

人脐带间充质干细胞对巨噬细胞表型调节的机制探讨

薛婧¹, 高杰清¹, 尹雅琪¹, 张琪¹, 于松岩¹, 邹俊彦¹, 郝好杰², 母义明¹
解放军总医院, 北京 100853 ¹内分泌科; ²基础医学所

摘要: 目的 探讨人脐带间充质干细胞 (human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells, UC-MSCs) 对巨噬细胞表型的影响及其机制。方法 提取小鼠原代巨噬细胞, 分为对照组、脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 和干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ) 诱导组、干细胞共培养组。诱导组加入 LPS 和 IFN- γ 诱导 24 h, 干细胞共培养组在 LPS 和 IFN- γ 诱导 24 h 后与人脐带间充质干细胞通过 Transwell 共培养 24 h。采用 qRT-PCR 和流式细胞术检测巨噬细胞炎症因子的表达, 免疫荧光观察巨噬细胞表型, Western blot 检测巨噬细胞极化状态和极化通路关键蛋白的表达。结果 干细胞共培养后的巨噬细胞形态改变, 长梭形细胞减少, 细胞上清 IL-1 β 、TNF- α 与诱导组相比分别下降 79.5%、41.1% (P 均 < 0.05), 抑炎因子 IL-4 增加 91.4% ($P < 0.05$); 免疫荧光显示, 干细胞共培养组 M1 型巨噬细胞标记物 iNOS 阳性细胞比例下降 32.48%, M2 型巨噬细胞标记物 Arg1 阳性细胞比例增加 32.25% (P 均 < 0.05); Western blot 结果显示, 参与巨噬细胞极化的 PI3K-AKT 通路表达增强, 而抑制该通路后, 巨噬细胞向 M2 表型极化减弱。结论 人脐带来源的间充质干细胞可促进巨噬细胞向 M2 表型极化, 抑制炎症进展, 其与 PI3K-AKT 通路的激活有关。

关键词: 间充质干细胞; 巨噬细胞; 炎症

中图分类号: R 392.12 文献标志码: A 文章编号: 2095-5227(2018)03-0228-07 DOI: 10.3969/j.issn.2095-5227.2018.03.013

网络出版时间: 2018-02-01 17:07

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/10.1117.R.20180201.1707.004.html>

Effect of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells on macrophages phenotype transition

XUE Jing¹, GAO Jieqing¹, YIN Yaqi¹, ZHANG Qi¹, YU Songyan¹, ZOU Junyan¹, HAO Haojie², MU Yiming¹

¹Department of Endocrinology; ²Institute of Basic Medicine Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: MU Yiming. Email: muyiming@301hospital.com.cn

Abstract: Objective To investigate the effect of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells (UC-MSCs) on macrophages phenotype transition and the potential mechanisms. **Methods** Macrophages were achieved from C57BL/6J mice and divided into three groups: control group, LPS and IFN- γ induced group and MSCs group. After treated with lipopolysaccharide (LPS) and interferon γ (IFN- γ) for 24 hours, macrophages were co-cultured with UC-MSCs in a Transwell system (MSCs group) or not (LPS and IFN- γ induced group). The expression of inflammatory cytokines was measured by qRT-PCR and flow cytometry. Macrophages phenotype was detected by immunofluorescence. The polarization state and PI3K/AKT signaling pathway were detected by Western blot. **Results** After co-cultured with MSCs, macrophages manifested morphological changes with decrease of elongated cells, and levels of IL-1 β , TNF- α in macrophages media reduced by 79.5% and 41.1%, respectively ($P < 0.05$, respectively), while levels of IL-4 increased by 91.4% compared with those of induced group ($P < 0.05$). Immunofluorescence analysis revealed that proportion of iNOS positive cells decreased by 32.48% and proportion of Arg1 positives cells increased by 32.25% in MSCs group ($P < 0.05$, respectively). Western blot analysis further showed unregulated expression of PI3K and p-AKT in MSCs group, and macrophages polarization towards M2 type was partly blocked after inhibiting PI3K/AKT signaling pathway. **Conclusion** UC-MSCs can polarize macrophages into M2 type and alleviate chronic inflammation, which is related to activation of PI3K-AKT signaling pathway.

Keywords: mesenchymal stem cells; macrophages; inflammation

间充质干细胞是具有多向分化潜能的成体干细胞。近年来, 间充质干细胞的免疫调节能力越来越受重视。间充质干细胞能控制炎症进展, 促进组织修复, 治疗多种与免疫及炎症相关的疾病^[1]。巨噬细胞是体内重要的吞噬和抗原提呈细胞, 在机体稳态维持和炎症的发生发展中有着关键作用^[2]。

巨噬细胞具有高度的可塑性和明显的异质性, 可大致可分为两种表型: 经典活化的 M1 型巨噬细胞和选择性活化的 M2 型巨噬细胞^[3]。M1 型巨噬细胞主要分泌高浓度的 IL-1 β 、TNF- α 、干扰素 γ (interferon γ , IFN- γ) 等促炎因子, 引发机体炎症反应, 发挥宿主免疫功能, 但过度的炎症会导致机体正常组织的损伤。M2 型巨噬细胞主要分泌 IL10、IL-4、TGF- β 等抑炎因子, 可控制炎症发展, 促进组织修复^[3]。巨噬细胞表型转变与组织的炎症和修复密切相关, 如机体脂肪组织中 M1 型巨噬细

