

M1 和 M2 型巨噬细胞对肝癌细胞生长和转移的影响及机制研究

石相宜¹, 王穗海², 张怡宇¹, 熊焱焱¹, 姚华龙¹

(1. 深圳平乐骨伤科医院·深圳市坪山区中医院检验科, 广东 深圳 518118; 2. 南方医科大学大学抗体工程研究所, 广东 广州 510000)

【摘要】目的: 探讨不同极化表型巨噬细胞对肝癌细胞增殖与转移进程中的影响及其潜在作用机制。**方法:** 在人白血病单核细胞系(THP-1)悬浮细胞中加入佛波醇-12-肉豆蔻酸-13-乙酸酯(PMA)使其贴壁为未活化巨噬细胞(M0), 随后分别加入脂多糖(LPS)、干扰素 γ (IFN- γ) 和人白细胞介素 4(IL-4)、IL-13 诱导分化经典活化巨噬细胞(M1)和替代活化巨噬细胞(M2); 采用荧光定量 PCR(qPCR)对 M1 和 M2 巨噬细胞相关特异分子 mRNA 表达水平进行分析; 采用细胞增殖实验(CCK-8)分析巨噬细胞培养上清对肝癌细胞生长的影响; 采用细胞迁移实验(Transwell)分析巨噬细胞培养上清对肝癌细胞转移能力的影响; 采用免疫印迹法(Western blot)对潜在信号通路关键蛋白的表达与活化水平进行检测。**结果:** qPCR 实验结果表明, 经体外诱导的 M1 型巨噬细胞中, 人类白细胞抗原 DR(HLA-DR)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 和 CXC 趋化因子配体 9(CXCL-9)特异性分子的 mRNA 表达水平均上调($P < 0.05$), 经体外诱导的 M2 型巨噬细胞中, 巨噬细胞甘露糖受体 1(MRC1)和肝细胞生长因子(HGF)特异性分子的 mRNA 水平表达均升高($P < 0.05$), 结合细胞不同的形态学证明了巨噬细胞极化模型的成功构建。CCK-8 实验表明, 与 M2 巨噬细胞上清共培养后, SMMC7721 和 Sk-hep1 肝癌细胞的生长能力均高于空白组和 M1 巨噬细胞上清共培养组($P < 0.05$); 对于 SMMC7721 肝癌细胞, 与 M1 巨噬细胞上清共培养后, 其生长速度低于空白组($P < 0.05$), 而 Sk-hep1 肝癌细胞与 M1 巨噬细胞上清共培养后, 生长速度与空白组无统计学差异($P > 0.05$)。Transwell 实验表明, 在 M2 型巨噬细胞培养上清影响下, 穿过小室的细胞数量明显高于 M1 组($P < 0.05$), 通过组间比对 M1 组未表现出类似 M2 组的促迁移效果。Western Blot 结果显示, M2 型巨噬细胞可能通过激活细胞外调节蛋白激酶(ERK)、蛋白激酶 B(AKT)信号通路调控肝癌细胞的生长与转移, 而 M1 型巨噬细胞可能通过抑制 ERK、AKT 信号通路调控肝癌细胞的生长与转移。**结论:** M2 型巨噬细胞可能通过活化 ERK、AKT 信号通路进而促进肝癌细胞的增殖和转移, 而 M1 巨噬细胞可能通过抑制 ERK、AKT 信号通路从而抑制肝癌细胞的增殖和转移。

【关键词】 肝癌; M1 和 M2 巨噬细胞; ERK 和 AKT 信号通路; 生长转移

【中图分类号】 R735.7 **【文献标志码】** A

Effects and mechanisms of M1 and M2 macrophages on the growth and metastasis of hepatocellular carcinoma cells

SHI Xiang-yi¹, WANG Sui-hai², ZHANG Yi-yu¹, XIONG Yan-yan¹, YAO Hua-long¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Shenzhen Pingshan District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen Pingle Orthopedic Hospital, Shenzhen 518118; 2. Antibody Engineering Institute, Southern Medical University, Guangzhou 510000, Guangdong, China)

