

## 本文亮点:

- (1) 对组织损伤后巨噬细胞在各个阶段中的作用进行了详尽的描述。
- (2) 总结分析了当前在创面愈合中以巨噬细胞为靶点的治疗前景。
- (3) 针对当前巨噬细胞分类方式存在的不足,提出了对今后进一步研究的建议和展望。



## 巨噬细胞在创面愈合中的调节作用及其相关机制

贺伟峰 闫凌峰

陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院全军烧伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆市疾病蛋白质组学重点实验室,重庆 400038

通信作者:贺伟峰,Email:hewEIFeng7412@aliyun.com

**【摘要】** 创面愈合是一个被精准调控的复杂过程,包含了炎症、抗炎、再生等多个阶段。由于巨噬细胞具有明显的可塑性,可以在具有差异化的创面愈合过程中发挥重要的调节作用。巨噬细胞若未能适时表达特定功能,将会影响组织的愈合功能并导致组织病理性愈合。因此,了解巨噬细胞在创面愈合的不同阶段发挥的不同功能并进行针对性调控,对促进创伤组织的愈合再生有重要意义。该文根据创面愈合的基本过程,阐述了创面内不同类型巨噬细胞发挥的不同功能及其基本机制,并强调了未来可能应用于临床治疗的巨噬细胞调控策略。

**【关键词】** 伤口愈合; E2F1 转录因子; M1 型巨噬细胞; M2 型巨噬细胞

**基金项目:**国家自然科学基金面上项目(31872742、82172232);军队医学科技青年培育计划(20QNPY024);陆军军医大学科技创新能力提升专项(2019XQY12)

### The regulatory role and related mechanisms of macrophages in wound healing

He Weifeng, Yan Lingfeng

State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Burn Research, the First Affiliated Hospital of Army Medical University (the Third Military Medical University), Chongqing Key Laboratory for Disease Proteomics, Chongqing 400038, China

Corresponding author: He Weifeng, Email: hewEIFeng7412@aliyun.com

**【Abstract】** Wound healing is a complex process under precise regulation, including multiple stages such as inflammation, anti-inflammatory, and regeneration. Macrophages play an important regulatory role in the differentiated process of wound healing due to their obvious plasticity. If macrophages fail to express specific functions in a timely manner, it will affect the healing function of tissues and lead to pathological tissue healing. Therefore, it is of great significance to understand the different functions of different types of macrophages and to regulate them specifically in different stages of wound healing to promote the healing and regeneration of wound tissue. In this paper, we illustrate the different functions of macrophages in the wound and their basic mechanisms, according to the basic process of wound healing, and emphasize the strategies of macrophage regulation that may be applied to clinical treatment in the future.

**【Key words】** Wound healing; E2F1 transcription factor; M1 macrophage; M2 macrophage

**Fund program:** General Program of National Natural Science Foundation of China (31872742, 82172232); Military Medical Science and Technology Youth Training Program (20QNPY024); Special Project for Enhancing Science and Technology Innovation Ability of Army Medical University (2019XQY12)

创面愈合过程十分复杂。根据浸润创面的细胞类型,创面愈合过程被划分为4个递进又相互重

DOI:10.3760/cma.j.cn501225-20230110-00010

本文引用格式:贺伟峰,闫凌峰.巨噬细胞在创面愈合中的调节作用及其相关机制[J].中华烧伤与创面修复杂志,2023,39(2):106-113.DOI:10.3760/cma.j.cn501225-20230110-00010.

He WF,Yan LF.The regulatory role and related mechanisms of macrophages in wound healing[J].Chin J Burns Wounds,2023,39(2):106-113.DOI:10.3760/cma.j.cn501225-20230110-00010.



叠的时期,即止血期、炎症期、增殖期和成熟期<sup>[1]</sup>。创面愈合的各个阶段大致对应相继出现的 4 种细胞:血小板、中性粒细胞、巨噬细胞和 Fb 等,巨噬细胞由于其可塑性,在其中起关键性调节作用。

外周单核巨噬细胞(monocyte macrophages, MoMΦ)和组织定植巨噬细胞(tissue-resident macrophages, TrMΦ)代表了创面组织中 2 种不同来源的巨噬细胞。TrMΦ 主要来源于胚胎发育过程中的卵黄囊,少部分起源于胚胎肝脏单核细胞<sup>[2]</sup>。传统观点认为 TrMΦ 与 MoMΦ 来源于 2 个独立的发育系统。但也有学者认为,静息状态下,巨噬细胞充盈,TrMΦ 数量的维持主要依赖自身增殖,单核细胞不会向 TrMΦ 分化;而组织损伤后或巨噬细胞缺乏情况下,组织中巨噬细胞空余,TrMΦ 也可由骨髓源性血液单核细胞补充,此时 2 种来源的 TrMΦ 可共存于组织中<sup>[3-4]</sup>。不同功能的单核细胞通过不同趋化因子到达损伤部位,促炎单核细胞(如 Ly6C<sup>high</sup>CX3CR1<sup>low</sup>)高表达趋化因子受体 2(CCR2),并对趋化因子 CCL2/7 梯度进行应答,通过经典途径在早期被招募到组织损伤部位,是浸润到创面的主要促炎单核细胞群;而通过非经典途径募集的单核细胞(如 Ly6C<sup>low</sup>CX3CR1<sup>high</sup>)沿着血管细胞黏附分子 1、迟现抗原-4 和 CD73、黏附蛋白和参与白细胞外渗的内皮细胞表面酶被诱导浸润至组织损伤部位,表现为促修复表型<sup>[5]</sup>。组织损伤后,单核细胞在局部组织微环境中分化为表型不同的巨噬细胞。创面内单一单核细胞群体可同时具有促炎和抗炎 2 种不同的功能,这更多依赖于单核细胞原位功能的转化。

