

基质细胞衍生因子1通过PI3K/AKT1信号通路对巨噬细胞极化的影响

狄静悻¹ 陈禹江¹ 陈欣欣¹ 陈文霞^{1,2}

¹广西医科大学口腔医学院/附属口腔医院,广西口腔感染性疾病防治重点实验室,南宁 530021; ²广西医科大学附属口腔医院牙体牙髓科,南宁 530021

通信作者:陈文霞,Email:angelaxiacw@163.com

【摘要】 目的 研究基质细胞衍生因子1(SDF-1)对小鼠RAW264.7巨噬细胞迁移和极化的影响及机制。方法 对体外培养对数生长期小鼠RAW264.7巨噬细胞采用SDF-1和(或)磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)抑制剂LY294002处理,Transwell检测细胞的迁移情况;反转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测各组细胞相关基因的表达;流式细胞术检测M1、M2巨噬细胞特异性表面标志物;ELISA测定细胞因子;Western blot检测PI3K/蛋白激酶B1(AKT1)蛋白磷酸化水平。使用SPSS 21.0软件进行统计学分析。结果 SDF-1可以促进巨噬细胞的迁移,SDF-1组的细胞迁移数从(90±16)上升至(199±9),差异有统计学意义($t=12.010, P<0.001$),并显著提高巨噬细胞M2向极化诱导过程中抗炎相关基因白细胞介素10(IL-10)、转化生长因子β(TGF-β)的表达水平,IL-10表达量从(1.015±0.111)上升至(3.686±0.268),差异有统计学意义($t=15.960, P<0.001$);CD206+M2样巨噬细胞占比增加11.5%;PI3K/AKT1蛋白磷酸化水平显著增加,p-AKT1表达从(1.02±0.09)增长至(1.47±0.12),差异有统计学意义($t=5.082, P=0.007$),促进巨噬细胞向M2极化。LY294002抑制了PI3K/AKT1蛋白磷酸化,p-AKT1表达从(1.02±0.09)减少至(0.41±0.13),差异有统计学意义($t=6.503, P=0.002$)。并使SDF-1诱导巨噬细胞迁移的能力下降,细胞迁移数从(90±16)下降至(60±11),差异有统计学意义($t=3.133, P=0.02$),同时下调了M2巨噬细胞极化诱导过程中抗炎相关因子IL-10、TGF-β的表达水平,IL-10表达量从(1.015±0.111)下降至(0.608±0.034),差异有统计学意义($t=6.075, P<0.001$);CD206+M2样巨噬细胞占比减少10.3%。与SDF-1处理组相比,SDF-1和LY294002联合处理组M2巨噬细胞极化诱导过程中抗炎相关因子IL-10、TGF-β的表达下降($t_{IL-10}=14.730, P_{IL-10}<0.001, t_{TGF-β}=31.180, P_{TGF-β}<0.001$),M1巨噬细胞极化过程中促炎因子IL-6、肿瘤坏死因子α(TNF-α)表达无明显变化。结论 SDF-1可显著促进巨噬细胞向M2型极化,其机制可能与激活PI3K/AKT1信号通路相关。

【关键词】 基质细胞衍生因子1; 巨噬细胞; 巨噬细胞极化; PI3K/AKT1信号通路

基金项目:国家自然科学基金(82060201)

引用著录格式:狄静悻,陈禹江,陈欣欣,等.基质细胞衍生因子1通过PI3K/AKT1信号通路对巨噬细胞极化的影响[J/OL].中华口腔医学研究杂志(电子版),2024,18(2):89-95.

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2024.02.003

Effect of stromal cell-derived factor 1 on macrophage polarization through PI3K/AKT1 signaling pathway

Di Jingyi¹, Chen Yujiang¹, Chen Xinxin¹, Chen Wenxia^{1,2}

¹College & Hospital of Stomatology, Guangxi Medical University, Guangxi Key Laboratory of Prevention and Treatment for Oral Infectious Diseases, Nanning 530021, China; ²Department of Operative Dentistry and Endodontology, College of Stomatology, Hospital of Stomatology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

Corresponding author: Chen Wenxia, Email: angelaxiacw@163.com

【Abstract】 **Objective** To explore the effect and mechanism of stromal cell-derived factor 1 (SDF-1) on migration and polarization of mouse RAW264.7 macrophages. **Methods** RAW264.7 macrophages *in vitro* were treated with SDF-1 and/or phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) inhibitor LY294002. Transwell was used to detect cell migration. Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to

