

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.19.013

网络首发 http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20190823.1302.006.html(2019-08-23)

急性白血病相关巨噬细胞的性质及 rhIFN- γ 对其影响的研究*宋建新¹, 欧阳红梅¹, 闻艳², 撒亚莲^{3△}

(云南省第一人民医院:1. 检验科;2. 血液科;3. 临床基础研究所, 昆明 650032)

[摘要] 目的 探讨急性白血病(AL)患者骨髓中巨噬细胞的性质及重组人 γ -干扰素(rhIFN- γ)对 AL 荷瘤情况下巨噬细胞的干预作用。方法 采用免疫组织化学法检测 97 例初诊 AL 患者,包括急性髓系白血病(AML 组)71 例和急性淋巴细胞白血病(ALL 组)26 例,以及 30 例健康者(对照组)骨髓组织中 CD68⁺、CD163⁺表达情况。97 例 AL 患者中追踪观察 53 例,其中经治疗后完全缓解(CR)37 例、未缓解(NR)或部分缓解(PR)16 例,而 CR 后复发 8 例。应用不同浓度 rhIFN- γ 对培养后的 AML 组单个核细胞进行干预,用流式细胞仪检测 CD68⁺、CD163⁺的变化及白细胞介素-10(IL-10)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平。结果 AML 组和 ALL 组骨髓组织中 CD68⁺、CD163⁺水平高于对照组($P<0.05$),而 AML 组和 ALL 组组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。CR 患者 CD68⁺、CD163⁺水平低于 AL 患者但高于对照组($P<0.05$),但 NR/PR 及复发患者 CD68⁺、CD163⁺水平与 AL 患者分别比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗前 CR 患者 CD68⁺、CD163⁺水平低于治疗前 NR/PR 患者($P<0.05$)。AML 组骨髓单个核细胞经不同浓度 rhIFN- γ 干预 7 d 后,CD68⁺水平随着干预浓度的增高而逐渐升高,但在各干预浓度间比较,差异无统计学意义($P>0.05$);CD163⁺水平随着干预浓度的增高而逐渐降低,当干预浓度大于或等于 2×10^5 U/L 时,其与对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$);而当干预浓度为 1×10^6 U/L 时,CD163⁺与 CD68⁺水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。IL-10 水平随着干预浓度的增高而降低,TNF- α 水平则随着干预浓度的增高而升高。当干预浓度为 1×10^6 U/L 时,IL-10 和 TNF- α 水平与对照组分别比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 AL 患者骨髓中 M2 型巨噬细胞的异常表达,可能与 AL 的发生、疗效、预后相关;在 AL 荷瘤情况下,一定浓度的 rhIFN- γ 具有将 M2 型向 M1 型巨噬细胞“逆转”的功能。

[关键词] 急性白血病;巨噬细胞;CD68;CD163**[中图法分类号]** R55**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2019)19-3292-05Study on the properties of acute leukemia-associated macrophages and the effect of rhIFN- γ on it*SONG Jianxin¹, OUYANG Hongmei¹, WEN Yan², SA Yalian^{3△}

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Hematology; 3. Institute of Clinical Basic Medicine Research, the First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming, Yunnan 650032, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the properties of macrophages in the bone marrow of patients with acute leukemia (AL) and the effect of recombinant human γ -interferon (rhIFN- γ) on macrophages in tumor-bearing leukemia patients. **Method** Immunohistochemistry was used to detect CD68⁺ and CD163⁺ in bone marrow of 97 newly diagnosed AL patients, including 71 patients with acute myeloid leukemia (the AML group) and 26 patients with acute lymphoblastic leukemia (the ALL group), and 30 normal people (the control group). A total of 53 cases were followed up among the 97 AL patients, including 37 cases with complete remission (CR) after treatment, 16 cases with non-remission (NR) or partial remission (PR), while 8 cases with recurrence after CR. The cultured mononuclear cells in the AML group were treated with different concentrations of rhIFN- γ , the changes of CD68⁺ and CD163⁺, the levels of interleukin-10 (IL-10) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were detected by flow cytometry. **Results** The levels of CD68⁺ and CD163⁺ in the AML group and the ALL group were higher than those in the control group ($P<0.05$), but there was no significant difference between the AML group and the ALL group ($P>0.05$). The levels of CD68⁺ and CD163⁺ in CR patients were lower than those in AL patients ($P<0.05$), while there were no significant differences

