DOI: 10.14188/j.1671-8852.2024.0872 文章编号 1671-8852(2025)05-0575-08

前列腺素E2促进c-Maf表达调控巨噬细胞骨架重构和吞噬能力的作用机制

孙素娟 张雯雯 曹艺格 杜玄霜 王茜铖 徐睿萱 罗凤玲 刘 敏
武汉大学泰康医学院（基础医学院）免疫学系 湖北 武汉 430071

摘要 目的：探究前列腺素E2（PGE2）对巨噬细胞c-Maf表达的调控作用机制及效应。方法：本研究首先通过mRNA芯片测序和蛋白质谱分析，探讨c-Maf敲除对M2型巨噬细胞的基因及蛋白表达谱的影响，明确其在GO和KEGG通路中的调控作用。随后在RAW264.7巨噬细胞中进行c-Maf过表达（OE）和敲低（KD）实验，采用RT-qPCR、Western Blot、流式细胞术及免疫荧光染色等方法，评估不同c-Maf表达水平下巨噬细胞的形态、吞噬能力及骨架蛋白分布变化。同时，检测PGE2对RAW264.7细胞c-Maf的表达及其下游PI3K/AKT信号通路的调控，并通过PI3K抑制剂进一步分析该通路在PGE2诱导c-Maf表达中的作用。结果：mRNA芯片和蛋白质谱结果表明，c-Maf敲除显著影响了巨噬细胞的多条关键通路，尤其是细胞膜及与吞噬作用和细胞骨架重构等相关通路。此外，PGE2通过PI3K/AKT信号通路上调c-Maf的表达，降低了巨噬细胞的吞噬能力并促进了骨架蛋白F-actin的重构。PI3K抑制剂显著抑制了PGE2对c-Maf的上调作用，提示PI3K/AKT通路在这一过程中起到关键调控作用。结论：本研究表明，PGE2通过上调c-Maf表达，介导巨噬细胞吞噬能力的降低和骨架重构，而这一过程依赖于PI3K/AKT信号通路的激活。c-Maf在调控巨噬细胞功能中的核心作用为免疫系统调控和肿瘤免疫治疗提供了新的靶点。

关键词 前列腺素E2；c-Maf；巨噬细胞；吞噬；F-actin
中图分类号 R378.911
文献标识码 A 开放科学（资源服务）标识码（OSID）：

Mechanisms of prostaglandin E2-induced c-Maf expression in mediating macrophage cytoskeletal remodeling and phagocytic capacity

SUN Sujuan, ZHANG Wenwen, CAO Yige, DU Xuanshuang, WANG Xicheng, XU Ruixuan, LUO Fengling, LIU Min
Dept. of Immunology, Taikang Medical School (School of Basic Medical Sciences), Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei, China

Abstract

Objective: To investigate the role and the effect of prostaglandin E2 (PGE2) in regulating c-Maf expression in macrophages. **Methods:** We first performed mRNA microarray and proteomics analyses to examine the impact of c-Maf knockout on gene and protein expression profiles in M2 macrophages, focusing on the associated GO and KEGG pathways. Subsequently, in RAW264.7 macrophages with c-Maf overexpression (OE) or knockdown (KD), we utilized RT-qPCR, Western Blot, hematoxylin staining, flow cytometry, and F-actin staining to assess morphological changes, phagocytic capacity, and cytoskeletal protein distribution under different c-Maf expression levels. Addition-

课题来源：国家自然科学基金资助项目（编号：82272978，81971904）
作者简介：孙素娟，女，1997—，医学硕士生，主要从事肿瘤免疫及治疗的研究，E-mail：sunsujuan@whu.edu.cn
通信作者：刘敏，女，1977—，副教授，主要从事肿瘤免疫及治疗的研究，E-mail：mliu@whu.edu.cn

ally, we examined the effects of PGE2 stimulation on c-Maf expression and its downstream PI3K/AKT signaling pathway and analyzed the role of this pathway in PGE2-induced c-Maf expression using a PI3K inhibitor. **Results:** Both mRNA microarray and proteomic data indicated that c-Maf knockout significantly altered multiple critical pathways in macrophages, especially those related to membrane, phagocytosis and cytoskeletal remodeling. Additionally, PGE2 upregulated c-Maf expression via the PI3K/AKT pathway, reducing macrophage phagocytic activity and promoting F-actin reorganization. The PI3K inhibitor significantly suppressed PGE2-induced c-Maf upregulation, highlighting the central regulatory role of PI3K/AKT signaling in this process. **Conclusion:** This study demonstrates that PGE2 upregulates c-Maf expression to reduce macrophage phagocytic capacity and cytoskeletal remodeling, a process mediated by the activation of the PI3K/AKT signaling pathway. The critical role of c-Maf in macrophage function regulation provides a potential therapeutic target for immune modulation and cancer immunotherapy.

