

## 乌头煎剂对小鼠RAW264.7巨噬细胞活性和极化的影响

邵明聪, 陈虎博, 张懿丹, 李梓嫣, 王丽娜

### Effect of aconite decoction on the activity and polarization of mouse RAW264.7 macrophages

SHAO Mingcong, CHEN Hubo, ZHANG Yidan, LI Ziyang, WANG Lina

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202505043>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### 食管癌的靶向治疗与免疫治疗研究进展

Research progress on targeted therapy and immunotherapy for esophageal cancer

药学实践与服务. 2024, 42(6): 231-237 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202306008

#### 帕博利珠单抗治疗所致免疫相关不良反应与中医体质的相关性研究

Correlation between immune related adverse reactions in patients treated with pembrolizumab and Traditional Chinese Medicine constitution

药学实践与服务. 2024, 42(5): 217-222 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202311029

#### mRNA肿瘤疫苗非病毒递送系统研究进展

Progress on mRNA tumor vaccine with non-viral delivery system

药学实践与服务. 2025, 43(3): 109-116 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202410034

#### 脓毒症治疗的研究进展

Progress on the treatment of sepsis

药学实践与服务. 2024, 42(11): 457-460, 502 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202405059

#### 虾青素通过激活Nrf2/HO-1通路抑制瓣膜间质细胞钙化

The inhibition effect of astaxanthin on calcification of aortic valve interstitial cells by activating the Nrf2/HO-1 pathway

药学实践与服务. 2025, 43(6): 283-287 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202412057

#### 基于NLRP1炎症小体探讨百合知母汤抗抑郁的作用机制

Exploration of the antidepressant mechanism of Baihe Zhimu decoction based on NLRP1 inflammasome

药学实践与服务. 2024, 42(8): 325-333 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202401033



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 论著 ·

## 乌头煎剂对小鼠 RAW264.7 巨噬细胞活性和极化的影响

邵明聪, 陈虎博, 张懿丹, 李梓嫣, 王丽娜 (海军军医大学中医系, 上海 200433)

**[摘要]** 目的 探讨乌头煎剂(aconite decoction, AD)对脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)或白介素 4(IL-4)诱导的小鼠 RAW264.7 巨噬细胞活性及其向 M1、M2 型极化的影响。方法 采用 CCK-8 法检测乌头煎剂的细胞毒性; 分别以 LPS 诱导 RAW264.7 细胞向 M1 型极化、IL-4 诱导 RAW264.7 细胞向 M2 型极化, 并加入不同浓度乌头煎剂干预。通过流式细胞术检测 RAW264.7 巨噬细胞的极化类型; 采用荧光定量 PCR 检测与巨噬细胞极化相关的 IL-6、一氧化氮合成酶(iNOS)、精氨酸酶 1(Arg1)、类几丁质酶 3 样分子 3(chitinase 3-like, Chi3l3 或称 Ym1)的 mRNA 表达水平; 利用 Elisa 法检测细胞上清液中与巨噬细胞极化相关细胞因子肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )、IL-10 的含量。结果 乌头煎剂在无毒浓度范围内显著升高 LPS 诱导下细胞内 IL-6 和 iNOS 的 mRNA 表达水平, 降低 IL-4 诱导下细胞内 Arg-1、Ym1 的 mRNA 表达水平; 同时, 乌头煎剂显著增加 LPS 诱导下细胞分泌 TNF- $\alpha$  的水平, 降低 IL-4 诱导下细胞分泌 IL-10 的水平。结论 乌头煎剂能够促进巨噬细胞的增殖, 增加其活性; 对 LPS 诱导的巨噬细胞向 M1 型极化具有显著促进作用; 对 IL-4 诱导的巨噬细胞向 M2 型极化具有抑制作用。这一发现为乌头煎剂在肿瘤免疫治疗中的应用提供了实验依据。