detect the expression of related genes in each group. The specific surface markers of M1 and M2 macrophages were detected by flow cytometry. Cytokines were determined by ELISA. The phosphorylation level of PI3K/AKT1 protein was detected by Western blot. **Results** SDF-1 could promote the migration of macrophages. The number of migrating cells in SDF-1 group increased from (90 ± 16) to (199 ± 9) ($t = 12.010, P < 0.001$) and the expression levels of anti-inflammatory related genes *IL-10* and *TGF- β* significantly increased during the induction of M2 polarization in macrophages. The expression of *IL-10* increased from (1.015 ± 0.111) to (3.686 ± 0.268) ($t = 15.960, P < 0.001$). The proportion of CD206+ M2-like macrophages increased by 11.5%. The phosphorylation level of PI3K/AKT1 protein was significantly increased, and the expression of p-AKT1 increased from (1.02 ± 0.09) to (1.47 ± 0.12) ($t = 5.082, P = 0.007$). which promoted the polarization of macrophages towards M2. LY294002 inhibited the phosphorylation of PI3K/AKT1 protein, and the expression of p-Akt1 decreased from (1.02 ± 0.09) to (0.41 ± 0.13) ($t = 6.503, P = 0.002$). The migration ability of macrophages induced by SDF-1 was decreased from (90 ± 16) to (60 ± 11) ($t = 3.133, P = 0.02$). At the same time, the expression levels of anti-inflammatory related factors *IL-10* and *TGF- β* during the polarization of M2 macrophages were down-regulated. The expression of *IL-10* decreased from (1.015 ± 0.111) to (0.608 ± 0.034) ($t = 6.075, P < 0.001$). The proportion of CD206+ M2-like macrophages decreased by 10.3%. Compared with the SDF-1 treatment group, the expression of anti-inflammatory related factors *IL-10* and *TGF- β* in the polarization of M2 macrophages in the SDF-1 and LY294002 combined treatment group decreased ($t_{IL-10} = 14.730, P_{IL-10} < 0.001, t_{TGF-\beta} = 31.180, P_{TGF-\beta} < 0.001$), while the expression of pro-inflammatory factors *IL-6* and *TNF- α* in the polarization of M1 macrophages did not change significantly. **Conclusion** SDF-1 could significantly promote the M2 polarization of macrophages, possibly by activating the PI3K/AKT1 signaling pathway.

【Key words】 Stromal cell-derived factor 1; Macrophage; Macrophage polarization; PI3K/AKT1 signaling pathway

Fund program: National Natural Science Foundation of China(82060201)

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2024.02.003

巨噬细胞是高度可塑性的异质性免疫细胞,在伤口愈合和宿主防御中起着不可或缺的作用^[1]。根据损伤修复局部微环境的变化,巨噬细胞可极化为具有不同功能的细胞亚群,即经典激活M1型巨噬细胞和替代激活M2型巨噬细胞^[2]。M1型巨噬细胞可以促进炎症的产生,吞噬消灭细菌,产生降解坏死组织的酶;M2型巨噬细胞则产生趋化因子或生长因子,促进血管形成,吸引能产生胶原蛋白和细胞外基质的成纤维细胞^[3]。巨噬细胞在修复过程中的表型转换,即由促炎型(M1型)向抗炎型(M2型)的转变是调节细胞外基质重构、促进损伤组织向无瘢痕修复的关键。

基质细胞衍生因子1(stromal cell-derived factor 1, SDF-1)属于CXC型趋化因子(chemokine CXC subfamily),又称趋化因子配体12[chemokine(C-X-C motif) ligand 12, CXCL-12],最初在小鼠骨髓基质细胞分泌的细胞因子中被发现^[4]。SDF-1是一组相对分子质量为8 000~14 000的小分泌蛋白^[5],参与细胞活化、分化和迁移^[6]。SDF-1可参与平衡心脏受损处M1/M2型巨噬细胞的比例,减少心肌梗死后的纤维化,促进心脏组织结构的恢复^[7]。本课题组前期

的研究结果显示,SDF-1可以明显改善新生“骨髓”的组织构成,巨噬细胞聚集^[8],促进新生组织的血管形成,延缓和减少新生组织的矿化^[9],其作用机制仍然不清楚。已有研究表明,SDF-1通过与特定的G蛋白偶联受体结合,可启动某些信号通路,其中磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K/AKT)信号通路参与多种生理过程,能调控细胞存活、转移和新陈代谢,在血管生成和炎症因子募集中发挥作用^[10-11]。本研究旨在探讨SDF-1对巨噬细胞极化的影响,以及与PI3K/AKT1信号通路之间的关系。

材料与方 法

一、实验材料

小鼠单核-巨噬细胞系RAW264.7(苏州海星生物科技有限公司);DMEM高糖培养基(Hyclone,美国);青链霉素混合液(双抗)、L-谷氨酰胺(北京索莱宝科技有限公司);胎牛血清(Zata Life,乌拉圭);SDF-1[生工生物工程(上海)股份有限公司];LY294002(MCE,美国);APC标记大鼠抗小鼠CD86单克隆抗体、PE标记大鼠抗小鼠CD206单克隆抗体

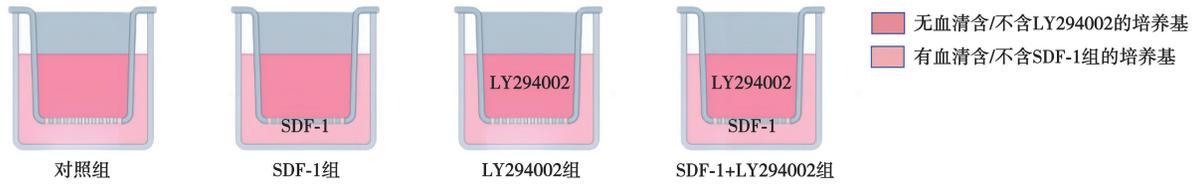


图1 Transwell细胞迁移实验分组示意图

(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司); GAPDH内参、PI3K、AKT1、磷酸化AKT1(p-AKT1)、单克隆抗体、山羊抗小鼠/兔 IgG-HRP WB二抗[艾比玛特生物医药(上海)有限公司]; BCA蛋白定量试剂盒(上海碧云天生物技术公司); 总RNA提取试剂(Trizol试剂)、2×预混实时荧光定量快速PCR反应体系(含ROX II)(北京康润诚业生物科技有限公司); PrimeScript™ RT reagent Kit(TaKaRa, 日本); PCR上下游引物[生工生物工程(上海)股份有限公司]; ELISA试剂盒(江苏酶免实业有限公司)。