Key Words Prostaglandin E2; c-Maf; Macrophage; Phagocytosis; F-actin

巨噬细胞在固有免疫系统中扮演着关键角色，通过识别和清除病原体、衰老或损伤细胞，在维持组织稳态和参与免疫应答方面发挥重要作用[1-3]。在肿瘤微环境中，巨噬细胞通常表现为肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages，TAMs)，具有极化可塑性，能在M1型促炎性巨噬细胞和M2型抗炎性巨噬细胞之间转化[4-6]。TAMs在肿瘤微环境中往往呈现M2样特征，促进肿瘤生长、血管生成、免疫抑制及转移[7]。因此，深入研究巨噬细胞在肿瘤微环境中的作用机制，为癌症治疗，尤其是免疫治疗提供了新的潜在靶点和方向。

前列腺素E2(prostaglandin E2，PGE2)是一种重要的生物活性脂质分子，主要由花生四烯酸通过环氧合酶(cyclooxygenase，COX)催化生成[8]。PGE2在多种生理和病理过程中发挥重要作用，包括炎症调控、血管扩张、疼痛反应和发热等[9-10]。在免疫系统中，PGE2是免疫调节的关键因子，通过多条信号通路，如cAMP-PKA、PI3K/AKT和MAPK通路[11]，对不同类型的免疫细胞产生深远影响。在巨噬细胞中，PGE2可调节其极化状态，既能够抑制促炎M1型巨噬细胞的活性，也能促进抗炎M2型巨噬细胞的形成，从而在免疫抑制和组织修复中发挥关键作用[12]。在肿瘤微环境中，PGE2的表达水平显著升高。研究[12]表明，许多肿瘤细胞，如肝癌、结直肠癌、乳腺癌和肺癌等，均具有较高的COX-2表达，导致PGE2的大量生成。这种高水平的PGE2不仅促进肿瘤细胞的增殖、血管生成和抗凋亡，还通过诱导免疫抑制性细胞如M2型巨噬细胞、调节性T细胞和髓源性抑制细胞的募集和活化，从而抑制抗肿瘤免疫反应，促进肿瘤免疫逃逸[8,10,13]。另外，已有研究[14]报道PGE2-EP4通路参与DC细胞微管形成的调控。因此，PGE2不仅是炎症调节的关键分子，还是肿瘤微环境中免疫抑制的重要介质，其在癌症发生和进展中的作用已引起广泛关注。

转录因子c-Maf(v-maf avian musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog)是MAF家族的一员，在调节多种免疫细胞类型的基因表达中发挥重要作用[15-16]。c-Maf在T细胞和B细胞分化、Th2细胞极化、IL-10分泌等过程中具有重要作用[17-18]。我们前期研究[19]显示c-Maf是M2型巨噬细胞极化的重要调控因子。然而，目前对于c-Maf在巨噬细胞中的上下游信号通路及具体功能的理解仍然有限，尤其是其在吞噬活性和骨架动态重塑中的作用尚待深入研究。

基于此，本研究以RAW264.7巨噬细胞为模型，旨在揭示PGE2对巨噬细胞c-Maf表达的调控作用，以及它通过PI3K/AKT信号通路在巨噬细胞吞噬能力和细胞骨架重构中的具体机制。我们首先通过mRNA芯片和蛋白质谱分析c-Maf敲除对巨噬细胞基因和蛋白表达谱的影响，以了解其在GO和KEGG通路中的调控作用；随后在PGE2刺激条件下，研究c-Maf的表达水平及其对巨噬细胞吞噬活性和骨架蛋白分布的影响；然后进一步使用PI3K抑制剂阻断该信号通路，以探讨PI3K/AKT通路在PGE2诱导的c-Maf表达和巨噬细胞功能改变中的作用。通过本研究，我们期望能够揭示PGE2-c-Maf轴在巨噬细胞功能中的关键调控机制，为巨噬细胞的功能调控和肿瘤免疫治疗提供新的见解和潜在的治疗靶点。

1　材料与方法

1.1　细胞　RAW264.7巨噬细胞来源于武汉大学典型培养物保藏中心，由本实验室传代冻存；RAW264.7 c-Maf过表达(c-Maf-OE)和c-Maf敲低(c-Maf-KD)细胞均由广州赛业生物科技有限公司构建，由本实验室传代冻存。

1.2　主要试剂

1.2.1　*细胞实验相关试剂*　胎牛血清(FBS，S711-001S)购自Lonsera公司，DMEM高糖培养基(Dulbecco′s Modified Eagle Medium，11965092)购自美国Gibco公司；刺激细胞所用PGE2(900117P)及PI3K抑制剂(LY294002)均购自Sigma-Aldrich公司。

1.2.2　*RT-qPCR相关试剂*　鼠c-Maf和GAPDH等基因引物合成于武汉擎科生物技术有限公司，总RNA提取试剂盒TRIzol购自南京诺唯赞生物科技有限公司，逆转录试剂盒(G3332-50)购自武汉赛维尔生物科技有限公司，SYBR Green荧光染料购自日本TOYOBO公司。

1.2.3　*Western Blot及蛋白质谱相关试剂*　RIPA裂解液(PC101)、蛋白酶抑制剂(GRF101)、磷酸酶抑制剂(GRF102)、BCA蛋白定量试剂盒(ZJ102)、5×loading上样缓冲液(LT101)、一步法7.5%PAGE凝胶快速制备试剂盒(PG211)、蛋白Marker(WJ102)、无蛋白快速封闭液(PS108P)购自雅酶公司；Tris-Base(1115)、甘氨酸(1275)、十二烷基磺酸钠(3250)购自Biofroxx公司；PVDF膜购自cytiva公司(10600023)；ECL显色底物(SQ202L)购自雅酶公司；c-Maf(#26745)、PI3K(429256)、p-PI3K(17366)、AKT(9272)、p-AKT(9271)和GAPDH(2118)抗体均购自CST公司；山羊抗兔IgG抗体及山羊抗鼠IgG抗体购自Abclonal公司；考马斯亮蓝染液(G2059-250ML)购自武汉赛维尔生物科技有限公司。

