± 0.08 ^{bc}	1.03 ± 0.16 ^{bc}

注:与 Control 相比,^a*P* < 0.05;与 TGF-β1 相比,^b*P* < 0.05;与 M2 相比,^c*P* < 0.05。
Note. Compared with the control group, ^a*P* < 0.05. Compared with the TGF-β1-treated group, ^b*P* < 0.05. Compared with the M2-treated group, ^c*P* < 0.05.

都不相同,巨噬细胞分为 M1 型、M2 型,其中 M2 型与肿瘤微环境密切相关^[11-14]。研究表明,M2 型巨噬细胞与乳腺癌、淋巴瘤、胰腺癌等患者的预后有关,M2 型巨噬细胞过多常常预示预后不良^[15-17]。M2 型巨噬细胞能够诱导恶性肿瘤细胞的增殖,诱导肿瘤的转移^[18-19]。本实验结果表明,M2 型巨噬细胞培养液上清处理后的淋巴瘤细胞增殖能力增加,细胞侵袭和迁移数目也增多,这与上述研究报道一致。

TGF-β1 具有多种调控作用,在不同的细胞中的作用不同,对细胞的增殖、分化等具有相互矛盾的双重作用,TGF-β1 对上皮细胞、造血细胞、淋巴样细胞等具有生长抑制作用,而对乳腺癌细胞具有增殖促进作用^[20-23]。TGF-β1 在肿瘤中表达,并且对于肿瘤的调控作用具有异质性,在同种肿瘤或者不同肿瘤的不同时期,其对细胞生长的作用不同^[24]。陈雨龙等^[25]的研究显示,TGF-β1 刺激卵巢癌 A2780 细胞以后,细胞在 570 nm 的 OD 值升高,细胞穿过 Transwell 小室膜的细胞数目增多,TGF-β1 诱导 A2780 细胞增殖、侵袭和迁移。李柱虎等^[8]用 TGF-β1 处理淋巴瘤细胞以后,淋巴瘤细胞的存活率降低,TGF-β1 抑制淋巴瘤细胞增殖。陈元仲等^[26]发现,外源性的 TGF-β1 可以降低白血病 HL-60 细胞的增殖能力。本实验结果显示,TGF-β1 处理后的淋巴瘤细胞增殖能力下降,细胞迁移和侵袭能力也下降,说明 TGF-β1 在淋巴瘤细胞中发挥抑制作用。本实验还进一步用 TGF-β1 处理 M2 型巨噬细胞诱导的淋巴瘤细胞增殖侵袭和迁移,发现 TGF-β1 可以抑制 M2 型巨噬细胞对淋巴瘤细胞的增殖、侵袭和迁移的诱导作用。

细胞外基质的主要成分为Ⅳ型胶原酶,而 MMP-2、MMP-9 分别是可以降解Ⅳ型胶原酶的非糖化和糖化形式,与肿瘤的转移密切相关^[27]。PCNA、Ki-67 是细胞增殖的标志蛋白,其表达水平升高后标志着细胞增殖活性增加^[28-29]。本实验表明,

TGF-β1 降低淋巴瘤细胞中 MMP-2、MMP-9、PCNA、Ki-67 蛋白表达,并且 TGF-β1 还可以抑制 M2 型巨噬细胞诱导的淋巴瘤细胞中 MMP-2、MMP-9、PCNA、Ki-67 蛋白表达,这与检测的细胞增殖、侵袭和迁移结果一致。

M2 型巨噬细胞诱导淋巴瘤细胞增殖、迁移和侵袭,而 TGF-β1 可以抑制 M2 型巨噬细胞对淋巴瘤细胞增殖、迁移和侵袭的作用,这对于以后研究肿瘤微环境在肿瘤的发生中的作用具有重要意义,本研究为以后探讨 TGF-β1 在淋巴瘤发病机制中的作用奠定了基础。本实验只在一株淋巴瘤细胞中进行了初步研究,在以后的实验中会在多株细胞中进行验证。

参考文献:

[1] Yahalom J, Illidge T, Specht L, et al. Modern radiation therapy for extranodal lymphomas: field and dose guidelines from the International Lymphoma Radiation Oncology Group [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2015, 92(1): 11 - 31.

[2] Kochenderfer JN, Dudley ME, Kassim SH, et al. Chemotherapy-refractory diffuse large B-cell lymphoma and indolent B-cell malignancies can be effectively treated with autologous T cells expressing an anti-CD19 chimeric antigen receptor [J]. J Clin Oncol, 2014, 33(6): 540 - 549.

[3] Kim HS, Ryu KJ, Ko YH, et al. Macrophage inflammatory protein 1 alpha (MIP-1α) may be associated with poor outcome in patients with extranodal NK/T-cell lymphoma [J]. Hematol Oncol, 2017, 35(3): 310 - 316.

[4] Rapino F, Robles EF, Richter-Larrea JA, et al. C/EBPα induces highly efficient macrophage transdifferentiation of B lymphoma and leukemia cell lines and impairs their tumorigenicity [J]. Cell Rep, 2013, 3(4): 1153 - 1163.

[5] Ghatak S, Markwald RR, Hascall VC, et al. Transforming growth factor β1 (TGF-β1) regulates CD44V6 expression and activity through extracellular signal-regulated kinase (ERK) - induced EGFR1 in pulmonary fibrogenic fibroblasts [J]. J Biol Chem, 2017, 292(25): 10465 - 10489.

