



• 论 著 •

活性氧通过调控过氧化物酶体增殖物激活受体- γ 的表达 影响泡沫巨噬细胞的形成^{*}

刘 军^①, 叶玉涛, 苏日古, 黄自坤, 李俊明^{① Δ}

南昌大学第一附属医院 检验中心(南昌 330200)

【摘要】 目的 探讨活性氧(reactive oxygen species, ROS)通过调控过氧化物酶体增殖物激活受体- γ (peroxisome proliferator-activated receptor- γ , PPAR γ)的表达对泡沫巨噬细胞形成的影响。**方法** 2018年6月-2021年12月,本研究从30名健康捐赠者处获取了人体血液样本并提取外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)。将PBMCs培育成人巨噬细胞(HMDMs)后采用结核分枝杆菌H37Ra菌株感染,构建人巨噬细胞体外感染模型。采用N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine, NAC)或大黄素调节ROS生成,采用PPAR γ 激动剂[罗格列酮(BRL49653)]或PPAR γ 拮抗剂[2-氯-5-硝基苯甲酰胺(GW9662)]调节PPAR γ 活性。用2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯(DCFH2-DA)和油红O染色检测H37Ra感染对巨噬细胞内ROS的产生和脂质形成的影响,以及ROS的生成对泡沫巨噬细胞形成的影响。通过qRT-PCR和Western blot检测ROS的生成对巨噬细胞内PPAR γ 表达的影响,通过调控PPAR γ 活性探讨ROS调控泡沫巨噬细胞的形成是否受PPAR γ 活性的影响。**结果** 油红O染色和DCFH2-DA检测结果表明,与对照组相比, H37Ra感染能促进HMDMs ROS的产生和诱导泡沫细胞的形成,差异有统计学意义($P < 0.01$)。采用NAC或大黄素处理HMDMs 1 h, 随后感染H37Ra, 结果表明, NAC处理降低了细胞内ROS水平且脂质含量减少, 大黄素则增加了细胞内ROS水平且脂质含量增加, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。Western blot检测结果表明H37Ra感染抑制了PPAR γ 的产生, NAC促进PPAR γ 的表达, 大黄素抑制了PPAR γ 的表达, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。采用BRL49653或GW9662预处理HMDMs 1 h, 随后感染H37Ra, 结果表明, GW9662能促进细胞脂质堆积, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。**结论** ROS可通过下调PPAR γ 的表达来促进泡沫巨噬细胞的形成。

【关键词】 泡沫巨噬细胞 H37Ra 活性氧 过氧化物酶体增殖物激活受体- γ

Active Oxygen Influences Foam Macrophage Formation by Regulating Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ Expression

LIU Jun^①, YE Yutao, SU Rigu, HUANG Zikun, LI Junming^{① Δ} . Department of Laboratory Medicine, First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330200, China

Δ Corresponding author, E-mail: lisir361@163.com

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81760002, No. 82160308) and the Natural Science Foundation of Jiangxi Province (No. 20212BAB216028).

[Abstract] Objective To investigate the effect of reactive oxygen species (ROS) on foam macrophage formation by regulating the expression of peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR γ). **Methods** From June 2018 to December 2021, human blood samples were obtained from 30 healthy donors, and peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were isolated. The PBMCs were differentiated into human monocyte-derived macrophages (HMDMs) and subsequently infected with Mycobacterium tuberculosis H37Ra strain to establish an in vitro human macrophage infection model. ROS production was modulated using N-acetylcysteine (NAC) and emodin, while PPAR γ activity was regulated using the PPAR γ agonist (BRL49653) or antagonist (GW9662). The effects of H37Ra infection on intracellular ROS production and lipid formation in macrophages, as well as the impact of ROS generation on foam macrophage formation, were assessed using 2', 7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFH2-DA) and Oil Red O staining. The influence of ROS production on PPAR γ expression in macrophages was examined by qRT-PCR and Western blot. Furthermore, the involvement of PPAR γ activity in ROS-mediated regulation of foam macrophage formation was

^{*} 国家自然科学基金(No. 81760002, No. 82160308)和江西省自然科学基金(No. 20212BAB216028)资助

Δ 通信作者, E-mail: lisir361@163.com

出版日期: 2026-05-20

investigated by modulating PPAR γ activity. **Results** The results of Oil Red O staining and DCFH2-DA detection showed that, compared with the control group, H37Ra infection promoted ROS production in HMDMs and induced foam cell formation, with statistically significant differences ($P < 0.01$). After treating HMDMs with NAC or emodin for 1 hour and then infecting with H37Ra, NAC treatment reduced intracellular ROS levels and lipid content, while emodin increased intracellular ROS levels and lipid content, both with statistically significant differences ($P < 0.01$). Western blot analysis indicated that H37Ra infection inhibited PPAR γ production, NAC promoted PPAR γ expression, and emodin inhibited PPAR γ expression, with statistically significant differences ($P < 0.05$). Pre-treating HMDMs with BRL49653 or GW9662 for 1 hour before H37Ra infection showed that GW9662 promoted lipid accumulation in the cells, with statistically significant differences ($P < 0.01$). **Conclusion** ROS can promote the formation of foam macrophages by downregulating the expression of PPAR γ .