目前应用最广泛的巨噬细胞分类方式是根据其对不同刺激的应答和功能表型,将巨噬细胞分为 M1 型和 M2 型<sup>[6]</sup>。促炎型巨噬细胞被称为 M1 型巨噬细胞,通过 Th1 细胞因子(如  $\gamma$  干扰素、TNF- $\alpha$ )和体内外的危险信号激活,表达出强烈的细胞毒性和促炎性。促修复巨噬细胞也被称为 M2 型巨噬细胞,主要发挥抗炎和促进细胞增殖作用。当前研究表明巨噬细胞能表达多种功能,并不单单表现出两极分化状态,这仍需未来的进一步研究和统一命名。为方便描述其功能,本文中仍使用 M1 型和 M2 型表述巨噬细胞不同的极化状态。M1 型和 M2 型巨噬细胞在创面修复过程中发挥不同的功能,巨噬细胞适时地从 M1 型转化为 M2 型,在创面愈合和组织再生过程中起着决定性作用。

## 1 M1 型巨噬细胞的促炎作用

### 1.1 TrMΦ 感受危险信号释放趋化因子

正常组织损伤后,ECM 改变或细胞发生非正常死亡,致使大量内源性物质被释放到细胞外,产生损伤相关分子模式(damage associated molecular pattern, DAMP)。与此同时,外来病原微生物入侵创面,病原微生物及其产物共有的保守组分产生病原体相关分子模式(pathogen associated molecular pattern, PAMP)<sup>[7]</sup>。机体通过天然免疫系统感知组织损伤后出现的 2 种危险信号并通过激活局部抵御性炎症来清除这些危险信号及其产生的来源。受损组织中的 TrMΦ 通过模式相关识别受体(pattern recognition receptor, PRR)识别这些危险信号,已知的 PRR 家族包括 Toll 样受体(TLR)、C 型凝集素受体、视黄酸诱导基因蛋白 I 样受体和核苷酸寡聚化结构域样受体,通过不同的受体感受不同危险信号的来源。PRR 识别危险信号后,激活下游信号通路,并促进炎症因子和趋化因子等基因的表达,募集中性粒细胞和 MoMΦ 等炎症细胞。清除危险信号的来源<sup>[4]</sup>。而组织中 TrMΦ 异常时,导致炎症反应明显延迟。

### 1.2 外周循环中单核细胞被募集到创面

在 TrMΦ 产生的趋化因子的作用下,大量中性粒细胞浸润创面,形成初始浸润潮。在初始浸润潮后,中性粒细胞产生白三烯、前列腺素和趋化因子(如 CCL2、CCL3 和 CCL5),大量单核细胞沿着这些细胞因子梯度,通过黏附因子和选择素定位至损伤部位周围的毛细血管,最终从外周循环进入创面组织<sup>[1]</sup>。除免疫细胞的作用外,血管损伤部位激活的血小板也能分泌 CCL5、CXCL4、CXCL12、CXCL5 等趋化因子,将表达相关受体的单核细胞和 T 细胞等炎症细胞募集至损伤部位<sup>[8]</sup>。进入创面后,经典单核细胞分化为 M1 型巨噬细胞,发挥急性炎症作用。创面内的炎性 M1 型巨噬细胞可高表达主要组织相容性复合体 II 类分子、CD68、CD80 和 CD86 等表面标志物,也可以通过释放 IL-12、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  和诱导型 NOS 等细胞因子<sup>[9]</sup>,参与炎症反应过程。

### 1.3 M1 型巨噬细胞启动并放大局部炎症反应

创面内的 M1 型巨噬细胞通过表达 PRR,直接识别 2 种危险信号,清除这些危险信号的来源。M1 型巨噬细胞感受到 PAMP 后,吞噬入侵的病原体,并通过吞噬体酸化以及向吞噬体内分泌具有杀菌作用的酶、活性氧和活性氮来杀灭入侵的病原

体<sup>[10]</sup>。Geng 等<sup>[11]</sup>观察到小鼠体内 M1 型巨噬细胞识别 LPS 后,通过激活钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II - Mst1/2-Rac 轴增强巨噬细胞的吞噬功能并增加活性氧的产生。组织损伤后产生的 DAMP 也可以激活巨噬细胞,例如坏死细胞释放的高速泳动族蛋白 B1,能通过激活巨噬细胞的 TLR4,诱导巨噬细胞的吞噬活性<sup>[12]</sup>。细胞外游离的嘌呤也能通过结合巨噬细胞的 P2Y 和 P2X 受体,调节巨噬细胞的钙离子信号,增强巨噬细胞吞噬坏死细胞的能力<sup>[13]</sup>。

M1 型巨噬细胞通过分泌大量细胞因子、补体蛋白和抗菌酶等炎症因子吸引中性粒细胞等炎症细胞并放大炎症反应。核因子  $\kappa$ B 通路和 Notch 通路是目前较为明确的能促进巨噬细胞分泌炎症细胞因子和趋化因子的信号通路。LPS 可以通过髓样分化因子 88 依赖性或非依赖性途径激活 Notch 通路,上调下游基因的表达,增加 TNF- $\alpha$ 、IL-6 等炎症因子的表达<sup>[14]</sup>。核因子  $\kappa$ B 通路是最经典的促炎信号通路,巨噬细胞的 PRR 识别危险信号后,激活该通路并产生炎症细胞因子和趋化因子<sup>[15]</sup>。

巨噬细胞具有清除凋亡细胞,尤其是凋亡的中性粒细胞的作用。这些炎症细胞含有降解病原体的酶,如果这些酶被释放至正常组织中,也会引起严重的组织损害。凋亡细胞表达“凋亡细胞相关膜模式”,被巨噬细胞的特异性受体结合,并介导巨噬细胞对其进行吞噬和消化<sup>[16]</sup>。例如,人巨噬细胞可以表达  $\alpha$ v $\beta$ 3 整合素、磷脂酰丝氨酸受体等,这些受体与凋亡的人中性粒细胞上高表达的相应配体相结合会介导吞噬过程<sup>[17]</sup>。