【Abstract】Objective: To investigate the effects of different macrophage polarization phenotypes on the proliferation and metastasis of hepatocellular carcinoma (HCC) cells and their underlying mechanisms. **Methods:** THP-1 suspension cells were induced to adhere and differentiate into M0 macrophages by treatment with phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA). Subsequently, polarization into M1 and M2 macrophages was achieved by stimulation with lipopolysaccharide (LPS) and interferon- γ (IFN- γ), or interleukin-4 (IL-4) and interleukin-13 (IL-13), respectively. Quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR) was performed to analyze the mRNA expression levels of specific marker genes related to M1 and M2 macrophage phenotypes. The Cell Counting Kit-8 (CCK-8) assay was used to evaluate the effect of macrophage culture supernatants on the growth of hepatocellular carcinoma (HCC) cells. The effect of macrophage culture supernatant on the

基金项目: 广东省深圳市坪山区卫生健康系统科研资助类项目(2024515)

作者简介: 石相宜(1990—), 女, 硕士, 主管检验师。E-mail: graceshi90@163.com

通讯作者: 姚华龙。E-mail: yhl_szplgs@163.com

metastatic ability of liver cancer cells were analyzed by Transwell assay. Western blot analysis was carried out to determine the expression and activation levels of key proteins involved in relevant signaling pathways. **Results:** qPCR analysis demonstrated that the mRNA expression levels of M1-associated markers, including HLA-DR, TNF- α , and CXCL-9, were upregulated in vitro-induced M1 macrophages ($P < 0.05$). In contrast, the expression levels of MRC1 and HGF, markers associated with M2 macrophages, were increased in vitro-induced M2 macrophages ($P < 0.05$), with distinct morphological features validating successful polarization. CCK-8 assay results indicated that in both SMMC7721 and Sk-hep1 cell lines, co-cultured with M2 macrophages supernatants enhanced cell proliferation compared with M1 groups and the blank control group ($P < 0.05$). Co-cultured with M1 macrophages supernatants reduced SMMC7721 proliferation ($P < 0.05$) but showed no significant effect on Sk-hep1 compared to the control. Transwell migration assays further confirmed that M2 macrophages supernatants markedly promoted the migration capacity of both SMMC7721 and Sk-hep1 cells lines compared to M1 ($P < 0.05$), with M1 showed no pro-migratory effect. Western blot analysis indicated that M2 macrophages likely promote the growth and metastasis of HCC cells by activate the ERK and AKT signaling pathways, whereas M1 macrophages suppress these pathways. **Conclusion:** M2 macrophages may promote the proliferation and metastasis of HCC cells, potentially through activation of the ERK and AKT signaling pathways, while M1 macrophages may inhibit these processes by suppressing ERK/AKT signaling.

【Key words】 Hepatocellular carcinoma; M1 and M2 macrophages; ERK and AKT signaling pathways; Proliferation and metastasis

肝癌是全球范围内常见的恶性肿瘤,严重威胁人类健康^[1-3]。目前,肝癌患者的总体预后不佳,5年生存率较低,其高复发率和转移率是导致治疗失败和患者死亡的关键因素,因此深入探究肝癌细胞生长和转移的机制迫在眉睫^[4-5]。

巨噬细胞作为肿瘤微环境的重要组成部分,因其高度的可塑性和异质性,可分化为具有不同功能的表型^[6-8]。在巨噬细胞研究领域,巨噬细胞主要存在经典激活的 M1 型和替代激活的 M2 型这两种极化类型^[9-10]。研究^[11-13]表明, M1 型巨噬细胞通常展现出抗肿瘤特性,通过分泌肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和趋化因子配体 9 (chemokine ligand 9, CXCL-9) 等促炎因子,激活免疫应答,抑制肿瘤细胞增殖和转移等,并具备直接杀伤肿瘤细胞的能力。M2 型巨噬细胞则呈现出促肿瘤作用,它们能够促进肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移,参与肿瘤血管生成,抑制免疫反应,为肿瘤的生长和发展创造有利环境^[14-16]。文献^[17]表明, M2 型巨噬细胞主要通过分泌肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF) 和转化生长因子- β (transforming growth factor beta, TGF- β), 激活 c-Met/ERK/AKT 或 Smad2/3 通路,促进上皮-间质转化 (epithelial to mesenchymal transition, EMT) 和肿瘤侵袭。然而,目前对于不同极化类型巨噬细胞在肝癌细胞生长和转移过程中的影响及其作用机制尚未完全明确。本研究旨在通过体外诱导不同极化类型的巨噬细胞,提取其上清液与肝癌细胞共培养,以观察不同极化类型巨噬细胞对肝癌细胞生长和转移的影响及其内在机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

