

肿瘤防治研究

Cancer Research on Prevention and Treatment

冻融治疗后肝癌库普弗细胞分泌功能的变化

朱亚玲, 易峰涛, 丁梦南, 曾程, 徐振华, 邵志雄, 谢俊杰

引用本文:

朱亚玲, 易峰涛, 丁梦南, 等. 冻融治疗后肝癌库普弗细胞分泌功能的变化[J]. 肿瘤防治研究, 2020, 47(01): 20–24.

ZHU Yaling, YI Fengtao, DING Mengnan, et al. Secretory Function of Kupffer Cells in Liver Cancer After Cryoablation[J]. *Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu*, 2020, 47(01): 20–24.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2020.19.0801>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

TAK-242对人多发性骨髓瘤细胞增殖及凋亡的影响

Effect of TAK-242 on Proliferation and Apoptosis of Human Multiple Myeloma Cells

肿瘤防治研究. 2019, 46(4): 322–326 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2019.18.1743>

RNA聚合酶 I 抑制剂通过NF- κ B调控鼻咽癌细胞系CNE-1的增殖、侵袭与凋亡

RNA Polymerase I Inhibitor Regulates Proliferation, Invasion and Apoptosis of Nasopharyngeal Carcinoma Cell Line CNE-1 by NF- κ B

肿瘤防治研究. 2019, 46(4): 294–300 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2019.18.1211>

全反式维甲酸抑制U87细胞血管生成拟态的机制研究

Mechanism of All-trans Retinoic Acid Inhibiting Vasculogenic Mimicry Formation in Glioma Cell Line U87

肿瘤防治研究. 2017, 44(6): 377–380 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2017.16.1470>

金丝桃苷诱导人胃癌细胞MKN-45凋亡及其机制

Hyperoside Induces Apoptosis of Gastric Cancer Cell Line MKN-45 and Related Mechanism

肿瘤防治研究. 2017, 44(12): 792–795 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2017.17.0461>

微小RNA-340对肝癌细胞增殖和凋亡的影响

Effect of MicroRNA-340 on Proliferation and Apoptosis of Hepatocellular Carcinoma Cell Lines

肿瘤防治研究. 2017, 44(11): 724–727 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2017.17.0063>



杂志官网



微信公众号

冻融治疗后肝癌库普弗细胞分泌功能的变化

朱亚玲¹, 易峰涛^{1,2}, 丁梦南¹, 曾程², 徐振华², 邵志雄², 谢俊杰²

Secretory Function of Kupffer Cells in Liver Cancer After Cryoablation

ZHU Yaling¹, YI Fengtao^{1,2}, DING Mengnan¹, ZENG Cheng², XU Zhenhua², SHAO Zhixiong², XIE Junjie²

1. First School of Clinical Medicine, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China; 2. Department of Oncological Radiotherapy, Wuhan General Hospital of PLA, Wuhan 430070, China

Corresponding Author: YI Fengtao, E-mail: flzxyft@163.com

Abstract: Objective To explore the effect of Kupffer cells (KCs) secretion on HCC cells after cryoablation and its mechanism. **Methods** Sixteen groups were divided: 37°C control group, three hypothermia groups (0°C, 5°C, 10°C), freeze-thaw necrotic substances group, three combined stimulation group and 8 parallel groups for each group. In the 8 parallel groups, pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) was added, and the final concentration was 100 μmol/ml. The concentration of TNF-α, IL-1β and INF-γ in 16 groups of KCs supernatant were determined by Elisa method. The expression of NF-κB protein in each group was detected by Western blot. **Results** The secretion of inflammatory factors TNF-α, IL-1β and INF-γ increased after combined stimulation of KCs with hypothermia and freeze-thaw necrotic substances ($P < 0.01$). The combined stimulation of low temperature (0°C, 5°C, 10°C) and freeze-thaw necrotic substances in the three groups showed superposition effect. Hypothermia stimulation had no significant effect on the expression of NF-κB protein ($P > 0.05$), but the expression of NF-κB protein in the combined stimulation group and freeze-thaw necrosis substances group were significantly up-regulated ($P < 0.05$). Treated with NF-κB inhibitor, the expression of NF-κB protein and the secretion level of inflammatory factors did not change significantly among 8 parallel groups ($P > 0.05$). The concentrations of TNF-α, IL-1β and INF-γ were positively correlated with the expression of NF-κB protein in the culture medium of KCs ($r \geq 0.870$, $P = 0.000$). **Conclusion** Freeze-thaw therapy could enhance the function of KCs secretion cytokines, and to a certain extent, it could induce inflammatory response and eliminate tumor cells. The secretion function of KCs may play a role through NF-κB signaling pathway.

