

专题研究

肉桂醛通过 IRAK3/p38 MAPK 信号通路抑制巨噬细胞内结核分枝杆菌存活的实验研究

张万敏^{1,2,3}, 张小可^{1,2,3}, 张伟^{1,2,3}, 吴霞⁴, 娄思玉^{1,2,3}, 王声全^{1,2,3}, 刘梅^{1,2,3}

(1. 遵义医科大学附属医院 结核科, 贵州 遵义 563000; 2. 贵州省结核病综合防治 2011 协同创新中心, 贵州 遵义 563000; 3. 贵州省常见慢性疾病发病机制及防治全省重点实验室, 贵州 遵义 563000; 4. 普定县人民医院 呼吸内科, 贵州 安顺 562100)

[摘要] 目的 基于 IRAK3/p38 MAPK 信号通路探讨肉桂醛(CA)对巨噬细胞内结核分枝杆菌(MTB)存活的影响。方法 通过细胞毒性试验(CCK-8)检测 CA 对巨噬细胞的毒性作用;利用透射电镜观察 CA 对巨噬细胞形态结构的影响;通过菌落形成单位(CFU)计数评估 CA 对巨噬细胞内 MTB 存活的影响;高效液相色谱技术(HPLC)检测巨噬细胞内 CA 浓度;转录组学测序(RNA-Seq)检测 CA 处理后 MTB 感染的巨噬细胞与模型组的差异表达基因;定量逆转录聚合酶链式反应(RT-qPCR)检测炎症通路 *TNF-α*、*IL-1β*、*IL-6*、*IRAK3* 和 *p38* 等基因的 mRNA 水平,酶联免疫吸附测定(ELISA)检测细胞培养上清中炎症因子 *TNF-α*、*IL-1β*、*IL-6* 的分泌水平,免疫印迹法(WB)检测炎症通路关键蛋白 IRAK3、p38 和磷酸化 p38 的表达水平。结果 CCK-8 结果显示,30 和 60 μmol/L CA 对巨噬细胞无明显毒性作用,透射电镜观察到 60 μmol/L CA 处理后的巨噬细胞形态结构无明显改变。CFU 结果显示,CA 处理组较模型组菌落数量明显减少,提示 CA 可抑制巨噬细胞内 MTB 的存活。HPLC 检出巨噬细胞内 CA 浓度 < 0.8 μmol/L,提示 CA 进入细胞内直接作用于 MTB 不是其发挥抗菌作用的主要途径。RNA-Seq 富集到 CA 处理后 MTB 感染的巨噬细胞与模型组炎症通路的差异表达基因。RT-qPCR 结果显示,CA 处理组较模型组炎症因子 *TNF-α*、*IL-1β*、*IL-6* 及炎症通路下游基因 *p38β* 表达显著降低,负反馈调节基因 *IRAK3* 表达显著升高。ELISA 结果显示,CA 处理组较模型组炎症因子 *TNF-α*、*IL-1β*、*IL-6* 分泌显著降低。WB 结果显示,CA 处理组较模型组 IRAK3 表达显著升高,磷酸化 P38 表达显著降低。结论 CA 能够抑制巨噬细胞内 MTB 的存活,其机制可能与上调 IRAK3 表达、抑制 p38 MAPK 磷酸化,进而降低 MTB 感染巨噬细胞的 *TNF-α*、*IL-1β*、*IL-6* 炎症因子分泌相关。

[关键词] 肉桂醛; 白细胞介素-1 受体相关激酶 3; p38 丝裂原活化蛋白激酶; 巨噬细胞; 结核分枝杆菌

[中图分类号] R378.91⁺1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2096-8159(2026)07-0729-12

An experimental study on the inhibition of *Mycobacterium tuberculosis* survival within macrophages by cinnamaldehyde through the IRAK3/p38 MAPK signaling pathway

Zhang Wanmin^{1,2,3}, Zhang Xiaoke^{1,2,3}, Zhang Wei^{1,2,3}, Wu Xia⁴, Lou Siyu^{1,2,3}, Wang Shengquan^{1,2,3}, Liu Mei^{1,2,3}

(1. Department of Tuberculosis, The Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi Guizhou 563000, China; 2. Guizhou Provincial 2011 Collaborative Innovation Center for Comprehensive Tuberculosis Prevention and Treatment, Zunyi Guizhou 563000, China; 3. Guizhou Provincial Key Laboratory of Pathogenesis and Prevention for Common Chronic Diseases, Zunyi Guizhou 563000, China; 4. Department of Respiratory Medicine, Puding County People's Hospital, Anshun Guizhou 562100, China)