#### 1.4 M1 型巨噬细胞介导的炎症失控导致损伤修复功能障碍

虽然炎症反应能够清除损伤组织中的病原体和具有毒性的细胞产物,但对一些慢性炎症性疾病中单核巨噬细胞浸润程度的分析显示,M1 型巨噬细胞的过度聚集或不能正常转化会导致炎症失控,造成损伤组织修复障碍或发生病理性修复。糖尿病和代谢综合征被认为是脂肪增生导致的系统性炎症性疾病,脂肪中 M1 型巨噬细胞过度聚集以及过度表达炎症介质,导致糖尿病创面的延迟愈合或不愈合<sup>[1]</sup>。

导致组织损伤的因素清除后,M1 型巨噬细胞持续补充导致组织继发性损伤或持续炎症。M1 型巨噬细胞释放的介质通常没有靶向性,这些介质的作用很大程度上取决于释放的数量、部位和持续

性。目前已知的导致组织损伤的细胞毒性介质包括活性氧(如超氧阴离子、过氧化氢、羟基自由基)和活性氮(如一氧化氮、过氧亚硝酸盐)、蛋白酶(如基质金属蛋白酶、金属蛋白酶组织抑制物)、脂质介质(如脂质过氧化物、前列腺素 E2、血小板活化因子)和细胞因子(如 TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6、IL-12、IL-18)/趋化因子(如 CCL2、CCL3、CCL4、CXCL1)<sup>[18]</sup>。例如,Wu 等<sup>[19]</sup>在小鼠实验中,通过抑制髓系上皮生殖酪氨酸激酶显著降低了损伤局部巨噬细胞的 M2 型极化,而增加了 M1 型极化,导致了脑外伤加重,继发脑损伤和感觉运动缺陷。

## 2 M2 型巨噬细胞的抗炎作用

### 2.1 创面内 M2 型巨噬细胞的来源

创面内 M2 型巨噬细胞体外培养的特征性表型为 IL-12<sup>low</sup>IL-23<sup>low</sup>IL-10<sup>high</sup>TGF- $\beta$ <sup>high</sup>,同时其也能高表达甘露糖受体、清道夫受体和半乳糖型受体<sup>[6]</sup>。炎症反应后期,创面内巨噬细胞表现出抗炎倾向,通过产生 IL-10 等抗炎因子<sup>[20]</sup>以及 TGF- $\beta$ 、VEGF 和 EGF 等生长因子<sup>[6]</sup>,促进创面炎症消退和组织进一步重塑、纤维化和创面愈合。

在损伤组织中,单一单核细胞群既可以表现出促炎倾向,也会有抗炎倾向。这也意味着一些组织中抗炎倾向的单核细胞来源于单核细胞的原位功能转化,而不是血液循环中抗炎倾向的亚群补充。Arnold 等<sup>[21]</sup>对小鼠胫骨前肌注射虎蛇毒蛋白诱导坏死和再生过程的研究显示,促炎性经典单核细胞和抗炎非经典单核细胞依次在损伤的骨骼肌中出现。使用荧光微球技术将循环中的非经典单核细胞亚群染色,损伤 2 d 后的创面内出现的非经典 MoM $\Phi$ 并未出现染色标记;而将循环中的经典单核细胞亚群染色后,创面中的非经典的 MoM $\Phi$ 则表现出染色标记。

有趣的是,也有科学家对单核细胞直接转化为抗炎巨噬细胞的机制进行了研究。过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$ (PPAR $\gamma$ )是巨噬细胞中具有抗炎特性的转录因子,但在人类动脉粥样硬化研究中显示,M2 型巨噬细胞标志物与 PPAR $\gamma$ 表达呈正相关,而体内 PPAR $\gamma$ 激活不能使粥样斑块中巨噬细胞表达炎症表型发生变化,而仅在单核细胞中增强 M2 表型,并能够将单核前体细胞编程为 M2 表型<sup>[22]</sup>。不同组织损伤的创面中抗炎倾向巨噬细胞的来源不同,这对传统认为 M2 型巨噬细胞仅由单

核细胞原位转化的观点提出了挑战,这可能与组织的特异性或者与创伤的类型有关,其中具体的机制仍需进一步研究。

## 2.2 巨噬细胞由 M1 表型向 M2 表型转化的机制

多种机制会影响巨噬细胞的表型转化,巨噬细胞吞噬凋亡中性粒细胞等免疫细胞是巨噬细胞表型转变的重要步骤。McCubrey 等<sup>[16]</sup>在体内外实验中观察到,巨噬细胞吞噬凋亡细胞后,胞内多胺累积从而抑制 IL-1 $\beta$  和 IL-6 的等促炎介质的表达。Bao 等<sup>[23]</sup>通过生物工程构建中性粒细胞凋亡小体,来模拟创面内中性粒细胞自然凋亡过程,结果显示该手段有效促进了巨噬细胞向 M2 表型极化并发挥抗炎作用,有效改善了大鼠心肌梗死后的心肌的功能恢复。

巨噬细胞表型转化是由基因表达程序介导的,也受表观基因组修饰的影响。核受体在巨噬细胞变性转化中发挥重要作用。Hilgendorf 等<sup>[24]</sup>在心肌梗死模型中观察到孤儿核受体 4A1 在 Ly6C<sup>high</sup> 转变为 Ly6C<sup>low</sup> 过程中发挥重要作用;NR4A1 敲除小鼠由于 Ly6C<sup>high</sup> MoM $\Phi$  不能转变为 Ly6C<sup>low</sup> MoM $\Phi$  导致小鼠在心肌梗死后表现为心肌功能受损。