Key words: Cryoablation; Kupffer cells; Secretion function; Liver cancer

摘要: 目的 探讨冻融治疗后库普弗细胞(KCs)的分泌功能对肝癌细胞的影响及其变化机制。**方法** 将实验分为16组: 37°C对照组、三组低温组(0°C、5°C、10°C)、冻融坏死物质组和三组联合刺激组及以上每组分别设置一个平行组。8个平行组分别加入吡咯烷二硫代氨基甲酸酯(PDTC), 终浓度为100 μmol/ml。ELISA法测定16组KCs上清液中能反映KCs分泌功能的TNF-α、IL-1β和INF-γ的浓度, Western blot检测各组NF-κB蛋白的表达。**结果** 低温和冻融坏死物质联合刺激KCs后, 炎症因子TNF-α、IL-1β和INF-γ的分泌增加($P < 0.01$), 三组低温(0°C、5°C、10°C)与冻融坏死物质联合刺激均表现出叠加效应。低温刺激对NF-κB蛋白的表达无显著影响($P > 0.05$), 联合刺激组和冻融坏死物质组NF-κB蛋白表达明显上调($P < 0.05$)。NF-κB抑制剂处理后, 8组平行组间NF-κB蛋白的表达和炎症因子的分泌水平无明显变化($P > 0.05$)。TNF-α、IL-1β和INF-γ浓度与KCs上清液中NF-κB蛋白表达呈正相关($r = 0.870$, $P = 0.000$)。**结论** 冻融治疗可增强KCs分泌细胞因子的功能, 在一定程度上可以诱导炎症反应进而达到清除肿瘤细胞的目的, KCs的分泌功能可能通过NF-κB信号通路发挥作用。

关键词: 冻融技术; 库普弗细胞; 分泌功能; 肝癌

中图分类号: R735.7
开放科学(资源服务)

标识码(OSID):



收稿日期: 2019-06-18; 修回日期: 2019-10-24
基金项目: 中国博士后自然科学基金(2013M542581)
作者单位: 1. 430065 武汉, 湖北中医药大学第一临床医学院; 2. 430070 武汉, 中国人民解放军中部战区总医院放射治疗科
通信作者: 易峰涛(1970-), 男, 博士, 主任医师, 主要从事肿瘤放化疗及冻融治疗方面的研究, E-mail: flzxyft@163.com
作者简介: 朱亚玲(1993-), 女, 硕士在读, 主要从事中西医结合治疗肿瘤方面的研究

0 引言

在过去20年里,局部肿瘤的冻融治疗已经有了长足的发展,主要集中在肝癌^[1]、转移性癌^[2]、肾癌^[3]、前列腺癌^[4]等实体瘤治疗中。同时,越来越多的报道表明,冻融治疗可以破坏肿瘤,增强或诱导细胞免疫或抗肿瘤免疫应答^[5-7]。此外,肿瘤细胞的破坏和溶解可能成为炎性反应的重要介质^[8]。