1.2.4　*苏木素染色及免疫荧光染色相关试剂*　苏木素染色液购自武汉赛维尔生物科技有限公司，Alexa Fluor 594标记的鬼笔环肽(Phalloidin，A12381)购自Invitrogen公司，DAPI染色液(C1002)购自碧云天生物技术有限公司。

1.2.5　*流式细胞术相关试剂*　FITC标记的荧光乳胶微粒(L1030)购自Sigma-Aldrich公司，细胞死活染料购自BioLegend公司。

1.3　方法

1.3.1　*mRNA芯片测序分析*　mRNA芯片数据来自本研究者前期发表文章，mRNA芯片数据编号为GSE139541。数据的预处理和标准化使用R语言的“affy”包，差异表达基因筛选采用“limma”包。GO和KEGG通路分析通过DAVID数据库进行，使用R语言进行结果可视化。

1.3.2　*蛋白质谱分析*　c-Maf敲低和野生型RAW264.7裂解细胞后提取蛋白质。使用BCA试剂盒测定蛋白浓度，并通过SDS-PAGE凝胶电泳和考马斯亮蓝染色确认蛋白样本质量。蛋白质样本通过液相色谱-质谱联用(LC-MS/MS)分析获得蛋白质组学数据。使用Proteome Discoverer软件(Thermo Scientific)进行蛋白质鉴定和定量分析，通过DAVID数据库进行GO和KEGG富集分析，使用R语言进行结果可视化，以鉴定c-Maf在蛋白质水平上对巨噬细胞调控的作用。

1.3.3　*引物的设计与合成*　鼠c-Maf正向引物序列：AGCAGTTGGTGACCATGTCG，鼠c-Maf反向引物序列：TGGAGATCTCCTGCTTGAGG；鼠GAPDH正向引物序列：CCTTCCGTGTTCCTACCC，鼠GAPDH反向引物序列：GCCTGCTTCACCACCTTC。

1.3.4　*PGE2刺激实验*　实验采用PGE2溶于DMSO的工作溶液，加入培养基中使其终浓度为20 μmol·L^{-1}，用于刺激RAW264.7 WT、c-Maf-OE和c-Maf-KD细胞。分别在1、6、12和24 h后收集细胞，用于后续蛋白质表达分析。对于PI3K抑制实验，在PGE2刺激前使用10 μmol·L^{-1}的PI3K抑制剂预处理细胞1 h，以阻断PI3K/AKT信号通路，随后继续PGE2处理。

1.3.5　*RT-qPCR*　使用RT-qPCR分别检测各组细胞中c-Maf的表达情况。RT-qPCR使用TRIzol法提取总RNA，反转录为cDNA后，使用SYBR Green试剂盒进行实时荧光定量PCR。基因表达水平以GAPDH为对照进行标准化，并使用$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法计算倍数变化。

1.3.6　*Western Blot*　细胞蛋白质通过RIPA缓冲液裂解，BCA蛋白定量试剂盒定量，之后使用SDS-PAGE电泳分离后转印到PVDF膜上，无蛋白快速封闭液封闭，然后分别用抗c-Maf、PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT和GAPDH抗体进行免疫检测，二抗孵育后使用化学发光法(ECL)检测信号。

1.3.7　*细胞形态观察及吞噬实验*　使用苏木素染色法观察不同组细胞的形态变化。将RAW264.7细胞固定于载玻片上，进行苏木素染色后在显微镜下观察细胞形态。吞噬实验采用FITC标记的荧光

乳胶微珠,通过流式细胞仪(FACSCalibur,BD Biosciences)测定吞噬率。首先将各组细胞与FITC-beads孵育2 h,PBS洗涤后用流式细胞术分析吞噬的荧光信号,以评估吞噬能力的变化。

1.3.8 *F-actin免疫荧光染色及荧光显微镜观察* 为检测细胞骨架蛋白F-actin的分布变化,各组细胞固定后使用Alexa Fluor594标记的鬼笔环肽染色。染色后将细胞封片并在荧光显微镜(Olympus)下观察和拍摄。分别比较c-Maf过表达和敲低细胞中F-actin分布的集中或分散情况,以评估c-Maf对骨架蛋白重构的影响。

1.3.9 *统计学方法* 所有实验独立重复3次,实验数据采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,各组间差异性分析采用单因素方差分析(ANOVA)或双因素方差分析(Two-way ANOVA),以$P<0.05$为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 c-Maf敲除对GO及KEGG通路的调控作用 为了探讨c-Maf在巨噬细胞中的具体作用机制,我们对c-Maf敲除的M2巨噬细胞进行了mRNA芯片测序分析。结果显示,c-Maf敲除显著影响了多条与巨噬细胞功能密切相关的GO和KEGG通路。在上调基因的通路分析中(见附图S1A,手机扫描本文OSID二维码可见),这些基因显著富集在细胞膜、细胞骨架重构、吞噬活性、黏附、代谢和炎症相关信号通路中。这些通路的激活表明,在缺乏c-Maf的情况下,巨噬细胞的吞噬功能和细胞骨架可能发生了显著变化,提示c-Maf可能通过负向调控这些通路来抑制巨噬细胞的活性。此外,对于下调基因的通路富集分析(见附图S1B),结果表明这些基因在细胞增殖、免疫调节和代谢相关的GO和KEGG通路中具有较高富集水平,进一步支持了c-Maf在调节巨噬细胞内稳态和多种生物功能中的关键作用。总体来看,c-Maf的敲除不仅会影响巨噬细胞的吞噬功能和骨架重构,还可能导致细胞增殖和代谢途径的改变,表明c-Maf在巨噬细胞的多方面功能调控中具有核心地位。