收稿日期: 2017-12-06

作者简介: 薛婧, 女, 在读硕士。研究方向: 干细胞治疗 2 型糖尿病基础研究。Email: 1404492873@qq.com

通信作者: 母义明, 男, 博士, 主任医师, 教授。Email: muyiming@301hospital.com.cn

胞向 M2 型极化有利于减轻胰岛素抵抗, 改善 2 型糖尿病^[4-5]。研究发现, 在糖尿病、动脉粥样硬化、败血症等代谢性和炎症性疾病中^[6-8], 间充质干细胞输注后受损组织局部巨噬细胞功能和表型发生改变, 但间充质干细胞 (特别是人脐带来源的间充质干细胞) 对巨噬细胞表型的调节及其机制仍有不明确之处。因此, 本研究旨在探究人脐带来源的间充质干细胞对巨噬细胞表型的影响及其潜在的机制, 为干细胞的应用提供新的思路。

材料和方法

1 细胞 小鼠骨髓巨噬细胞 (bone marrow derived macrophages, BMDMs)、小鼠腹腔巨噬细胞均取自 6 周龄的 C57BL/6J 小鼠, 人脐带间充质干细胞取自人新鲜脐带。

2 主要试剂与仪器 RPMI1640 培养基, 0.25% 胰蛋白酶, 胎牛血清 (美国 Gibco 公司); M-CSF、流式抗体 F4/80-PE (德国 Becton Dickinson 公司); Trizol RNA 提取试剂 (美国 Invitrogen 公司); PCR 引物由华大基因合成; iNOS 抗体、Arg1 抗体 (美国 Abcam 公司); P-AKT、PI3K 抗体 (美国 CST 公司)、 β -tubulin 抗体、Western blot 二抗 (中山金桥); LPS、IFN- γ (美国 Sigma 公司)、7-AAD (美国 Tonbobio 公司)、IL-1 β 、TNF- α 、IL-4、AIMPLEX 流式检测试剂盒 (中国旷博生物公司)、流式细胞仪 (德国 Becton Dickinson 公司)、Q-PCR 仪器 (美国 Bio-Rad 公司)、激光共聚焦显微镜 (Leica, 德国)。

3 小鼠巨噬细胞培养及分组 骨髓巨噬细胞提取: 将 6 周龄 C57BL/6J 小鼠断颈处死, 分离小鼠双下肢, 剥除皮肤后于 75% 乙醇中浸泡 5 min, 在超净台中剥离下肢肌肉组织, 完整分离出双侧胫骨和腓骨。分别将胫骨和腓骨两端剪开, 用 1 ml 注射器吸取含有 10% 胎牛血清和 100 ng/ml M-CSF 的 1640 培养基, 反复冲洗骨髓腔至变白。收集骨髓腔冲洗液, 1 000 r/min 离心 5 min, 弃上清后重悬细胞, 接种于六孔版内, 置于 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 的培养箱中培养, 3 d 换液 1 次。腹腔巨噬细胞提取: 断颈处死 6 周龄 C57BL/6J 小鼠, 75% 乙醇浸泡 5 min, 于超净台中分离腹部皮肤暴露腹腔, 用 2 ml 含有 10% 胎牛血清的 1640 培养基灌洗腹腔。将腹腔灌洗液 1 000 r/min 离心 5 min, 重悬接种于放置无菌盖玻片的六孔板中。将细胞分为对照组、LPS 和 IFN- γ 诱导组、干细胞共培养组, 对照组

更换为 1640 完全培养基, LPS 和 IFN- γ 诱导组、干细胞共培养组换为含 100 ng/ml LPS 和 50 ng/ml IFN- γ 的培养基。24 h 后再次换液, 各组均更换为完全培养基, 干细胞共培养组与 3×10^4 人脐带间充质干细胞通过 Transwell 共培养 24 h。收集各组细胞检测各项指标。

4 人脐带间充质干细胞的分离和培养 人脐带间充质干细胞的分离、培养及鉴定见参考文献 [9]。

5 Western blot 检测巨噬细胞蛋白表达 各组巨噬细胞经相应处理后, 提取细胞总蛋白, 取等量的细胞蛋白进行 10% SDS-PAGE 凝胶电泳, 再转移至 PVDF 膜上, BSA 封闭后, 加入 iNOS(1/1 000)、Arg1(1/1 000)、P-AKT(1/1 000)、PI3K(1/1 000)、Tubulin(1 : 2 000)、GAPDH(1 : 2 000) 一抗, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。用 TBST 充分洗膜 3 次, 并予以对应的辣根过氧化物酶标记的二抗孵育 1 h 后曝光。使用 Image J 软件进行灰度分析。