人白血病单核细胞系 THP-1、人肝癌细胞系

SMMC7721 和 Sk-hep1 由南方医科大学抗体工程研究所提供。

1.2 仪器与试剂

主要仪器:超净工作台(苏州净化设备厂)、细胞计数仪(BioRad)、荧光定量 PCR 仪(ABI)、酶标仪(BioRad)、倒置显微镜(OLYMPUS)、蛋白电泳及转膜装置(BioRad)。主要试剂:二甲基亚砷(DMSO, Sigma 公司, RNBMA4106); 佛波醇-12-肉豆蔻酸-13-乙酸酯(PMA, Sigma 公司, MKCT0606); 脂多糖(LPS, Sigma 公司, 0000223032); 干扰素- γ (IFN- γ , Sigma 公司, 0215AFC27); 人白细胞介素-4 (IL-4, Peprotech 公司, 072314); 人白细胞介素-13 (IL-13, Peprotech 公司, 102223-3); 荧光定量 PCR 试剂盒(qPCR 试剂盒, Takara 公司, AO70334A); 甘油醛-3-磷酸脱氢酶单克隆抗体(GAPDH 单抗, 广州天骏生物公司, 01T354); 兔抗磷酸化 ERK 抗体(兔抗 p-ERK, Affinity 公司, 40a4397); 兔抗磷酸化 AKT 抗体(兔抗 p-AKT, Affinity 公司, 65b1558); 辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG (HRP 标记的羊抗兔 IgG, Affinity 公司, 34i9522); 胎牛血清(FBS, BI 公司, 2153440); DMEM 培养液(Gibco 公司, 6124137); 1640 培养基(Gibco 公司, 6123004)。

1.3 M1 和 M2 巨噬细胞极化方法

1.3.1 THP-1 细胞培养 采用含 10% FBS 的 1640 培养基培养 THP-1 悬浮细胞,当细胞融合度达 80% 时进行传代。SMMC7721 和 Sk-hep1 贴壁细胞使用含 10% FBS 的 DMEM 培养基培养,当细胞融合度 80% 时经胰酶消化离心后传代。

1.3.2 M1 巨噬细胞极化 收取生长状态良好的 THP-1 细胞悬液,经离心处理后以 1×10^7 个细胞/

皿的密度接种于 10 cm 培养皿中。添加 PMA 使终浓度达到 200 ng/mL,置于细胞孵箱中培养 24 h,诱导细胞贴壁并分化为 M0 型巨噬细胞。培养结束后弃去培养上清,更换含 LPS 和 IFN- γ 新鲜 1640 完全培养基,终浓度分别为 100 ng/mL 和 20 ng/mL,继续培养 24 h 完成 M1 型巨噬细胞的诱导分化。

1.3.3 M2 巨噬细胞极化 THP-1 细胞经 PMA 诱导为 M0 后,去除上清更换含 IL-4 和 IL-13 的新鲜培养基(终浓度均为 20 ng/mL),继续培养 72 h,以完成 M2 型巨噬细胞的极化。

1.4 观察指标

1.4.1 qPCR 检测 M1 和 M2 巨噬细胞特异分子 mRNA 表达 分化完成的巨噬细胞去除培养上清后,使用预冷的 PBS 清洗两次,然后向培养皿中加入 1 mL 的 Trizol 试剂裂解细胞,提取 M1 和 M2 型巨噬细胞的总 RNA。cDNA 的合成按照 Takara 公司的 PrimeScriptTM RT Master Mix 逆转录试剂盒说明书步骤进行;qPCR 扩增按照 Takara 公司的 SYBR[®] Premix Ex TaqTM 试剂盒说明书进行。Ct 值通过 ABI 7500 软件分析,采用 2^{- Δ Ct} 法(Δ Ct=靶基因 Ct 值-GAPDH Ct 值)进行相对定量分析。见表 1。

表 1 qPCR 分析所用引物序列

基因	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')
GAPDH	CCACCCATGGCAAATTCC	TGGGATTTCATTGATGACAA
HLA-DR	ATCATGACAAAGCGCTCCAATAT	GATGCCACACAGACCCACAG
CXCL-9	GGACTATCCACATACAATCCTTG	GATGCCACACAGACCCACAG
TNF- α	GGCTCCAGGCGGTGCTTG	CAGATAGATGGGCTCATACCA
MRC1	GGCGGTGACCTCACAAGTAT	TTTTCATGGCTTGGTTCTCC
HGF	CGAGGCCATGGTGCTATACT	GCATTCAGTTGTTCCAAAGG