库普弗细胞(Kupffer cells, KCs)是数量最大的免疫细胞,占肝脏巨噬细胞的80%~90%,也是单核吞噬细胞系统的重要组成部分,在肝脏巨噬细胞的发生发展中起着重要的作用^[9]。KCs的激活与多种细胞因子的分泌密切相关,这些细胞因子参与免疫和促炎或抗炎反应^[10]。KCs自身还具有分泌炎性因子的功能,参与肝脏中各种重要的生理和病理过程,如炎性反应、脂质代谢、移植免疫等^[11]。

因此,有必要研究冻融后KCs分泌功能的特征,帮助我们治疗肝癌,促进患者的早期康复,为肝癌冻融治疗能提高自身免疫功能的学说提供理论依据。为此,本研究通过体外细胞实验,从兔肝中提取KCs并进行了体外培养,应用NF- κ B抑制剂吡咯烷二硫代氨基甲酸酯(PDTC)阻断NF- κ B信号通路后,观察KCs的分泌功能变化,探索冻融治疗引起KCs功能变化的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

NF- κ B抑制剂PDTC购自美国BioVision公司;胎牛血清购自杭州四季青生物工程材料有限公司;低糖DMEM完全培养基购自美国ATCC公司;0.4%锥虫蓝溶液购自美国Sigma公司;GAPDH购自英国Abcam公司;蛋白Marker(10~170 kDa)购自立陶宛Fermentas公司;0.45 μ m PVDF膜购自美国Millipore公司;SDS-PAGE凝胶制备试剂盒、蛋白抽提试剂盒、BCA蛋白浓度测定试剂盒、ECL化学发光试剂盒、PMSF(100 mmol/L)、磷酸化蛋白酶抑制剂、5 $\times$ 蛋白上样缓冲液、10 $\times$ 丽春红染液和抗体洗脱液均购自武汉拓捷生物公司;Tris和甘氨酸购自国药集团化学试剂有限公司(上海);动物麻醉剂(速眠新II)购自中国动物保健品有限公司(北京),其他试剂由中国人民解放军中部战区总医院医学实验科提供。

1.2 方法

1.2.1 KCs细胞悬液的制备 经肌肉注射速眠新II(0.2 ml/kg)麻醉后,对其进行消毒、开腹、门静脉暴露和固定插管并打开胸腔。根据Zeng等^[12]制

备KCs细胞悬液的方法,对下腔静脉结扎后,快速切割、断裂部分肝脏,用PBS冲洗两次。取肝悬液离心,取上清液。充分悬浮后,将上述肝细胞悬液移入含30%和60%细胞分离液的离心管中,以800 g(20 $^{\circ}$ C)缓升缓降离心20 min,离心后可见乳白色细胞层。收集细胞层,继续培养。

1.2.2 构建低温和冻融坏死的肿瘤细胞攻击KCs的细胞模型 模拟冻融治疗时体内KCs受到的主要攻击因素是低温和冻融坏死物质,构建体外细胞模型。将浓度为 1×10^6 /ml的KCs悬浮液用5 ml一次性塑料吸管分为不同的培养瓶,每瓶加入5 ml。实验分为8组,每组9瓶:(1)对照组:KCs正常培养37 $^{\circ}$ C;(2)0 $^{\circ}$ C组:模拟冻融治疗时冰球边缘温度,将培养瓶置于0 $^{\circ}$ C环境中20 min,取出放回37 $^{\circ}$ C孵化器。5 min后,将培养瓶置于0 $^{\circ}$ C环境中20 min,再放入37 $^{\circ}$ C培养箱中,培养6 h后,进行实验;(3)5 $^{\circ}$ C低温组和10 $^{\circ}$ C低温组:模拟冻融治疗时冰球边缘距离0.5 cm和2 cm的温度。实验方法与0 $^{\circ}$ C组相同,但放置培养瓶的温度环境不同。5 $^{\circ}$ C组在5 $^{\circ}$ C环境中放置2次20 min,10 $^{\circ}$ C组在10 $^{\circ}$ C环境中放置2次20 min;(4)冻融坏死物质组:冻融治疗后第3天将治疗中心肿瘤组织(人肝癌HepG2细胞购于中国科学院上海科学院资源中心,于中国人民解放军中部战区总医院医学实验科内进行传代培养)制成1%细胞悬液,在KCs培养瓶中加入2 ml,其余培养条件与对照组相同;(5)联合刺激组:按不同温度(0 $^{\circ}$ C、5 $^{\circ}$ C、10 $^{\circ}$ C)放置的KCs培养瓶分为3组。各组再加入冻融肿瘤坏死细胞悬液,其浓度与冻融坏死物质组相同,实验方法分为0 $^{\circ}$ C、5 $^{\circ}$ C和10 $^{\circ}$ C组。