[Key words] Foam macrophages H37Ra Reactive oxygen species Peroxisome proliferator-activated receptor- γ

结核病(tuberculosis, TB)是由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)感染引起的一种慢性传染性疾病。据《2024年全球结核病报告》报道,全球约有四分之一的人口感染过MTB。2023年,新确诊并报告的结核病病例数为820万例,创历史新高^[1-2]。MTB经呼吸道感染后到达肺部,被肺泡巨噬细胞吞噬。感染MTB后,巨噬细胞会发生一系列的变化,包括其对细胞外脂质摄取、细胞内脂质代谢和细胞内脂质外流。这些变化的主要结果之一是导致大量脂质在巨噬细胞内积聚,从而形成泡沫巨噬细胞(foamy macrophages, FM s)^[3-5]。多项研究表明,FM s 吞噬和杀灭细菌的能力显著降低;进一步的研究表明,FM s 中的脂质是细胞内MTB的重要能量来源,有助于MTB在巨噬细胞中的长期存活;此外,一些临床研究还表明,FM s 在MTB潜伏感染的激活中起着重要作用,FM s 的形成对于MTB在人体内的长期存活以及结核病的激活具有重要意义^[6-9]。然而,MTB感染条件下FM s 形成的机制仍不完全清楚。

近年来,研究发现活性氧(reactive oxygen species, ROS)参与动脉粥样硬化中FM s 的形成。调节ROS水平可以调节FM s 的形成^[10-11]。据此,本课题组猜想MTB感染是否也通过促进ROS的产生来诱导FM s 的形成。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor gamma, PPAR γ)是FM s 形成中发挥重要作用的脂质感应核受体之一。据报道,PPAR γ 可通过ATP结合盒转运蛋白G1(ATP-binding cassette transporter G1, ABCG1)依赖的胆固醇外流途径改善结核分枝杆菌H37Ra诱导的FM s 的形成^[12-15]。本研究获取了人外周血单核细胞来源的巨噬细胞(human macrophages derived from peripheral blood mononuclear cells, HMDMs),探讨H37Ra感染对巨噬细胞内ROS的产生和脂质堆积的影响,ROS的生成对FM s 形成和巨噬细胞内PPAR γ 表达的影响,

以及ROS调控FM s 的形成是否受PPAR γ 活性的影响,初步验证ROS是否通过调控PPAR γ 的表达影响FM s 形成。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 细胞和菌株

2018年6月-2021年12月期间,本研究从30名健康捐赠者处获取了人体血液样本,每人提供外周血10 mL用于培养HMDMs。本研究遵循知情同意原则,并获得南昌大学第一附属医院医学研究伦理委员会的批准[伦理编号:(2023)CDYFYLLK(08-012)],批件有效期一年。H37Ra菌株为本实验室之前所构建并保存。

1.2 主要试剂

Ficoll-Hypaque、10%人AB血清、N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine, NAC)、油红O、2-氯-5-硝基苯甲酰胺(GW9662, PPAR γ 拮抗剂)、2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯(DCFH2-DA)、大黄素购于美国Sigma公司, RPMI-1640培养基购于美国Gibco公司,罗格列酮(BRL49653, PPAR γ 激动剂)购于美国Cayman公司, CD14、CD68、CD11b和CD16抗体购于美国Beckman-Coulter公司, OADC生长补充剂、Middlebrook 7H9肉汤购于美国BD-Bioscience公司, RIPA裂解缓冲液、BCA蛋白检测试剂盒购于中国索莱宝公司, PPAR γ 抗体、 β -actin抗体购于美国CST公司, 辣根过氧化物酶抗兔IgG抗体购于中国爱必信公司。

1.3 研究方法

1.3.1 菌株和细胞培养

本实验操作均在符合生物安全二级(laboratory biosafety level 2, BSL-2)的环境中进行,实验中使用的生物安全柜为海尔HR900-II B2。结核分枝杆菌H37Ra菌株在含10% OADC生长补充剂、0.05% Tween 80和0.2%甘

油的Middlebrook 7H9肉汤中于37℃培养至对数生长早期/中期。为获得单菌悬液,将富集的H37Ra悬液用吸管混合,并用细菌超声分散计数器处理10 min。细菌分散计数器可自动计算悬液中的细菌数量。

采用Ficoll-Hypaque密度梯度离心法从健康捐赠者中分离出外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)。将PBMCs培养于含有10%人AB血清的RPMI-1640培养基中,置于体积分数为21%O₂和5%CO₂的环境中培养。PBMCs培养至第5天,洗涤以去除非贴壁细胞。剩余的贴壁细胞,即HMDMs,胰蛋白酶消化并收集用于鉴定。采用流式细胞术检测CD14、CD68、CD11b和CD16。

1.3.2 巨噬细胞体外感染及实验分组

HMDMs在含有10%人AB血清的RPMI-1640培养基中于37℃、体积分数为5%CO₂环境下培养。为探讨MTB是否诱导ROS生成及FMs形成,实验分为对照组与H37Ra感染组,H37Ra感染复数(MOI)为1(H37Ra:HMDMs=1:1),感染4 h(脂滴染色检测时点为感染72 h);为探讨调节ROS生成是否影响FMs形成及巨噬细胞中PPAR γ 的表达,本研究使用NAC(5 mmol/L)或大黄素(10 μ mol/L)预处理HMDMs 1 h,随后感染H37Ra(MOI=1)4 h(脂滴染色检测时点为感染72 h,PPAR γ 表达检测时点为24 h),最终实验分为对照组、H37Ra感染组、NAC和H37Ra共处理组以及大黄素和H37Ra共处理组;为进一步探讨ROS是否通过PPAR γ 调控FMs形成,本研究使用NAC(5 mmol/L)、大黄素(10 μ mol/L)、BRL49653(5 μ mol/L)和GW9662(1 μ mol/L)预处理1 h,随后感染H37Ra(MOI=1)4 h(脂滴染色检测时点为感染72 h),实验共设以下8组:对照组、H37Ra感染组、BRL49653和H37Ra共处理组、GW9662和H37Ra共处理组、NAC和H37Ra共处理组、大黄素和H37Ra共处理组、NAC联合GW9662与H37Ra共处理组,以及大黄素联合BRL49653与H37Ra共处理组。