二、实验方法

1. 细胞培养与实验分组: 小鼠巨噬细胞RAW264.7采用含有10%胎牛血清的DMEM培养基, 于37℃ 5% CO₂恒温培养箱中培养。取对数生长期细胞, 制成单细胞悬液, 以2×10⁵个/孔的浓度接种于6孔细胞培养板中, 过夜培养, 根据研究设计加入不同的培养基进行培养, 分组如下: (1)对照组: 基础培养基; (2)SDF-1组: 基础培养基中加入SDF-1, SDF-1的终浓度为50 ng/mL; (3)LY294002组: 基础培养基中加入PI3K抑制剂LY294002, LY294002的终浓度为2 μmol/L; (4)SDF-1+LY294002组: 基础培养基中含终浓度为50 ng/mL的SDF-1和2 μmol/L LY294002。按上述分组进行下列研究。

2. Transwell细胞迁移实验: 用无血清DMEM重悬细胞, 调整细胞浓度, 将细胞悬液缓慢加入Transwell小室的上室, Transwell上下室根据分组分别加入不同的培养基(图1), 每组设置3个复孔, 37℃ 5% CO₂培养箱内培养24 h。4%多聚甲醛溶液固定20 min, 加入0.1%结晶紫染色液进行染色30 min, 倒置显微镜下观察并采集图像, 随机选取5个视野, ImageJ软件对穿膜细胞进行计数。

3. 细胞因子检测: 如1所述实验分组, 根据分组在贴壁的细胞中加入相应的培养基, 培养24 h, 留取细胞及其上清进行下列检测。

(1)实时荧光定量RT-PCR: 使用RNA提取试剂盒(北京康润诚业生物科技有限公司)提取总RNA, 测定RNA浓度后使用PrimeScript RT试剂进行

cDNA合成。将制备好的反应液置于PCR荧光仪(Thermo Fisher, 美国)中进行PCR扩增反应, 以GAPDH为内参分析白细胞介素6(IL-6)、肿瘤坏死因子α(TNF-α)、IL-10、转化生长因子β(transforming growth factor-β, TGF-β)的基因表达水平。实验中所需引物的序列见表1。

表1 基因引物序列

基因	引物序列
IL-6	5'-CTTCTGGGACTGATGCTGCTGAC-3'
	5'-TCTGTTGGGAGTGGTATCCTCTGTG-3'
TNF-α	5'-GGACTAGCCAGGAGGGAGAACAG-3'
	5'-GCCAGTGAGTGAAGGGACAGAAC-3'
IL-10	5'-AGAGAAGCATGGCCAGAAATCAAG-3'
	5'-CTTCACCTGCTCCACTGCCTTG-3'
TGF-β	5'-ACCGCAACAACGCCATCTATGAG-3'
	5'-GGCACTGCTTCCCGAATGTCTG-3'
GAPDH	5'-GGCAAATTCACGGCACAGTCAAG-3'
	5'-TCGCTCCTGGGAAGATGGTATGG-3'

(2)酶联免疫吸附试验: 采用酶联免疫吸附试验测定细胞培养上清液中IL-6、TNF-α、IL-10和TGF-β的浓度水平。梯度稀释后的标准品和稀释一定倍数的细胞上清样品, 加入预包被捕获抗体的孔板里, 加入辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的检测抗体, 37℃孵育1 h。充分洗涤后加入TM显色液37℃避光显10~30 min后终止显色, 使用酶标仪检测吸光度(A)值(波长450 nm处), 计算得出细胞上清液中IL-6、TNF-α、IL-10和TGF-β的实际浓度。

4. 流式细胞术检测巨噬细胞表面标志物: 提取细胞并使用磷酸盐缓冲液(PBS)重悬细胞, 加入5 μL APC标记大鼠抗小鼠CD86单克隆抗体、5 μL PE标记大鼠抗小鼠CD206单克隆抗体, 4℃避光孵育30 min, 随后用预冷的PBS洗涤并重悬细胞, 并在2 h内进行流式细胞分析。在流式实验中设置匹配的同型对照组。通过流式细胞仪检测获得流式细胞术数据, 并使用FlowJo软件进行分析。

5. 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测PI3K/AKT1信号通路相关蛋白: 将PBS置于冰上预冷后洗