2.2 蛋白质谱检测c-Maf敲低对GO及KEGG通路的调控作用 为进一步验证c-Maf对巨噬细胞调控通路的影响,我们使用现有的c-Maf敲低的RAW264.7细胞进行了蛋白质谱测序分析,以探讨在蛋白质水平上c-Maf敲低对细胞功能的影响。结果显示,c-Maf敲低后上调的蛋白质在骨架蛋白重构、胞吞作用及细胞运动等GO和KEGG通路中显著富集(图1)。这一发现表明,c-Maf可能通过限制这些功能相关通路的活性来抑制巨噬细胞的吞噬能力和骨架重组,从而控制细胞形态和功能的稳定性。同时,下调蛋白主要集中在代谢通路和信号转导相关的GO和KEGG通路中(图2),提示c-Maf在巨噬细胞代谢和信号传递中发挥了重要的调控作用。综合蛋白质和基因水平的分析结果,c-Maf敲除对巨噬细胞的生物学功能产生了广泛影响,表明其在调控巨噬细胞核心功能中的重要性,尤其是在吞噬功能和代谢信号通路方面。

2.3 c-Maf对巨噬细胞吞噬的影响 基于上述GO和KEGG分析,我们对巨噬细胞的吞噬能力进行了检测。首先,通过RT-qPCR和Western Blot检测,我们观察到在RAW264.7 WT、c-Maf-OE(过表达)、c-Maf-KD(敲低)细胞中c-Maf的表达水平差异有统计学意义(图3A、3B),这表明了不同c-Maf表达状态的细胞模型构建成功。苏木素染色结果显示,c-Maf的过表达和敲低显著改变了RAW264.7细胞的形态(图3C):c-Maf过表达的细胞形态表现出长梭形,而c-Maf敲低后的细胞则形态较为圆润,提示c-Maf在调控细胞骨架结构中可能具有关键作用。此外,流式细胞术结果显示,c-Maf过表达显著降低了RAW264.7细胞对FITC-beads的吞噬能力,而c-Maf敲低则显著增加了吞噬率(图3D),表明c-Maf在负向调控巨噬细胞的吞噬功能中扮演重要角色。

2.4 PGE2对巨噬细胞吞噬及骨架蛋白分布的影响 我们进一步分析了c-Maf调控的上游通路,探究PGE2在巨噬细胞中的作用机制,特别是其对c-Maf表达及相关功能的影响。我们在RAW264.7细胞中加入PGE2进行处理,并检测了c-Maf的表达变化和功能改变。RT-qPCR分析结果显示,PGE2刺激RAW264.7细胞后c-Maf表达显著上升,且呈时间依赖性,在12 h达到峰值(图4A),表明PGE2可能通过上调c-Maf来改变细胞功能。Western Blot分析进一步显示,PGE2刺激后RAW264.7 WT细胞中的PI3K和AKT磷酸化水平显著上调(图4B),提示PGE2可以通过激活PI3K/AKT信号通路促进c-Maf表达。此外,在PI3K抑制剂预处理后,再次加入PGE2刺激,c-Maf的表达轻微增加(图4C,第3泳道 *vs* 第4泳道),表明PGE2对c-Maf的上调部分依赖于PI3K/AKT通路。流式细胞术检测进一步揭示PGE2刺激RAW264.7 WT细胞