1.2.3 干预措施 以上8组各设1个平行组。将PDTC加入培养基中,NF- κ B抑制剂最终浓度为100 μ mol/L。

1.2.4 KCs分泌功能的检测 参考文献中的方法^[13],采用ELISA法检测KCs上清液中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1(IL-1 β)和干扰素- γ (INF- γ)的浓度。各组采用ELISA法检测细胞培养液中的INF- γ 、IL-1 β 、TNF- α 的浓度。

1.2.5 NF- κ B蛋白测定 各组培养6 h后,用Western blot法检测各组NF- κ B蛋白的表达,用定量软件处理系统分析靶带的吸光度值。Western blot检测方法如文献所述^[14]。用鼠抗NF- κ B抗体(sc-109, Santa Cruz生物技术,美国圣克鲁斯州)进行印迹检测,计算靶带的吸光度值。

1.3 统计学方法

采用SPSS19.0统计学软件进行统计学分析。计数资料以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 t 检验及方差分析; 计量资料以率 (%) 表示, 采用 χ^2 检验; 组间比较采用单因素方差分析; 组内比较采用Friedman检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 KCs分泌功能测试

(1) 无抑制剂组与对照组比较: 低温组 (0℃、5℃、10℃) 和10℃冻融坏死物质组培养1 h时KCs细胞分泌炎症因子水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 冻融坏死物质组与联合刺激组比较KCs细胞分泌炎症因子水平差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 10℃冻融坏死物质组与对照组比较KCs细胞分泌炎症因子水平差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。各组培养1 h, 与对照组比较 ($P < 0.01$), 差异有统计学意义。(2) 无抑制剂组KCs细胞分泌炎症因子水平与培养时间的相关性: 随着培养时间的延长 (1、2、3 h), 炎症因子的分泌水平显著升高, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 10.750, P = 0.005$)。(3) 抑制剂组与对照组比较: 各组KCs细胞分泌炎症因子水平比较 ($P > 0.05$), 差异无统计学意义; 组内KCs细胞分泌炎症因子水平比较, 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 2.25, P = 0.325$)。(4) 有抑制剂组和无抑制剂组KCs细胞分泌炎症因子水平比较, 两组

在相同条件下 (对照组除外) 均有统计学意义 ($P < 0.01$)。

KCs分泌功能结果显示, 用低温或冻融坏死物或联合刺激KCs后培养1 h, 炎症因子的分泌增加 ($P < 0.01$), 低温和冻融坏死产物组的联合刺激具有叠加作用。此外, 随着培养时间的延长 (1、3、6 h), 炎症因子的分泌水平显著升高 ($\chi^2 = 10.750, P = 0.005$), 有级联放大的趋势。在PDTC存在下, 8组间炎症因子的分泌水平差异无统计学意义 ($P = 0.325$)。延迟培养时间, 各组KCs细胞分泌炎症因子水平无变化, 见表1~2。

2.2 NF-κB蛋白表达

低温刺激对NF-κB蛋白的表达无显著影响, 而对照组与低温组之间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。联合刺激组和冻融坏死物质组NF-κB蛋白表达明显上调 ($P < 0.05$), 差异有统计学意义。而抑制剂组NF-κB蛋白的表达无明显变化, 其线型几乎呈直线状, 见图1~3。