DNA 甲基转移酶可使 DNA 发生甲基化修饰,从而抑制相关基因的表达。例如,DNA 甲基转移酶 1 敲除小鼠会抑制 PPAR $\gamma$  启动子 DNA 的甲基化,从而促进巨噬细胞向 M2 表型转化<sup>[25]</sup>。组蛋白脱乙酰酶通过改变核小体的乙酰化水平来改变染色质构象,调控 MoM $\Phi$  的表型。Mullican 等<sup>[26]</sup>研究表明组蛋白脱乙酰酶 3 是促进 M1 型极化并抑制 M2 表型的关键调控因子,其通过在小鼠中使巨噬细胞基因组中 IL-4 调节区域的组蛋白去乙酰化,导致 IL-4 调节基因的选择性激活特征受到抑制。

微小 RNA(miR)可以识别并结合靶 RNA 的 3' 非翻译区,通过引发 RNA 的降解来抑制基因的表达<sup>[27]</sup>。miR-9、miR-125b、miR-127、miR-155、miR-181 等表达上调时,巨噬细胞极化为 M1 表型,而巨噬细胞表型转化时以上 miR 表达下降。miR-124、miR-223、miR-132、miR-146a、miR-125a-5p 等表达上调时巨噬细胞表现 M2 表型。然而实验证明以上列举的 miR 仅单独改变时会影响巨噬细胞炎症基因的表达情况,在体内创面复杂的情况下,细胞内多种 miR 共同作用,不同 miR 对创面内巨噬细胞表型转变的贡献程度以及不同组织损伤后不同愈合阶段各个 miR 表达的水平差异仍需要进一步阐明。

综上所述,巨噬细胞内通过核转录因子、DNA 甲基化、组蛋白修饰、miR 调控等方式调节促炎和抗炎基因的表达。在炎症晚期,抑制促炎基因表达以及促进抗炎基因表达,介导了创面内巨噬细胞由促炎表型转化为抗炎表型。

## 2.3 M2 型巨噬细胞在损伤修复中的作用

巨噬细胞、树突状细胞、中性粒细胞等多种免疫细胞能分泌 IL-10,IL-10 在抑制炎症反应中发挥核心作用,对体内固有免疫和先天性免疫都发挥抑制作用<sup>[20]</sup>。除分泌 IL-10 外,M2 型巨噬细胞又能表达其受体 IL-10R,IL-10R 激活能降低炎症因子水平并提高抗炎因子表达。Shouval 等<sup>[20]</sup>观察到,小鼠巨噬细胞表达 IL-10R 异常导致其分泌 IL-10 等抗炎因子能力下降,这会进一步导致肠道内炎症反应失衡。Bernshtein 等<sup>[28]</sup>对炎症性肠病患者和炎症性肠病小鼠模型的进一步研究表明,M2 型巨噬细胞 IL-10R 信号对抑制病理性促炎因子 IL-23 表达至关重要,当 IL-10R 表达缺陷时,促炎因子 IL-23 过表达,进而促进肠内病理性中性粒细胞募集增加,引发炎症性肠病。除皮肤黏膜免疫系统之外,IL-10 信号的抗炎作用对实质脏器修复而言也很重要。Jung 等<sup>[29]</sup>向心肌梗死小鼠模型注射外源性 IL-10,观察到 IL-10 通过激活 M2 型巨噬细胞和 Fb,明显抑制了局部炎症,促进心肌愈合和功能恢复。

除 IL-10 信号的抗炎作用之外,巨噬细胞还存在其他的抗炎机制。在既往动脉粥样硬化发生的研究中已经阐明高密度脂蛋白能够逆向运输胆固醇,De Nardo 等<sup>[30]</sup>研究表明,高密度脂蛋白还通过诱导巨噬细胞中信号转导及转录激活因子 3,下调 TLR 样受体诱导的促炎细胞因子表达,促进巨噬细胞发挥强大的抗炎作用。除分泌抗炎细胞因子外,M2 型巨噬细胞直接调节局部损伤性炎症反应的机制也是目前研究的热点。在对肺泡定植巨噬细胞与上皮细胞信息交流的研究中观察到,其还可以通过与其他上皮细胞形成缝隙连接<sup>[31]</sup>或通过外泌体分泌细胞因子信号传递阻抑物<sup>[32]</sup>,向上皮细胞传递抗炎信号,从而抑制局部组织的炎症反应。M2 型巨噬细胞可以通过与其他促炎性免疫细胞竞争微环境中的营养物质,来介导免疫抑制作用。例如,M2 型巨噬细胞能合成精氨酸酶 1,大量摄取环境中的精氨酸,而 M1 型巨噬细胞代谢过程需要精氨酸并产生一氧化氮,这导致 M1 型巨噬细胞代谢障碍,从而调节炎症反应。

### 3 巨噬细胞对血管再生的影响

在创面愈合过程中,通过血管再生过程形成新生血管并在组织内快速形成血管床,为修复过程中其他细胞增殖和修复过程提供营养物质和氧气。M2型巨噬细胞除发挥抗炎作用外,还能促进损伤组织中血管再生。调节血管生成的最重要因子是FGF2和VEGFA。Kim等<sup>[33]</sup>使用外泌体激活M2型巨噬细胞后,创面内VEGF等促血管生成因子分泌增加,促进了创面内血管再生和创面愈合进程。