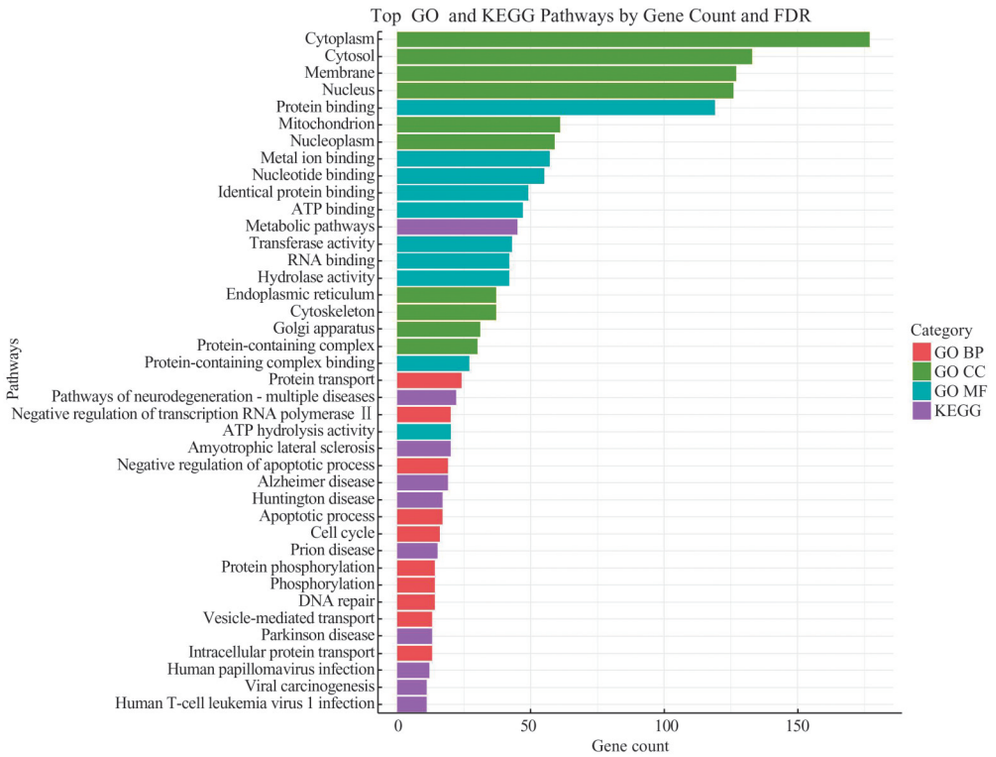


图 1　蛋白质谱检测 c-Maf 敲低后表达上调的蛋白 GO 及 KEGG 分析

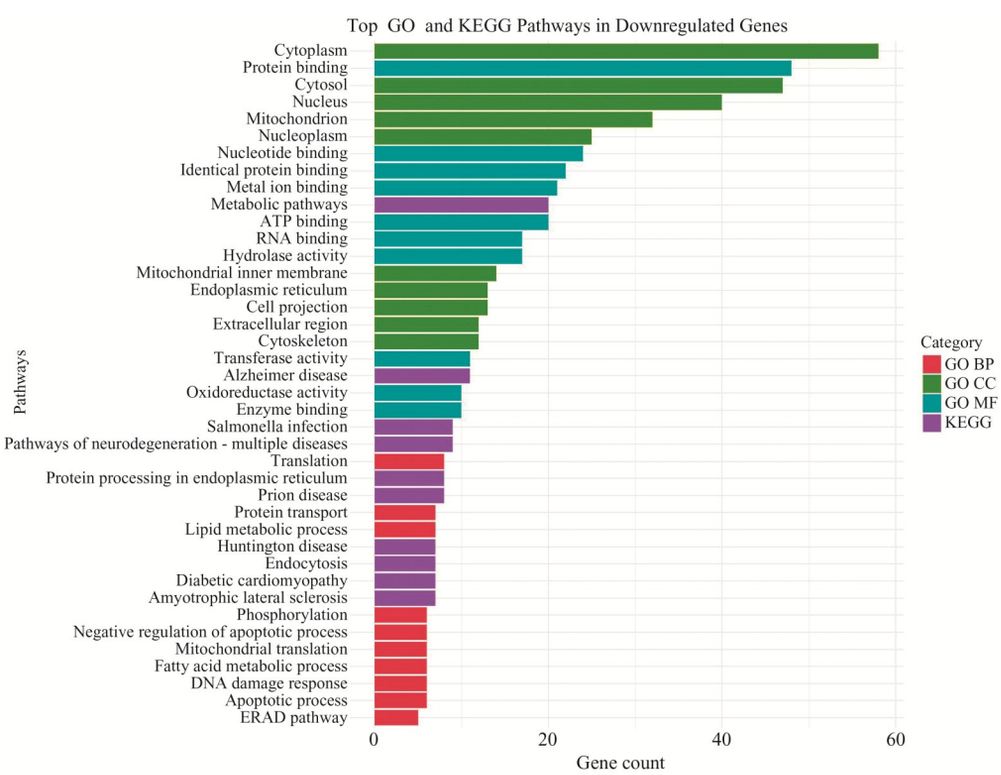


图 2　蛋白质谱检测 c-Maf 敲低后表达下调的蛋白 GO 及 KEGG 分析

后其吞噬 FITC-beads 的能力显著降低，而 PGE2 作用于 c-Maf 敲低细胞组则该效果减弱（图 4D），提示 PGE2 的调控作用可能依赖于 c-Maf。最后，F-actin 免疫荧光染色结果显示 c-Maf 过表达细胞呈长梭形，且骨架蛋白分布在胞内及胞膜，而敲低 c-Maf 的细胞则呈偏圆性，且骨架蛋白表达在胞膜附近（图 5A），这也证实了 c-Maf 在巨噬细胞骨架重构中的关键调控作用。PGE2 刺激后，WT 细胞变梭形，