* 基金项目:云南省科技厅-昆明医科大学联合专项应用基础研究项目(2014FZ070)。 作者简介:宋建新(1964—),副主任技师,本科,主要从事血液系统及相关疾病研究。 △ 通信作者, E-mail: sayalian@126.com。

among NR/PR, recurrence patients and AL patients ($P>0.05$). The levels of CD68⁺ and CD163⁺ in CR patients before treatment were lower than those in NR/PR patients before treatment ($P<0.05$). After 7 days of intervention with different concentrations of rhIFN- γ in the AML group, the level of CD68⁺ increased gradually with the intervention concentration increasing, but there was no significant among the different intervention concentrations ($P>0.05$). The level of CD163⁺ decreased gradually with the intervention concentration increasing. Compared with the control group, when the intervention concentration was more than or equal to 2×10^5 U/L, the difference in the level of CD163⁺ was statistically significant ($P<0.05$). When the concentration was 1×10^6 U/L, the difference between CD163⁺ and CD68⁺ was statistically significant ($P<0.05$). The level of IL-10 decreased with the intervention concentration increasing, while the level of TNF- α increased. Compared with the control group, when the intervention concentration was 1×10^6 U/L, there were statistically significant differences in the levels of IL-10 and TNF- α ($P<0.05$). **Conclusion** Abnormal expression of M2 macrophages in the bone marrow of AL patients may be related to the occurrence, efficacy and prognosis of AL. A certain concentration of rhIFN- γ has the effect of reversing M2 to M1 macrophages.

[Key words] acute leukemia; macrophages; CD68; CD163

巨噬细胞是一类具有迁移性、异质性的免疫细胞;在不同微环境中,其可被招募并极化为具有不同分子特征和功能的亚群,即 M1 型或 M2 型, M1 型与 M2 型巨噬细胞通过分泌白细胞介素(IL)-12 和 IL-10、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等细胞因子,参与促肿瘤或抗肿瘤作用^[1-3]。前期本课题组应用巨噬细胞的泛标志物 CD68(M1 型+M2 型)、CD163(M2 型),研究了慢性粒细胞白血病(CML)和骨髓增生异常综合征(MDS)骨髓微环境中巨噬细胞的变化发现,巨噬细胞被大量募集进入 CML 及 MDS 患者骨髓微环境,并逐渐向 M2 型极化,与疾病的发生、发展及预后有密切关系^[4-6]。那么,在急性白血病(AL)患者骨髓微环境中,是否存在巨噬细胞的过度浸润,是以 M1 型为主或 M2 型为主或二者兼有,是否与 AL 的发生、发展及预后有关;重组人干扰素- γ (rhIFN- γ)对其在荷瘤情况下的干预是有利于溶癌,还是有利于肿瘤逃逸,这些都是有意义、值得明确的科学问题,本课题组将对其进行研究,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 2 月至 2017 年 5 月初诊 AL 患者 97 例,其中男 58 例,女 39 例,男女比例为 1.49 : 1.00;年龄 8 个月至 82 岁,平均(40.90 $\pm$ 14.54)岁。97 例 AL 患者中,急性髓系白血病(AML 组)71 例,其中 M0 5 例, M1 8 例, M2 5 例, M3 12 例, M4 23 例, M5 18 例,年龄 7~82 岁,平均(45.26 $\pm$ 13.31)岁;急性淋巴细胞白血病(ALL 组)26 例,其中 B 细胞型(B)-ALL 19 例, T 细胞型(T)-ALL 7 例,年龄 8 个月至 72 岁,平均(43.62 $\pm$ 16.18)岁。在 97 例 AL 患者中,追踪观察 53 例经标准化疗 1~2 个疗程患者,共有 37 例达到形态学完全缓解(CR),其中 AML 24 例、ALL 13 例,年龄 4~69 岁,平均

(44.59 $\pm$ 11.82)岁;16 例未缓解(NR)或部分缓解(PR),其中 AML 8 例、ALL 8 例,年龄 11~76 岁,平均(46.47 $\pm$ 16.58)岁。追踪观察 37 例 CR 患者,有 8 例复发,其中 AML 2 例、ALL 6 例,年龄 14~69 岁,平均(42.35 $\pm$ 12.74)岁。诊断、缓解及复发标准符合 AL 标准^[7]。选取同期体检的 30 例健康者为对照组,排除血液系统恶性疾病、免疫相关及感染相关疾病,其中男 18 例,女 12 例,男女比例为 1.50 : 1.00,年龄 11~76 岁,平均(47.50 $\pm$ 10.24)岁。本研究获医院伦理委员会批准,并征得所有受试者知情同意。