在组织血管再生中,传统观点认为具有促修复作用的M2型巨噬细胞发挥主要作用,但最近有研究表明,M1型巨噬细胞也发挥非冗余的作用。Willenborg等<sup>[34]</sup>研究表明,从野生型小鼠皮肤创面中分离的F4/80<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>巨噬细胞VEGF表达增加,而CCR2<sup>-</sup>小鼠中组织内整体VEGF表达水平降低,因此认为M1表型的巨噬细胞能够分泌VEGF且巨噬细胞是早期创面内VEGF的主要来源。Mantsounga等<sup>[35]</sup>也观察到炎症因子IL-1 $\beta$ 能够通过激活M1型巨噬细胞的STAT3和核因子 $\kappa$ B促进促血管生成因子VEGFA<sub>165a</sub>的表达。但Ganta等<sup>[36]</sup>对股动脉结扎的模型小鼠研究显示,抗血管生成因子VEGF-A<sub>165b</sub>能够将巨噬细胞诱导为抗血管生成的M1型,损害缺血肌肉血运重建并导致灌注恢复延迟。由此,提示M1型巨噬细胞可能在血管再生中发挥双向作用,但内在的调节机制仍不明确。

在组织重塑期,大部分新生毛细血管会退化,形成正常的血管密度。局部组织中血管过度增殖以及退化延迟,往往导致创面病理性愈合。高水平的VEGF表现出高水平血管生成已被证明是促进瘢痕生成的重要原因,Xiao等<sup>[37]</sup>在研究中使用抗VEGF药物能够明显抑制病理性近视脉络膜新生血管患者的视网膜纤维化病变和瘢痕形成。综上所述,创面内M1和M2表型的巨噬细胞主要对血管生成发挥促进作用,早期巨噬细胞通过促进血管生成提高其他愈合过程的效率,后期血管重塑和退化主要依赖于巨噬细胞的及时消退。通过抑制后期巨噬细胞表达促血管生成因子的水平或及时清除促血管生成的巨噬细胞,对减少组织的病理性愈合有重要的意义。

### 4 巨噬细胞对组织纤维化的影响

组织损伤后正常功能的组织被大量纤维和以胶原蛋白为主的ECM替代的过程被称为纤维化。

“好的”纤维化是机体防御外来病原体感染的关键机制,同时也可以为实质细胞再生提供支架,从而减轻创伤后组织的过度损害。TGF- $\beta_1$ 是导致纤维化的最重要的细胞因子,巨噬细胞能够分泌TGF- $\beta_1$ 从而将Fb转化为肌Fb,并分泌大量ECM<sup>[38]</sup>。除直接分泌诱导纤维化的细胞因子外,巨噬细胞还可以通过维持II型免疫反应间接促进组织纤维化。Borthwick等<sup>[39]</sup>通过在IL-13诱导纤维化的小鼠模型中耗竭巨噬细胞,观察到组织中II型炎症反应和组织纤维化水平明显下降。此外,巨噬细胞促进纤维化的机制也在不断被探索。Meng等<sup>[40]</sup>科学家揭示了在人类肾脏纤维化疾病中巨噬细胞能直接转化为肌Fb,随后的研究也对此结论进行了补充<sup>[41]</sup>,TGF- $\beta_1$ 可以通过Smad3靶向作用于神经转录因子Pou4f1,促进巨噬细胞向肌Fb的转分化。Shook等<sup>[42]</sup>科学家观察到小鼠全层皮肤缺损部位或用博来霉素诱导纤维化部位,CD301b<sup>+</sup>巨噬细胞通过分泌胰岛素样生长因子1和血小板衍生生长因子C促进脂肪前体细胞向肌Fb分化。

纤维化过程过度激活,往往导致瘢痕组织形成,影响组织的功能恢复。有关巨噬细胞抗纤维化的内在机制目前仍没有明确深入的研究结论,只在部分研究中观察到巨噬细胞与减慢纤维化进程相关。Abe等<sup>[43]</sup>研究表明,缺氧条件下产生的小鼠巨噬细胞能够分泌抑癌蛋白M,其不仅能够激活gp130通路,还能够激活胞外信号调节激酶通路从而显著抑制细胞核内Smad2的水平,进一步抑制TGF- $\beta_1$ 表达以及Fb的激活。总之,巨噬细胞通过多种机制调节损伤组织的纤维化水平,因此及时促进“好的”纤维化过程和防止发生病理性纤维化,就必须要求对特定亚群巨噬细胞的精准调控。

### 5 以巨噬细胞为靶点的治疗前景

创面内的巨噬细胞能够促进创面的修复进程,精准调控巨噬细胞不同亚群的数量和功能的治疗策略,在许多临床和临床前研究中被积极探讨。调节单核细胞和巨噬细胞的迁移、增殖、功能和存活策略,能够改变组织的愈合过程。巨噬细胞集落刺激因子1(CSF-1)和CSF-1受体信号通路能够促进组织中定植巨噬细胞的成熟和转化。在随后的研究中,Stutchfield等<sup>[44]</sup>观察到外源性给予CSF1-Fc能够促进单核细胞募集以及向保护性肝巨噬细胞转化,有利于急性肝损伤和肝部分切除小鼠的恢

复。在对巨噬细胞激活药物的临床研究中, Wu 等<sup>[45]</sup>的试验表明, 新型巨噬细胞激活凝胶 TR-987 能通过轻度增加巨噬细胞募集并诱导轻度促炎活性, 启动修复的级联反应, 减轻患者胸部灼烧性激光处理后的疼痛和瘙痒感, 并提高创面修复的质量。