涂板中细胞,重复3次,加入含有蛋白酶抑制剂的RIPA蛋白裂解液(RIPA Lysis Buffer)后转移至1.5 mL EP管中,冰上放置裂解30 min,4 ℃、12 000 ×g离心20 min,取上清,BCA蛋白浓度测定试剂盒定量后,取各组蛋白进行SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)电泳分离转膜至聚偏二氟乙烯(Polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上,分别加一抗,用脱脂奶粉封闭后,在摇床上慢速摇动2 h,经TBST洗涤3次,5 min/次;室温用二抗,稀释比例为1:20 000,孵育2 h, TBST清洗后,使用增强型化学发光(enhanced chemiluminescence, ECL)试剂盒曝光。

三、统计学处理方法

SPSS 21.0软件进行统计学分析,各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,对照组和实验组对小鼠巨噬细胞RAW264.7 PI3K/AKT1信号通路的影响采用独立样本 t 检验;对照组和实验组对小鼠巨噬细胞RAW264.7迁移的影响采用独立样本 t 检验;对照组和实验组小鼠巨噬细胞RAW264.7相关炎症因子相对表达量和蛋白的表达采用独立样本 t 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、基质细胞衍生因子1和LY294002干预对巨噬细胞PI3K/AKT1信号通路的影响

Western blot结果(图2A)显示,与对照组相比,SDF-1组PI3K、AKT1、p-AKT1的表达增加,p-AKT1表达从(1.02 ± 0.09)增长至(1.47 ± 0.12),差异有统计学意义($t = 5.082, P = 0.007$,图2B);LY294002干预后可降低PI3K、AKT1、p-AKT1的表达,p-AKT1表达从(1.02 ± 0.09)减少至(0.41 ± 0.13),差异有统计学意义($t = 6.503, P = 0.002$,图2B)。与SDF-1组相比较,SDF-1+LY294002组PI3K、AKT1、p-AKT1的表达

略有下降,p-AKT1表达从(1.47 ± 0.12)减少至(0.93 ± 0.04),差异有统计学意义($t = 7.228, P = 0.002$,图2B)

二、基质细胞衍生因子1和LY294002干预对巨噬细胞迁移的影响

小鼠巨噬细胞RAW264.7的迁移结果(图3A)显示:与对照组相比,SDF-1组细胞迁移数量显著增加,从(90 ± 16)上升至(199 ± 9),差异有统计学意义($t = 12.010, P < 0.001$,图3B);而PI3K抑制剂LY294002组的细胞迁移数量减少,从(90 ± 16)下降至(60 ± 11),差异有统计学意义($t = 3.133, P = 0.020$,图3B);与SDF-1组相比,SDF-1与LY294002联合处理组的细胞迁移数量减少,从(199 ± 9)下降至(149 ± 10),差异有统计学意义($t = 7.705, P < 0.001$,图3B)。

三、基质细胞衍生因子1和LY294002干预对巨噬细胞极化的影响

1. 细胞因子的分泌:RT-PCR(图4A)和ELISA(图4B)结果显示,(1)与对照组相比,SDF-1组M2型巨噬细胞标志物 $IL-10$ 和 $TGF-\beta$ 表达均显著上调, $IL-10$ 表达量从(1.015 ± 0.111)上升至(3.686 ± 0.268),差异有统计学意义($t = 15.960, P < 0.001$,图4A),M1型巨噬细胞标志物 $IL-6$ 表达量从(1.005 ± 0.124)上升至(1.769 ± 0.157),差异有统计学意义($t = 6.595, P < 0.001$,图4A);LY294002组M2型巨噬细胞标志物 $IL-10$ 和 $TGF-\beta$ 表达均显著下调, $IL-10$ 表达量从(1.015 ± 0.111)下降至(0.608 ± 0.034),差异有统计学意义($t = 6.075, P < 0.001$,图4A),M1型巨噬细胞标志物 $TNF-\alpha$ 表达量从(1.001 ± 0.049)下降至(0.639 ± 0.021),差异有统计学意义($t = 11.670, P < 0.001$,图4A), $IL-6$ mRNA基因表达下调(图4A),但蛋白表达无明显变化(图4B);(2)与SDF-1组相比,SDF-1和LY294002联合处理组M2型巨噬细胞标志