6 流式细胞术鉴定巨噬细胞及测定上清细胞因子表达 选取生长至 80% 融合的细胞, 收集细胞, PBS 洗涤 3 次, 100 μ l PBS 重悬细胞, 加入 F4/80-PE 抗体和相应的小鼠 IgG 作为同型对照, 避光孵育 15 min。PBS 洗涤 2 次后重悬, 再加入 7-AAD, 利用流式细胞仪检测 BMDMs 免疫表型。收集经过相应处理的各组细胞的培养液, 1 000 r/min 离心 5 min, 吸取上清加样, 分别加入小鼠 IL-1 β 、TNF- α 、IL-4 流式抗体孵育, 利用流式细胞仪检测细胞因子表达。

7 qRT-PCR 检测巨噬细胞标记物和炎症相关因子 mRNA 表达 Trizol 法提取各组细胞的总 RNA, 逆转录合成 cDNA, 选取 β -actin 作为内参照, 利用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 计算基因表达相对倍数变化。

8 免疫荧光检测巨噬细胞表型变化 将腹腔巨噬细胞接种于已放置无菌盖玻片的六孔板中, 按前述步骤处理各组细胞, 之后使用 4% 多聚甲醛固定 15 min, 0.5% TritonX-100/PBS 通透液破膜 15 min, 10% 山羊血清封闭 20 min, 加 iNOS(1 : 100)、Arg1(1 : 100) 抗体 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。PBS 洗涤 3 次后加入对应荧光二抗避光孵育 2 h, 最后 DAPI(1 : 2 000) 染核 7 min。使用激光共聚焦显微镜观察并拍照, 计算细胞阳性比率。

9 统计学分析 采用 SPSS19.0 软件进行分析, 计量数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组样本均数比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

结果

1 巨噬细胞的鉴定及其形态学特点 小鼠 BMDMs 经过流式细胞术测定, 巨噬细胞特异性表面标记物 F4/80 阳性率 99% 以上, 提示骨髓单核细胞成功诱导为成熟巨噬细胞 (图 1A); 腹腔巨噬细胞免疫荧光显示, F4/80 阳性率达到 95% 以上, 达到实验要求 (图 1B)。光镜下观察发现各组巨噬细胞形态上存在差异: 对照组 BMDMs 大小和形态均一, 呈现类圆形, 生长状态良好; LPS+IFN- γ 诱导组细胞形态多变, 部分细胞出现伪足, 呈长梭形细胞比例明显升高; 经过与干细胞共培养, 巨噬细胞触角减少, 长梭形细胞减少 (图 2)。

2 UC-MSCs 对巨噬细胞炎症相关因子表达的影响

qRT-PCR 结果显示, 与 LPS 和 IFN- γ 诱导组相比, 干细胞共培养组炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 、IFN- γ 、IL6 表达明显下调 (P 均 < 0.05 , 图 3A), 抑炎因子 IL-4、IL10 表达上调 ($P < 0.05$, 图 3A)。利用流式细胞术测定细胞上清蛋白含量, 与 PCR 结果类似, 与 LPS+IFN- γ 诱导组相比, UC-MSCs 共培养后巨噬细胞分泌的 IL-1 β 、TNF- α 分别下

调 79.5%、41.1% (P 均 < 0.05 , 图 3B), 抑炎因子 IL-4 表达上调 91.4% ($P < 0.05$, 图 3B), 提示 UC-MSCs 能明显抑制 M1 型巨噬细胞引发的炎症反应。

3 UC-MSCs 促使巨噬细胞向 M2 表型极化 免疫荧光显示, 干细胞共培养组与 LPS+IFN- γ 诱导组相比, M1 型巨噬细胞标记物 iNOS 阳性细胞比例下降 32.48% ($P < 0.01$, 图 4A), M2 型巨噬细胞标记物 Arg1 阳性细胞比例升高 32.25% ($P < 0.01$, 图 4A)。Western blot 结果同样显示, 经过 UC-MSCs 共培养后, 巨噬细胞 iNOS 蛋白表达下降 ($P < 0.01$, 图 4B), Arg1 蛋白表达显著提高 ($P < 0.01$, 图 4B)。以上结果提示 UC-MSCs 促进巨噬细胞由 M1 型向 M2 型极化。

4 PI3K/AKT 通路参与 UC-MSCs 促进巨噬细胞向 M2 型极化的过程 为了进一步探讨 UC-MSCs 对巨噬细胞表型调节的机制, 我们检测了参与巨噬细胞极化的 PI3K/AKT 通路。Western blot 分析显示, 与 UC-MSCs 共培养后, 巨噬细胞 PI3K、p-AKT 蛋白表达上调 ($P < 0.01$, 图 5A, 图 5B)。给予巨噬细胞 PI3K 通路抑制剂 LY294002 处理后, 被 UC-MSCs 抑制的巨噬细胞 iNOS 表达上调, 而