1.3.3 ROS检测

培养好的HMDMs用PBS洗涤3次,在37℃下与10 μ mol/L DCFH₂-DA孵育30 min,然后在冰上放置5 min以终止反应,再用PBS洗涤1次。立即用荧光显微镜(OLYMPUS,日本)分析细胞内ROS水平,使用ImageJ软件测定荧光强度。

1.3.4 脂滴染色

培养好的HMDMs用PBS洗涤3次后,用体积分数为4%多聚甲醛固定30 min。将固定后的细胞用0.5%油红O在室温下染色15 min,然后用60%异丙醇脱色170 s。之

后,用PBS洗涤细胞3次,苏木精染色10 s,流水冲洗2 min,然后在显微镜下(OLYMPUS,日本)观察脂质积累情况,使用ImageJ软件测定脂质含量。

1.3.5 实时荧光定量PCR检测PPAR γ mRNA表达

培养好的HMDMs分别在培养板中加入500 μ L Trizol裂解细胞,转移至DEPC水处理过的EP管中。加入100 μ L氯仿,盖好管盖,剧烈振荡15 s。4℃、12 000 r/min离心15 min,取水相转移到新的离心管。在计算水相溶液体积后,加入相应量的异丙醇,颠倒轻柔混匀,-20℃环境放置25 min。4℃、13 000 r/min离心15 min,吸掉上清。加入500 μ L 750 mL/L乙醇(DEPC水配置)洗涤沉淀。4℃、8 000 r/min离心5 min;用枪头吸出上清,室温放置晾干5 min。加入20 μ L DEPC,反复吹打混匀充分溶解RNA。将提取的RNA参照TaKaRa公司逆转录试剂盒的说明书进行cDNA合成,反转录反应条件为37℃ 15 min,85℃ 5 s。引物序列如下:GAPDH正向引物为5'-GGGAGCCAAAAGGGTCATCA-3',反向引物为5'-TGATGGCATGGACTGTGGTC-3';PPAR γ 正向引物为5'-ACTTTGGGATCAGCTCCGTG-3',反向引物为5'-GGAGATGCAGGCTCCACTTT-3'。PCR的反应条件为94℃预变性30 s,94℃变性5 s,60℃退火30 s,72℃延伸20 s,共扩增40个循环。目标基因mRNA的相对表达量用2^{- $\Delta\Delta$ CT}法计算。

1.3.6 Western blot检测PPAR γ 蛋白的表达

培养好的HMDMs使用RIPA裂解缓冲液处理。使用BCA蛋白检测试剂盒测定蛋白浓度,将等量的蛋白质进行SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)。随后,用5%脱脂牛奶封闭膜2 h,用抗PPAR γ 抗体(1:1 000稀释)、抗 β -actin抗体(1:1 000稀释)在4℃下孵育过夜,接着TBS-Tween缓冲液洗涤膜,然后与辣根过氧化物酶抗兔IgG抗体(1:2 000稀释)孵育1 h。使用增强化学发光(ECL)进行发光显影,BioRad FX-Imaging系统成像,ImageJ软件分析蛋白质丰度。

1.4 统计学方法

采用GraphPad Prism 9软件进行分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MTB诱导ROS的生成和FMs的形成

PBMCs在RPMI-1640培养基中培养5 d,并经过3次洗涤以去除未贴壁细胞。贴壁细胞用胰蛋白酶消化并收集,用于流式细胞术检测。结果显示(图1A),贴壁的单核细