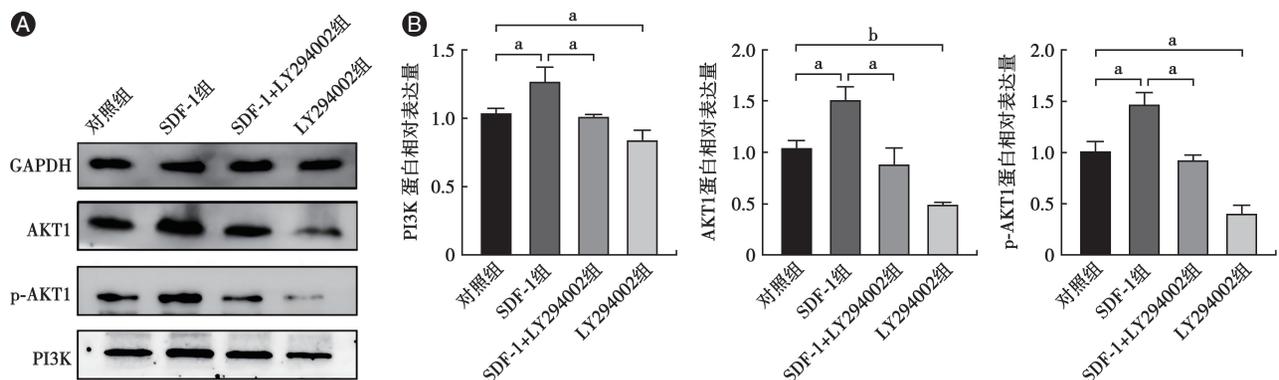


图2 基质细胞衍生因子1(SDF-1)激活巨噬细胞磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B1(PI3K/AKT1)信号通路 A: 蛋白免疫印迹法检测小鼠RAW264.7巨噬细胞中PI3K、AKT1、磷酸化AKT1(p-AKT1)的蛋白表达,B: 蛋白相对表达量结果统计学分析图,* $P < 0.05$,^b $P < 0.001$ 。

物 *IL-10* 和 *TGF-β* 表达均下调, *IL-10* 表达量从 (3.686 ± 0.268) 下降至 (1.189 ± 0.119) , 差异有统计学意义 ($t = 14.730, P < 0.001$, 图 4A), M1 型巨噬细胞标志物 *IL-6* 和 *TNF-α* 表达无明显变化 ($P > 0.05$)。

2. 巨噬细胞表面标志物: 流式细胞术结果(图 5) 显示, (1) 与对照组相比, SDF-1 组 CD206+M2 样巨噬

噬细胞占比升高 11.5%, CD86+M1 样巨噬细胞无明显变化; LY294002 组 CD206+M2 样巨噬细胞占比降低 10.3%, CD86+M1 样巨噬细胞占比无明显变化; (2) 与 SDF-1 组相比较, SDF-1 和 LY294002 联合处理组 CD206+M2 样巨噬细胞占比降低 11.3%, CD86+M1 样巨噬细胞表达无明显变化。

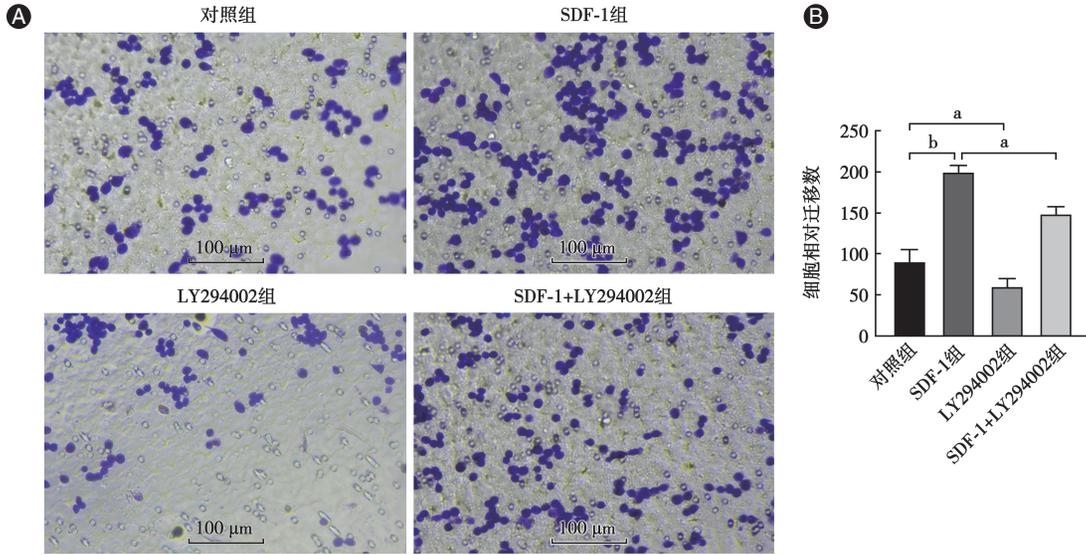


图 3 Transwell 迁移实验检测基质细胞衍生因子 1(SDF-1)、LY294002 对巨噬细胞迁移的影响 A: 对照组、实验组巨噬细胞的迁移情况(结晶紫染色); B: 迁移细胞数统计分析, $^a P < 0.05, ^b P < 0.001$ 。