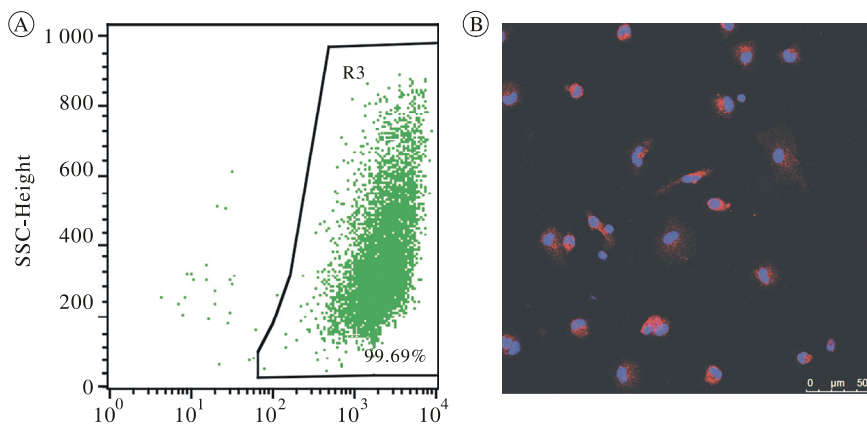


图 1 巨噬细胞的鉴定 A: 流式细胞术检测骨髓来源巨噬细胞 F4/80 表达; B: 免疫荧光检测腹腔巨噬细胞 F4/80 的表达 (红色)

Fig.1 Identification of macrophages A: Expression of F4/80 in bone marrow derived macrophages (BMDMs) was detected by flow cytometry; B: Expression of F4/80 (red) in peritoneal macrophages was evaluated by immunofluorescence

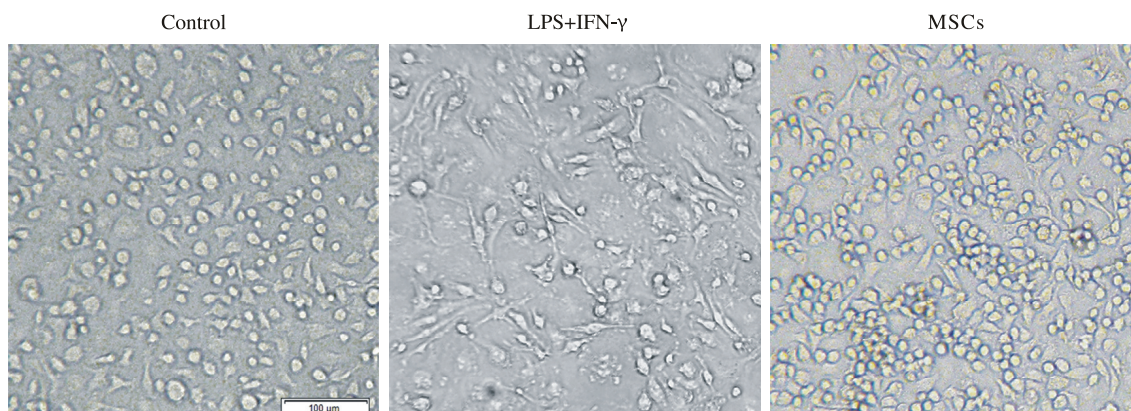


图 2 光镜下骨髓来源巨噬细胞的形态学特点 (40 \times)

Fig.2 Morphological characteristics of BMDMs (40 \times)