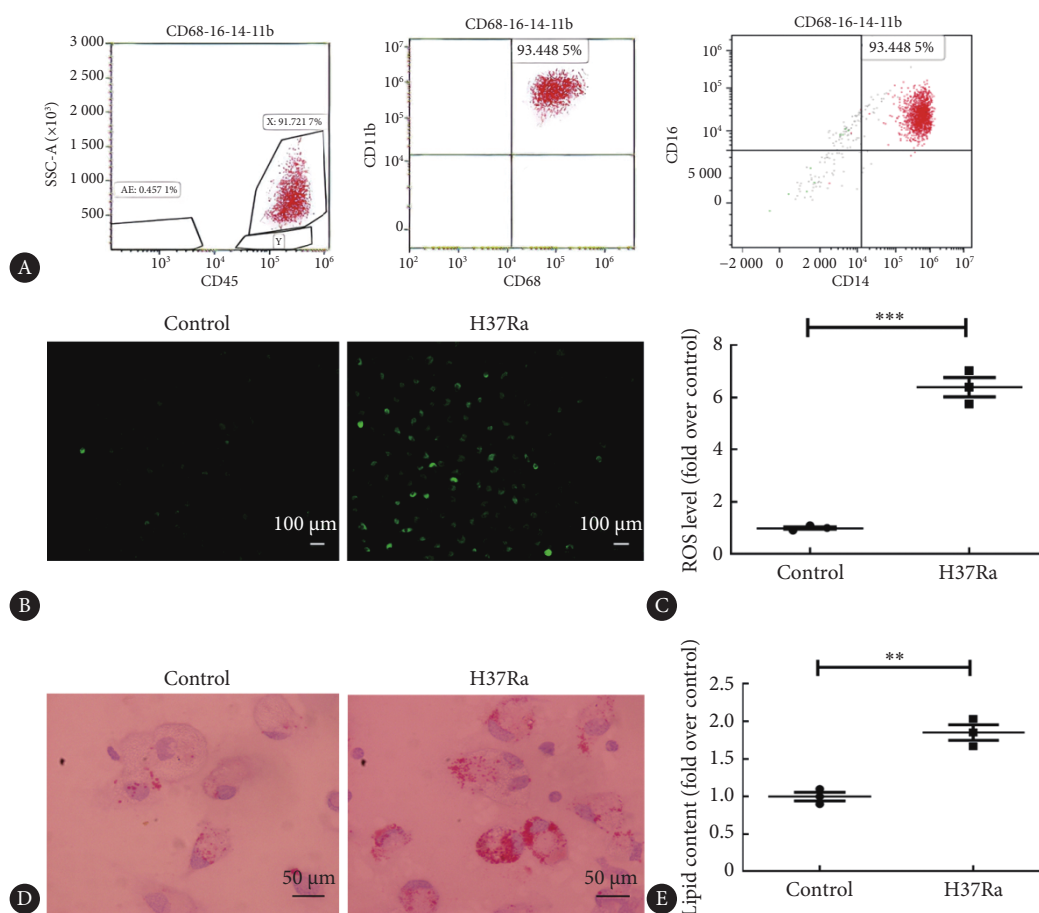


图1 H37Ra感染对巨噬细胞内ROS和脂质堆积的影响

Fig 1 The effect of H37Ra infection on reactive oxygen species (ROS) and lipid accumulation in macrophages

A, Flow cytometry was used to identify human macrophage phenotypes. B and C, ROS levels in human macrophages were measured using the DCFH2-DA assay ($n = 3$). D and E, Lipid droplets in human macrophages were detected using Oil Red O staining ($n = 3$). ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

胞在第5天可分化为CD16⁺CD11b⁺CD14⁺CD68⁺ HMDMs。

HMDMs在RPMI-1640培养基中培养并用H37Ra感染。感染4 h后,使用DCFH2-DA检测细胞内ROS水平。结果显示,与对照组比较,H37Ra感染的HMDMs荧光强度增加,差异有统计学意义($P < 0.001$) (图1B、1C)。感染72 h后,用油红O检测HMDMs的脂质堆积情况。结果显示,与对照组比较,H37Ra感染的HMDMs中脂质含量增加,差异有统计学意义($P < 0.01$) (图1D、1E)。表明H37Ra感染能够促进ROS的产生和诱导FM的形成。

2.2 调节ROS的生成影响FM的形成

为了研究ROS是否影响FM的形成,本研究使用NAC或大黄素预处理HMDMs 1 h,随后感染H37Ra 4 h后,使用DCFH2-DA检测细胞内ROS水平。结果显示,与H37Ra感染组相比,NAC和H37Ra共同处理组HMDMs细胞内ROS水平降低,大黄素和H37Ra共同处理组HMDMs细胞内ROS水平增高,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$) (图2A、2B)。在感染72 h后,用油红O染色检测细胞内的

脂质堆积情况。结果显示,与H37Ra感染组相比,NAC和H37Ra共同处理组HMDMs细胞内脂质含量减低,大黄素和H37Ra共同处理组HMDMs细胞内脂质含量增加,差异均有统计学意义($P < 0.01$) (图2C、2D)。结果表明调节ROS的生成能影响FM的形成。

2.3 调节ROS的生成影响巨噬细胞中PPAR γ 的表达

HMDMs经NAC或大黄素预处理1 h,随后感染H37Ra 24 h。通过实时荧光定量PCR和Western blot分析细胞内PPAR γ 的水平。实时荧光定量PCR结果显示,与对照组相比,H37Ra感染组PPAR γ mRNA表达下降,差异有统计学意义($P < 0.001$)。与H37Ra感染组相比,NAC和H37Ra共同处理组以及大黄素和H37Ra共同处理组PPAR γ mRNA表达量均无明显差异($P > 0.05$) (图3A)。Western blot结果显示,与对照组相比,H37Ra感染组PPAR γ 蛋白表达下降,差异有统计学意义($P < 0.001$)。与H37Ra感染组相比,NAC和H37Ra共同处理组PPAR γ 蛋白表达增加,大黄素和H37Ra共同处理组PPAR γ 蛋白表达