[6] Yang J, Lu Y, Lin YY, et al. Vascular mimicry formation is promoted by paracrine TGF-β and SDF1 of cancer-associated

- fibroblasts and inhibited by miR-101 in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Lett*, 2016, 383(1): 18–27.
- [7] Cao MT, Liu HF, Liu ZG, et al. Curcumin downregulates the expression of Snail via suppressing Smad2 pathway to inhibit TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transitions in hepatoma cells [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(65): 108498–108508.
- [8] 李柱虎. TGF- β 1 对 Burkitt 淋巴瘤细胞增殖及 c-myc 表达的影响 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2006, 13(8): 589–591.
- [9] 彭卓颖, 丛喆, 李想, 等. 不同方法诱导 THP-1 细胞分化效果比较 [J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27(9): 1–6.
- [10] Plaks V, Kong N, Werb Z. The cancer stem cell niche: how essential is the niche in regulating stemness of tumor cells? [J]. *Cell Stem Cell*, 2015, 16(3): 225–238.
- [11] 江泽波, 赵晋, 李思明, 等. 猪苓多糖诱导 M2 亚型巨噬细胞向 M1 巨噬细胞转化 [J]. *中国免疫学杂志*, 2015, 31(8): 1049–1052.
- [12] Zhu Y, Knolhoff BL, Meyer MA, et al. CSF1/CSF1R blockade reprograms tumor-infiltrating macrophages and improves response to T-cell checkpoint immunotherapy in pancreatic cancer models [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(18): 5057–5069.
- [13] Mitchem JB, Brennan DJ, Knolhoff BL, et al. Targeting tumor-infiltrating macrophages decreases tumor-initiating cells, relieves immunosuppression, and improves chemotherapeutic responses [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(3): 1128–1141.
- [14] Chanmee T, Ontong P, Konno K, et al. Tumor-associated macrophages as major players in the tumor microenvironment [J]. *Cancers (Basel)*, 2014, 6(3): 1670–1690.
- [15] Tiainen S, Tumelius R, Rilla K, et al. High numbers of macrophages, especially M2-like (CD163-positive), correlate with hyaluronan accumulation and poor outcome in breast cancer [J]. *Histopathology*, 2015, 66(6): 873–883.
- [16] Wu X, Schulte BC, Zhou Y, et al. Depletion of M2-like tumor-associated macrophages delays cutaneous T-cell lymphoma development in vivo [J]. *J Invest Dermatol*, 2014, 134(11): 2814–2822.
- [17] Liu CY, Xu JY, Shi XY, et al. M2-polarized tumor-associated macrophages promoted epithelial-mesenchymal transition in pancreatic cancer cells, partially through TLR4/IL-10 signaling pathway [J]. *Lab Invest*, 2013, 93(7): 844–854.
- [18] Engström A, Erlandsson A, Delbro D, et al. Conditioned media from macrophages of M1, but not M2 phenotype, inhibit the proliferation of the colon cancer cell lines HT-29 and CACO-2 [J]. *Int J Oncol*, 2014, 44(2): 385–392.
- [19] Comito G, Giannoni E, Segura CP, et al. Cancer-associated fibroblasts and M2-polarized macrophages synergize during prostate carcinoma progression [J]. *Oncogene*, 2014, 33(19): 2423–2431.
- [20] 徐茜, 刘福安, 吴莺, 等. 转化生长因子- β 1 对乳腺癌细胞株增殖和 T 淋巴细胞免疫的影响 [J]. *中华实验外科杂志*, 2005, 22(6): 695–697.
- [21] Chen M, Lv Z, Huang L, et al. Triptolide inhibits TGF- β 1-induced cell proliferation in rat airway smooth muscle cells by suppressing Smad signaling [J]. *Exp Cell Res*, 2015, 331(2): 362–368.
- [22] Qi F, Cai P, Liu X, et al. Adenovirus-mediated P311 inhibits TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition in NRK-52E cells via TGF- β 1-Smad-ILK pathway [J]. *Biosci Trends*, 2015, 9(5): 299–306.
- [23] Kim YI, Ryu JS, Yeo JE, et al. Overexpression of TGF- β 1 enhances chondrogenic differentiation and proliferation of human synovium-derived stem cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 450(4): 1593–1599.
- [24] Liu F, Kong X, Lv L, et al. TGF- β 1 acts through miR-155 to down-regulate TP53INP1 in promoting epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell phenotypes [J]. *Cancer Lett*, 2015, 359(2): 288–298.
- [25] 陈雨龙, 宋克娟, 曹佃霞, 等. TGF- β 1 对卵巢癌细胞 A2780 增殖及迁移侵袭的影响 [J]. *现代生物医学进展*, 2017, 17(14): 2627–2630.
- [26] 陈元仲, 吴勇, 陈萍, 等. 白血病细胞 TGF- β 1 含量减少及外源性 TGF- β 1 基因对 HL-60 细胞的作用 [J]. *中国病理生理杂志*, 2006, 22(1): 172–176.
- [27] Chen WH, Luo GF, Lei Q, et al. MMP-2 responsive polymeric micelles for cancer-targeted intracellular drug delivery [J]. *Chem Commun (Camb)*, 2015, 51(3): 465–468.
- [28] Fiorentini C, Bodei S, Bedussi F, et al. GPNMB/OA protein increases the invasiveness of human metastatic prostate cancer cell lines DU145 and PC3 through MMP-2 and MMP-9 activity [J]. *Exp Cell Res*, 2014, 323(1): 100–111.
- [29] Inwald EC, Klinkhammer-Schalke M, Hofstädter F, et al. Ki-67 is a prognostic parameter in breast cancer patients: results of a large population-based cohort of a cancer registry [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2013, 139(2): 539–552.
- [30] Zhao H, Zhang S, Xu D, et al. Expression of the p12 subunit of human DNA polymerase δ (Pol δ), CDK inhibitor p21WAF1, Cdt1, cyclin A, PCNA and Ki-67 in relation to DNA replication in individual cells [J]. *Cell Cycle*, 2014, 13(22): 3529–3540.