1.2 方法

1.2.1 主要试剂与仪器 鼠抗人 CD68、CD163 抗体, SP 免疫组织化学试剂盒购自美国 Abcam 公司; IL-10、TNF- α 试剂盒购自美国 BD 公司;淋巴细胞分离液购自中国天津昊阳生物公司; rhIFN- γ 购自上海凯茂生物医药有限公司; RPMI-1640 培养基购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;胎牛血清购自美国 Hyclone 公司;胰蛋白酶、青霉素/链霉素双抗购自美国 Gibco 公司; FC500 流式细胞仪购自美国 Beckman Coulter 公司;细胞培养 24 孔板购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司。

1.2.2 免疫组织化学检测 CD68、CD163 常规骨髓穿刺取骨髓组织,置于 10% 福尔马林液固定,经脱水、石蜡包埋、3~4 μ m 厚切片;采用 SP 免疫组织化学染色检测 CD68、CD163 的表达。巨噬细胞体积较大,形态多样,呈类圆形或不规则形,偶见多核细胞; CD68 阳性表达于巨噬细胞的细胞质,细胞质含清晰的黄褐色至棕黄色颗粒状者为阳性细胞; CD163 阳性表达于巨噬细胞的细胞膜和(或)细胞质,细胞膜和(或)细胞质出现清晰的黄褐色至棕黄色颗粒状者为阳性细胞,见图 1。免疫组织化学染色结果由两位病理医师各自

独立判断,结果相同为最终检验结果,若有异议,由上级医师进行最终判断。首先在低倍镜(×40)下选取 5 个染色较好的视野,后在高倍镜(HP,×400)下计数阳性细胞个数,取其平均值作统计学分析。

1.2.3 AL 患者骨髓单个核细胞培养及 rhIFN-γ 的干预作用 取 AML 患者骨髓液 2.0~3.0 mL,乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝,用淋巴细胞分离液常规分离获取单个核细胞,9.0 g/L 生理盐水洗涤单个核细胞 2 次;用含 100 mL/L 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液调整单个核细胞浓度为 1×10^5 /mL,以每孔 1.0 mL 接种于 24 孔培养板中,每组设 5 个平行孔,每孔分别加入终浓度为 0、 4×10^4 、 2×10^5 、 1×10^6 U/L 的 rhIFN-γ,CO₂ 培养箱培养 7 d,经 EDTA 消化、磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤后,用流式细胞仪检测 CD68⁺、CD163⁺ 细胞;收集培养上清液,用于 IL-10、TNF-α 检测。

1.2.4 CD68⁺、CD163⁺ 细胞检测 于 2 支流式专用试管中加入细胞溶液 100 μL,对照管中加入 IgG1-藻红蛋白(PE)、IgG1-异硫氰酸荧光素(FITC)抗体各 20 μL;测定管加入 CD68-PE、CD163-FITC 抗体各 20 μL,混匀后室温下避光孵育 30 min;用 PBS 洗涤,弃上清液,加入 500 μL PBS 混匀,上机测定。

1.2.5 细胞因子检测 IL-10、TNF-α 水平测定按照试剂盒说明书进行操作。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据分析,计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组数据采用单因素方差分析,多组间比较用 SNK 法进行 *q* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组治疗前骨髓中 CD68⁺、CD163⁺ 细胞的表达情况 AML 组和 ALL 组患者 CD68⁺ 和 CD163⁺ 细胞的浸润密度均高于对照组(*P* < 0.05),差异有统计学意义(*P* < 0.05);而 AML 组与 ALL 组比较,差异无统计学意义(*P* > 0.05),见表 1、图 1。

表 1 3 组治疗前 CD68⁺、CD163⁺ 细胞水平比较($\bar{x}\pm s$,个/HP)

组别	<i>n</i>	CD68 ⁺	CD163 ⁺
对照组	30	12.39±2.17	2.71±0.82
AML 组	71	69.83±7.21 ^a	59.11±6.57 ^a
ALL 组	26	70.83±6.80 ^a	59.91±7.14 ^a
<i>F</i>		468.394	507.836
<i>P</i>		0.000	0.000