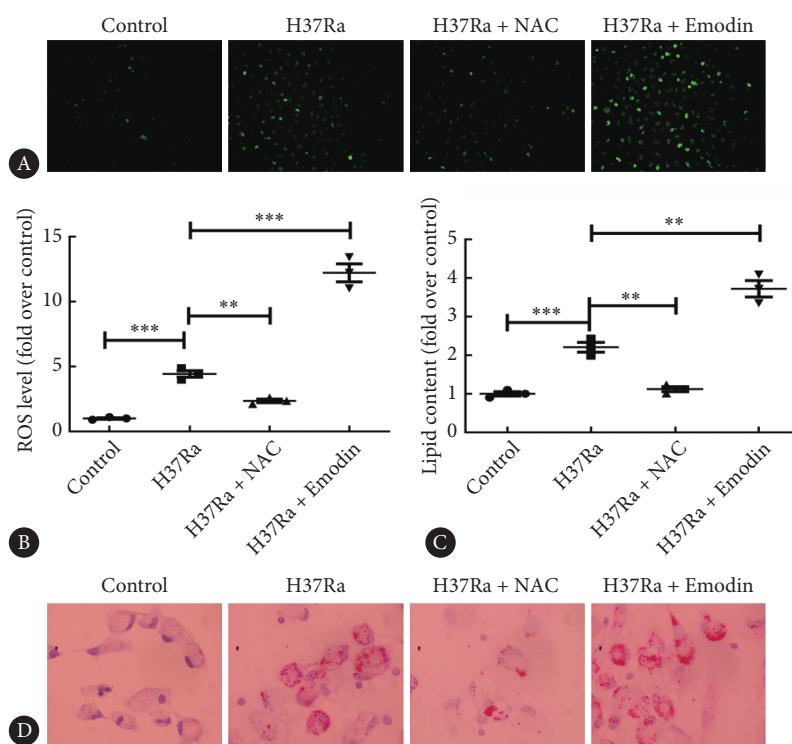
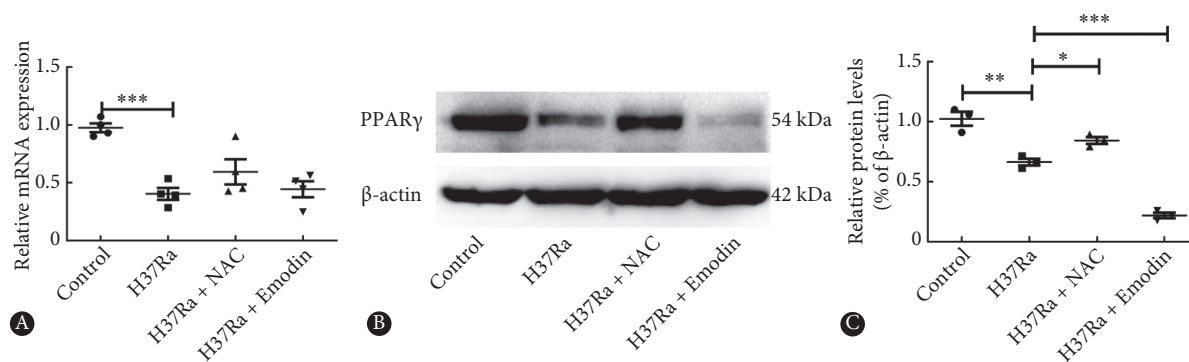


图 2 ROS的生成对FMs形成的影响

Fig 2 The effect of reactive oxygen species (ROS) generation on foamy macrophages (FMs) formation

NAC: N-acetylcysteine. A and B, ROS levels in macrophages after pretreatment with NAC or emodin were measured using the DCFH2-DA assay ($n = 3$) (original magnification $\times 200$). C and D, Lipid accumulation in macrophages after pretreatment with NAC or emodin was detected using Oil Red O staining ($n = 3$) (original magnification $\times 1000$). ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

图 3 ROS的生成对巨噬细胞内PPAR γ 表达的影响Fig 3 The effect of reactive oxygen species (ROS) generation on PPAR γ expression in macrophages

NAC: N-acetylcysteine; PPAR γ : peroxisome proliferator activated receptor gamma. A, PPAR γ mRNA expression levels in macrophages after pretreatment with NAC or emodin ($n = 3$). B and C, PPAR γ protein expression levels in macrophages after pretreatment with NAC or emodin ($n = 3$). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

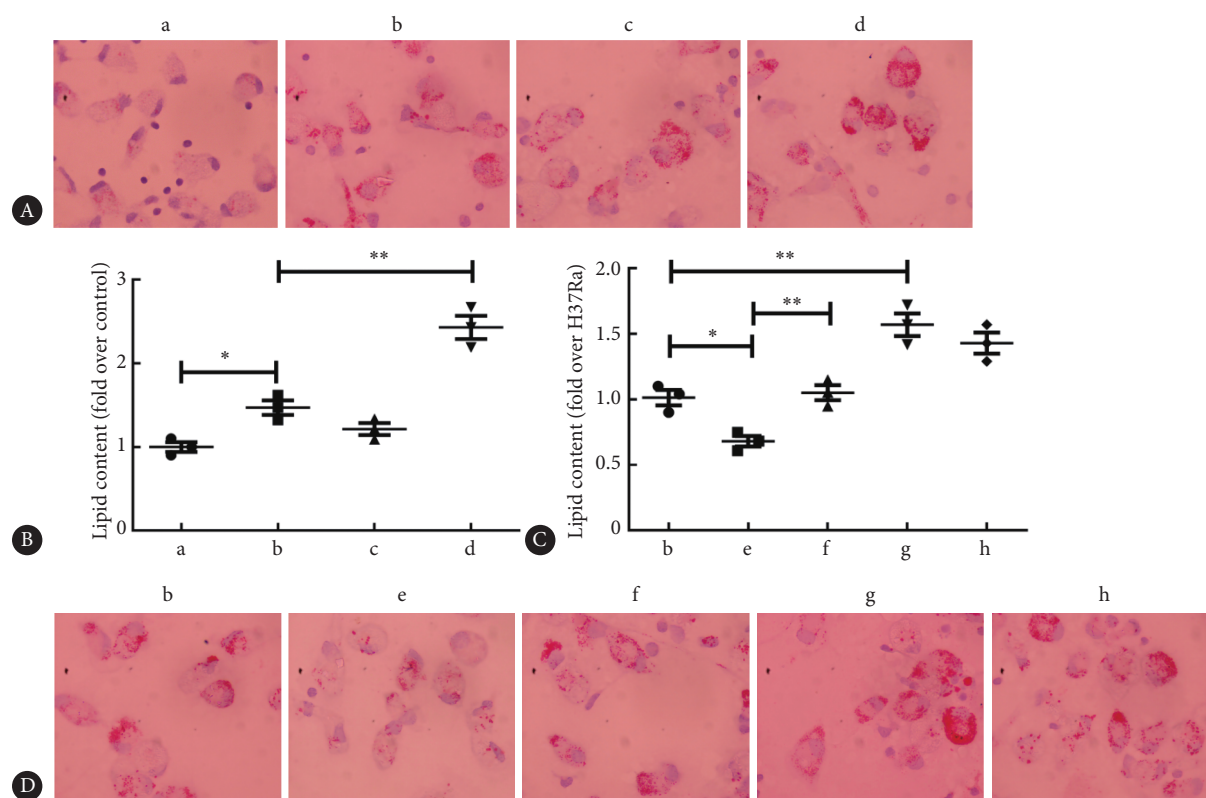
下降, 差异均有统计学意义($P < 0.05$) (图3B、3C)。结果表明ROS的产生可以下调HMDMs中PPAR γ 的表达。