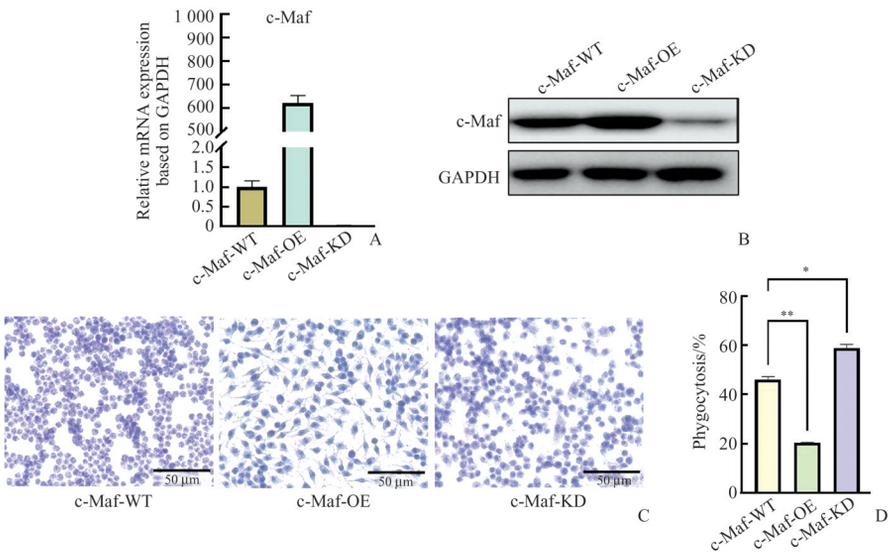


图3 c-Maf调控巨噬细胞的吞噬能力

A. 使用RT-qPCR检测c-Maf在RAW264.7 WT、c-Maf-OE、c-Maf-KD细胞中的表达情况；B. 通过Western Blot确认c-Maf在RAW264.7 WT、c-Maf-OE、c-Maf-KD细胞中的蛋白表达水平；C. 苏木素染色显示3种RAW264.7细胞的形态学差异；D. 流式细胞术分析3种RAW264.7细胞对FITC-beads的吞噬率；$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$

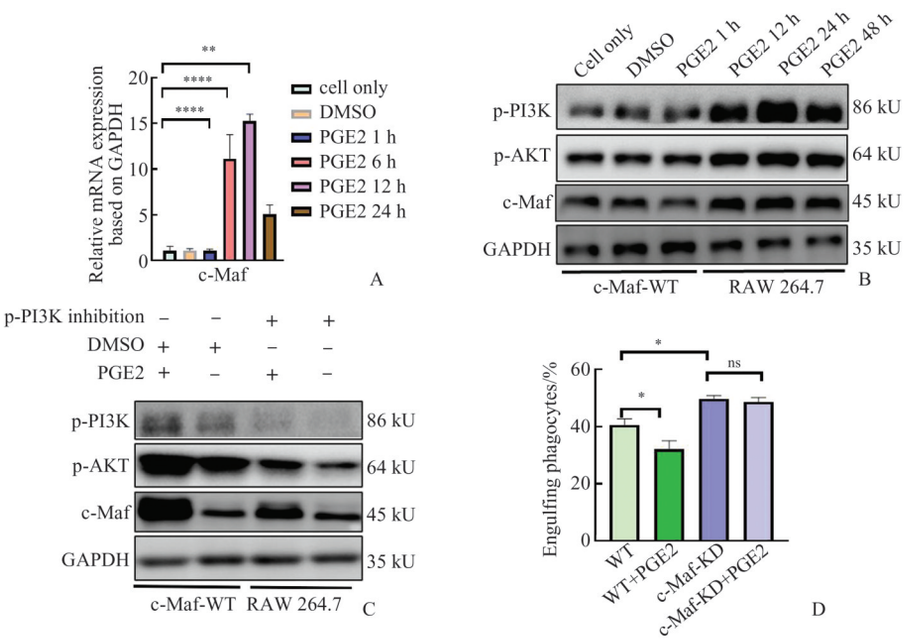


图4 PGE2通过PI3K-c-Maf通路调控巨噬细胞的吞噬能力

A. RT-qPCR检测PGE2刺激RAW264.7 WT、c-Maf-OE、c-Maf-KD细胞中c-Maf的表达水平；B. Western Blot检测PGE2刺激RAW264.7细胞后，下游信号通路蛋白表达水平；C. 使用PI3K抑制剂处理RAW264.7 WT细胞后，检测PI3K及c-Maf在PGE2刺激下的表达变化；D. PGE2刺激24 h后加入FITC-beads，2 h后通过流式细胞术检测RAW264.7细胞的吞噬率变化；$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$，$^{****}P<0.000\,1$，ns：无统计学意义

骨架蛋白在胞内及胞膜分布，而在c-Maf敲低后骨架蛋白没有明显改变，仍保持圆形(图5A)。Image J对骨架蛋白平均荧光强度的检测结果显示，与c-Maf-WT组相比，c-Maf-KD组的F-actin表达减少，c-Maf-OE组的F-actin表达增加(图5B)。PGE2刺激后，c-Maf-WT组的F-actin表达强度增加。c-Maf-KD和c-Maf-OE组经PGE2刺激后未见明显变化(图5B)。进一步说明PGE2调控的细胞骨架重塑依赖于c-Maf分子。这些结果表明，PGE2可以通过PI3K/AKT通路上调c-Maf表达，从而降低巨噬细胞的吞噬功能和促进骨架重构，c-Maf在这一过程中发挥了核心调控作用。