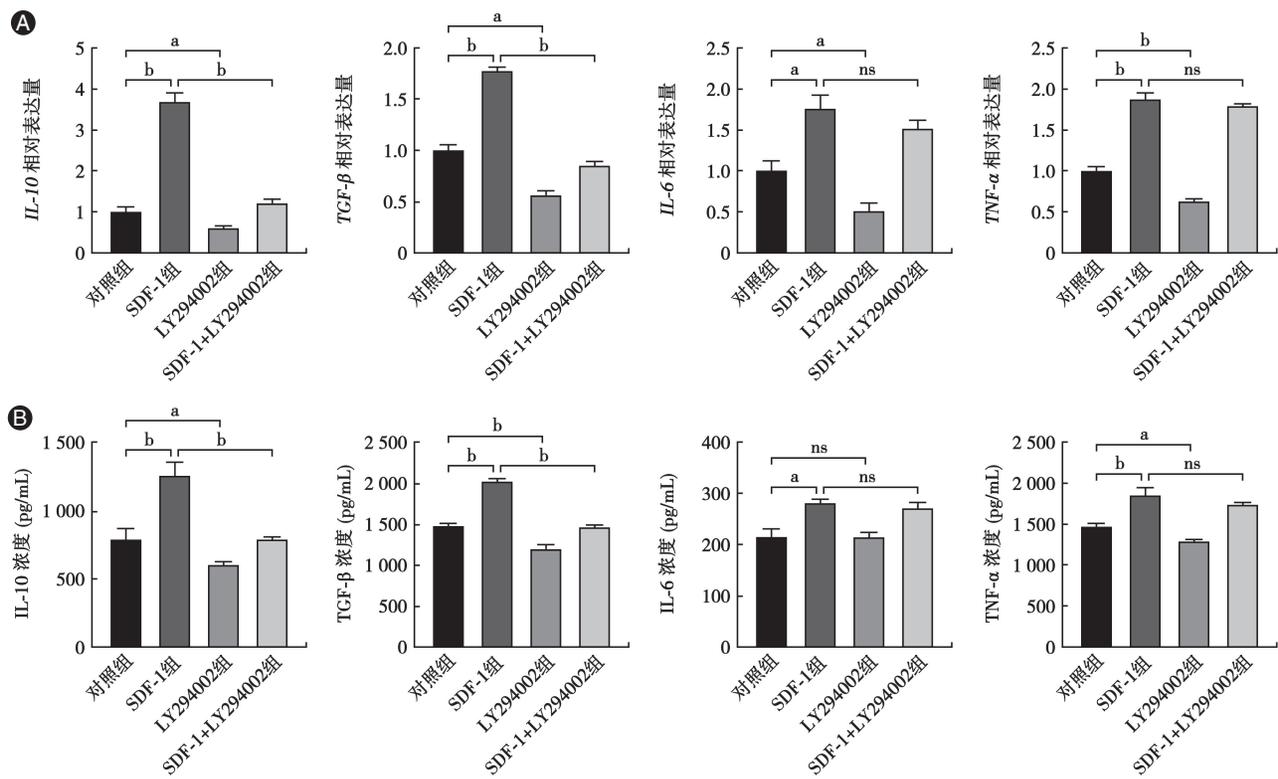


图 4 基质细胞衍生因子 1(SDF-1)、LY294002 对巨噬细胞细胞因子分泌的影响 A: 反转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测 M2 巨噬细胞标志物白细胞介素 10(IL-10)、转化生长因子β(TGF-β)和 M1 巨噬细胞标志物 IL-6、肿瘤坏死因子α(TNF-α)的 mRNA 的表达; B: ELISA 检测上清中 IL-10、TGF-β、IL-6 和 TNF-α 细胞因子的浓度; $^a P < 0.05, ^b P < 0.001$ 。