2.4 ROS可通过PPAR γ 调控FMs的形成

为了研究调控PPAR γ 是否能影响FMs的形成, 本研究使用BRL49653或GW9662预处理1 h, 随后感染H37Ra 72 h, 用油红O染色检测细胞内的脂质堆积情况。结果显示, 与H37Ra感染组相比, BRL49653和H37Ra共同处理组HMDMs细胞内脂质含量降低, 但差异无统计学意义

($P > 0.05$), GW9662和H37Ra共同处理组HMDMs细胞内脂质含量增加, 差异有统计学意义($P < 0.01$) (图4A、4B)。结果表明调控PPAR γ 的活性能调控FMs的形成。

为了研究通过调控PPAR γ 活性是否可以减弱ROS对FMs形成的影响, 本研究使用NAC、大黄素、BRL49653或GW9662预处理1 h, 随后感染H37Ra 72 h, 用油红O染色检测细胞内的脂质堆积情况。结果显示, 与大黄素和H37Ra共处理组相比, 大黄素联合BRL49653与H37Ra共

图4 PPAR γ 活性的调控对FM形成的影响Fig 4 The influence of PPAR γ activity regulation on foamy macrophages (FM) formation

NAC: N-acetylcysteine; a, Control; b, H37Ra; c, H37Ra + BRL49653; d, H37Ra + GW9662; e, H37Ra + NAC; f, H37Ra + NAC + GW9662; g, H37Ra + Emodin; h, H37Ra + Emodin + BRL49653. A and B, The effect of PPAR γ activity on FM formation was assessed by Oil Red O staining ($n = 3$) (original magnification $\times 1000$). C and D, Whether the regulation of FM formation by ROS is influenced by PPAR γ activity was assessed using Oil Red O staining ($n = 3$) (original magnification $\times 1000$). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

处理组HMDMs中的脂质含量出现一定程度的下降,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。同时,与NAC和H37Ra共处理组相比,NAC联合GW9662与H37Ra共处理组HMDMs中的脂质含量增加($P < 0.01$)(图4C、4D)。结果表明,通过调节PPAR γ 活性可以减弱ROS对FM形成的影响,ROS可能通过下调PPAR γ 的表达来促进FM的形成。

3 讨论

结核病是由MTB感染引起的一种严重危害人类健康的慢性传染病。MTB感染后主要寄生于巨噬细胞内,因此巨噬细胞的功能决定了MTB在体内的发展和预后。有相关研究表明,巨噬细胞吞噬MTB后,MTB能引起巨噬细胞功能的一些变化^[16-17]。这些变化有助于MTB在巨噬细胞内的存活,其中之一就是诱导FM的形成。一些研究表明,FM清除和杀伤MTB的能力都弱于正常巨噬细胞,且MTB能够利用泡沫细胞积累的脂质,有利于MTB在人体内长期存活^[5, 18-19]。

近年来,有关MTB感染与FM形成的研究越来越多。研究发现,无论是结核病患者的肉芽肿还是巨噬细胞体

外感染MTB时,都能引起巨噬细胞内脂质的积累^[20-21],但尚未有相关研究探讨MTB感染引起FM形成的调控机制。有相关研究也表明,ROS的产生可以促进FM的形成。那H37Ra感染是否也能诱导巨噬细胞内ROS的产生和促进FM的形成?本研究结果证实了该结论。

一些研究表明,NAC和大黄素可调节细胞内ROS的产生^[22-23]。本研究结果显示,经NAC处理的细胞能抑制ROS的产生,而经大黄素处理的细胞能促进ROS的产生。而ROS的产生与FM的形成密切相关。进一步研究显示,NAC处理的HMDMs脂质含量减少,而大黄素处理的HMDMs脂质含量增加。相关研究表明,PPAR γ 能通过调控巨噬细胞中ABCA1和ABCG1的表达促进细胞胆固醇流出^[15, 24],而ROS的产生可以影响PPAR γ 的表达^[25]。因此,本研究探讨了ROS与PPAR γ 表达之间是否存在一定的联系。结果显示,H37Ra感染抑制了PPAR γ 的产生。当用NAC预处理HMDMs时,PPAR γ 的表达增加;当用大黄素预处理HMDMs时,PPAR γ 的表达减少。这些结果表明,ROS的产生可以下调HMDMs中PPAR γ 的表达。

相关研究表明,PPAR γ 拮抗剂GW9662可以阻止

PPAR γ 的激活,而PPAR γ 激动剂BRL49653可以激活PPAR γ ^[26]。本研究接着探讨了PPAR γ 活性是否能调控FM_s的形成。结果显示,当BRL49653预处理HMDMs时,巨噬细胞内脂质含量减少;而当GW9662预处理HMDMs时,巨噬细胞内脂质含量增加。这些结果表明,PPAR γ 活性可以调控FM_s的形成。最后,本研究探讨了ROS是否能通过调控PPAR γ 的表达来促进FM_s的形成。结果显示,与单独使用大黄素处理相比,同时使用BRL49653和大黄素处理的HMDMs中脂质含量减少;与单独使用NAC处理相比,同时使用GW9662和NAC共同处理的HMDMs中脂质含量增加。结果表明,通过调节PPAR γ 活性可以减弱ROS对FM_s形成的影响。