^a:*P* < 0.05,与对照组比较

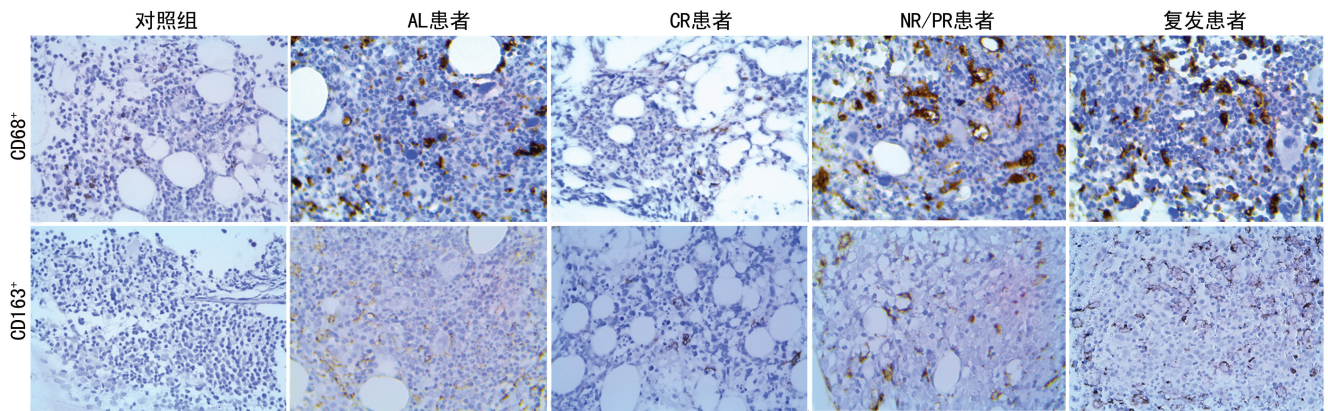


图 1 不同状态 AL 患者骨髓中 CD68⁺、CD163⁺ 细胞的表达情况(免疫组织化学染色,×400)

表 2 不同状态 AL 患者骨髓中 CD68⁺、CD163⁺ 细胞水平比较($\bar{x}\pm s$,个/HP)

组别	<i>n</i>	CD68 ⁺	CD163 ⁺
对照组	30	12.39±2.17	2.71±0.82
AL 患者	97	70.10±7.08	59.33±6.70
CR 患者	37	18.65±2.99 ^{ab}	8.57±1.79 ^{ab}
NR/PR 患者	16	70.49±8.55 ^{bc}	58.10±7.71 ^{bc}
复发患者	8	70.81±6.01 ^{bc}	59.45±6.37 ^{bc}
<i>F</i>		628.472	596.345
<i>P</i>		0.000	0.000

^a:*P* < 0.05,与 AL 患者比较;^b:*P* < 0.05,与对照组比较;^c:*P* < 0.05,与 CR 患者比较

表 3 CR 与 NR/PR 患者治疗前 CD68⁺、CD163⁺ 细胞水平比较($\bar{x}\pm s$,个/HP)

组别	<i>n</i>	CD68 ⁺	CD163 ⁺
CR 组	37	61.96±6.29	51.90±7.13
NR/PR 组	16	78.99±5.82	71.39±4.38
<i>t</i>		16.467	13.294
<i>P</i>		0.000	0.000

2.2 不同状态 AL 患者骨髓中 CD68⁺、CD163⁺ 细胞表达情况 CR 患者 CD68⁺、CD163⁺ 水平低于 AL 患者,而高于对照组(*P* < 0.05);NR/PR 患者与复发患

者和初诊 AL 患者比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表2、图1。

2.3 CR 患者与 NR/PR 患者 CD68⁺、CD163⁺ 细胞表达情况 CR 患者 CD68⁺、CD163⁺ 水平低于 NR/PR 患者,差异有统计学意义($P<0.05$),见表3、图1。

2.4 不同浓度 rhIFN- γ 对 AML 骨髓单个核细胞干预后 CD68⁺、CD163⁺ 变化情况 AML 组骨髓单个核细胞经不同浓度 rhIFN- γ 干预 7 d 后,CD68⁺ 水平随着干预浓度的增高而逐渐升高,但在各干预浓度间比较,差异无统计学意义($P>0.05$);CD163⁺ 水平随着干预浓度的增高而逐渐降低,当干预浓度大于或等于 2×10^5 U/L 时,与对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$);而当干预浓度为 1×10^6 U/L 时,CD163⁺ 与 CD68⁺ 水平比较,差异有统计学意义($P<$