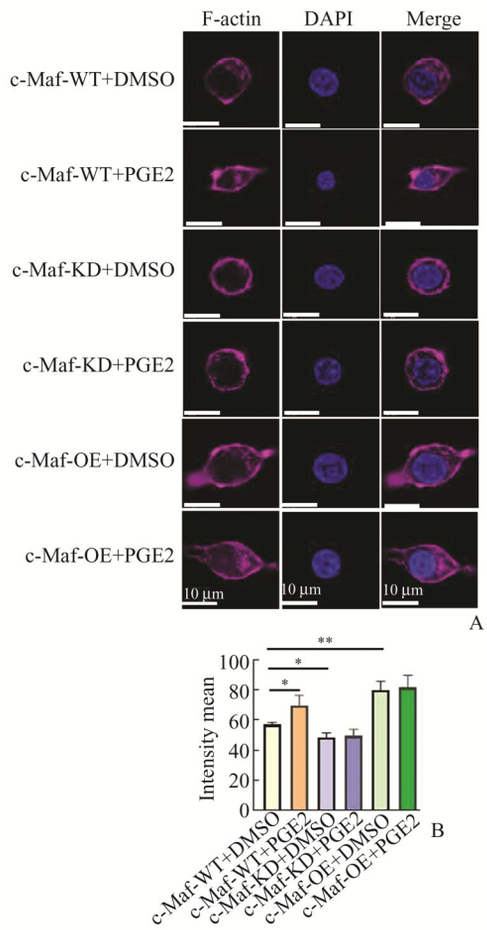


图 5　F-actin 免疫荧光染色及统计结果

A. F-actin 免疫荧光染色显示 PGE2 刺激后 WT、c-Maf-KD 及 c-Maf-OE 细胞的骨架蛋白分布；B. Image J 分析 F-actin 平均荧光强度统计结果；$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$

3　讨论

本研究揭示了 PGE2 通过 PI3K/AKT 信号通路上调巨噬细胞 c-Maf 的表达，从而降低了巨噬细胞的吞噬能力，并且促进 F-actin 骨架重构。PGE2 在肿瘤微环境中的高表达主要来源于肿瘤细胞，通过环氧合酶-2(COX-2)通路合成并分泌[13]。PGE2 在多种肿瘤中表现出促生长和免疫抑制作用，其不仅直接促进肿瘤细胞增殖、迁移和血管生成，还通过调节肿瘤相关巨噬细胞(TAMs)来间接支持肿瘤进展[12]。TAMs 通常表现出 M2 样的免疫抑制特性，以帮助肿瘤微环境形成免疫逃逸状态。PGE2 通过上调 c-Maf 表达驱动 TAMs 向 M2 型极化，从而在肿瘤部位抑制免疫反应，增强肿瘤细胞的生长优势。

我们的研究首次揭示了 PGE2 通过 PI3K/AKT 信号通路上调 c-Maf 表达的具体机制，这一过程在 TAMs 的免疫抑制功能形成中起到了重要作用。PI3K/AKT 通路在细胞生存、迁移和增殖等方面的广泛调控[20]，使其成为 PGE2 促进 c-Maf 表达并实现 TAMs 免疫抑制极化的重要分子途径。PI3K/AKT 信号通路在本研究中表现出显著的调控效应，我们使用 PI3K 抑制剂成功降低了 PGE2 诱导的 c-Maf 表达，进一步验证了该信号在 TAMs 极化和功能调控中的关键作用。PI3K/AKT 通路作为一种经典的细胞信号通路，不仅支持 c-Maf 的上调，还在细胞存活、迁移和骨架重塑中扮演重要角色[21]。TAMs 在肿瘤微环境中受到 PGE2 信号的持续刺激，表现出较低的吞噬活性和更高的定植稳定性，这一特性有助于其在肿瘤组织内局部维持免疫抑制状态。值得注意的是，PGE2-c-Maf-PI3K/AKT 轴不仅有助于增强 TAMs 的免疫抑制功能，还通过稳定其骨架结构来限制其吞噬活性，从而在肿瘤微环境中维持长期的免疫逃逸。

F-actin 在巨噬细胞吞噬过程中发挥关键作用，其动态的聚合与去聚合过程不仅支持吞噬泡的形成，还决定了巨噬细胞的形态和膜的灵活性。巨噬细胞吞噬功能的核心在于其对病原体或损伤细胞的主动包裹，F-actin 通过伪足的伸展和细胞膜的重新组织，实现了吞噬泡的形成[22-23]。本研究显示，c-Maf 的过表达导致 F-actin 更多地集中在细胞内部，使细胞结构稳定但相对缺乏动态性，因而限制了吞噬功能。而 c-Maf 敲低则增强了 F-actin 在细胞膜的分布，使得细胞膜更加柔韧，能够迅速适应形态变化，从而促进吞噬泡的形成和吞噬作用的提升。由此可见，c-Maf 可能通过调控 F-actin 聚合的空间分布，限制或增强巨噬细胞的活动性，以适应不同的微环境需求。

F-actin 的重构不仅在吞噬过程中发挥作用，还对 TAMs 在肿瘤微环境中的定植、迁移以及形态稳定性具有重要意义。F-actin 的动态性影响了巨噬细胞的柔韧性和适应性，使其能够响应微环境中的信号变化[24]。本研究观察到，c-Maf 敲低后 F-actin 在细胞膜区域的分布增加，使细胞骨架更灵活，适应性增强，这有利于提高了巨噬细胞在肿瘤微环境中迁移和重新定位的能力。而 c-Maf 过表达则使 F-actin 更多集中于胞内，限制了细胞膜的动态扩展，增强了细胞的定植能力和形态稳定性。这种动态与稳定之间的平衡，决定了巨噬细胞在不同微环境中的功能表现。在肿瘤微环境中，TAMs 的低迁移性和高定植性有助于其在肿瘤周围形成稳定的免疫抑制屏障[25]。我们的研究表明，PGE2 可能通过上调 c-Maf 以调控 F-actin 的重构，从而提升 TAMs