3 讨论

KCs凭其吞噬和分泌功能, 参与了肝脏多种重要的生理和病理过程, 如清除坏死细胞和组织碎片, 诱导炎症反应、参与脂质代谢、移植免疫等^[15-17]。KCs功能受内毒素、脂多糖、坏死组织或细胞、应激等多种因素的影响^[10]。活化的KCs能产生多种细胞因子, 包括TNF-α、IL-1β和INF-γ等, 对

表1 无抑制剂组的KCs分泌功能测试结果

Table 1 Test results of secretion function of Kupffer cells (KCs) without inhibitor

Groups	TNF-α concentration(pg/ml)			IL-1β concentration(pg/ml)			INF-γ concentration(pg/ml)		
	1h	2h	3h	1h	2h	3h	1h	2h	3h
Control group	4.964	4.188	4.963	7.943	6.492	7.841	12.471	10.258	12.389
0℃	5.967	9.195	13.930	9.548	14.252	22.010	14.990	22.519	34.776
5℃	5.975	8.085	12.598	9.560	12.532	19.905	15.009	19.801	31.450
10℃	4.660	7.106	11.431	7.457	11.015	18.062	11.707	17.403	28.538
Frozen necrosis	6.467	9.380	16.341	10.348	14.540	25.819	16.247	22.973	40.796
0℃+Frozen necrosis	6.602	13.407	19.672	10.563	20.782	31.082	16.584	32.836	49.110
5℃+Frozen necrosis	6.077	12.054	18.663	9.723	18.684	29.487	15.265	29.521	46.590
10℃+Frozen necrosis	5.271	10.839	17.896	8.434	16.801	28.276	13.242	26.547	44.677

表2 有抑制剂组的KCs分泌功能测试结果

Table 2 Test results of secretion function of KCs with inhibitor

Groups	TNF-α concentration(pg/ml)			IL-1β concentration(pg/ml)			INF-γ concentration(pg/ml)		
	1h	2h	3h	1h	2h	3h	1h	2h	3h
Control group	4.689	4.855	4.630	7.502	7.672	7.362	12.004	12.199	11.631
0℃	5.414	5.814	5.355	8.663	9.186	8.515	13.860	14.605	13.454
5℃	5.323	5.562	6.016	8.518	8.788	9.565	13.628	13.972	15.112
10℃	5.147	5.973	5.121	8.236	9.438	8.142	13.176	15.006	12.865
Frozen necrosis	5.357	5.551	5.492	8.571	8.770	8.733	13.714	13.945	13.798
0℃+Frozen necrosis	5.227	5.419	5.501	8.364	8.562	8.747	13.382	13.614	13.821
5℃+Frozen necrosis	5.774	4.891	5.605	9.239	7.728	8.912	14.782	12.287	14.082
10℃+Frozen necrosis	4.957	5.797	6.001	7.931	9.160	9.542	12.690	14.564	15.076

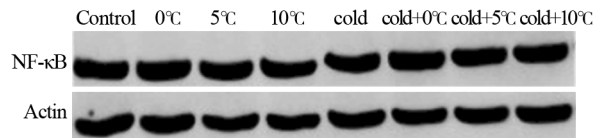


图1 无抑制剂时NF-κB蛋白的表达

Figure 1 Expression of NF-κB protein in group without inhibitor

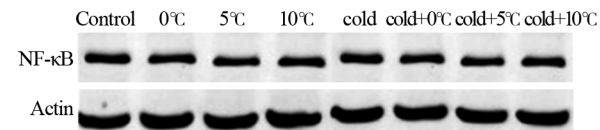
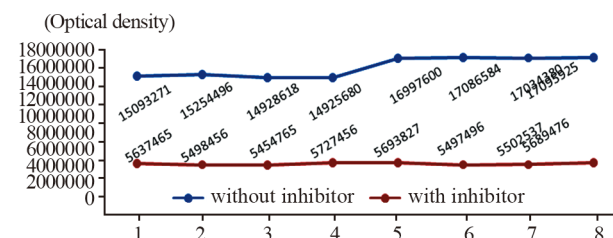