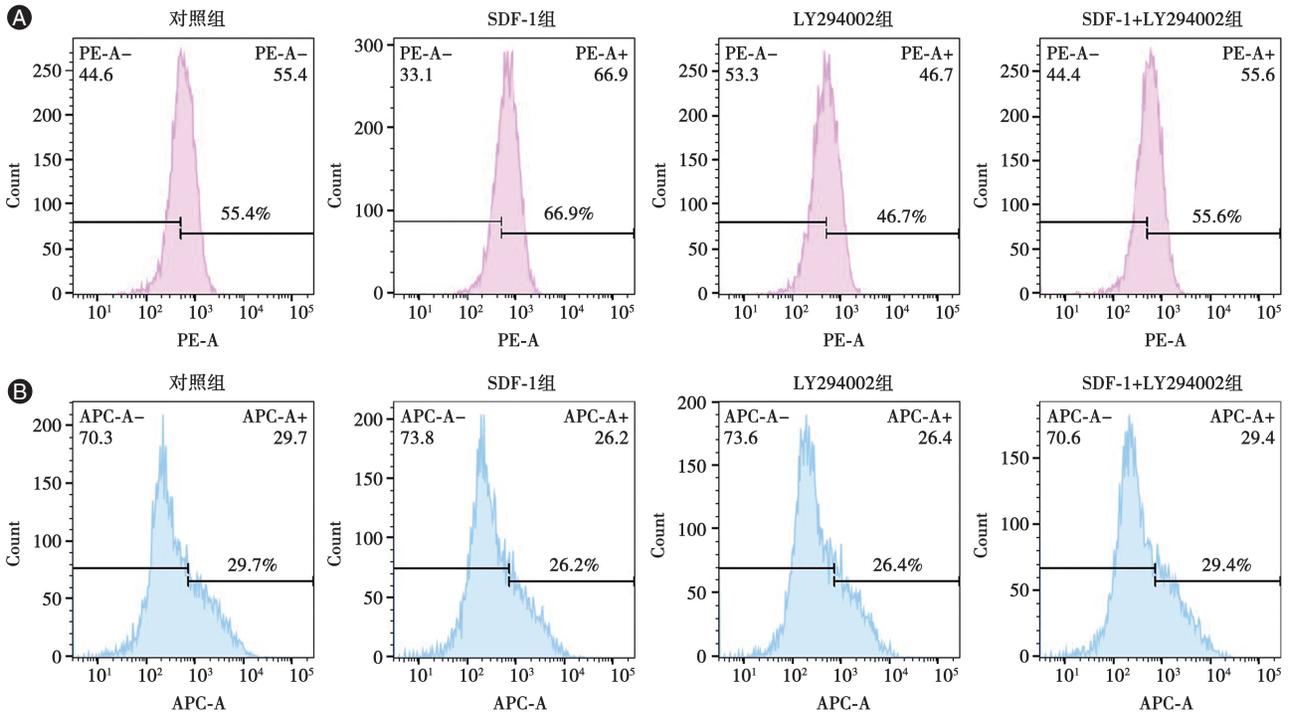


图5 基质细胞衍生因子1(SDF-1)、LY294002对巨噬细胞表面标志物的影响 A:流式细胞术检测巨噬细胞M2分化标志物CD206表达变化; B:流式细胞术检测巨噬细胞M1分化标志物CD86表达变化。

讨 论

组织再生过程中对细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的适当调控可以减少瘢痕和促进功能组织的形成。巨噬细胞作为免疫系统的重要组成部分,对组织修复和维持组织稳态具有重要影响^[12]。在组织重构/炎症清除/成熟阶段, M2型巨噬细胞合成构建基质的酶如基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP),降解过度形成的血管和细胞外基质^[13]。巨噬细胞在体内外微环境影响下^[14],可极化成不同的表型,呈现出不同的功能,并且M1型和M2型细胞在特定的情况下可以相互转换^[15],在组织损伤愈合的不同阶段分别发挥不同的生物学作用。

SDF-1是可对多种细胞包括T淋巴细胞和单核细胞趋化的CXC型趋化因子,在干细胞归巢到局部受损组织中起着趋化作用^[16],也被证实在促进损伤组织修复中发挥作用^[17]。牙髓再生性治疗的主要问题之一是根管中形成的新生组织为骨样/牙骨质样的矿化组织,而非具有正常牙髓组织结构的牙髓组织。在本课题组前期的牙髓再生性研究中发现, SDF-1可以延缓根管内新生组织的矿化速度以及矿化的范围,新生组织中的胶原纤维排列更为有序^[18]。另有研究表明, SDF-1可以有效地募集单核巨噬细胞

并诱导其极化^[19],而巨噬细胞与组织修复再生过程中的细胞外基质的形成密切相关。为了解SDF-1与巨噬细胞相互之间可能的作用机制,本研究对SDF-1对巨噬细胞的迁移、极化,以及PI3K/AKT1信号通路的影响进行了探讨。首先探讨了SDF-1对巨噬细胞PI3K/AKT1信号通路的影响,结果显示SDF-1可以激活巨噬细胞PI3K/AKT1信号通路,对AKT1、p-AKT1的作用更为明显,PI3K抑制剂LY294002不能完全抑制SDF-1的激活作用。

巨噬细胞迁移和极化是受多因子相互作用的复杂过程,其极化过程受多种信号通路的调控,其中PI3K/AKT信号通路通过控制炎症细胞因子、miRNA的表达和影响细胞吞噬、自噬和细胞代谢等功能,在巨噬细胞生物学和炎症疾病调节中具有独特的亚型特异性作用^[20]。在对SDF-1通过PI3K/AKT1信号通路对巨噬细胞迁移和极化影响的研究中,结果显示PI3K抑制剂LY294002明显抑制巨噬细胞的迁移能力, SDF-1促进巨噬细胞迁移的能力受到LY294002的明显抑制,提示SDF-1促进巨噬细胞迁移能力与PI3K/AKT1信号通路有关。有研究显示,PI3K/AKT信号通路不仅调节巨噬细胞的存活、迁移和增殖,也协调巨噬细胞对不同代谢和炎症信号的反应^[21]。本研究结果提示SDF-1能对巨噬

细胞的极化产生影响,在本研究的观察时间点上,SDF-1促进巨噬细胞的极化,对M2向极化的作用更明显,值得注意的是,通过抑制PI3K信号通路,SDF-1促进巨噬细胞M2向极化的作用受到明显抑制,但对M1向极化的作用没有明显的抑制,提示SDF-1对巨噬细胞极化的影响仅部分通过PI3K/AKT1信号通路发挥作用,SDF-1可能还通过其他方式发挥作用。

本研究在体外初步观察到SDF-1可激活PI3K/AKT1信号通路,并促进巨噬细胞M2向极化,PI3K抑制剂LY294002可明显抑制该作用,相比之下,SDF-1和PI3K/AKT1信号通路对巨噬细胞M1向极化的影响相对较小。细胞生物学功能的实现具有复杂的机制,本研究结果初步探讨了SDF-1的作用机制,还需要更进一步的研究提供更多的依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 狄静悻: 酝酿和设计实验、实验研究、采集数据、统计分析; 陈禹江: 数据整理、统计分析; 陈欣欣: 数据整理、统计分析; 陈文霞: 酝酿和设计实验、对文章的知识性内容作批判性审阅