**[关键词]** 乌头; 巨噬细胞极化; M1/M2 亚型; 免疫治疗

**[文章编号]** 2097-2024(2025)07-0329-06

**[DOI]** 10.12206/j.issn.2097-2024.202505043

## Effect of aconite decoction on the activity and polarization of mouse RAW264.7 macrophages

SHAO Mingcong, CHEN Hubo, ZHANG Yidan, LI Ziyang, WANG Lina (Department of Traditional Chinese Medicine, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effects of Aconite decoction (AD) on the viability and polarization of murine RAW264.7 macrophages induced by lipopolysaccharide (LPS) or interleukin-4 (IL-4). **Methods** Cytotoxicity of AD was assessed by the CCK-8 assay. RAW264.7 cells were polarized toward M1 phenotype by LPS or M2 phenotype by IL-4, followed by treatment with varying concentrations of AD. Macrophage polarization was analyzed by flow cytometry. Quantitative PCR was performed to measure mRNA expression of polarization-associated markers (IL-6, iNOS, Arg1, and Ym1). ELISA was used to quantify secreted cytokines (TNF- $\alpha$  and IL-10) in the supernatant. **Results** At non-toxic concentrations, IL-6 and iNOS mRNA levels in LPS-stimulated cells were significantly upregulated while Arg1 and Ym1 expression in IL-4-treated groups were downregulated by AD. Concurrently, TNF- $\alpha$  secretion in LPS-induced M1 polarization was enhanced but IL-10 production in IL-4-induced M2 polarization was suppressed by AD. **Conclusion** AD could promote macrophage proliferation and viability, augments LPS-driven M1 polarization, and inhibit IL-4-mediated M2 polarization, which provided experimental evidence for the potential application of AD in tumor immunotherapy.

**[Key words]** aconite decoction; macrophage polarization; M1/M2 phenotype; immunotherapy

乌头(aconite)是传统中药<sup>[1]</sup>, 具有温阳散寒功效, 临床用于治疗心功能不全等虚寒证候。现代研究证实其含多种活性成分, 展现抗肿瘤、免疫调节等药理作用<sup>[2-3]</sup>, 其中, 高乌甲素<sup>[4]</sup>等已被开发为临床药物。尽管其抗肿瘤效应<sup>[5]</sup>已被证实, 但具体作

用机制仍需深入探索。

巨噬细胞作为免疫系统的重要组成部分, 在固有免疫和适应性免疫中发挥关键作用<sup>[6]</sup>。根据功能差异, 巨噬细胞可分为 M1 和 M2 两种极化类型<sup>[7]</sup>。其中, 细菌和其产物脂多糖 (LPS) 可诱导 M1 型极化, 促进促炎因子分泌, 增强抗病原体能力; 而白介素 4 (IL-4) 诱导的 M2 型则分泌抗炎因子, 参与组织修复<sup>[8-9]</sup>。在肿瘤微环境中, 肿瘤相关巨噬细胞 (tumor associated macrophage, TAMs) 多呈现 M2 型表型, 通过免疫逃逸机制促进肿瘤进展。M1 型特

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81774244)

**[作者简介]** 邵明聪, 硕士研究生, 研究方向: 中西医结合治疗肝癌, Email: 605971872@qq.com

**[通信作者]** 王丽娜, 博士, 副教授, 博士生导师, 研究方向: 中医防治消化系统疾病, Tel: 13764524798, Email: rena1022@163.com

征性表达一氧化氮合成酶(iNOS)、IL-6 等标志物, M2 型则高表达精氨酸酶 1(Arg1)、类几丁质酶 3 样分子 3(Ym1)等分子<sup>[10]</sup>。通过调控巨噬细胞极化状态,可有效增强抗肿瘤免疫应答,为肿瘤治疗提供新思路。

课题组前期研究表明<sup>[11]</sup>,乌头煎剂(AD)可抑制肝癌小鼠肿瘤生长并影响巨噬细胞浸润,提示其抗肿瘤作用可能与巨噬细胞调控相关。为验证这一假设,本研究首次评估了 AD 对巨噬细胞活性和极化的影响。通过 LPS/IL-4 刺激模型,结合流式细胞术和 qPCR 分析,检测了细胞活性、极化标志物(iNOS、IL-6、Arg-1、Ym1)及细胞因子(TNF- $\alpha$ 、IL-10)表达,为阐明 AD 调控巨噬细胞极化的机制提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 细胞株

RAW264.7 小鼠巨噬细胞株,由海军军医大学转化医学中心临床肿瘤研究所提供。

#### 1.1.2 药物

中药材为制川乌(产地:陕西,批号:18031206)购自海军军医大学第一附属医院中药房,制备成乌头冻干粉以备后续实验。

#### 1.1.3 仪器及试剂

胎牛血清(BI 公司);DMEM(上海源培生物公司);脂多糖(Sigma 公司);IL-4(Novoprotein 公司);Arg-1、iNOS、IL-6、YM1 及内参基因 GAPDH 引物均由上海冠泰生物科技有限公司合成;TNF- $\alpha$ 、IL-10 ELISA kit 由上海威奥生物科技有限公司提供;流式抗体 FITC Anti-Mouse F4/80、APC Anti-Mouse CD206、PE Anti-Mouse CD86 Antibody (Elabscience 公司);高速冷冻离心机(Eppendorf 5810R,德国);多功能酶标仪(BioTek Synergy HT,美国);紫外-分光光度计(Beckman Du730,美国);流式细胞仪(Thermo Fisher,美国)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 细胞培养

细胞在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 及饱和湿度条件下,培养于含 10% 胎牛血清,含 1% 青-链霉素溶液的 DMEM 完全培养液中。