通过特异性激活或抑制巨噬细胞的信号通路, 可以促进巨噬细胞表达促修复的功能。例如, TLR9 激活能够促进巨噬细胞 M2 型极化, 在临床中, 溃疡性结肠炎患者使用 TLR9 激动剂 cobitolimod 能够促进巨噬细胞表现促愈合表型, 有利于溃疡性结肠炎的愈合<sup>[46]</sup>。此外, 通过调节调控巨噬细胞表型转化的转录因子(如非编码 RNA), 也可以促进巨噬细胞表型转化<sup>[47]</sup>。Zhou 等<sup>[48]</sup>观察到, 通过小干扰 RNA 抑制促 M1 型极化的分子脑衰反应调节蛋白 2, 显著降低心肌梗死后局部炎症和纤维化水平。miR 也可以用于靶向巨噬细胞关键转录因子, 将高活性组织损伤表型转化为类似正常静止表型<sup>[27]</sup>。高血糖状态下, 核因子  $\kappa$ B 通路被持续激活, 使晚期糖基化终末产物在体内积累, 导致局部 TNF- $\alpha$  水平升高, 阻碍创面愈合<sup>[49]</sup>。Li 等<sup>[50]</sup>在近期的研究中观察到葛根提取物葛根素不仅能够减少创面内巨噬细胞和中性粒细胞的浸润, 还能够通过抑制核因子  $\kappa$ B 通路和促分裂原活化的蛋白激酶通路下调炎症因子表达并诱导巨噬细胞向 M2 表型极化, 明显改善糖尿病小鼠创面的愈合能力, 未来将葛根素应用于临床治疗具有极大的潜力。ON101 是一种调节巨噬细胞极化状态的药物, 通过抑制 NLRP3 炎症小体和下游炎症因子表达抑制 M1 型巨噬细胞极化, 也能通过增加胶原合成、刺激 Fb 增殖和 KC 的迁移来激活 M2 型巨噬细胞。Huang 等<sup>[51]</sup>的 III 期临床试验表明, 使用药物 ON101 与常规吸收性敷料相比, 糖尿病足创面的闭合率和愈合率均具有显著提高。

通过过继转移和细胞移植的手段靶向改变体内巨噬细胞功能亚群的策略, 在未来的临床治疗中也有巨大的应用潜力。例如, Lopes 等<sup>[52]</sup>在体外对巨噬细胞进行重编程使其表达 M2 表型, 将得到的 M2 型巨噬细胞转移至右旋糖酐硫酸钠诱导的结肠炎模型小鼠体内, 能够控制炎症并降低肠道纤维化等病理性损害。Mu 等<sup>[53]</sup>培养出具有促再生促增殖功能的肿瘤相关巨噬细胞培养的巨噬细胞 (tumor-associated macrophages educated macro-

phages, TAMEM), TAMEM 能够高表达有丝分裂和血管生成因子(如 VEGF、PDGF 和血管紧张素)和免疫抑制细胞因子(如 IL-10、CCL17 和 TGF- $\beta$ ), 表现出比典型的 M1 和 M2 型巨噬细胞更全面的修复作用, 能够更加有效地促进糖尿病创面的愈合。未来使用生物材料支架向创面递送 TAMEM, 对治疗糖尿病等难治性创面有重要的应用价值。

## 6 未来展望

在创面愈合的各个阶段, 不同功能的巨噬细胞被多种不同的机制募集和激活, 抗炎和促炎巨噬细胞是各个研究中较为明确的极化表型。此外, 巨噬细胞对组织再生和纤维化也有重要作用。值得注意的是, 巨噬细胞对组织再生和纤维化也表现出多样性, 这与巨噬细胞的 2 种极化状态并不相互冲突, 但随着对巨噬细胞不同功能研究的深入, M1/M2 这种两极化的分类在很大程度上已经不能适应现在对于巨噬细胞功能的描述, 这就需要更加细致统一的分类描述策略。同时, 在未来研究中, 要进一步阐明不同亚群巨噬细胞发挥不同功能的具体通路和基因表达, 以及表达不同功能所在的具体阶段。这将有助于未来针对不同组织创面的不同阶段存在的不同功能亚群巨噬细胞的特异性调节, 更加精准高效地促进组织创面的愈合。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] Boniakowski AE, Kimball AS, Jacobs BN, et al. Macrophage-mediated inflammation in normal and diabetic wound healing[J]. *J Immunol*, 2017, 199(1): 17-24. DOI:10.4049/jimmunol.1700223.
- [2] Nobs SP, Kopf M. Tissue-resident macrophages: guardians of organ homeostasis[J]. *Trends Immunol*, 2021, 42(6): 495-507. DOI:10.1016/j.it.2021.04.007.
- [3] Chakarov S, Lim HY, Tan L, et al. Two distinct interstitial macrophage populations coexist across tissues in specific subtissular niches[J]. *Science*, 2019, 363(6432): eaau0964. DOI:10.1126/science.aau0964.
- [4] Yap J, Irei J, Lozano-Gerona J, et al. Macrophages in cardiac remodelling after myocardial infarction[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2023. DOI:10.1038/s41569-022-00823-5.
- [5] Wynn TA and Vannella KM. Macrophages in tissue repair, regeneration, and fibrosis[J]. *Immunity*, 2016, 44(3): 450-462. DOI:10.1016/j.immuni.2016.02.015.
- [6] Funes SC, Rios M, Escobar-Vera J, et al. Implications of macrophage polarization in autoimmunity[J]. *Immunology*, 2018, 154(2): 186-195. DOI:10.1111/imm.12910.
- [7] Zindel J, Kubers P. DAMPs, PAMPs, and LAMPs in immunity and sterile inflammation[J]. *Annu Rev Pathol*, 2020, 15: 493-518. DOI: 10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032847.