1.4.2 CCK-8 法检测肝癌细胞生长情况 M1 和 M2 巨噬细胞分化完成后,去除原培养上清,加入无血清培养基进行饥饿处理 24 h,随后收集培养上清,离心去除细胞杂质,备用。收集生长状态良好的 SMMC7721 和 Sk-hep1 肝癌细胞,经胰酶消化处理后制备细胞悬液,接种于 24 孔板中,接种密度为 10⁴ 个细胞/孔。待细胞贴壁后,随机分为三组:Neg

组(添加无血清 1640 培养基)、M1 上清处理组和 M2 上清处理组。各组细胞继续培养 48 h 后,每孔加入 CCK-8 试剂,继续孵育 4 h,吸取每孔上清转移至 96 孔板中,使用酶标仪在 450 nm 处测定吸光度(OD)值,评估细胞增殖活性。

1.4.3 Transwell 实验检测肝癌细胞迁移情况 收集诱导分化后的 M1 和 M2 巨噬细胞上清,离心去除细胞沉淀后,将上清加入 Transwell 板的下室,上室接种肝癌细胞。孵育 4 h 后,取出小室,采用 4%多聚甲醛固定细胞,随后进行结晶紫染色。切取膜片完成封片操作,置于显微镜下观察。每组迁移细胞随机选取 5 个视野,通过计数方式统计细胞迁移数量。

1.4.4 Western blot 检测信号通路节点蛋白表达情况 肝癌细胞与 M1 或 M2 巨噬细胞上清共培养后,去除培养上清,加入细胞裂解液收集细胞。将收取的细胞裂解液煮沸变性后,进行 SDS-PAGE 电泳,并将蛋白转移至 PVDF 膜。使用 5%脱脂奶粉封闭膜片 2 h 后,加入 GAPDH、p-ERK、p-AKT 一抗,4℃孵育过夜。次日,进行洗膜,随后与 HRP 标记的二抗室温条件下孵育 1 h。然后,使用 ECL 发光液显色,记录并分析实验结果。

1.5 统计学分析

本研究采用 GraphPad Prism 9 软件进行数据分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验;等级资料以频数表示,组间比较使用秩和检验;计数资料以[n(%)]表示,组间比较使用独立样本 χ^2 检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 巨噬细胞形态观察

显微镜下($\times 200$)观察显示:THP-1 经 PMA 诱导后,成功贴壁生长,并呈葡萄串样排列(图 1A);经 LPS/IFN- γ 诱导的 M1 型巨噬细胞呈现梭形形态,且细胞两端伸出伪足(图 1B);经 IL-4/IL-13 诱导的 M2 型巨噬细胞,其伪足相较 M1 型更加细长(图 1C)。

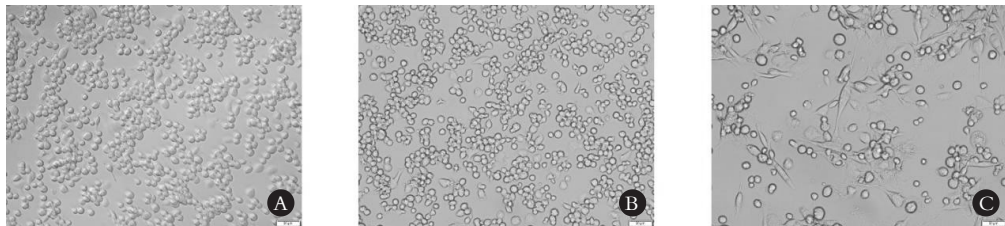


图 1 不同极化状态下巨噬细胞形态图

A. M0; B. M1; C. M2

2.2 巨噬细胞特异分子 mRNA 表达水平

qPCR 结果显示,与 M2 巨噬细胞相比较,M1 型巨噬细胞中特异分子 HLA-DR、CXCL-9 和 TNF- α 的 mRNA 表达水平均升高 ($P<0.05$);而