#### 1.2.2 乌头冻干粉的制备和溶解

取 500 g 乌头粉末加 4 000 ml 去离子水回流提取 4 h,收取药液后重复提取一次。合并两次的提取液,经减压过滤、旋转蒸发浓缩后冻干,得冻干

粉 4℃ 保存。临用前取 0.8 g 冻干粉溶于 40 ml PBS,离心过滤(22  $\mu$ m)制得 20 mg/ml 母液(-20℃ 保存)。实验时 37℃ 复温后,DMEM 稀释至所需浓度使用。

#### 1.2.3 CCK-8 测乌头煎剂作用下 RAW264.7 细胞增殖率

将 RAW264.7 细胞接种于 96 孔板,设未处理对照组及不同浓度乌头煎剂组(1、2、2.5、4、5、8、10 mg/ml),每组 3 复孔。细胞培养 24 h 后加入 CCK-8 孵育 1 h,450 nm 测 A 值。根据 IC<sub>50</sub> 结果筛选,排除具有生物毒性的影响浓度后,选择低、中、高 3 个无毒浓度用于后续实验。随后分别用 LPS、IL-4 对细胞进行诱导,设未处理对照组、LPS/IL-4 模型组及 AD 不同浓度组(AD-L/M/H),相同条件培养 24 h 后检测细胞增殖率。

#### 1.2.4 细胞的分组和给药处理建立 M1、M2 巨噬细胞模型

将 RAW264.7 细胞接种于 6 孔板,设 9 组( $n=3$ ):对照组、LPS/IL-4 组及 AD 低(0.5 mg/ml)、中(1 mg/ml)、高(2 mg/ml)浓度组。给药组预处理 2 h 后,模型组和给药组分别加入 LPS(1  $\mu$ g/ml)或 IL-4(40 ng/ml)诱导,对照组不做处理,24 h 后收集样本检测。

#### 1.2.5 流式细胞术检测 RAW264.7 细胞类型

按照上述分组并药物处理 24 h 后,取细胞制备单细胞悬液( $1\times 10^6$  个/ml),分别用荧光标记的流式抗体进行表面标记染色:FITC 标记的抗 F4/80 抗体用于鉴定巨噬细胞,PE 标记的抗 CD86 抗体用于标记 M1 型巨噬细胞,APC 标记的抗 CD206 抗体用于标记 M2 型巨噬细胞,4℃ 避光染色 30 min。PBS 重悬后上机检测,以 F4/80<sup>+</sup> 细胞为门控,通过 Flow Jo 分析 CD86<sup>+</sup>(M1 型)和 CD206<sup>+</sup>(M2 型)细胞比例。从而评估不同处理组中巨噬细胞亚群的变化情况。

#### 1.2.6 荧光定量 PCR 检测 RAW264.7 相关 mRNA 的表达量

用荧光定量 PCR 检测对照组、LPS 模型组及 AD 不同浓度组(LPS+AD-L/M/H)内 IL-6、iNOS mRNA 的表达,并检测对照组、IL-4 模型组及 AD 不同浓度组(IL-4+AD-L/M/H)内 YM1 及 Arg-1 mRNA 的表达。

(1)细胞总 RNA 的提取及逆转录:取冻存细胞裂解液,加入 0.1 ml 氯仿替代物,经振荡混匀后离心分层,收集上清液沉淀,经洗涤后晾干。用 40  $\mu$ l DEPC 水溶解 RNA 沉淀,测定其浓度及纯度

( $A_{260/280}=1.8 \sim 2.0$ )。随后按照试剂盒说明将 RNA 逆转录为 cDNA。

(2) 荧光定量 PCR: 采用 SYBR Green qPCR Master Mix 试剂盒进行荧光定量 PCR 反应, 反应条件为 95 °C 预变性 30 s, 随后进行 40 个循环扩增 (95 °C 变性 5 s, 60 °C 退火 30 s)。每次扩增设置 GAPDH 为内参对照。选用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法分析样本中 IL-6、iNOS、Arg-1、Ym1 mRNA 的相对表达量。荧光定量 PCR 引物序列见表 1。

表 1 荧光定量 PCR 引物序列

引物	序列	长度(bp)
GAPDH	F:GCTTGGGCTTCCTTAGGGTA R:GATTCATACACGCGGTTTCATT	79
IL-6	F:GCTACCAAACTGGATATAATCAGG R:GGACTCTGGCTTTGTCTTTCTT	129
iNOS	F:TTG ACG CTC GGA ACT GTA R:GTT GGT GGC ATA AAG TAT GTG	74
Arg-1	F:GCC AGG GAC TGA CTA CCT TAA R:AGT TCT GTC TGC TTT GCT GTG	90
Ym1	F:TGA GGA AGA ATC TGT GGA GAA R:TGA GAC AGT TCA GGG ATC TTG	108