0.05),见表4、图2。

表 4 不同浓度 rhIFN- γ 对 AML 组骨髓单个核细胞干预后 CD68⁺、CD163⁺ 的变化情况($\bar{x}\pm s, \%$)

rhIFN- γ 浓度(U/L)	CD68 ⁺	CD163 ⁺
0	4.85 $\pm$ 0.18	4.20 $\pm$ 0.11
4×10^4	5.08 $\pm$ 0.16	4.08 $\pm$ 0.08
2×10^5	5.03 $\pm$ 0.11	3.70 $\pm$ 0.08 ^a
1×10^6	5.30 $\pm$ 0.17	2.19 $\pm$ 0.13 ^{ab}
<i>F</i>	4.830	255.260
<i>P</i>	0.140	0.000

^a: $P<0.05$,与 0 U/L 比较;^b: $P<0.05$,与 CD68⁺ 细胞比较

2.5 不同浓度 rhIFN- γ 对 AML 骨髓单个核细胞干预后 IL-10、TNF- α 变化情况 IL-10 水平随着干预浓

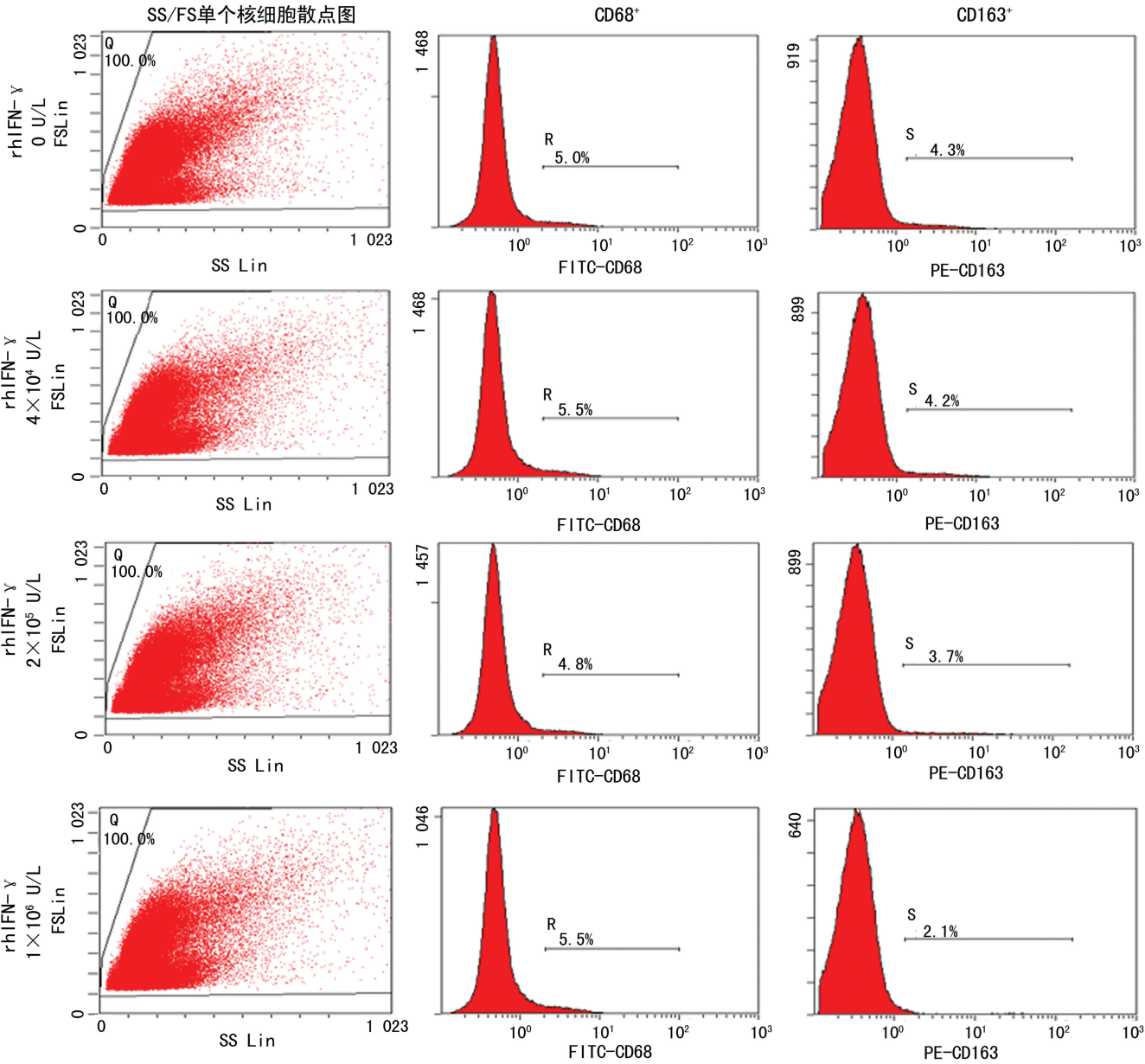


图 2 流式细胞仪检测不同浓度 rhIFN- γ 对 AML 组骨髓单个核细胞干预后 CD68⁺、CD163⁺ 变化情况

度的增高而降低,TNF- α 水平则随着干预浓度的增高而升高,当干预浓度为 1×10^6 U/L 时,IL-10 和 TNF- α 水平与 0 U/L 分别比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 5。

表 5 不同浓度 rhIFN- γ 对 AML 组骨髓单个核细胞干预后 IL-10、TNF- α 变化情况($\bar{x}\pm s$,pg/mL)

rhIFN- γ 浓度(U/L)	IL-10	TNF- α
0	105.92 $\pm$ 1.77	18.76 $\pm$ 0.41
4×10^4	95.05 $\pm$ 0.65	22.18 $\pm$ 0.72
2×10^5	84.96 $\pm$ 1.68	25.86 $\pm$ 0.11