图2 有抑制剂时对NF-κB蛋白表达的影响

Figure 2 Effect of inhibitor on expression of NF-κB protein



1: Control group; 2: 0℃; 3: 5℃; 4: 10℃; 5: Frozen necrosis; 6: 0℃+Frozen necrosis; 7: 5℃+Frozen necrosis; 8: 10℃+Frozen necrosis

图3 NF-κB蛋白的表达

Figure 3 Expression of NF-κB protein

靶细胞产生杀伤作用,从而发挥其生物学作用^[18]。冻融治疗主要利用温度急剧变化,破坏肿瘤细胞,同时对治疗区周围组织产生低温刺激,诱发机体应激反应。而应激和坏死肿瘤细胞释放的如水解蛋白酶等细胞有害物质均可引起KCs的变化^[19]。

KCs受到低温或冻融坏死物质刺激后,可促进炎症因子的分泌,如TNF- α 、IL-1 β 和INF- γ ,这些炎症因子可诱导炎症细胞聚集、介导炎症反应和清除坏死细胞或组织碎片^[20],这一反应过程可能是冻融治疗后残存肿瘤的一个杀伤机制。此外,本研究还发现,在培养瓶中加入NF- κ B抑制剂后,低温组、冻融坏死物质组和联合刺激组的炎症细胞因子水平均无变化,说明用NF- κ B抑制剂可以抑制炎症因子的分泌过程。同时,还发现TNF- α 、IL-1 β 和INF- γ 的浓度与KCs上清液中NF- κ B蛋白表达呈正相关,所以冻融治疗后KCs的分泌功能可能通过NF- κ B信号通路调控。

NF- κ B是一个转录因子家族,调控大量参与细胞存活、炎症反应和免疫反应等重要生理过程的基因。最近有研究表明,NF- κ B的组成型表达与多种类型的癌症有关^[21]。NF- κ B信号通路也是炎症反应相关的癌症发生的重要因素^[22]。本研究通过对NF- κ B信号通路相关蛋白的检测,探讨了KCs诱导

炎症反应的机制。NF- κ B是细胞内重要的核转录因子,是细胞免疫和炎症反应的重要组成部分^[23],它参与多种基因的表达和调控^[24]。关于KCs活化的信号转导途径,认为NF- κ B是调节KCs活化的关键因素^[25],NF- κ B在某些细胞信息转录调控中起着关键作用^[26],它是细胞活化的标志,也是激活炎症反应的重要因素^[27]。有研究证实,NF- κ B信号通路是肿瘤治疗的潜在靶点^[28]。如果这一信号通路在冻融治疗引起的免疫功能变化中发挥类似作用,将有助于探讨冻融治疗后免疫功能变化的机制。其最直接的判断方法即阻断NF- κ B信号通路。吡咯烷二硫代氨基甲酸酯在NF- κ B活化通道的不同水平发挥抑制NF- κ B蛋白表达的作用,从而阻断NF- κ B信号通路,阻断是否成功可以通过检测NF- κ B信号通路中的通路终末蛋白NF- κ B蛋白的表达情况判断。

在KCs培养瓶中加入冻融坏死物质,其中含有细胞毒素等刺激信号,这些信号可与KCs膜表面受体结合,如与清道夫受体(scavenger receptor, SR)结合,被吞噬到KCs内;再经过多级级联反应,使NF- κ B的抑制蛋白(IKB)的上游激酶IKB激酶(IKB kinase, IKK)磷酸化而激活,IKK使IKB降解。P50有核定位信号,当失去了IKB的束缚后,P50会携带RelA(P65)向核内迁移,P65与细胞核内基因启动子或增强子区域上的顺势反应元件结合,从而调控靶基因的转录,诱导NF- κ B mRNA的产生,最后转录、产生和释放各种细胞因子(如TNF- α 、IL-1 β 等)^[29]。本研究检测结果提示加入冻融坏死物质后,NF- κ B蛋白表达上调,炎症因子分泌增加,说明NF- κ B信号通路的存在;而加入PDTC后,PDTC作为一种抗氧化剂,可以在NF- κ B活化通道的不同水平发挥抑制NF- κ B蛋白表达的作用,如阻止上游IKK磷酸化,从而阻止NF- κ B信号通路,抑制NF- κ B蛋白表达,导致炎症因子分泌减少。反向证明冻融治疗后KCs的变化可能通过NF- κ B信号通路发挥作用。