在 M2 型巨噬细胞中,与 M1 型相比,特异分子 MRC1 和 HGF 的 mRNA 表达水平均升高 ($P<0.05$)。上述结果表明 M1 型与 M2 型巨噬细胞的极化模型构建成功。见图 2。

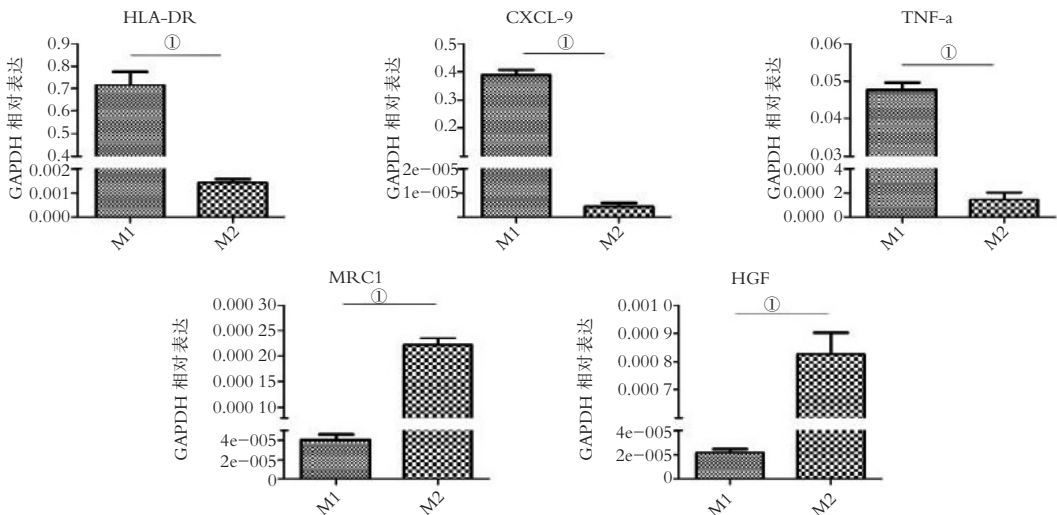


图 2 相关特异分子 mRNA 在 M1 和 M2 巨噬细胞中的表达水平
① $P<0.001$ 。

2.3 对肝癌细胞生长的影响

CCK-8 实验表明,无论是 SMMC7721 还是 Sk-hep1 肝癌细胞,与 M2 巨噬细胞上清共培养后,肝癌细胞的生长能力均高于空白组和 M1 巨噬细胞上清共培养组 ($P<0.05$)。对于 SMMC7721 肝癌细胞,与 M1 巨噬细胞上清共培养后,其生长速度低于空白组 ($P<0.05$);而 Sk-hep1 肝癌细胞与 M1 巨噬细胞上清共培养后,生长速度与空白组相比,差异无统计学差异 ($P>0.05$)。见图 3。

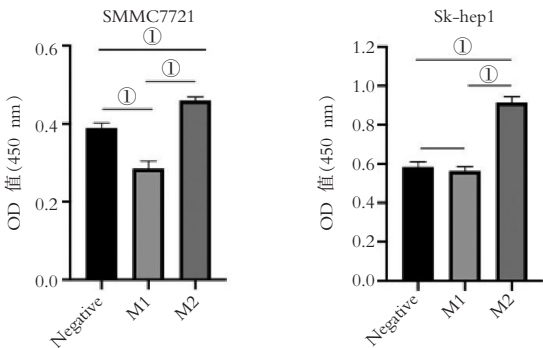


图 3 与 M1 和 M2 巨噬细胞上清共培养后肝癌细胞生长变化情况
① $P<0.001$ 。

2.4 对肝癌细胞迁移的影响

Transwell 实验表明,无论是 SMMC7721 还是 Sk-hep1 肝癌细胞,在 M2 型巨噬细胞培养上清影响下,穿过小室的细胞数量均明显高于 M1 组 ($P<0.05$)。见图 4。