综上,ROS可能通过下调PPAR γ 的表达来促进FM_s的形成。但由于本研究是针对HMDMs的体外研究,对临床上结核病治疗的有效性和可行性有待进一步临床试验验证。需要指出的是,本研究在进行多重统计比较时未对P值进行校正(如Bonferroni法),这可能在一定程度上增加I类错误(假阳性)的风险。尽管本研究采用了针对性的组间比较策略以减少多重检验问题,但相关结果的解读仍需谨慎。未来研究将通过更严格的校正方法或独立样本验证以进一步确认这些发现。

* * *

作者贡献声明 刘军负责正式分析、研究方法和初稿写作,叶玉涛负责验证和初稿写作,苏日古负责正式分析,黄自坤负责提供资源和审读与编辑写作,李俊明负责论文构思、经费获取和审读与编辑写作。所有作者已经同意将文章提交给本刊,且对将要发表的版本进行最终定稿,并同意对工作的所有方面负责。

Author Contribution LIU Jun is responsible for formal analysis, methodology, and writing--original draft. YE Yutao is responsible for validation and writing--original draft. SU Rigu is responsible for formal analysis. HUANG Zikun is responsible for resources and writing--review and editing. LI Junming is responsible for conceptualization, funding acquisition, and writing--review and editing. All authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published and agreed to take responsibility for all aspects of the work.

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Declaration of Conflicting Interests All authors declare no competing interests.

参 考 文 献

- [1] GOLETTI D, MEINTJES G, ANDRADE B B, *et al.* Insights from the 2024 WHO Global Tuberculosis Report—more comprehensive action, innovation, and investments required for achieving WHO End TB goals. *Int J Infect Dis*, 2025, 150: 107325. doi: 10.1016/j.ijid.2024.107325.
- [2] LV H, WANG L, ZHANG X, *et al.* Further analysis of tuberculosis in eight high-burden countries based on the Global Burden of Disease Study 2021 data. *Infect Dis Poverty*, 2024, 13(1): 70. doi: 10.1186/s40249-024-01247-8.
- [3] VU A, GLASSMAN I, CAMPBELL G, *et al.* Host cell death and modulation of immune response against *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(11): 6255. doi: 10.3390/ijms25116255.
- [4] 王欣妍, 罗涛, 陈宗海, 等. 结核分枝杆菌higBA基因对细菌应激反应及胞内感染免疫机制的研究. *四川大学学报(医学版)*, 2022, 53(5): 828-833. doi: 10.12182/20220960209.
- [5] WANG X Y, LUO T, CHEN Z H, *et al.* Study on the mechanism of *Mycobacterium tuberculosis* higBA genes in bacterial stress response and intracellular infection immunity. *J Sichuan Univ (Med Sci)*, 2022, 53(5): 828-833. doi: 10.12182/20220960209.
- [6] CHEN Z, KONG X, MA Q, *et al.* The impact of *Mycobacterium tuberculosis* on the macrophage cholesterol metabolism pathway. *Front Immunol*, 2024, 15: 1402024. doi: 10.3389/fimmu.2024.1402024.
- [7] POOJA A, THEO W C, FARIBA S M, *et al.* Foam Cells Control *Mycobacterium tuberculosis* Infection. *Front Microbiol*, 2020, 11: 1394. doi: 10.3389/fmicb.2020.01394.
- [8] MELANIE G, JOSE L, MARIN F, *et al.* Fatty acid oxidation of alternatively activated macrophages prevents foam cell formation, but *Mycobacterium tuberculosis* counteracts this process via HIF-1 α activation. *PLoS Pathog*, 2020, 16(10): e1008929. doi: 10.1371/journal.ppat.1008929.
- [9] PIERRE S, FÉRIEL B, NABIL S, *et al.* Experimental models of foamy macrophages and approaches for dissecting the mechanisms of lipid accumulation and consumption during dormancy and reactivation of tuberculosis. *Front Cell Infect Microbiol*, 2016, 6: 122. doi: 10.3389/fcimb.2016.00122.
- [10] MELISSA B, SANNE N, ELLIOTT M B, *et al.* A terpene nucleoside from *M. tuberculosis* induces lysosomal lipid storage in foamy macrophages. *J Clin Invest*, 2023, 133(6): e161944. doi: 10.1172/JCI161944.
- [11] MUNNO M, MALLIA A, GRECO A, *et al.* Radical oxygen species, oxidized low-density lipoproteins, and lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor 1: a vicious circle in atherosclerotic process. *Antioxidants (Basel)*, 2024, 13(5): 583. doi: 10.3390/antiox13050583.
- [12] MALEKMOHAMMAD K, SEWELL R D E, RAFIEIAN-KOPEI M. Antioxidants and atherosclerosis: mechanistic aspects. *Biomolecules*, 2019, 9(8): 301. doi: 10.3390/biom9080301.
- [13] 陈光璋, 范芳芳, 邓思茜, 等. Mtb-EVs的提取及其对鼠源树突状细胞ROS和炎症因子表达的影响. *四川大学学报(医学版)*, 2023, 54(1): 122-127. doi: 10.12182/20230160201.
- [14] CHEN G Z, FAN F F, DENG S Q, *et al.* Extraction of Mtb-EVs and their effects on the expression of ROS and inflammatory factors in murine dendritic cells. *J Sichuan Univ (Med Sci)*, 2023, 54(1): 122-127. doi: 10.12182/20230160201.
- [15] MARASINGHE C K, YOON S D, JE J Y. Two peptides LLRLTDL and GYALPCDCL inhibit foam cell formation through activating PPAR γ /LXR- α signaling pathway in oxLDL-treated RAW264.7 macrophages. *Biofactors*, 2024, 50(6): 1161-1175. doi: 10.1002/biof.2075.
- [16] KIM J, KIM J Y, BYEON H E, *et al.* Inhibition of Toll-like receptors alters macrophage cholesterol efflux and foam cell formation. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(12): 6808. doi: 10.3390/ijms25126808.
- [17] YE Y, LIL J, GUO Y, *et al.* PPAR γ ameliorates *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra-induced foamy macrophage formation via the ABCG1-dependent cholesterol efflux pathway in THP-1 macrophages. *Front Microbiol*, 2022, 13: 829870. doi: 10.3389/fmicb.2022.829870.
- [18] 陈薪宇, 张怡, 王信, 等. 结核病流行现状及遗传易感性研究进展. *重庆医科大学学报*, 2022, 47(12): 1441-1446. doi: 10.13406/j.cnki.cyxh.002941.
- [19] CHEN X Y, ZHANG Y, WANG X, *et al.* Research progress in the epidemic status and genetic susceptibility of tuberculosis. *Journal of Chongqing Medical University*, 2022, 47(12): 1441-1446. doi: 10.13406/j.cnki.cyxh.002941.
- [20] LI F, ZHANG X, XU J, *et al.* SIRT7 remodels the cytoskeleton via RAC1 to enhance host resistance to *Mycobacterium tuberculosis*. *MBio*, 2024, 15(10): e0075624. doi: 10.1128/mbio.00756-24.