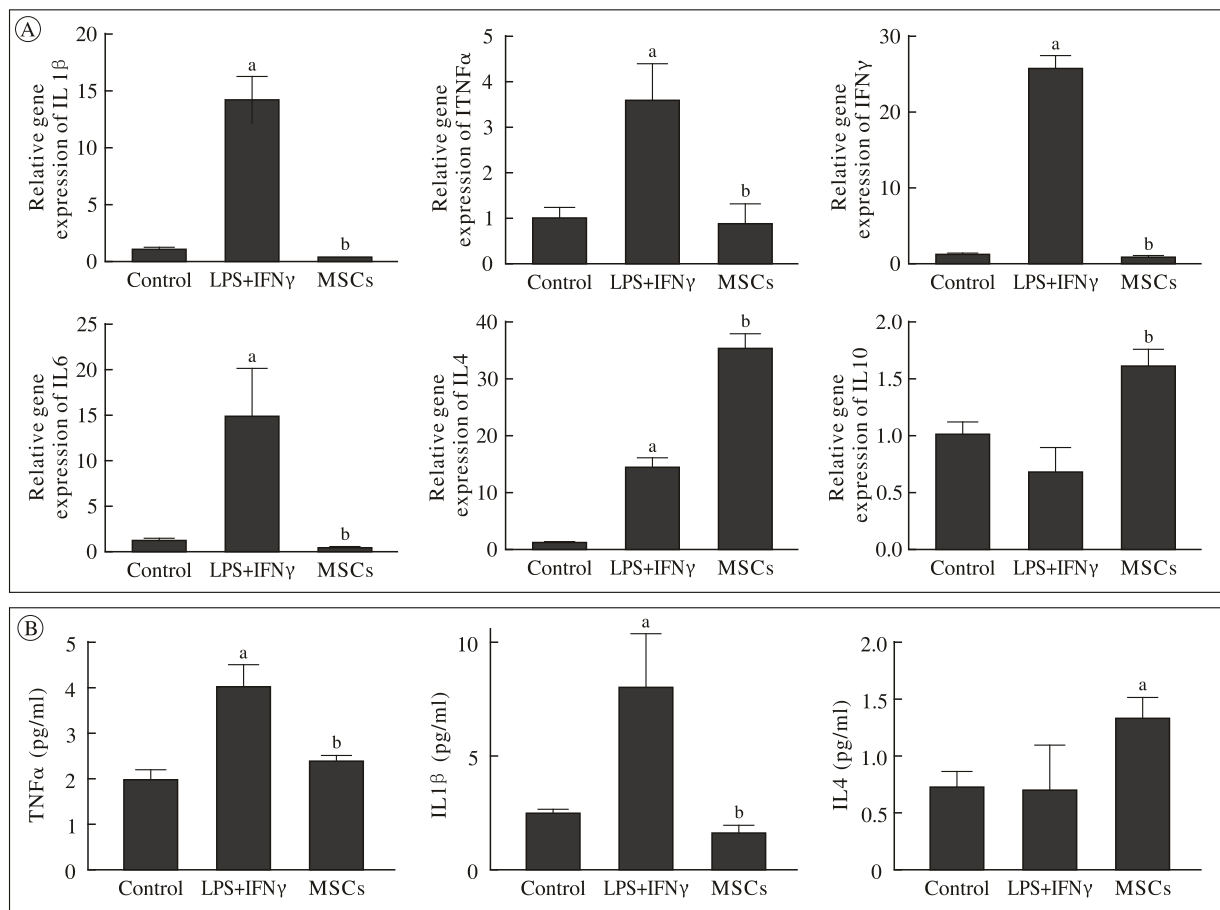


图 3 UC-MSCs对M1型巨噬细胞炎症因子表达的影响 A:巨噬细胞炎症因子的mRNA表达水平; B:巨噬细胞上清IL-1 β 、TNF- α 、IL-4水平 ($P < 0.05$, vs 对照组; $^b P < 0.05$, vs LPS和IFN- γ 诱导组)

Fig.3 Effect of UC-MSCs on inflammatory cytokines expression of LPS and IFN- γ induced M1 macrophages A: Expression levels of inflammatory cytokines; B: Protein levels of IL-1 β , TNF- α and IL-4 in macrophages media ($^a P < 0.05$, vs control group; $^b P < 0.05$, vs LPS and IFN- γ group)

Arg1表达有所下调 (P 均 < 0.01 , 图 5A, 图 5B), 提示UC-MSCs的作用被该抑制剂阻断, 说明PI3K/AKT通路参与了UC-MSCs促进M1型巨噬细胞向M2型极化的过程。

讨论

间充质干细胞是具有多向分化潜能和自我更新能力的一类成体干细胞, 在机体中分布广泛。近年来研究发现, 间充质干细胞具有显著的免疫调控能力^[10], 在炎症微环境中能调节如T细胞^[11]、NK细胞^[12]、DC细胞^[13]等免疫细胞的表型和功能, 从而抑制炎症反应, 促进组织修复, 在自身免疫性疾病和炎症性疾病治疗上显示出了良好的前景。目前关于UC-MSCs对巨噬细胞表型的调节及其机制的报道较少, 因此本研究主要探讨了UC-MSCs对巨噬细胞表型的影响及其相关的信号通路。

巨噬细胞是固有免疫系统的重要组成部分, 根据其功能、表面标记物、分泌谱等, 大致可分

为经典活化的M1型巨噬细胞和选择性活化的M2型巨噬细胞^[1]。IFN- γ 和TLR配体如LPS可诱导巨噬细胞向M1表型极化。M1型巨噬细胞主要分泌IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、IL-12、IL-23、诱导型一氧化氮合酶等, 具有抗原提呈和活化T细胞的能力, 是炎症反应重要的效应细胞。M2型包括M2a、M2b、M2c等多个亚型, 总体而言, M2型巨噬细胞IL10高表达, 并分泌大量的IL10、TGF- β 、VEGF等细胞因子, 促进Th2细胞免疫反应, 具有缓解炎症、促进血管生成和组织修复的作用^[14]。M1型巨噬细胞的大量浸润与代谢性疾病的进展密切相关^[15]。如2型糖尿病的进展伴随着胰岛中巨噬细胞表型的改变。正常状态下, 胰岛中固有巨噬细胞多呈CD11b⁺Ly-6C⁻的M2表型。随着糖尿病进程, 胰岛中分泌IL-1 β 、TNF- α 的CD11b⁺Ly-6C⁺促炎型巨噬细胞显著增多, 参与了 β 细胞的损伤和凋亡^[16]。而促进巨噬细胞向M2型极化可抑制炎症, 延缓疾病进展。