1.2.7 Elisa 检测 RAW264. 7 相关细胞因子的表达量

收集各组细胞上清液, 参照 TNF- $\alpha$ 、IL-10 Elisa 检测试剂盒说明书进行操作。根据标准品浓度梯度绘制标准曲线, 计算样本中 TNF- $\alpha$  和 IL-10 的浓度, 结果以 pg/ml 表示。所有操作均在生物安全柜内进行, 确保实验过程无菌。

1.3 统计学分析

实验数据用 GraphPad Prism 8.0 统计软件处理分析, 统计方法使用 One-Way ANOVA 及 LSD 检验, 两独立样本使用  $t$  检验比较两组间差异。数据用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。

2 结果

2.1 乌头煎剂对 RAW264.7 细胞增殖率的影响

CCK-8 实验表明, 与 RAW264. 7 空白组比较, 乌头煎剂在 0.5 ~ 4 mg/ml 范围内显著促进 RAW264.7 细胞增殖 ( $P < 0.05$ , 表 2), 当浓度升高到 5 mg/ml 时抑制生长 ( $P < 0.05$ , 表 2)。基于  $IC_{50}$  测定, 后续实验选用 0.5、1、2 mg/ml (低、中、高浓度) 以确保无细胞毒性影响。

2.2 乌头煎剂对 LPS、IL-4 诱导的 RAW264.7 细胞增殖率的影响

表 3 数据显示, LPS (1  $\mu$ g/ml) 刺激 24 h 可显著提升 RAW264.7 细胞增殖 ( $P < 0.05$ ), 而乌头煎剂预处理后协同作用进一步增强, 呈现剂量依赖性

表 2 乌头煎剂对 RAW264.7 细胞活性的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	浓度(mg/ml)	$n$	细胞活性(%)
对照组	0	3	100 $\pm$ 3.63
AD1组	0.5	3	122.12 $\pm$ 4.70 <sup>#</sup>
AD2组	1	3	154.77 $\pm$ 5.39 <sup>#</sup>
AD3组	2	3	157.47 $\pm$ 5.07 <sup>#</sup>
AD4组	2.5	3	121.32 $\pm$ 4.28 <sup>#</sup>
AD5组	4	3	112.84 $\pm$ 0.92 <sup>#</sup>
AD6组	5	3	88.57 $\pm$ 0.63 <sup>*</sup>
AD7组	8	3	66.18 $\pm$ 3.89 <sup>*</sup>
AD8组	10	3	53.79 $\pm$ 1.75 <sup>*</sup>

\* $P < 0.05$ , 抑制增殖, <sup>#</sup> $P < 0.05$ , 促进增殖, 与对照组比较。

( $P < 0.05$ )。根据表 4 数据, IL-4 (40 ng/ml) 对细胞活力影响不显著 ( $P > 0.05$ ), 但联合乌头煎剂后增殖率呈浓度依赖性下降 ( $P < 0.05$ )。

表 3 乌头煎剂对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞增殖率的影响

( $\bar{x} \pm s$ )		
组别	$n$	增殖率(%)
对照组	3	100 $\pm$ 2.63 <sup>*</sup>
LPS组	3	106.87 $\pm$ 0.20
LPS+AD-L组	3	113.80 $\pm$ 1.00 <sup>*</sup>
LPS+AD-M组	3	119.21 $\pm$ 2.36 <sup>*</sup>
LPS+AD-H组	3	128.13 $\pm$ 2.46 <sup>*</sup>

\* $P < 0.05$ , 与 LPS 组比较。

表 4 乌头煎剂对 IL-4 诱导的 RAW264.7 细胞增殖率的影响

( $\bar{x} \pm s$ )		
组别	$n$	增殖率(%)
对照组	3	100 $\pm$ 2.40
IL-4组	3	98.52 $\pm$ 0.43
IL-4+AD-L组	3	90.65 $\pm$ 0.28 <sup>*</sup>
IL-4+AD-M组	3	86.47 $\pm$ 0.82 <sup>*</sup>
IL-4+AD-H组	3	82.14 $\pm$ 0.61 <sup>*</sup>

\* $P < 0.05$ , 与 IL-4 组比较。

2.3 流式细胞术检测乌头煎剂作用于 LPS、IL-4 诱导的 RAW264. 7 细胞类型变化

流式细胞术分析显示, LPS 刺激显著提高 CD86<sup>+</sup>M1 型巨噬细胞比例 ( $P < 0.05$ ) (图 1A); 而 IL-4 处理则明显增加 CD206<sup>+</sup>M2 型细胞比例 ( $P < 0.05$ , 图 1B)。乌头煎剂预处理后, LPS 组的 M1 型极化进一步增强 (图 2A), 而 IL-4 组的 M2 型极化被显著抑制 (图 2B), 均呈现剂量依赖性 ( $P < 0.05$ )。这些结果提示, 乌头煎剂可能通过双向调节巨噬细胞极化状态, 一方面增强其抗肿瘤免疫活性, 另一方面抑制其促肿瘤生长功能。