的定植能力,使其在特定区域有效发挥免疫抑制作用。

未来的研究可进一步探索PGE2-c-Maf-PI3K/AKT信号轴与其他信号通路(如cAMP-PKA、MAPK等)在TAMs中的协同作用,特别是在肿瘤微环境中多信号的交叉调控机制。研究PGE2在体内模型中的实际作用,将有助于全面理解其在调控TAMs功能中的多层次影响,并提供潜在的治疗靶点。此外,针对c-Maf的特异性抑制剂设计和PI3K/AKT通路调控剂的开发,将有望成为未来肿瘤免疫治疗的重要策略之一。通过抑制TAMs的免疫抑制功能,我们或许能够更有效地打破肿瘤微环境的免疫逃逸,增强宿主的抗肿瘤免疫应答,从而改善肿瘤治疗的效果。

总之,本研究揭示了PGE2通过PI3K/AKT信号通路上调c-Maf,从而降低巨噬细胞的吞噬能力并促进骨架重构,同时推动巨噬细胞向免疫抑制型TAMs转化,支持肿瘤微环境的形成。这一发现不仅揭示了PGE2在TAMs功能调控中的核心作用,还为肿瘤免疫治疗提供了新的靶点和策略。

参考文献

[1] GUILLIAMS M, THIERRY G R, BONNARDEL J, et al. Establishment and maintenance of the macrophage niche[J]. Immunity, 2020, 52(3): 434-451.

[2] VEGA-PÉREZ A, VILLARRUBIA L H, GODIO C, et al. Resident macrophage-dependent immune cell scaffolds drive anti-bacterial defense in the peritoneal cavity[J]. Immunity, 2021, 54(11): 2578-2594. e5.

[3] BARREBY E, AOUADI M. To be or not to be a hepatic niche macrophage[J]. Immunity, 2022, 55(2): 198-200.

[4] LI M, YANG Y, XIONG L, et al. Metabolism, metabolites, and macrophages in cancer[J]. J Hematol Oncol, 2023, 16(1): 80.

[5] ZHANG X, JI L, LI M O. Control of tumor-associated macrophage responses by nutrient acquisition and metabolism[J]. Immunity, 2023, 56(1): 14-31.

[6] KLOOSTERMAN D J, AKKARI L. Macrophages at the interface of the co-evolving cancer ecosystem[J]. Cell, 2023, 186(8): 1627-1651.

[7] PUTTOCK E H, TYLER E J, MANNI M, et al. Extracellular matrix educates an immunoregulatory tumor macrophage phenotype found in ovarian cancer metastasis[J]. Nat Commun, 2023, 14: 2514.

[8] KÉPES Z, DÉNES N, KERTÉSZ I, et al. Overview of prostaglandin E2 (PGE2)-targeting radiolabelled imaging probes from preclinical perspective: Lessons learned and road ahead[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(8): 6942.

[9] ZHANG T T, ZHANG C C, LI X, et al. Inflammation assessment and therapeutic monitoring based on highly sensitive and multi-level electrochemical detection of PGE2[J]. Biosens Bioelectron, 2024, 262: 116539.

[10] KISHISHITA S, USUI-OUCHI A, OUCHI Y, et al. Proliferative diabetic retinopathy microenvironment drives microglial polarization and promotes angiogenesis and fibrosis *via* cyclooxygenase-2/prostaglandin E2 signaling[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(20): 11307.

[11] ROY S, ROY S, BANERJEE M, et al. Antileishmanial activity of cathelicidin and its modulation by *Leishmania donovani* in a cAMP response element modulator-dependent manner in infection[J]. J Infect Dis, 2024, 230(1): 172-182.

[12] SANTISO A, HEINEMANN A, KARGL J. Prostaglandin E2 in the tumor microenvironment, a convoluted affair mediated by EP receptors 2 and 4[J]. Pharmacol Rev, 2024, 76(3): 388-413.

[13] PUNYAWATTHANANUKOOL S, MATSUURA R, WONGCHANG T, et al. Prostaglandin E2-EP2/EP4 signaling induces immunosuppression in human cancer by impairing bioenergetics and ribosome biogenesis in immune cells[J]. Nat Commun, 2024, 15: 9464.

[14] VLEESHOUWERS W, VAN DEN DRIES K, DE KEIJZER S, et al. Characterization of the signaling modalities of prostaglandin E2 receptors EP2 and EP4 reveals crosstalk and a role for microtubules[J]. Front Immunol, 2020, 11: 613286.

[15] HILLION S, MIRANDA A, LE DANTEC C, et al. Maf expression in B cells restricts reactive plasmablast and germinal center B cell expansion[J]. Nat Commun, 2024, 15: 7982.

[16] ALVAREZ-MARTINEZ M, COX L S, PEARSON C F, et al. Blimp-1 and c-Maf regulate immune gene networks to protect against distinct pathways of pathobiont-induced colitis[J]. Nat Immunol, 2024, 25: 886-901.

[17] CHANG Y, BACH L, HASIUK M, et al. TGF-β specifies T_{FH} versus T_H17 cell fates in murine $CD4^+$ T cells through c-Maf[J]. Sci Immunol, 2024, 9(93): eadd4818.

[18] BROCKMANN L, TRAN A, HUANG Y M, et al. Intestinal microbiota-specific Th17 cells possess regulatory properties and suppress effector T cells *via* c-MAF and IL-10[J]. Immunity, 2023, 56(12): 2719-2735. e7.

(下转第594页)