1×10^6	75.19 $\pm$ 0.96 ^a	27.99 $\pm$ 0.15 ^a
F	250.180	227.360
P	0.000	0.000

^a: $P<0.05$,与 0 U/L 比较

3 讨 论

AL 是因造血干/祖细胞于分化过程中在较早阶段发生分化阻滞、凋亡障碍和恶性增殖而引起的一组异质性造血系统恶性肿瘤。目前,随着对 AL 治疗技术的不断进步,尤其是骨髓移植和造血干细胞移植的发展应用,AL 治愈率得到明显提高,但对微小残留的清除仍是棘手的问题,这也是 CR 后复发的原因之一。有研究显示,在多发性骨髓瘤患者骨髓中存在 M2 型巨噬细胞的异常浸润,且与疾病的发生、发展及预后有关^[8],但在 AL 患者骨髓微环境中巨噬细胞的浸润及极化表型还鲜见报道。

rhIFN- γ 是由活化 T 细胞、自然杀伤细胞产生分泌的细胞因子之一,有着“双刃剑”作用,在肿瘤组织中有正向抗肿瘤作用,还有诱导肿瘤细胞免疫逃逸的负向作用^[9],其除发挥直接作用外,还间接调节其他免疫细胞,如巨噬细胞^[10]。有文献报道,rhIFN- γ 可将 M2 型巨噬细胞极化为 M1 型巨噬细胞,参与辅助性 T 细胞(Th)1 型免疫应答^[11]。

通过对 AL 患者骨髓巨噬细胞的研究发现,在初诊 AL 患者中,无论 AML 还是 ALL 患者骨髓中均有 CD68⁺、CD163⁺ 巨噬细胞的异常浸润,且浸润的巨噬细胞以 M2 型(即 CD163⁺)为主,提示 AL 患者骨髓微环境中 M2 型巨噬细胞可能通过自分泌和(或)旁分泌途径参与白血病细胞的恶性增殖、抵抗凋亡及侵袭^[12-13],导致 AL 的发生、发展。追踪观察 53 例初治 AL 患者的 CD68⁺、CD163⁺ 还发现,治疗 1~2 个疗程达 CR 的患者,CD163⁺ 的浸润密度明显低于 NR/PR 患者,提示骨髓中 M2 型巨噬细胞浸润数量与 AL 患者的疗效、预后有直接关系,即治疗前 M2 型巨噬细胞浸润密度高的患者对治疗反应差。在追踪 CR 后又复发 8 例患者,M2 型巨噬细胞与初诊患者骨髓中