[Abstract] **Objective** Based on the IRAK3/p38 MAPK signaling pathway, this study explores the effect of cinnamaldehyde (CA) on the survival of *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) within macrophages. **Methods** The cy-

[基金项目] 贵州省科技计划项目[NO:黔科合基础-ZK(2023)一般 581]; 贵州省科技创新平台科研项目[NO:黔科合平台 CXPTXM(2025) 017]。

[通信作者] 刘梅,女,博士,副主任技师,研究方向:结核病基础与临床研究,E-mail:531969525@qq.com。

toxicity of CA on macrophages was detected by the CCK-8 assay; Transmission electron microscopy was employed to observe the impact of CA on the morphological structure of macrophages; The effect of CA on the survival of MTB within macrophages was evaluated by CFU counting; The concentration of CA was detected by HPLC; RNA-Seq was used to detect the gene expression differences; RT-qPCR was used to detect the mRNA levels of inflammatory factors such as *TNF- α* , *IL-1 β* , *IL-6*, *IRAK3* and *p38*; ELISA was used to detect the secretion levels of inflammatory factors *TNF- α* , *IL-1 β* , and *IL-6* in cell culture supernatants; WB was used to detect the expression levels of *IRAK3*, *p38*, and phosphorylated *p38*. **Results** The CCK-8 results indicated that 30 and 60 $\mu\text{mol/L}$ CA had no significant toxic effect on macrophages. Transmission electron microscopy revealed that the morphological structure of macrophages treated with 60 $\mu\text{mol/L}$ CA showed no significant change. CFU results showed that the number of colonies in the CA treatment group was significantly lower, suggesting that CA could inhibit the survival of MTB within macrophages. HPLC detected that the concentration of CA in macrophages was $<0.8 \mu\text{mol/L}$, indicating that the direct action of CA entering the cells on MTB was not the main way for it to exert antibacterial effects. RNA-Seq identified the differentially expressed genes in the inflammatory pathways. RT-qPCR results showed that the expression of inflammatory factors *TNF- α* , *IL-1 β* , *IL-6* and downstream gene *p38 β* of the inflammatory pathways was significantly lower in the CA treatment group compared to the model group, while the expression of negative feedback regulatory gene *IRAK3* was significantly increased. ELISA results showed that the secretion of inflammatory factors *TNF- α* , *IL-1 β* , and *IL-6* in the CA treatment group was significantly lower. WB results showed that the expression of *IRAK3* was significantly increased and the phosphorylated *p38* expression was decreased in the CA treatment group. **Conclusion** CA can inhibit the survival of MTB within macrophages. The mechanism may be related to the upregulation of *IRAK3* expression, inhibition of *p38* MAPK phosphorylation, and thereby reducing the secretion of *TNF- α* , *IL-1 β* , and *IL-6* inflammatory factors by MTB-infected macrophages.

[**Key words**] cinnamaldehyde; interleukin-1 receptor-associated kinase 3; *p38* mitogen-activated protein kinase; macrophage; *Mycobacterium tuberculosis*

结核病是由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)引发的全球最致命的传染病之一,世界卫生组织《2025 年全球结核病报告》显示,2024 年全球估算新发结核病患者及利福平(rifampicin, RIF)耐药患者分别达 1 070 万和 39 万例,死亡病例高达 123 万^[1]。由于抗结核药物使用不合理、患者依从性差等因素,MTB 的耐药性问题愈发严峻^[2],结核病的防治面临重大挑战,开发新型抗结核药物或探索辅助治疗策略成为该领域的重要研究方向。

MTB 经呼吸道感染进入人体后,巨噬细胞作为主要的宿主细胞,借助多种模式识别受体识别该病原菌,免疫系统随即启动炎症、自噬和凋亡等防御反应^[3]。与此同时,MTB 则通过多种机制干扰巨噬细胞的杀菌功能,进而在巨噬细胞内实现长期存活,逃避宿主的免疫清除^[4]。巨噬细胞被激活后,其免疫系统会触发 NF- κ B、JAK、MAPK 信号通路,释放 *TNF- α* 、*IL-6*、*IL-1 β* 等炎症因子,这些炎症因子早期有助于招募并激活中性粒细胞、T 细胞等免疫细胞对抗 MTB,但过度且持续的炎症反应不