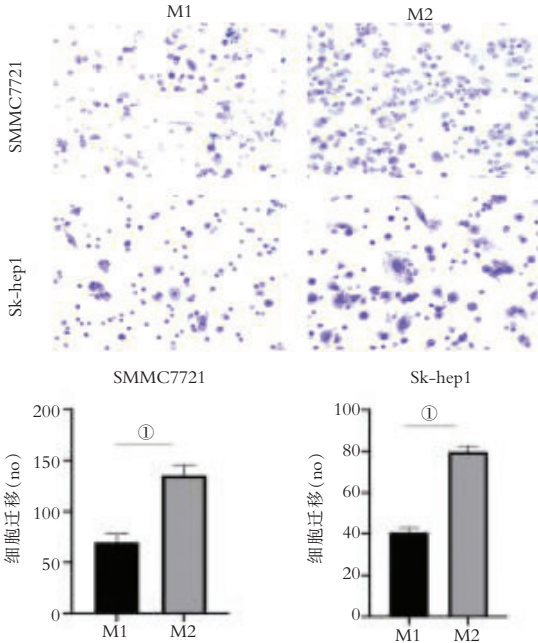


图 4 肝癌细胞在 M1 和 M2 巨噬细胞影响下迁移变化情况
① $P<0.001$ 。

2.5 信号通路蛋白表达

Western blot 分析表明,与空白组相比,M1 巨噬细胞与肝癌细胞共培养组中,p-ERK、p-AKT 蛋白表达水平下调;而在 M2 型巨噬细胞共培养组中,上述蛋白表达水平呈上调趋势。见图 5。

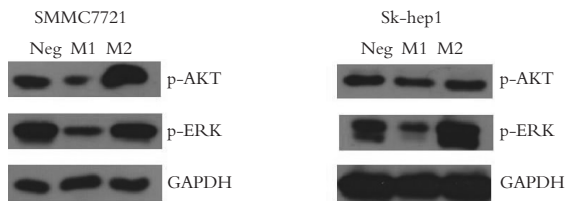


图 5 肝癌细胞与 M1 或 M2 巨噬细胞共培养后信号通路蛋白表达情况

3 讨论

在肿瘤微环境研究领域,巨噬细胞因其高度可塑性和功能多样性而备受关注。它们在不同的极化状态下能够对肿瘤的发生与发展产生截然相反的调控作用,因此成为近年来肿瘤免疫学研究的热点之一。近年来,多项研究^[18-19]深入探讨了不同极化状态的巨噬细胞与肝癌细胞之间的相互作用机制。本研究通过对 THP-1 细胞诱导分化为 M1 型与 M2 型巨噬细胞,对比了其对于肝癌细胞(SMMC7721 和 Sk-hep1)生长与迁移的影响,并初步揭示了 ERK/AKT 信号通路在其中的关键作用。

本研究首先建立了可靠的 M1/M2 巨噬细胞极化模型。形态学观察结果表明,PMA 诱导的 THP-1 细胞成功转变为贴壁生长的巨噬样细胞,通过 LPS/IFN- γ 及 IL-4/IL-13 进一步刺激后,分别诱导出 M1 型和 M2 型巨噬细胞。两者在形态上呈现明显差异,符合既往文献^[10]关于巨噬细胞极化表型的描述。qPCR 分析进一步验证了极化模型的成功构建,M1 型巨噬细胞的相关标志物(如 HLA-DR、CXCL-9、TNF- α)在 M1 组上调,而 M2 型巨噬细胞的相关标志物(如 MRC1、HGF)在 M2 组升高($P < 0.05$),表明诱导方式有效且具有良好的特异性。本研究系统性对比了 M1 型和 M2 型巨噬细胞对肝癌细胞生长与转移的差异性影响,揭示了其截然相反的调控作用。Western blot 分析显示,M2 型巨噬细胞上清液与肝癌细胞共培养时,p-ERK 和 p-AKT 表达水平上调。提示 M2 型巨噬细胞可能是通过分泌 HGF、TGF- β 等因子,激活 ERK/AKT 信号通路,促进肝癌细胞的增殖和迁移^[20-21]。相反,M1 型巨噬细胞上清液与肝癌细胞共培养时,p-ERK 和 p-AKT 表达水平受到抑制,提示 M1 型巨噬细胞可能通过分泌促炎因子(如 TNF- α 、CXCL-9)或负反馈调节因子(如 PTEN),抑制 ERK/AKT 通路的激活,阻断肝癌细胞的增殖和迁移信号^[22]。此外,M1 型巨噬细胞可能通过 IFN- γ 等因子增强抗肿瘤免疫反应,抑制 EMT 过程,从而限制肿瘤的侵袭和转移^[23]。这一直接对比不仅明确了 M1/M2 巨噬细