M2 型巨噬细胞比较,差异无统计学意义($P>0.05$),提示 M2 型巨噬细胞具有促进白血病干细胞(LSCs)的生存、遗传的不稳定性及克隆演变,这可能为探讨针对巨噬细胞的靶向治疗 AL,清除白血病微小残留提供理论依据。

本研究还显示,CR 患者骨髓组织中的 M2 型巨噬细胞有所降低,但仍明显高于对照组,说明 AL 患者骨髓虽然达到形态学和(或)基因水平上的暂时缓解,但促进 LSCs 生存、分化、增殖的因素还未完全消除,这也可能是 AL 最终复发的原因之一。

对 rhIFN- γ 干预的研究结果显示,CD68⁺ 占有单个核细胞的百分率随着干预浓度的增加略有升高,CD163⁺ 略低于 CD68⁺,但与 rhIFN- γ 为 0 U/L 比较,差异无统计学意义($P>0.05$),提示在初诊 AL 患者骨髓中,主要是 M2 型巨噬细胞占优势;而随着干预浓度的逐渐增高,M2 型巨噬细胞也逐渐降低,说明在 rhIFN- γ 干预后,已有部分 M2 型巨噬细胞向 M1 型巨噬细胞极化,提示 rhIFN- γ 在 AL 荷瘤情况下具有将 M2 型巨噬细胞向 M1 型“逆转”的作用,这也间接证实了 IL-10 随着 rhIFN- γ 干预浓度的增加应逐渐降低,而 TNF- α 随着干预浓度的增加应逐渐增高。

综上所述,AL 患者骨髓微环境中巨噬细胞被大量招募并被极化为 M2 型巨噬细胞,使骨髓微环境发生变化,可能与 AL 的发生、疗效、预后相关。在 AL 荷瘤情况下,一定浓度的 rhIFN- γ 具有将 M2 型向 M1 型巨噬细胞“逆转”的功能。

参考文献

[1] AI-MATARY Y S,BOTEZATU L,OPMKA B,et al. Acute myeloid leukemia cells polarize macrophages towards a leukemia supporting state in a growth factor independence 1 dependent manner[J]. Haematologica,2016,101(10):1216-1227.

[2] RHEE I. Diverse macrophages polarization in tumor microenvironment[J]. Arch Pharm Res,2016,39(11):1588-1596.

[3] BERRAONDO P,MINUTE L,AJONA D,et al. Innate immune mediators in cancer: between defense and resistance[J]. Immunol Rev,2016,274(1):290-306.

[4] SONG J X,DIAN Z J,WEN Y,et al. Assessment of the number and phenotype of macrophages in the human BMB samples of CML[J]. Biomed Res Int,2016,2016:1-9.

[5] 宋建新,欧阳红梅,甸自金,等. 肿瘤相关巨噬细胞在骨髓增生异常综合征患者中的表达研究[J]. 重庆医学,2017,46(2):228-230.

stet Gynaecol Res, 2014, 40(2):509-514.