综上所述,冻融治疗可以改变KCs周围的微环境,刺激KCs分泌细胞因子的功能,从而诱导炎症反应,清除肿瘤细胞。另外还证实KCs分泌功能变化可能是通过NF- κ B信号通路转导的。

参考文献:

- [1] Niu LZ, Li JL, Xu KC. Percutaneous Cryoablation for Liver Cancer[J]. J Clin Transl Hepatol, 2014, 2(3): 182-188.
- [2] Susa M, Kikuta K, Nakayama R, et al. CT guided cryoablation for locally recurrent or metastatic bone and soft tissue tumor: initial experience[J]. BMC Cancer, 2016, 16(1): 798.

- [3] Hongo F, Yamada Y, Ueda T, *et al.* Preoperative lipiodol marking and its role on survival and complication rates of CT-guided cryoablation for small renal masses[J]. BMC Urol, 2017, 17(1): 10.
- [4] Yılmaz S, Özdoğan M, Cevener M, *et al.* Use of cryoablation beyond the prostate[J]. Insights Imaging, 2016, 7(2): 223-232.
- [5] Sidana A. Effect of renal embolization and cryoablation on regulatory T cells in advanced renal cell carcinoma[J]. Cryobiology, 2013, 66(2): 95.
- [6] Haen SP, Pereira PL, Salih HR, *et al.* More Than Just Tumor Destruction: Immunomodulation by Thermal Ablation of Cancer[J]. Clin Dev Immunol, 2011, 2011: 160250.
- [7] Si TG, Wang JP, Guo Z. Analysis of circulating regulatory T cells (CD4+CD25+CD127-) after cryosurgery in prostate cancer[J]. Asian J Androl, 2013, 15(4): 461-465.
- [8] Stuart WD, Kulkarni RM, Gray JK, *et al.* Ron receptor regulates Kupffer cell-dependent cytokine production and hepatocyte survival following endotoxin exposure in mice[J]. Hepatology, 2011, 53(5): 1618-1628.
- [9] Yuan F, Zhang W, Mu D, *et al.* Kupffer cell in the immune activation and tolerance toward HBV/HCV infection[J]. Adv Clin Exp Med, 2017, 26(4): 739-745.
- [10] Tsutsui H, Nishiguchi S. Importance of Kupffer cells in the development of acute liver injuries in mice[J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(5): 7711-7730.
- [11] Zhu R, Guo W, Fang H, *et al.* Kupffer cell depletion by gadolinium chloride aggravates liver injury after brain death in rats[J]. Mol Med Rep, 2018, 17(5): 6357-6362.
- [12] Zeng WQ, Zhang JQ, Li Y, *et al.* A New Method to Isolate and Culture Rat Kupffer Cells[J]. PLoS One, 2013, 8(8): e70832.
- [13] Chen XJ, Tang ZZ, Zhu GG, *et al.* JNK signaling is required for the MIP-1 α -associated regulation of Kupffer cells in the heat stroke response[J]. Mol Med Rep, 2017, 16(3): 2389-2396.
- [14] Thirukkumaran C, Shi ZQ, Thirukkumaran P, *et al.* PUMA and NF- κ B Are Cell Signaling Predictors of Reovirus Oncolysis of Breast Cancer[J]. PLoS One, 2017, 12(1): e0168233.
- [15] Duarte N, Coelho IC, Patarrão RS, *et al.* How Inflammation Impinges on NAFLD: A Role for Kupffer Cells[J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 984578.