仅会损伤周围正常组织,还为 MTB 营造利于其生存和繁殖的微环境^[5]。因此,探究如何增强巨噬细胞对 MTB 的杀伤能力,对于开发新的抗结核药物策略具有重要意义。鉴于 MTB 耐药性的增加导致的抗结核药物的局限性,越来越多研究聚焦于将调节宿主免疫反应作为治疗结核病的辅助手段,如巨噬细胞炎症和自噬等免疫途径^[6]。研究显示,德拉马尼和二甲双胍可促进巨噬细胞内 MTB 的清除,其机制与抑制巨噬细胞的炎症反应相关,其中二甲双胍通过调控 *p38*MAPK 通路发挥抗炎作用^[7-8]。另有研究表明,抗结核药物发挥抗菌作用的途径之一是穿透巨噬细胞膜,在胞内形成药物蓄积,既直接作用于 MTB 又能通过调节巨噬细胞免疫调节发挥协同抗菌作用^[9]。

近年来,天然产物因其广泛的生物活性以及较低的毒性,成为抗结核药物研究领域的热点之一^[10-11]。肉桂醛(cinnamaldehyde, CA)作为肉桂的主要活性成分,亦称为桂皮醛,其分子质量为 132.16,具有脂溶性特征。大量研究表明,CA 具有

广谱抗菌、抗炎、抗氧化、抗癌和免疫调节等作用^[12],并且能够通过抑制炎症因子风暴、调节巨噬细胞极化、促进自噬等机制增强宿主的防御功能^[13]。研究报道,CA 可通过抑制巨噬细胞 NF- κ B、JAK、MAPK 等信号下调 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等炎症介质的分泌,进而发挥抗炎作用^[14-15]。CA 作为一种多效性天然化合物,其抗菌机制不仅局限于直接抗菌作用,还涉及调控宿主-病原互作的复杂生物学过程^[6, 16]。

当前研究大多聚焦于 CA 对 MTB 的胞外抗菌效应,关于其对巨噬细胞内 MTB 作用的相关报道较为匮乏,已有研究报道 CA 可通过诱导巨噬细胞凋亡发挥胞内抗 MTB 作用^[16],但其机制未涉及 IRAK3/p38 MAPK 通路,关于 CA 是否能够通过调节宿主炎症反应从而影响巨噬细胞内 MTB 的存活尚未见报道。本研究通过建立细胞实验模型分析 CA 对巨噬细胞内 MTB 存活的影响及其分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料 MTB 减毒菌株 H37Ra 获赠于贵州省疾控中心,肉桂醛由本溪拓璞生物分离技术有限公司提供,其化学式为 $C_6H_5CH=CHCHO$,纯度 $\geq 98\%$ 。所有实验均于生物安全二级(BSL-2)实验室中开展。RAW264.7 细胞、10% DMEM 培养基(新赛美公司);阿米卡星(LKT 公司);RIF(Sigma 公司);1×PBS 缓冲液、BCA 蛋白定量试剂盒(Servicebio 公司);细胞毒性/活力检测试剂盒(Solarbio 公司);Middlebrook 7H10 Agar、OADC(BD 公司);电镜固定液(成都里来公司);RNAiso Plus、PCR 试剂盒(Takara 公司);ELISA 试剂盒(江莱生物公司);IRAK3 一抗(Abcam 公司:AB307708);p38 MAPK 一抗(CST 公司:8690s);phospho-p38 MAPK 一抗(CST 公司:4511s)。

1.2 方法

1.2.1 CCK-8 检测 CA 对巨噬细胞的毒性作用

按 5×10^4 个细胞/孔向 96 孔细胞培养皿的 CA 处理组及细胞对照组每孔接种 100 μ L 细胞悬液,空白对照组每孔加入 100 μ L 培养基,置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养箱培养至细胞贴壁。向 CA 作用组分别加入 10 μ L 培养基配制的不同浓度的 CA 溶液,使 CA 终浓度为 30、60、120、240、480 μ mol/L,细胞对照组及空白对照组加入 10 μ L 培养基。分别在培养 12 和 24 h 后,向各孔加入 10 μ L CCK-8 溶液,置于培养箱孵育 2 h,10 min 内用酶标仪测量每个

孔在 450 nm 波长处的吸光度。空白对照组:仅 110 μ L 10% DMEM 培养基;细胞对照组:110 μ L 细胞悬液;CA 处理组:100 μ L 细胞悬液 + 10 μ L 含不同浓度 CA 的培养基。