参 考 文 献

- [1] Watanabe S, Alexander M, Misharin AV, et al. The role of macrophages in the resolution of inflammation [J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(7):2619-2628. DOI: 10.1172/JCI124615.
- [2] Dong T, Chen X, Xu H, et al. Mitochondrial metabolism mediated macrophage polarization in chronic lung diseases [J]. *Pharmacol Ther*, 2022, 239:108208. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2022.108208.
- [3] Gunasekaran GR, Poongkavithai Vadevoo SM, Baek MC, et al. M1 macrophage exosomes engineered to foster M1 polarization and target the IL-4 receptor inhibit tumor growth by reprogramming tumor-associated macrophages into M1-like macrophages [J]. *Biomaterials*, 2021, 278: 121137. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2021.121137.
- [4] Mildner A, Yona S, Jung S. A close encounter of the third kind: Monocyte-derived cells [J]. *Adv Immunol*, 2013, 120: 69-103. DOI: 10.1016/B978-0-12-417028-5.00003-X.
- [5] Sadri F, Rezaei Z, Fereidouni M. The significance of the SDF-1/CXCR4 signaling pathway in the normal development [J]. *Mol Biol Rep*, 2022, 49(4): 3307-3320. DOI: 10.1007/s11033-021-07069-3.
- [6] Zhou W, Guo S, Liu M, et al. Targeting CXCL12/CXCR4 Axis in Tumor Immunotherapy [J]. *Curr Med Chem*, 2019, 26(17): 3026-3041. DOI: 10.2174/0929867324666170830111531.
- [7] Babazadeh S, Nassiri SM, Siavashi V, et al. Macrophage polarization by MSC-derived CXCL12 determines tumor growth [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2021, 26(1): 30. DOI: 10.1186/s11658-021-00273-w.
- [8] Yang Z, He C, He J, et al. Curcumin-mediated bone marrow mesenchymal stem cell sheets create a favorable immune microenvironment for adult full-thickness cutaneous wound healing [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 21. DOI: 10.1186/s13287-018-0768-6.
- [9] 谢婧, 吴周玲, 郑程峰, 等. SDF-1/CXCR4信号轴在牙髓血运重建中的作用 [J]. *广西医科大学学报*, 2020, 37(4): 575-580. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2020.04.003.
- [10] Zhang L, Mamillapalli R, Habata S, et al. Myometrial-derived CXCL12 promotes lipopolysaccharide induced preterm labour by regulating macrophage migration, polarization and function in mice [J]. *J Cell Mol Med*, 2022, 26(9): 2566-2578. DOI: 10.1111/jcmm.17252.
- [11] Glaviano A, Foo ASC, Lam HY, et al. PI3K/AKT/mTOR signaling transduction pathway and targeted therapies in cancer [J]. *Mol Cancer*, 2023, 22(1): 138. DOI: 10.1186/s12943-023-01827-6.
- [12] Wynn TA, Vannella KM. Macrophages in tissue repair, regeneration, and fibrosis [J]. *Immunity*, 2016, 44(3): 450-462. DOI: 10.1016/j.immuni.2016.02.015.
- [13] Liang B, Wang H, Wu D, Wang Z. Macrophage M1/M2 polarization dynamically adapts to changes in microenvironment and modulates alveolar bone remodeling after dental implantation [J]. *J Leukoc Biol*, 2021, 110(3): 433-447. DOI: 10.1002/JLB.1MA0121-001R.
- [14] Luo L, Li Y, Bao Z, et al. Pericardial delivery of SDF-1 α puerarin hydrogel promotes heart repair and electrical coupling [J]. *Adv Mater*, 2023, 36(1): e2302686. DOI: 10.1002/adma.202302686.
- [15] 林熹, 韦慧妮, 陈文霞. 利格列汀对牙髓血运重建术后SDF-1表达及牙髓组织再生的影响 [J]. *广西医科大学学报*, 2020, 37(4): 593-598. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2020.04.006.
- [16] Jin Q, Giannobile WV. SDF-1 enhances wound healing of critical-sized calvarial defects beyond self-repair capacity [J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e97035. DOI: 10.1371/journal.pone.0097035.
- [17] Wu X, Qian L, Zhao H, et al. CXCL12/CXCR4: An amazing challenge and opportunity in the fight against fibrosis [J]. *Ageing Res Rev*, 2023, 83: 101809. DOI: 10.1016/j.arr.2022.101809.
- [18] Ratajczak MZ, Zuba-Surma E, Kucia M, et al. The pleiotropic effects of the SDF-1-CXCR4 axis in organogenesis, regeneration and tumorigenesis [J]. *Leukemia*, 2006, 20(11): 1915-1924. DOI: 10.1038/sj.leu.2404357.
- [19] Vergadi E, Ieronymaki E, Lyroni K, et al. AKT signaling pathway in macrophage activation and M1/M2 polarization [J]. *J Immunol*, 2017, 198(3): 1006-1014. DOI: 10.4049/jimmunol.1601515.
- [20] Song G, Ouyang G, Bao S. The activation of AKT/PKB signaling pathway and cell survival [J]. *J Cell Mol Med*, 2005, 9(1): 59-71. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2005.tb00337.x.
- [21] Lazarov T, Juarez-Carreño S, Cox N, et al. Physiology and diseases of tissue-resident macrophages [J]. *Nature*, 2023, 618(7966): 698-707. DOI: 10.1038/s41586-023-06002-x.

(收稿日期: 2023-12-04)

(本文编辑: 王嫚)