2.4 乌头煎剂对 LPS、IL-4 诱导的 RAW264. 7 细胞内 IL-6、iNOS 和 Arg-1、Ym1 mRNA 表达水平的影响

荧光定量 PCR 结果显示 (图 3A、图 3B), LPS



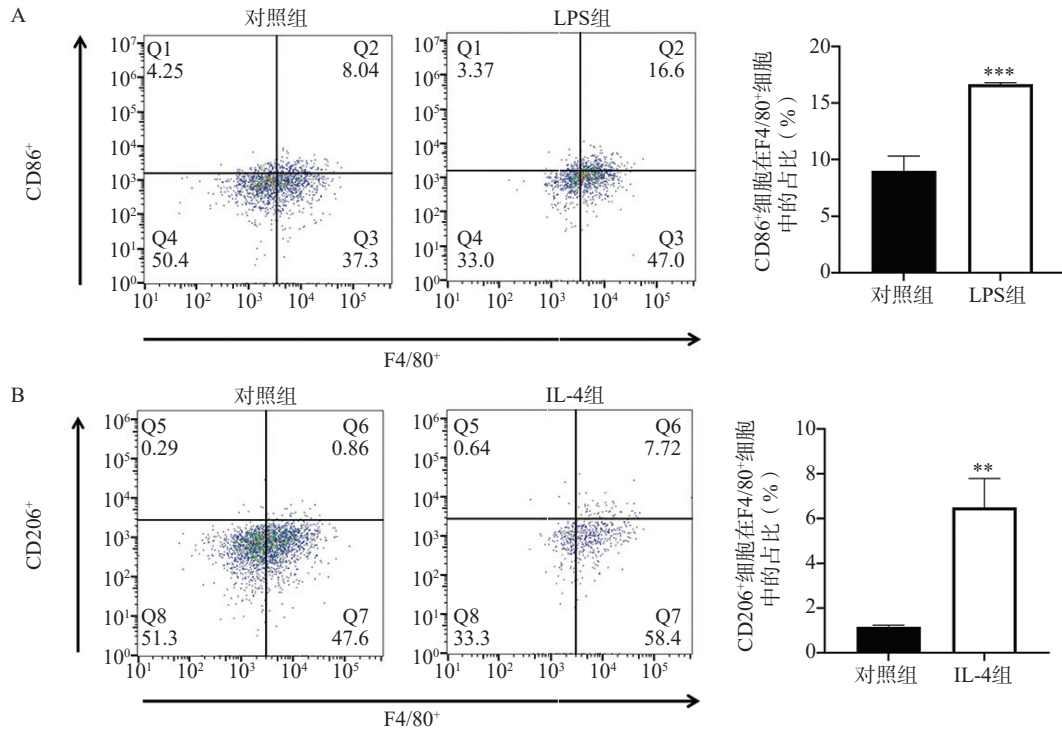


图1 流式细胞术分析 LPS、IL-4 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞极化表型变化及定量统计