1.2.2 透射电镜观察 CA 对巨噬细胞形态结构的影响 按 2×10^6 个细胞/皿向 60 mm 细胞培养皿内每皿接种 4 mL 细胞悬液,培养至细胞贴壁。弃上清并用 PBS 洗涤 3 次,向 CA 处理组加入 4 mL 培养基配制的浓度为 60 μ mol/L 的 CA 溶液,细胞对照组加入 4 mL 培养基。培养 24 h 后,弃上清并用 PBS 洗涤 3 次,收集细胞悬液以 800 r/min 离心 5 min。弃上清,用 1 mL 1:5(3% 戊二醛:1×PBS)溶液重悬细胞沉淀,12 000 r/min 离心 10 min。弃上清,缓慢加入 3% 戊二醛固定液保存沉淀。先后用 3% 戊二醛和 1% 四氧化锇固定,丙酮进行逐级脱水,脱水剂和 Epon-812 包埋剂渗透,Epon-812 纯包埋剂包埋,切片并染色,最后通过 JEM-1400FLASH 透射电子显微镜进行观察并采集图像。

1.2.3 CFU 计数检测 CA 对巨噬细胞内 MTB 存活的影响 按 3×10^5 个细胞/孔向 6 孔细胞培养皿内每孔接种 2 mL 细胞悬液,培养至细胞贴壁。弃上清并用 PBS 洗涤 3 次,用培养基配制感染复数(MOI)为 10 的 H37Ra 菌悬液,取 2 mL 加入各孔感染巨噬细胞 4 h。配置 200 μ g/mL 阿米卡星培养基:20 mg/mL 阿米卡星 1 mL + 双抗(100×)1 mL + 98 mL 10% DMEM,该浓度可有效杀灭细胞外 MTB^[17]。弃上清并用 PBS 洗涤 3 次,RIF 处理组加入 2 mL 阿米卡星培养基配制的浓度为 1.2 μ mol/L 的 RIF 溶液,CA 处理组加入 2 mL 阿米卡星培养基配制的浓度为 30 和 60 μ mol/L 的 CA 溶液,模型组加入 2 mL 阿米卡星培养基。分别在培养 12、24、36 h 后,弃上清并用 PBS 洗涤 3 次,随后向每孔加入 1 mL 0.1% Triton X-100 冰上裂解 10 min,收集细胞裂解液并进行 10^2 和 10^3 倍稀释,此稀释浓度可对菌落进行单个计数,取稀释后的裂解液按每个区域 25 μ L 分别接种于 3 分格 7H10 固体培养基培养。4 周后,对培养皿上的菌落进行计数。

1.2.4 HPLC 检测巨噬细胞内 CA 浓度 按 2×10^6 个细胞/皿向 60 mm 细胞培养皿内每皿接种 4 mL 细胞悬液,培养至细胞贴壁。弃上清并用 PBS 洗涤 3 次,用培养基配制 MOI = 10 的 H37Ra 菌悬液,取 4 mL 分别加入模型组(无 CA 作用)和 CA 处理组(H37Ra 感染)感染巨噬细胞,细胞对照组及 CA 处理组(无 H37Ra 感染)加入 4 mL 培养基,培养

4 h。弃上清并用 PBS 洗涤 3 次,向 CA 处理组(H37Ra 感染和未感染)加入 4 mL 培养基配制的浓度为 60 $\mu\text{mol/L}$ 的 CA 溶液,细胞对照组和模型组(无 CA 作用)加入 4 mL 培养基,培养 24 h。弃上清并用 PBS 洗涤 5 次,每皿加入 4 mL PBS 并用细胞刮收集细胞悬液,1 000 r/min 离心 5 min。弃上清,加入 1 mL 预冷的甲醇:水(HPLC 级甲醇:超纯水 = 70:30)裂解液,混匀,室温反应 1 min,超声破碎仪 500 W、50 HZ 裂解 15 min。将 CA 标准品及上述 4 组样本(培养基及甲醇:水裂解液作为空白对照同步检测)按以下参数进行检测。色谱柱:Agela Venusil AQC18 4.6 $\times$ 100 mm 4 μm ;柱温:35 $^{\circ}\text{C}$;检测方式:UV290 nm;流量:1.0 mL/min;样品溶解采用 HPLC 级甲醇;流动相采用 HPLC 级乙腈:超纯水 = 55:45。