胞对肝癌细胞生长的双向调控,还系统揭示了其对迁移能力的差异性影响,为理解巨噬细胞在肝癌微环境中的作用提供了新证据。

本研究提示,靶向调控巨噬细胞的极化状态,抑制 M2 型巨噬细胞的促癌作用,或激活 M1 型巨噬细胞的抗肿瘤功能,可能为肝癌治疗提供新的策略。例如,研发可调控巨噬细胞极化表型的药物,使肿瘤微环境中的巨噬细胞向具有抗肿瘤活性的 M1 型极化,而非促肿瘤的 M2 型极化。另外,M1 巨噬细胞抑制肝癌细胞的生长和转移可能与 ERK/AKT 信号通路的抑制有关,而 M2 巨噬细胞促进肝癌细胞的生长和转移可能与 ERK/AKT 信号通路的激活有关。因此,靶向 ERK/AKT 信号通路可阻断巨噬细胞的促癌效应。然而,本研究使用巨噬细胞上清液的间接设计可能受非特异性因素(如代谢物积累或 PH 变化)干扰,且未通过抑制剂明确 HGF、TGF- β 等关键因子的贡献。未来研究可通过使用 HGF、TGF- β 等因子的中和抗体进行 CCK-8、Transwell 共培养实验,进一步验证 M1 和 M2 巨噬细胞的直接作用及其分子机制。

综上,本研究通过直接对比 M1/M2 型巨噬细胞对肝癌细胞生长与转移的影响,揭示了 ERK/AKT 通路在其中的核心作用,为后续开发基于巨噬细胞的免疫治疗方案提供了理论基础,具有提升肝癌患者生存率和生活质量的潜在临床价值。

参考文献

- [1] Goessling W. Ena-bile-ing liver cancer growth[J]. Science, 2025,387(6730):137-138.
- [2] Li Q,Cao M,Lei L,*et al.* Burden of liver cancer:From epidemiology to prevention[J]. Chinese Journal of Cancer Research, 2022,34(3):554-566.
- [3] Hyun O,Won J. The latest global burden of liver cancer:a past and present threat[J]. Clinical and Molecular Hepatology, 2023,29(2):355-357.
- [4] 高姗,杨万水,张薇,等. 原发性肝癌全人群生存率的分析 and 比较[J]. 肿瘤,2010,30(12):1027-1032.
- [5] Ceriman Krstić V,Samardžić N,Gajić M,*et al.* Treatment options for patients with non-small cell lung cancer and liver metastases[J]. Current Issues in Molecular Biology, 2024, 46(12):13443-13455.
- [6] Mierke CT. Phenotypic heterogeneity,bidirectionality,universal cues,plasticity,mechanics,and the tumor microenvironment drive cancer metastasis[J]. Biomolecules,2024,14(2):184.
- [7] Hasan MN,Capuk O,Patel SM,*et al.* The role of metabolic plasticity of tumor-associated macrophages in shaping the tumor microenvironment immunity[J]. Cancers,2022,14(14):3331.

(下转第 38 页)

- [22] Stevens J, Katz EG, Huxley RR. Associations between gender, age and waist circumference[J]. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2010, 64(1): 6–15.
- [23] Ekşi MŞ, Kara M, Üzcan-Ekşi EE, *et al.* Is diabetes mellitus a risk factor for modic changes? : a novel model to understand the association between intervertebral disc degeneration and end-plate changes[J]. *Journal of Orthopaedic Science*, 2020, 25(4): 571–575.
- [24] da Cruz Fernandes IM, Pinto RZ, Ferreira P, *et al.* Low back pain, obesity, and inflammatory markers: exercise as potential treatment[J]. *Journal of Exercise Rehabilitation*, 2018, 14(2): 168–174.
- [25] Cooper RG, St Clair Forbes W, Jayson MI. Radiographic demonstration of paraspinal muscle wasting in patients with chronic low back pain[J]. *British Journal of Rheumatology*, 1992, 31(6): 389–394.
- [26] Kalichman L, Hodges P, Li L, *et al.* Changes in paraspinal muscles and their association with low back pain and spinal degeneration: CT study[J]. *European Spine Journal*, 2010, 19(7): 1136–1144.
- [27] Mengiardi B, Schmid MR, Boos N, *et al.* Fat content of lumbar paraspinal muscles in patients with chronic low back pain and in asymptomatic volunteers: quantification with MR spectroscopy[J]. *Radiology*, 2006, 240(3): 786–792.
- [28] Paalanne N, Niinimäki J, Karppinen J, *et al.* Assessment of association between low back pain and paraspinal muscle atrophy using opposed-phase magnetic resonance imaging: a population-based study among young adults[J]. *Spine*, 2011, 36(23): 1961–1968.
- [29] Habibi H, Takahashi S, Hoshino M, *et al.* Impact of paravertebral muscle in thoracolumbar and lower lumbar regions on outcomes following osteoporotic vertebral fracture: a multicenter cohort study[J]. *Archives of Osteoporosis*, 2021, 16(1): 2.
- (收稿日期: 2025–01–22 修回日期: 2025–11–06)