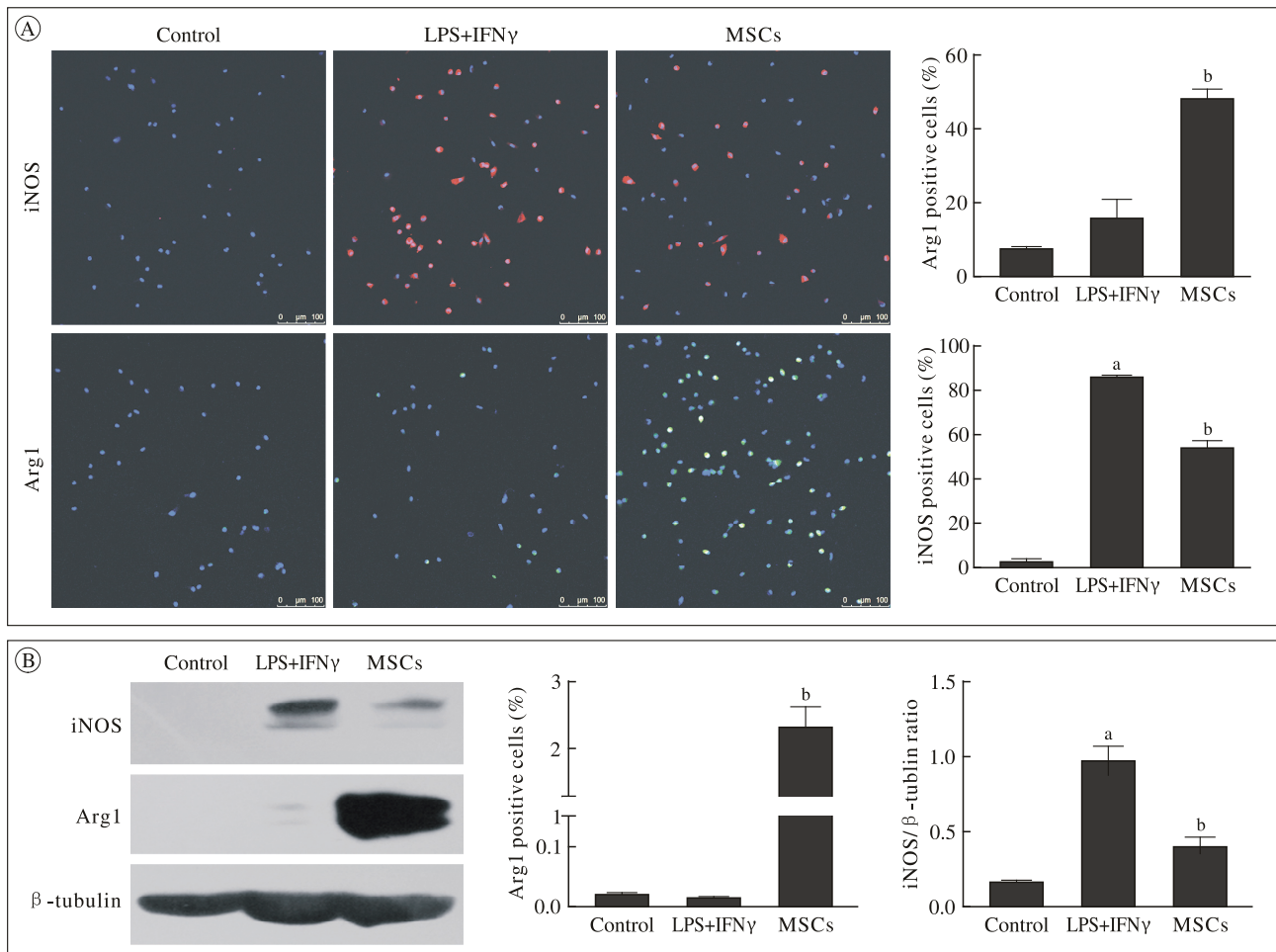


图 4 UC-MSCs 促进 M1 型巨噬细胞向 M2 型极化 A: 免疫荧光检测巨噬细胞 iNOS 和 Arg1 的表达; B: Western blot 检测及定量分析巨噬细胞 iNOS 和 Arg1 的表达 ($^aP < 0.05$, vs 对照组; $^bP < 0.05$, vs LPS 和 IFN- γ 诱导组)

Fig.4 UC-MSCs facilitated M1 macrophages polarized towards M2. Expression of macrophage proteins by immunofluorescence (A) and Western blot (B) ($^aP < 0.05$, vs control group; $^bP < 0.05$, vs LPS and IFN- γ group)