- [9] 叶茜, 钮琳玮, 赵玲. 产妇盆底功能情况调查及产科因素对盆底功能的近期影响分析研究[J]. 实用妇产科杂志, 2016, 32(11):843-846.
- [10] CHAN S S, CHEUNG R Y, YIU K W, et al. Pelvic floor biometry during a first singleton pregnancy and the relationship with symptoms of pelvic floor disorders: a prospective observational study[J]. BJOG, 2014, 121(1): 121-129.
- [11] YILDIZ H. The relation between prepregnancy sexuality and sexual function during pregnancy and the postpartum period: a prospective study[J]. J Sex Marital ther, 2015, 41(1):49-59.
- [12] 王凤玫, 宋岩峰. 盆腔器官脱垂的盆底缺陷诊断[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2017, 33(10):1005-1008.
- [13] 孙文娟, 李苏. 女性产后性功能障碍的疗效观察. 中国妇幼保健, 2013, 33(9):636-643.
- [14] 靳翠平. 妊娠与分娩相关盆底损伤的研究进展[J]. 实用临床医学, 2017, 18(5):102-103.
- [15] 赵小峰, 陈功立, 雷玲, 等. 腹腔镜下间隙解剖观察阴道三水平理论的关键解剖结构[J]. 浙江大学学报, 2018, 47(4):329-337.
- [16] 王影, 李雪凤, 王艳华, 等. 腹腔镜下非脱垂全子宫切除术后盆底功能及康复治疗观察[J]. 河北医药, 2017, 39(9): 1348-1350.
- [17] PERSSON P, BRYNHILDSEN J, KJØLHEDE P, et al. Pelvic organ prolapse after subtotal and total hysterectomy: a long-term follow-up of an open randomised controlled multicentre study[J]. BJOG, 2013, 120(12):1556-1565.
- [18] 高琴. 不同手术途径子宫全切除术对女性性功能的影响对比分析[J]. 生殖医学杂志, 2015, 24(1):65-68.
- [19] LIEBERGALL-WISCHNITZER M, PALTIEL O, HOCHNER-CELNIKIER D, et al. Sexual function and quality of life for women with mild-to-moderate stress urinary incontinence[J]. J Midwifery Wom Heal, 2011, 56(5):461-467.
- [20] 李颖. 子宫全切与次全切对女性性生活质量及盆底功能的影响[J]. 中国伤残医学, 2015, 23(9):89-91.
- [21] 蔡丽坤, 周丽梅, 魏翠英. 全子宫切除术后女性性生活质量及性功能指数分析[J]. 广东医学, 2015, 36(5):775-777.
- [22] 孙智晶, 朱兰, 郎景和, 等. 盆底肌肉训练在盆底功能障碍性疾病防治中的作用[J]. 中华妇产科杂志, 2017, 52(2): 138-140.
- [23] 姜卫国, 袁苗, 王京晨. 女性性功能障碍的康复治疗[J]. 中国计划生育和妇产科, 2016, 8(8):7-10.
- [24] 王庭槐. 生理学[M]. 2 版. 北京:高等教育出版社, 2012: 289-291.
- [25] MARTINEZ C S, FERREIRA F V, CASTRO A A, et al. Women with greater pelvic floor muscle strength have better sexual function[J]. Acta Obstet Gynecol Scand, 2014, 93(5):497-502.
- [26] 葛伟平, 楚蔚昕, 刘红, 等. 腹腔镜全子宫切除术后盆底康复治疗的疗效评价[J]. 中国微创外科杂志, 2017, 17(4): 302-306.
- [27] 朱兰, 郎景和. 女性盆底学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社, 2014:201-203.

(收稿日期:2019-02-04 修回日期:2019-05-25)

(上接第 3296 页)

- [6] 宋建新, 欧阳红梅, 闻艳, 等. 慢性粒细胞白血病骨髓巨噬细胞的表达与细胞因子的相关性[J]. 广东医学, 2017, 38(5):1-5.
- [7] 沈迪, 赵用强, 周道斌, 等. 血液病诊断及疗效标准[M]. 4 版. 北京:科学出版社, 2018:87-119.
- [8] 桂前乐, 汪延生, 黄山, 等. 肿瘤相关性巨噬细胞在多发性骨髓瘤中的浸润及临床意义[J]. 中华血液学杂志, 2018, 39(2):122-127.
- [9] SVAJGER U, OBERANJER N, JERAS M. IFN- γ -rich environment programs dendritic cells toward silencing of cytotoxic immune responses[J]. J Leukoc Biol, 2014, 95(1):33-46.
- [10] JEANNIN P, DULUC D, DELNESTE Y. IL-6 and leukemia-inhibitory factor are involved in the generation of tumor-associated macrophage: regulation by IFN- γ [J]. Immunotherapy, 2011, 3(4):23-26.
- [11] ZANGANEH S, HUTTER G, SPITLER R, et al. Iron oxide nanoparticles inhibit tumour growth by inducing pro-inflammatory macrophage polarization in tumour tissues[J]. Nat Nanotechnol, 2016, 11(11):986-994.
- [12] OSTUNI R, KRATOCHVILL F, MURRAY P J, et al. Macrophages and cancer: from mechanisms to therapeutic implications[J]. Trends Immunol, 2015, 36(4):229-239.
- [13] KUNTS DOTIR H, CONDEELIS J S, PALSSON E. 3-D individual cell based computational modeling of tumor cell-macrophage paracrine signaling mediated by EGF and CSF-1 gradients[J]. Integr Biol (Camb), 2016, 8(1):104-119.

(收稿日期:2019-03-18 修回日期:2019-06-23)