A. LPS 诱导后 RAW264.7 细胞流式代表图及统计图; B. IL-4 诱导后 RAW264.7 细胞流式代表图及统计图

注: 右上象限为观察指标; \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , 与对照组比较。

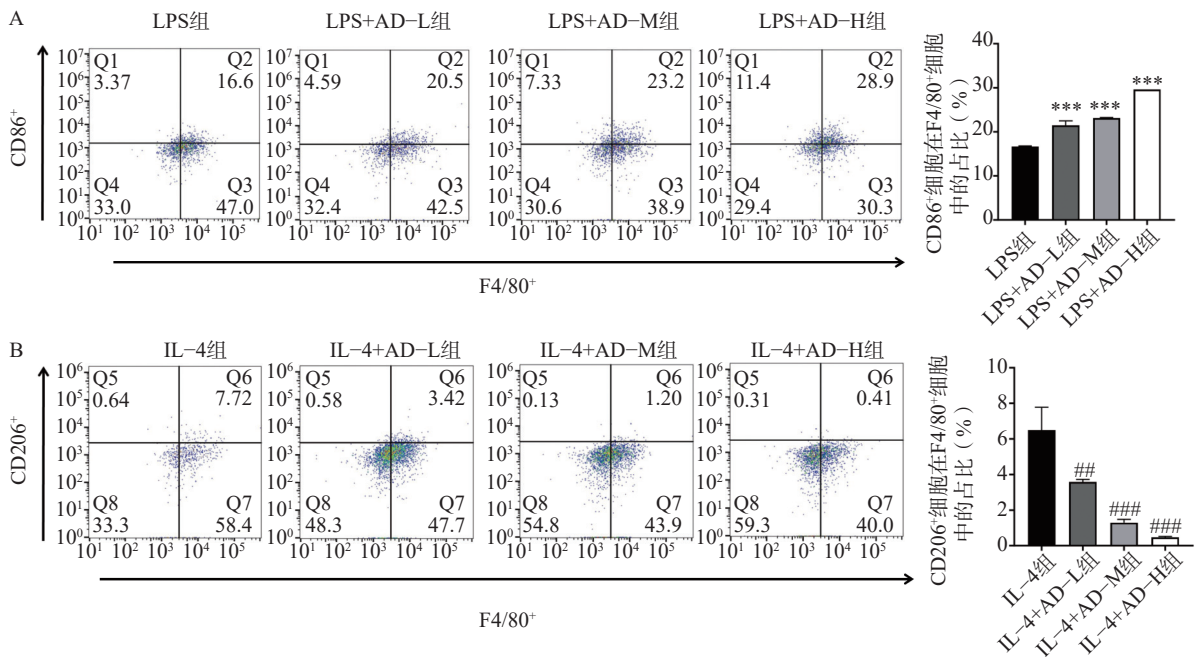


图2 乌头煎剂调控 LPS、IL-4 诱导 RAW264.7 巨噬细胞极化的流式多参数分析

A. 乌头煎剂调控 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞流式代表图及统计图; B. 乌头煎剂调控 IL-4 诱导的 RAW264.7 细胞流式代表图及统计图

注: 右上象限为观察指标; \*\*\* $P < 0.001$ , 与 LPS 组比较; ## $P < 0.01$ , ### $P < 0.001$ , 与 IL-4 组比较。

刺激显著上调 IL-6 和 iNOS 表达水平( $P < 0.05$ ); 乌头煎剂预处理后进一步增强该效应, 且呈剂量依赖性( $P < 0.05$ )。(图 3C、图 3D)。IL-4 刺激后显著提高 Arg-1 和 YM1 水平( $P < 0.05$ ), 而乌头煎剂可剂量依赖性抑制其表达( $P < 0.05$ )。这些数据表明, 乌

头煎剂具有双向调控巨噬细胞极化的独特作用: 一方面通过增强 IL-6/iNOS 表达水平促进 M1 型巨噬细胞的抗肿瘤免疫活性, 另一方面通过抑制 Arg-1/YM1 表达水平阻断 M2 型巨噬细胞的免疫抑制功能。

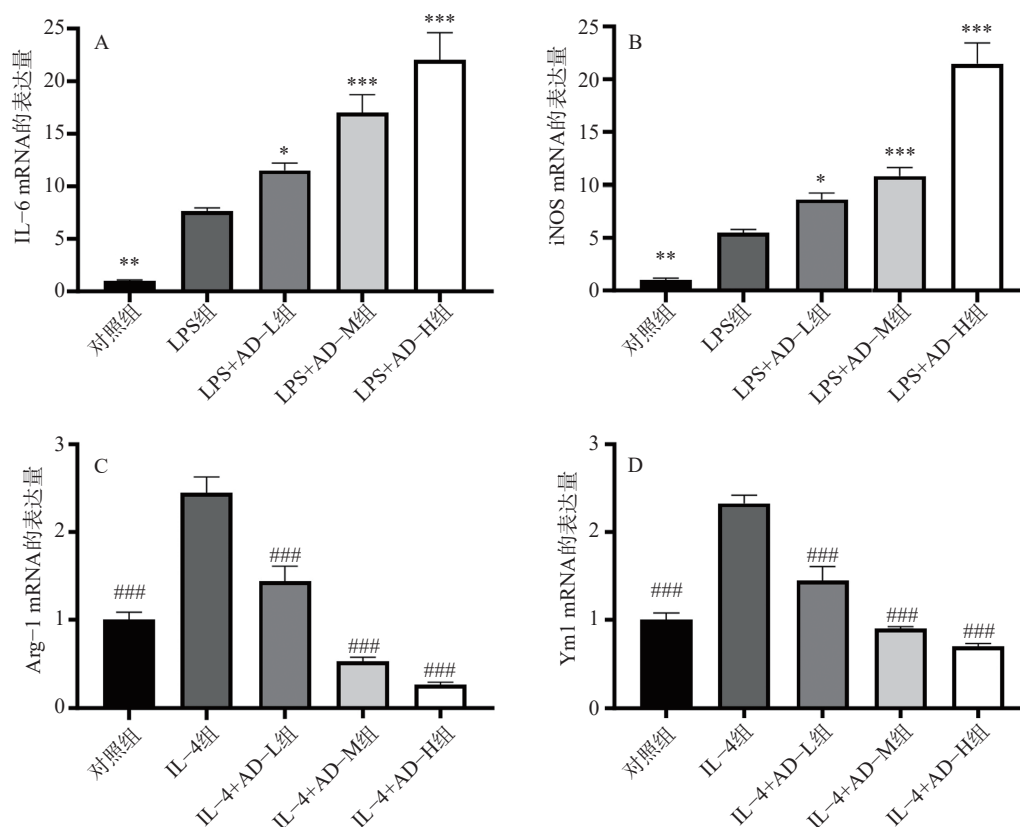


图3 乌头煎剂对 LPS、IL-4 诱导的 RAW264.7 细胞极化标志物表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