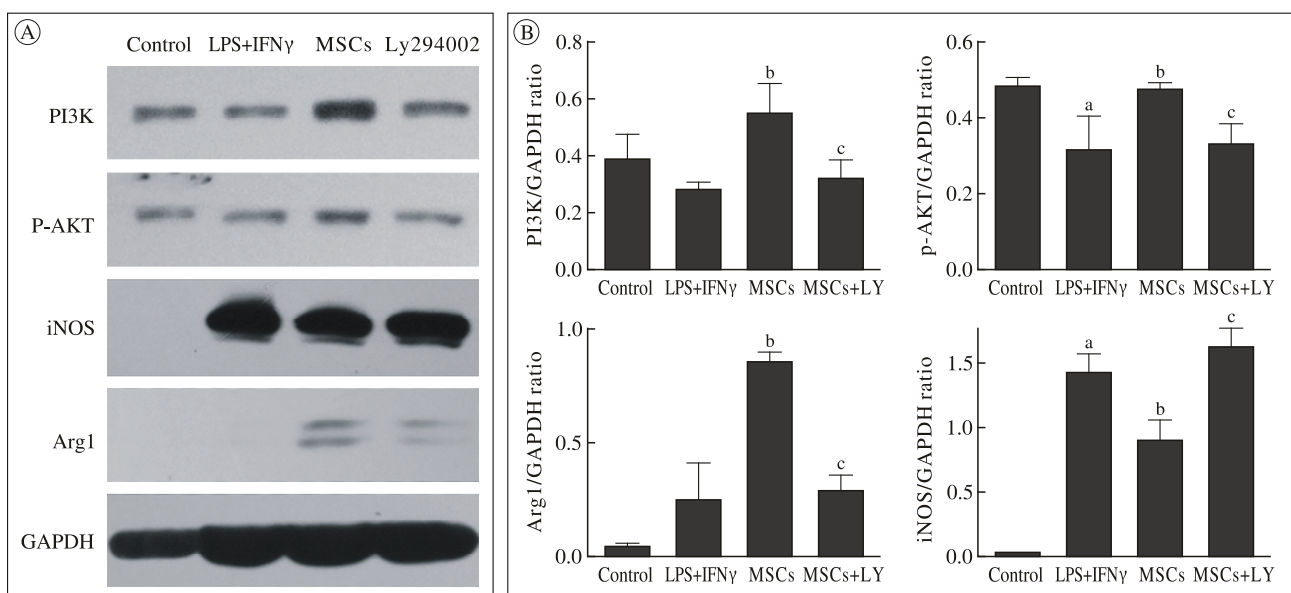


图 5 PI3K-AKT 通路参与了 UC-MSCs 促进 M1 型巨噬细胞向 M2 极化的过程 A: Western blot 检测巨噬细胞 PI3K、p-AKT、iNOS 和 Arg1 的表达; B: Western blot 定量分析 ($^aP < 0.05$, vs 对照组; $^bP < 0.05$, vs LPS 和 IFN- γ 诱导组; $^cP < 0.05$, vs MSCs 组)

Fig.5 PI3K-AKT signaling pathway contributed to the effect of UC-MSCs on macrophages polarization towards M2. Expression of macrophage proteins by Western blot (A) and quantification of protein levels (B) ($^aP < 0.05$, vs control group; $^bP < 0.05$, vs LPS and IFN- γ group; $^cP < 0.05$, vs MSCs group)

本研究利用 LPS 和 IFN- γ 处理巨噬细胞 24 h 来诱导形成 M1 型巨噬细胞。LPS 和 IFN- γ 处理后, 巨噬细胞形态发生明显改变, 长梭形细胞数目显著增加, IL-1 β 、TNF- α 的 mRNA 和蛋白水平的表达量明显上调 (P 均 < 0.05), 免疫荧光和 Western blot 结果显示 iNOS 表达明显上升 ($P < 0.01$), 提示 M1 型巨噬细胞诱导成功。而经过与干细胞共培养后, 长梭形细胞减少, 细胞黏附性增强, 胞内颗粒增多。免疫荧光和 Western blot 均显示, 与 LPS 和 IFN- γ 的诱导组相比, 干细胞共培养组巨噬细胞 iNOS 表达下调, Arg1 表达明显上调, 提示 UC-MSCs 共培养后, M1 型巨噬细胞表型向 M2 转变。同时, 巨噬细胞分泌的 IL-1 β 、TNF- α 、IFN- γ 等炎症因子下降, 其中 IL-1 β 下降显著。TNF- α 可诱发级联反应, 导致及组织损伤和局部炎症的迁移扩散。IL-1 β 是促炎型巨噬细胞分泌的主要效应因子之一, IL-1 β 前体经过 NLRP3 炎性小体激活, 成为成熟的 IL-1 β 后分泌, 引发局部组织炎症^[17]。值得注意的是, 胰岛 β 细胞表面具有大量的 IL-1 β 受体, 高浓度的 IL-1 β 是导致糖尿病前期以及糖尿病阶段 β 细胞损伤的关键因素^[18]。因此, UC-MSCs 通过显著抑制巨噬细胞 IL-1 β 的分泌, 可能具有改善胰岛功能的作用。

PI3K/AKT 通路是参与巨噬细胞激活与极化的重要通路之一^[19-21]。PI3K 能激活其下游的 AKT 和 mTOR, 从而抑制 NF- κ B 的激活、促进 C/EBP 的活化, 进而抑制巨噬细胞炎症因子分泌, 促进巨噬细胞向 M2 表型活化^[20]。我们发现, 经过与 UC-MSCs 共培养, 巨噬细胞 PI3K、p-AKT 表达增强 (P 均 < 0.01), 在加入该通路抑制剂 Ly294002 后, Western blot 结果显示巨噬细胞 iNOS 表达升高, Arg1 表达下降 (P 均 < 0.01), 说明 M1 型巨噬细胞向 M2 表型极化减弱, 提示 PI3K/AKT 通路参与了 UC-MSCs 促进巨噬细胞极化的过程。UC-MSCs 具有强大的分泌功能, UC-MSCs 分泌了哪些细胞因子促进巨噬细胞极化还需要进一步探索。