- [8] Bakogiannis C, Sachse M, Stamatiopoulos K, et al. Platelet-derived chemokines in inflammation and atherosclerosis[J]. *Cytokine*, 2019, 122: 154157. DOI: 10.1016/j.cyto.2017.09.013.
- [9] Hassanshahi A, Moradzad M, Ghalamkari S, et al. Macrophage-mediated inflammation in skin wound healing[J]. *Cells*, 2022, 11(19): 2953. DOI: 10.3390/cells11192953.
- [10] Fountain A, Inpanathan S, Alves P, et al. Phagosome maturation in macrophages: eat, digest, adapt, and repeat[J]. *Adv Biol Regul*, 2021, 82: 100832. DOI: 10.1016/j.jbior.2021.100832.
- [11] Geng J, Shi Y, Zhang J, et al. TLR4 signalling via Piezo1 engages and enhances the macrophage mediated host response during bacterial infection[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 3519. DOI: 10.1038/s41467-021-23683-y.
- [12] Xu X, Piao HN, Aosai F, et al. Arctigenin protects against depression by inhibiting microglial activation and neuroinflammation via HMGB1/TLR4/ NF- $\kappa$ B and TNF- $\alpha$ / TNFR1/ NF- $\kappa$ B pathways[J]. *Br J Pharmacol*, 2020, 177(22): 5224-5245. DOI: 10.1111/bph.15261.
- [13] Zumerle S, Cali B, Munari F, et al. Intercellular calcium signaling induced by ATP potentiates macrophage phagocytosis[J]. *Cell Rep*, 2019, 27(1): 1-10.e4. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.03.011.
- [14] Chen W, Liu Y, Chen J, et al. The Notch signaling pathway regulates macrophage polarization in liver diseases[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 99: 107938. DOI: 10.1016/j.intimp.2021.107938.
- [15] Yunna C, Mengru H, Lei W, et al. Macrophage M1/M2 polarization[J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 877: 173090. DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173090.
- [16] McCubbrey AL, McManus SA, McClendon JD, et al. Polyamine import and accumulation causes immunomodulation in macrophages engulfing apoptotic cells[J]. *Cell Rep*, 2022, 38(2): 110222. DOI: 10.1016/j.celrep.2021.110222.
- [17] Greenlee-Wacker MC. Clearance of apoptotic neutrophils and resolution of inflammation[J]. *Immunol Rev*, 2016, 273(1): 357-370. DOI: 10.1111/imr.12453.
- [18] Laskin DL, Malaviya R, Laskin JD. Role of macrophages in acute lung injury and chronic fibrosis induced by pulmonary toxicants[J]. *Toxicol Sci*, 2019, 168(2): 287-301. DOI: 10.1093/toxsci/kfy309.
- [19] Wu H, Zheng J, Xu S, et al. Mer regulates microglial/macrophage M1/M2 polarization and alleviates neuroinflammation following traumatic brain injury[J]. *J Neuroinflammation*, 2021, 18(1): 2. DOI: 10.1186/s12974-020-02041-7.
- [20] Shouval DS, Biswas A, Goettel JA, et al. Interleukin-10 receptor signaling in innate immune cells regulates mucosal immune tolerance and anti-inflammatory macrophage function[J]. *Immunity*, 2014, 40(5): 706-719. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.03.011.
- [21] Arnold L, Henry A, Poron F, et al. Inflammatory monocytes recruited after skeletal muscle injury switch into antiinflammatory macrophages to support myogenesis[J]. *J Exp Med*, 2007, 204(5): 1057-1069. DOI: 10.1084/jem.20070075.
- [22] Bouhlef MA, Derudas B, Rigamonti E, et al. PPARgamma activation primes human monocytes into alternative M2 macrophages with anti-inflammatory properties[J]. *Cell Metab*, 2007, 6(2): 137-143. DOI: 10.1016/j.cmet.2007.06.010.
- [23] Bao L, Dou G, Tian R, et al. Engineered neutrophil apoptotic bodies ameliorate myocardial infarction by promoting macrophage efferocytosis and inflammation resolution[J]. *Bioact Mater*, 2022, 9: 183-197. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2021.08.008.
- [24] Hilgendorf I, Gerhardt LM, Tan TC, et al. Ly-6Chigh monocytes depend on Nr4a1 to balance both inflammatory and reparative phases in the infarcted myocardium[J]. *Circ Res*, 2014, 114(10): 1611-1622. DOI: 10.1161/circresaha.114.303204.
- [25] Wang X, Cao Q, Yu L, et al. Epigenetic regulation of macrophage polarization and inflammation by DNA methylation in obesity[J]. *JCI Insight*, 2016, 1(19): e87748. DOI: 10.1172/jci.insight.87748.
- [26] Mullican SE, Gaddis CA, Alenghat T, et al. Histone deacetylase 3 is an epigenomic brake in macrophage alternative activation[J]. *Genes Dev*, 2011, 25(23): 2480-2488. DOI: 10.1101/gad.175950.111.
- [27] Curtale G, Rubino M, Locati M. MicroRNAs as molecular switches in macrophage activation[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 799. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00799.
- [28] Bernshtein B, Curato C, Ioannou M, et al. IL-23-producing IL-10R $\alpha$ -deficient gut macrophages elicit an IL-22-driven proinflammatory epithelial cell response[J]. *Sci Immunol*, 2019, 4(36): eaau6571. DOI: 10.1126/sciimmunol.aau6571.
- [29] Jung M, Ma Y, Iyer RP, et al. IL-10 improves cardiac remodeling after myocardial infarction by stimulating M2 macrophage polarization and fibroblast activation[J]. *Basic Res Cardiol*, 2017, 112(3): 33. DOI: 10.1007/s00395-017-0622-5.
- [30] De Nardo D, Labzin LI, Kono H, et al. High-density lipoprotein mediates anti-inflammatory reprogramming of macrophages via the transcriptional regulator ATF3[J]. *Nat Immunol*, 2014, 15(2): 152-160. DOI: 10.1038/ni.2784.
- [31] Westphalen K, Gusarova GA, Islam MN, et al. Sessile alveolar macrophages communicate with alveolar epithelium to modulate immunity[J]. *Nature*, 2014, 506(7489): 503-506. DOI: 10.1038/nature12902.
- [32] Jeong H, Yoon H, Lee Y, et al. SOCS3 attenuates dexamethasone-induced M2 polarization by down-regulation of GILZ via ROS- and p38 MAPK-dependent pathways[J]. *Immune Netw*, 2022, 22(4): e33. DOI: 10.4110/in.2022.22.e33.
- [33] Kim H, Wang SY, Kwak G, et al. Exosome-guided phenotypic switch of M1 to M2 macrophages for cutaneous wound healing[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2019, 6(20): 1900513. DOI: 10.1002/advs.201900513.
- [34] Willenborg S, Lucas T, van Loo G, et al. CCR2 recruits an inflammatory macrophage subpopulation critical for angiogenesis in tissue repair[J]. *Blood*, 2012, 120(3): 613-625. DOI: 10.1182/blood-2012-01-403386.
- [35] Mantsounga CS, Lee C, Neverson J, et al. Macrophage IL-1 $\beta$  promotes arteriogenesis by autocrine STAT3- and NF- $\kappa$ B-mediated transcription of pro-angiogenic VEGF-A[J]. *Cell Rep*, 2022, 38(5): 110309. DOI: 10.1016/j.celrep.2022.110309.
- [36] Ganta VC, Choi M, Farber CR, et al. Antiangiogenic VEGF (165)b regulates macrophage polarization via S100A8/S100A9 in peripheral artery disease[J]. *Circulation*, 2019, 139(2): 226-242. DOI: 10.1161/circulationaha.118.034165.
- [37] Xiao H, Zhao X, Li S, et al. Risk factors for subretinal fibrosis