- [18] AGARWAL P, GORDON S, MARTINEZ F O. Foam cell macrophages in tuberculosis. *Front Immunol*, 2021, 12: 775326. doi: [10.3389/fimmu.2021.775326](https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.775326).
- [19] VENKATASUBRAMANIAN S, PLUMLEE C R, DILL-MCFARLAND K A, *et al.* TOLLIP inhibits lipid accumulation and the integrated stress response in alveolar macrophages to control *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Nat Microbiol*, 2024, 9(4): 949-963. doi: [10.1038/s41564-024-01641-w](https://doi.org/10.1038/s41564-024-01641-w).
- [20] MATT D J, JOSHUA A K, ELINOR H, *et al.* *Mycobacterium marinum* infection drives foam cell differentiation in zebrafish infection models. *Dev Comp Immunol*, 2018, 88: 169-172. doi: [10.1016/j.dci.2018.07.022](https://doi.org/10.1016/j.dci.2018.07.022).
- [21] AHMAD F, RANI A, ALAM A, *et al.* Macrophage: a cell with many faces and functions in tuberculosis. *Front Immunol*, 2022, 13: 747799. doi: [10.3389/fimmu.2022.747799](https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.747799).
- [22] ZHENG J, ZHAO L, LIU Y, *et al.* N-acetylcysteine, a small molecule scavenger of reactive oxygen species, alleviates cardiomyocyte damage by regulating OPA1-mediated mitochondrial quality control and apoptosis in response to oxidative stress. *J Thorac Dis*, 2024, 16(8): 5323-5336. doi: [10.21037/jtd-24-927](https://doi.org/10.21037/jtd-24-927).
- [23] YANG X, LI C, GE M, *et al.* Mn(II)-aloe-emodin nanoscale coordination polymer enhances ferroptosis by synergistically enhancing reactive oxygen species generation via the Nrf2-GPX4 axis. *Adv Healthc Mater*, 2024, 13(28): e2400474. doi: [10.1002/adhm.202400474](https://doi.org/10.1002/adhm.202400474).
- [24] LIAO W, LI Y, ZHAO H, *et al.* The Lian-Dou-Qing-Mai Formula activates the PPAR γ -LXR α -ABCA1/ABCG1 pathway by regulating IL-10, leading to the promotion of cholesterol efflux and a reduction in atherosclerotic plaques. *Histol Histopathol*, 2025, 40(4): 585-596. doi: [10.14670/HH-18-803](https://doi.org/10.14670/HH-18-803).
- [25] LI X, BAI R, BAI Y, *et al.* ROS-mediated PPAR/RXR inhibition contributes to acetochlor-induced apoptosis and autophagy in Ctenopharyngodon idella hepatic cells. *Fish Shellfish Immunol*, 2022, 128: 684-694. doi: [10.1016/j.fsi.2022.08.053](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.08.053).
- [26] 陈白莉, 柯春龙, 何瑶, 等. 过氧化物酶增殖激活受体配体罗格列酮通过诱导Rin1表达上调预防胃癌发生. *中山大学学报(医学科学版)*, 2009, 30(S2): 14-18. doi: [10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ\(med.sci\).2009.0221](https://doi.org/10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2009.0221).
CHEN B L, KE C L, HE Y, *et al.* Rosiglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor ligand, prevents gastric cancer by up-regulating Rin1 expression. *Journal of Sun Yat-sen University (Medical Sciences)*, 2009, 30(S2): 14-18. doi: [10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ\(med.sci\).2009.0221](https://doi.org/10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2009.0221).

(2025-05-20收稿, 2026-04-16修回)

编辑 余琳



开放获取 本文使用遵循知识共享署名—非商业性使用4.0国际许可协议(CC BY-NC 4.0), 详细信息请访问

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>。

OPEN ACCESS This article is licensed for use under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (CC BY-NC 4.0). For more information, visit <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

© 2026 《四川大学学报(医学版)》编辑部

Editorial Office of *Journal of Sichuan University (Medical Sciences)*