通过以上研究, 我们发现 UC-MSCs 能通过 PI3K/AKT 通路促进 M1 型巨噬细胞向 M2 型极化, 降低炎症因子分泌, 从而抑制炎症。鉴于巨噬细胞广泛参与了机体稳态维持和多种生理病理过程, UC-MSCs 对巨噬细胞表型的调节可能参与了 UC-MSCs 对多种免疫和炎症性疾病的治疗过程, 特别

是肥胖相关的代谢性疾病。因此, 本研究进一步揭示了 UC-MSCs 的免疫调控特性, 为 UC-MSCs 的应用提供了新的前景。

参考文献

- 1 Ma S, Xie N, Li W, et al. Immunobiology of mesenchymal stem cells [J]. *Cell Death Differ*, 2014, 21 (2): 216-225.
- 2 Epelman S, Lavine KJ, Randolph GJ. Origin and functions of tissue macrophages [J]. *Immunity*, 2014, 41 (1): 21-35.
- 3 Martinez FO, Sica A, Mantovani A, et al. Macrophage activation and polarization [J]. *Front Biosci*, 2008, 13: 453-461.
- 4 Ji Y, Sun S, Xu A, et al. Activation of natural killer T cells promotes M2 Macrophage polarization in adipose tissue and improves systemic glucose tolerance via interleukin-4 (IL-4) /STAT6 protein signaling axis in obesity [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287 (17): 13561-13571.
- 5 Mauer J, Chaurasia B, Goldau J, et al. Signaling by IL-6 promotes alternative activation of macrophages to limit endotoxemia and obesity-associated resistance to insulin [J]. *Nat Immunol*, 2014, 15 (5): 423-430.
- 6 Nemeth K, Leelahavanichkul A, Yuen PS, et al. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E (2)-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production [J]. *Nat Med*, 2009, 15 (1): 42-49.
- 7 Cao X, Han ZB, Zhao H, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells recruits trophic macrophages to induce pancreatic beta cell regeneration in diabetic mice [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2014, 53: 372-379.
- 8 Li Q, Sun W, Wang X, et al. Skin-Derived Mesenchymal Stem Cells Alleviate Atherosclerosis via Modulating Macrophage Function [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2015, 4 (11): 1294-1301.
- 9 Bieback K, Kern S, Klüter H, et al. Critical parameters for the isolation of mesenchymal stem cells from umbilical cord blood [J]. *Stem Cells*, 2004, 22 (4): 625-634.
- 10 Bernardo ME, Fibbe WE. Mesenchymal stromal cells: sensors and switchers of inflammation [J]. *Cell Stem Cell*, 2013, 13 (4): 392-402.
- 11 Luz-Crawford P, Kurte M, Bravo-Alegria J, et al. Mesenchymal stem cells generate a CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cell population during the differentiation process of Th1 and Th17 cells [J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2013, 4 (3): 65.
- 12 Noone C, Kihm A, English K, et al. IFN- γ stimulated human umbilical-tissue-derived cells potently suppress NK activation and resist NK-mediated cytotoxicity in vitro [J]. *Stem Cells Dev*, 2013, 22 (22): 3003-3014.
- 13 English K, Barry FP, Mahon BP. Murine mesenchymal stem cells suppress dendritic cell migration, maturation and antigen presentation [J]. *Immunol Lett*, 2008, 115 (1): 50-58.
- 14 Martinez FO, Gordon S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment [J]. *F1000Prime Rep*, 2014, 6: 13.
- 15 McNelis JC, Olefsky JM. Macrophages, immunity, and metabolic disease [J]. *Immunity*, 2014, 41 (1): 36-48.
- 16 Eguchi K, Manabe I. Macrophages and islet inflammation in type 2 diabetes [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2013, 15 (Suppl 3): 152-158.
- 17 Latz E, Xiao TS, Stutz A. Activation and regulation of the inflammasomes [J]. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13 (6): 397-411.
- 18 Morris DL. Minireview: Emerging Concepts in Islet Macrophage Biology in Type 2 Diabetes [J]. *Mol Endocrinol*, 2015, 29 (7): 946-962.

(上接233页)

- 19 Zhou D, Huang C, Lin Z, et al. Macrophage polarization and function with emphasis on the evolving roles of coordinated regulation of cellular signaling pathways [J] . Cell Signal, 2014, 26 (2) : 192–197.
- 20 Kaneda MM, Messer KS, Ralainirina N, et al. PI3K γ is a molecular

- switch that controls immune suppression [J] . Nature, 2016, 539 (7629) : 437–442.
- 21 Lu J, Xie L, Liu C, et al. PTEN/PI3k/AKT Regulates Macrophage Polarization in Emphysematous mice [J] . Scand J Immunol, 2017, 85 (6) : 395–405.