- after anti-VEGF treatment of myopic choroidal neovascularisation[J]. *Br J Ophthalmol*, 2021, 105(1): 103-108. DOI:10.1136/bjophthalmol-2019-315763.
- [38] Pakshir P, Hinz B. The big five in fibrosis: macrophages, myofibroblasts, matrix, mechanics, and miscommunication[J]. *Matrix Biol*, 2018, 68-69, 81-93. DOI: 10.1016/j.matbio.2018.01.019.
- [39] Borthwick LA, Barron L, Hart KM, et al. Macrophages are critical to the maintenance of IL-13-dependent lung inflammation and fibrosis[J]. *Mucosal Immunol*, 2016, 9(1): 38-55. DOI:10.1038/mi.2015.34.
- [40] Meng XM, Wang S, Huang XR, et al. Inflammatory macrophages can transdifferentiate into myofibroblasts during renal fibrosis[J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7(12): e2495. DOI:10.1038/cddis.2016.402.
- [41] Tang PC, Chung JY, Xue VW, et al. Smad3 promotes cancer-associated fibroblasts generation via macrophage-myofibroblast transition[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2022, 9(1): e2101235. DOI:10.1002/adv.202101235.
- [42] Shook BA, Wasko RR, Rivera-Gonzalez GC, et al. Myofibroblast proliferation and heterogeneity are supported by macrophages during skin repair[J]. *Science*, 2018, 362(6417): eaar2971. DOI:10.1126/science.aar2971.
- [43] Abe H, Takeda N, Isagawa T, et al. Macrophage hypoxia signaling regulates cardiac fibrosis via Oncostatin M[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2824. DOI: 10.1038/s41467-019-10859-w.
- [44] Stutchfield BM, Antoine DJ, Mackinnon AC, et al. CSF1 restores innate immunity after liver injury in mice and serum levels indicate outcomes of patients with acute liver failure[J]. *Gastroenterology*, 2015, 149(7): 1896-1909. e14. DOI:10.1053/j.gastro.2015.08.053.
- [45] Wu DC, Kollipara R, Carter MJ, et al. A novel macrophage-activating gel improves healing and skin quality after CO<sub>2</sub> laser resurfacing of the chest[J]. *Dermatol Surg*, 2022, 48(12): 1312-1316. DOI:10.1097/dss.0000000000003622.
- [46] Schmitt H, Ulmschneider J, Billmeier U, et al. The TLR9 agonist cobitolimod induces IL10-producing wound healing macrophages and regulatory T cells in ulcerative colitis[J]. *J Crohns Colitis*, 2020, 14(4): 508-524. DOI:10.1093/ecco-jcc/ijz170.
- [47] 李晓亮, 谢江帆, 叶向阳, 等. 非编码RNA调控糖尿病创面愈合机制的研究进展[J]. *中华烧伤与创面修复杂志*, 2023, 39(2): 184-189. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20221101-00477.
- [48] Zhou LS, Zhao GL, Liu Q, et al. Silencing collapsin response mediator protein-2 reprograms macrophage phenotype and improves infarct healing in experimental myocardial infarction model[J]. *J Inflamm (Lond)*, 2015, 12: 11. DOI: 10.1186/s12950-015-0053-8.
- [49] Wu X, He W, Mu X, et al. Macrophage polarization in diabetic wound healing[J/OL]. *Burns Trauma*, 2022, 10: tkac051[2023-01-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34089902/>. DOI:10.1093/burnst/tkac051.
- [50] Li S, Yang P, Ding X, et al. Puerarin improves diabetic wound healing via regulation of macrophage M2 polarization phenotype[J/OL]. *Burns Trauma*, 2022, 10: tkac046[2023-01-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36568527/>. DOI: 10.1093/burnst/tkac046.
- [51] Huang YY, Lin CW, Cheng NC, et al. Effect of a novel macrophage-regulating drug on wound healing in patients with diabetic foot ulcers: a randomized clinical trial[J]. *JAMA Netw Open*, 2021, 4(9): e2122607. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2021.22607.
- [52] Lopes T, Almeida GG, Souza IA, et al. High-density-immune-complex regulatory macrophages promote recovery of experimental colitis in mice[J]. *Inflammation*, 2021, 44(3): 1069-1082. DOI: 10.1007/s10753-020-01403-w.
- [53] Mu R, Zhang Z, Han C, et al. Tumor-associated macrophages-educated reparative macrophages promote diabetic wound healing[J]. *EMBO Mol Med*, 2023, 15(2): e16671. DOI:10.15252/emmm.202216671.

(收稿日期:2023-01-10)