- [16] Dixon LJ, Barnes M, Tang H, *et al.* Kupffer Cells in the Liver[J]. Compr Physiol, 2013, 3(2): 785-797.
- [17] Matsumura H, Kondo T, Ogawa K, *et al.* Kupffer cells decrease metastasis of colon cancer cells to the liver in the early stage[J]. Int J Oncol, 2014, 45(6): 2303-2310.
- [18] Hoth JJ, Wells JD, Jones SE, *et al.* Complement mediates a primed inflammatory response after traumatic lung injury[J]. J Trauma Acute Care Surg, 2014, 76(3): 601-608.
- [19] Ozeki Y, Tsutsui H, Kawada N, *et al.* Macrophage scavenger receptor down-regulates mycobacterial cord factor-induced proinflammatory cytokine production by alveolar and hepatic macrophages[J]. Microb Pathog, 2006, 40(4): 171-176.
- [20] 王永奇, 李志勇, 曹晓芳, 等. 肿瘤坏死因子- α 对间充质干细胞体外免疫调节活性的影响[J]. 中国实验血液学杂志, 2012, 20(4): 981-984. [Wang YQ, Li ZY, Cao XF, *et al.* Effects of tumor necrosis factor- α on immunoregulatory activities of mesenchymal stem cells *in vitro* and *in vivo*[J]. Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi, 2012, 20(4): 981-984.]
- [21] Pires BRB, Silva RCMC, Ferreira GM, *et al.* NF- κ B: Two Sides of the Same Coin[J]. Genes(Basel), 2018, 9(1): pii: E24.
- [22] Burkitt MD, Hanedi AF, Duckworth CA, *et al.* NF- κ B1, NF- κ B2 and c-Rel differentially regulate susceptibility to colitis-associated adenoma development in C57BL/6 mice[J]. J Pathol, 2015, 236(3): 326-336.
- [23] Lin TH, Pajarinen J, Lu L, *et al.* NF- κ B as a Therapeutic Target in Inflammatory-Associated Bone Diseases[J]. Adv Protein Chem Struct Biol, 2017, 107: 117-154.
- [24] Ruan Q, Chen YH. Nuclear factor- κ B in immunity and inflammation: the Treg and Th17 connection[J]. Adv Exp Med Biol, 2012, 946: 207-221.
- [25] Li T, Zhu JY, Wang FS, *et al.* Down-Regulation of Donor Kupffer Cell B7 Expression Reduced Recipient Lymphocyte Activation and Secretion of Interleukin-2 *In Vitro*[J]. Transpl Proc, 2015, 47(10): 2985-2990.
- [26] Hoesel B, Schmid JA. The complexity of NF- κ B signaling in inflammation and cancer[J]. Mol Cancer, 2013, 12: 86.
- [27] Dong J, Jimi E, Zeiss C, *et al.* Constitutively active NF- κ B triggers systemic TNF α -dependent inflammation and localized TNF α -independent inflammatory disease[J]. Genes Dev, 2010, 24(16): 1709-1717.
- [28] Madonna G, Ullman CD, Gentilcore G, *et al.* NF- κ B as potential target in the treatment of melanoma[J]. J Transl Med, 2012, 10: 53.
- [29] Fouad D, Ataya FS, Muntane J. Expression of p53 during Apoptosis Induced by D-Galactosamine and the Protective Role of PGE1 in Cultured Rat Hepatocytes[J]. Pak J Biol Sci, 2011, 14(21): 976-983.

[编辑: 黄国玲; 校对: 杨卉]

作者贡献:

朱亚玲、易峰涛: 参与实验、论文撰写

丁梦南、曾程、徐振华: 课题设计及论文修改

邵志雄、谢俊杰: 实验数据分析及论文审核