A、B.乌头煎剂对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞内 IL-6、iNOS mRNA 表达统计图; C、D.乌头煎剂对 IL-4 诱导的 RAW264.7 细胞内 Arg-1、Ym1 mRNA 表达统计图

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ , 与 LPS 组比较; ### $P < 0.001$ , 与 IL-4 组比较。

## 2.5 乌头煎剂对 LPS、IL-4 诱导后的 RAW264.7 细胞上清液中分泌 TNF- $\alpha$ 、IL-10 水平的影响

Elisa 检测结果显示(图 4A), LPS 单独刺激显著促进 TNF- $\alpha$  分泌( $P < 0.05$ ), 乌头煎剂预处理后该效应进一步增强且呈剂量依赖性。表明其对 M1 型巨噬细胞促炎功能具有协同激活作用。IL-4 显著增加 IL-10 分泌水平( $P < 0.05$ ), 而乌头煎剂可剂量依赖性抑制其分泌(图 4B), 提示其可阻断

M2 型巨噬细胞的免疫抑制功能。

## 3 讨论

巨噬细胞具有高度可塑性,可在微环境调控下分化为促炎的 M1 型或抗炎的 M2 型,二者在肿瘤微环境中发挥截然不同的作用<sup>[12]</sup>。TAMs 通常呈现 M2 样表型,促进肿瘤进展。研究表明<sup>[13-14]</sup>,巨噬细胞已成为肿瘤治疗的关键靶点,其功能调控在肿

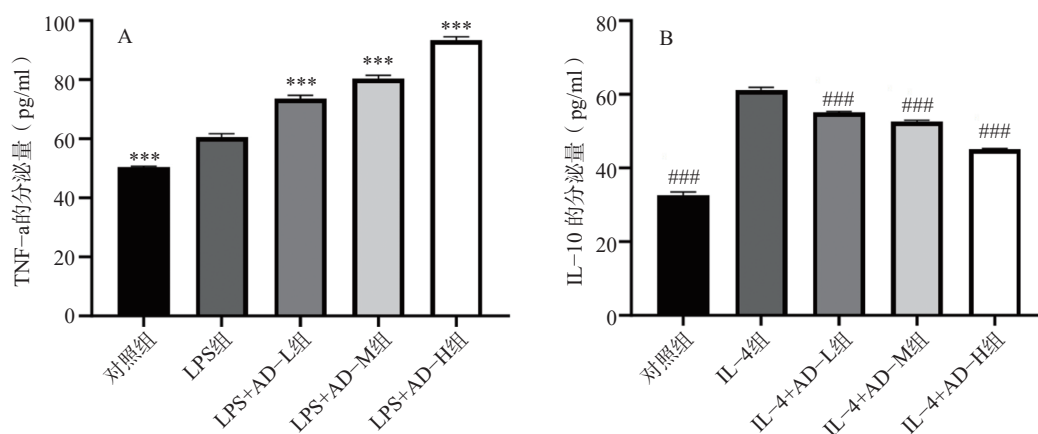


图4 乌头煎剂对 LPS、IL-4 诱导的 RAW264.7 细胞分泌 TNF- $\alpha$ 、IL-10 的影响

A.乌头煎剂对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞分泌 TNF- $\alpha$  的统计图; B.乌头煎剂对 IL-4 诱导的 RAW264.7 细胞分泌 IL-10 的统计图

\*\*\* $P < 0.001$ , 与 LPS 组比较; ### $P < 0.001$ , 与 IL-4 组比较。

瘤免疫治疗中具有核心研究价值。乌头及其活性化合物具有广泛的生物活性,包括抗肿瘤、免疫调节等多种药理作用<sup>[15]</sup>。近年来,其在慢性心力衰竭、慢性低血压、休克等疾病治疗中的应用也有报道<sup>[16]</sup>。本研究在前期体内实验的基础上<sup>[17]</sup>,探讨了乌头煎剂对巨噬细胞极化的调控作用。