(上接第 16 页)

- [8] Wang S, Liu G, Li Y, *et al.* Metabolic reprogramming induces macrophage polarization in the tumor microenvironment[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 840029.
- [9] Chavanisakun C, Keawvichit R, Benjakul N. M1 and M2 macrophage polarization correlates with activity and chronicity indices in lupus nephritis[J]. *Life*, 2025, 15(1): 55.
- [10] Lee KY. M1 and M2 polarization of macrophages: a mini-review[J]. *Medical Biological Science and Engineering*, 2019, 2(1): 1–5.
- [11] Park SM, Do-Thi VA, Lee JO, *et al.* Interleukin-9 inhibits lung metastasis of melanoma through stimulating anti-tumor M1 macrophages[J]. *Molecules and Cells*, 2020, 43(5): 479–490.
- [12] Saccani A, Schioppa T, Porta C, *et al.* p50 nuclear factor-kappaB overexpression in tumor-associated macrophages inhibits M1 inflammatory responses and antitumor resistance [J]. *Cancer Research*, 2006, 66(23): 11432–11440.
- [13] Wang YC, He F, Feng F, *et al.* Notch signaling determines the M1 versus M2 polarization of macrophages in antitumor immune responses [J]. *Cancer Research*, 2010, 70(12): 4840–4849.
- [14] Wang S, Wang J, Chen Z, *et al.* Targeting M2-like tumor-associated macrophages is a potential therapeutic approach to overcome antitumor drug resistance[J]. *NPJ Precision Oncology*, 2024, 8(1): 31.
- [15] Fernando V, Zheng X, Sharma V, *et al.* Reprogramming of breast tumor-associated macrophages with modulation of arginine metabolism [J]. *Life Science Alliance*, 2024, 7(11): e202302339.
- [16] Liu X, Jiang Q, Shen S, *et al.* Local and systemic inflammation triggers different outcomes of tumor growth related to infiltration of anti-tumor or pro-tumor macrophages [J]. *Chinese Medical Journal*, 2022, 135(15): 1821–1828.
- [17] Chen X, Yang M, Yin J, *et al.* Tumor-associated macrophages promote epithelial-mesenchymal transition and the cancer stem cell properties in triple-negative breast cancer through CCL2/AKT/ β -catenin signaling[J]. *Cell Communication and Signaling*, 2022, 20(1): 92.
- [18] Xu S, Xiong Y, Fu B, *et al.* Bacteria and macrophages in the tumor microenvironment[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1115556.
- [19] Ding Z, Deng Z, Li H. Single-cell transcriptome analysis reveals the key genes associated with macrophage polarization in liver cancer[J]. *Hepatology Communications*, 2023, 7(11): e0304.
- [20] Ma X, Gao Y, Chen Y, *et al.* M2-type macrophages induce tregs generation by activating the TGF- β /smad signalling pathway to promote colorectal cancer development[J]. *Oncotargets and Therapy*, 2021, 14: 5391–5402.
- [21] Ning J, Ye Y, Bu D, *et al.* Imbalance of TGF- β 1/BMP-7 pathways induced by M2-polarized macrophages promotes hepatocellular carcinoma aggressiveness [J]. *Molecular Therapy*, 2021, 29(6): 2067–2087.
- [22] Wang C, Ma C, Gong L, *et al.* Macrophage polarization and its role in liver disease[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 803037.
- [23] Zhou W, Yang F, Zhang X. Roles of M1 macrophages and their extracellular vesicles in cancer therapy [J]. *Cells*, 2024, 13(17): 1428.
- (收稿日期: 2025–06–09 修回日期: 2025–10–11)