实验结果表明,一定浓度范围的乌头煎剂能促进 RAW264.7 细胞增殖,呈浓度依赖性。在免疫功能调控方面,乌头煎剂展现出显著的巨噬细胞极化调节作用:在 LPS 诱导的 M1 极化模型中,乌头煎剂显著提升 CD86<sup>+</sup>细胞比例,上调 IL-6、iNOS 和 TNF- $\alpha$  表达,增强巨噬细胞的促炎活性和抗肿瘤免疫应答;而在 IL-4 诱导的 M2 极化模型中,乌头煎剂则抑制 CD206<sup>+</sup>细胞比例及下调免疫抑制相关分子 Arg-1、Ym1 和 IL-10 的水平。这些发现表明,乌头煎剂可通过双向调控巨噬细胞极化状态。为开发基于巨噬细胞极化的肿瘤免疫治疗策略提供了潜在候选药物。本研究通过体外实验证实了乌头煎剂能够显著激活巨噬细胞并调控其极化状态,为开发新型肿瘤免疫治疗策略提供了重要理论基础。然而需要指出的是,本研究仍存在若干局限性:首先,实验仅停留在细胞水平,缺乏动物模型验证,无法全面反映乌头煎剂在复杂机体环境中的作用效果;其次,对乌头煎剂调控巨噬细胞极化的分子机制探讨不够深入,虽然检测了部分标志物的表达变化,但尚未阐明具体的信号转导通路和关键靶点;再者,乌头煎剂作为复杂的中药制剂,其活性成分与巨噬细胞的相互作用机制有待进一步解析。基于这些局限,未来研究应当着重按照以下方向开展:建立荷瘤动物模型,在体内验证乌头煎剂对肿瘤相关巨噬细胞的调控作用;采用蛋白质组学和转录组学等技术深入挖掘关键信号通路;开展乌头煎剂活性成分的分离鉴定,明确其药效物质基础;探索乌头煎剂与现有肿瘤治疗方案的协同作用机制。这些深入研究将为乌头煎剂的临床应用提供更坚实的科学依据,推动中药在肿瘤免疫治疗领域的创新发展,为开发基于巨噬细胞重编程的肿瘤免

疫治疗提供新路径。

### 【参考文献】

- [1] 荣宝山,黄凯丽,袁琳嫣,等.乌头类药材化学成分和药理作用研究进展[J].中国药事,2021,35(8):932-947.
- [2] 周长凯,高静,付蕾,等.川乌抗肿瘤作用研究进展及可行性分析[J].中华中医药学刊,2020,38(12):179-182.
- [3] 艾嫦,朱妍妍,赵长琦.乌头属植物化学成分、药理作用及其内生菌的研究进展[J].天然产物研究与开发,2012,24(2):248-259.
- [4] GAO Y, FAN H, NIE A, et al. Aconitine: a review of its pharmacokinetics, pharmacology, toxicology and detoxification[J]. J Ethnopharmacol, 2022, 293: 115270.
- [5] 陈晓峰,程菊,石小艺,等.乌头属二萜生物碱的抗肿瘤活性研究进展[J].中国中药杂志,2023,48(14):3765-3773.
- [6] TIAN Z Q, HOU X J, LIU W T, et al. Macrophages and hepatocellular carcinoma[J]. Cell Biosci, 2019, 9: 79.
- [7] 戈文珂,吴卫兵.肿瘤微环境中肿瘤相关巨噬细胞极化的影响因素及其意义[J].中国肺癌杂志,2023,26(3):228-237.
- [8] 王成志,刘一帆,张晓青,等.天然产物调控肿瘤相关巨噬细胞在抗肿瘤免疫中的研究进展[J].现代肿瘤医学,2024,32(22):4378-4385.
- [9] 张略,王义武,张令强,等.巨噬细胞极性及调控机制[J].科学通报,2012,57(S2):2661-2665.
- [10] YUNNA C, MENGROU H, LEI W, et al. Macrophage M1/M2 polarization[J]. Eur J Pharmacol, 2020, 877: 173090.
- [11] 杨康迪.乌头煎剂调节 NK 细胞免疫功能抗肝癌的实验研究[D].上海:海军军医大学,2023.
- [12] ORECCHIONI M, GHOSHEH Y, PRAMOD AB, et al. Corrigendum: Macrophage Polarization: Different Gene Signatures in M1(LPS+)vs. Classically and M2(LPS-)vs. Alternatively Activated Macrophages[J]. Fro Immunol, 2020, 11: 234.
- [13] 黄鑫昱,苏盛元,王开琛等.巨噬细胞在肝癌发生、发展中的作用机制及其靶向治疗研究进展[J].肝脏,2022,27(6):708-711.
- [14] 应航洁,史丽云.巨噬细胞极性转化及其分子调控机制[J].医学综述,2014,20(17):3095-3097.
- [15] 张佳艺,闫梓乔,杜璐瑶,等.乌头抗肿瘤的应用及研究[J].中医药导报,2019,25(10):45-49.
- [16] 王欢,王丽娜,顾伟.乌头属药物对机体免疫功能调节作用的研究进展[J].山东医药,2020,60(6):105-108.
- [17] QI X, LIN W, WANG H, et al. Aconitine inhibits the proliferation of hepatocellular carcinoma by inducing apoptosis[J]. Int J Clin Exper Pathol, 2018, 11(11): 5278-5289.

【收稿日期】 2025-05-01 【修回日期】 2025-05-10

【本文编辑】 李睿旻