1.2.5 RNA-Seq 检测 CA 处理后 MTB 感染的巨噬细胞与模型组的差异表达基因 按 3×10^5 个细胞/孔向 6 孔细胞培养皿内接种 2 mL 细胞悬液,培养至细胞贴壁。弃上清并用 PBS 洗涤 3 次,用培养基配制 MOI = 10 的 H37Ra 菌悬液,取 2 mL 加入各孔感染巨噬细胞 4 h。弃上清并用 PBS 洗涤 3 次,向 CA 处理组加入 2 mL 培养基配制的浓度为 60 $\mu\text{mol/L}$ 的 CA 溶液,模型组加入 2 mL 培养基,培养 24 h。弃上清并用 PBS 洗涤 3 次,每孔加入 1 mL RNAisoTM PLUS 裂解液冰上裂解 10 min 并收集细胞裂解液。将裂解液在 1% 琼脂糖凝胶上电泳,检测 RNA 的降解和污染;Qubit4.0 和 Nanodrop

One 测量 RNA 量;Agilent4200 系统准确检测 RNA 完整性。在 Qsep400 高通量核酸蛋白分析系统上评估文库片段的大小,使用 Qubit4.0 测量文库的浓度;将文库在 Illumina 平台上进行测序。使用 DESeq2 (v1.34.0) 进行 2 个条件/组的差异表达基因筛选,将 $\text{FDR} \leq 0.05$ 和 $|\log_2(\text{fold change})| \geq 1$ 的基因作为差异表达基因。

1.2.6 RT-qPCR 检测 CA 处理后 MTB 感染的巨噬细胞与模型组炎症因子的变化 按 3×10^5 个细胞/孔取 2 mL 接种于 6 孔细胞培养皿内,培养至细胞贴壁。弃上清并用 PBS 洗涤 3 次,用培养基配制 MOI = 10 的 H37Ra 菌悬液,取 2 mL 加入模型组和 CA 处理组感染巨噬细胞 4 h,细胞对照组加入 2 mL 培养基。弃上清并用 PBS 洗涤 3 次,向 CA 处理组加入 2 mL 培养基配制的浓度为 30 和 60 $\mu\text{mol/L}$ 的 CA,细胞对照组和模型组加入 2 mL 培养基。分别在作用 12、24、36 h 后,先将细胞培养上清转移至无酶无菌的离心管保存用于后续 ELISA 的检测,随后用 PBS 将细胞洗涤 3 次后,每孔加入 1 mL RNAisoTM PLUS 裂解液于冰上裂解 10 min 并收集细胞裂解液。通过酸性酚-氯仿(Trizol)法提取细胞总 RNA 并测定 RNA 浓度,使用逆转录试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA。经 geNorm 软件验证,MTB 感染及 CA 处理后 GAPDH 表达稳定,变异系数 < 10%,因此选择 GAPDH 为内参基因进行 qPCR 检测,引物序列见表 1。

表 1 qPCR 引物序列

基因名称		引物序列(5'-3')	退火温度/ $^{\circ}\text{C}$	产物长度/bp
Murine TNF- α	F	AAGCCTGTAGCCACGTCGTA	60.74	122
	R	GGCACCAGTAGTTGGTTGTCTTTG	59.00	
Murine IL-1 β	F	TCACAGCAGCACATCAACAA	56.01	112
	R	TGTCCTCATCCTGGAAGGT	54.00	
Murine IL-6	F	ACAACCACGGCCTTCCTACTT	59.56	129
	R	CACGATTTCCAGAGAACATGTG	58.08	
Murine IRAK3	F	AGAGCAGCAGAGTTCTACCATAAA	59.38	141
	R	AGAACCTCCATGATCAGGATTCC	57.85	
Murine JAK1	F	CAGATGCCACCAATTACC	53.23	133
	R	CCCTCTTCACTCCCTTCC	48.55	
Murine JAK3	F	CCTGCCTGTTTATCATTCGC	55.85	388
	R	GGCTTTGTAACGACCGTCTT	52.50	
Murine NF κ B	F	CCAGACACAGATGATCGCCAC	58.83	156
	R	GACAGAAGTTGAGTTTCGGGTAGG	58.90	
Murine p38 α	F	GACCGTTTCAGTCCATCATTCAC	56.78	147
	R	TCACCAGGTACACGTCATTGAAT	56.79	
Murine p38 β	F	GGAGGAGTGGAAGGAGCTTACTT	59.44	101
	R	CAATGCCTCACTGCTCAATTTC	59.05	
Murine GAPDH	F	GAGCCAAACGGGTCATCATCT	59.67	232
	R	GAGGGGCCATCCACAGTCTT	57.62	

1.2.7 EILSA 检测 CA 处理后 MTB 感染的巨噬细胞与模型组细胞培养上清炎症因子的变化 将上述 1.2.6 的细胞培养上清以 2~8℃、3 000 r/min 离心 20 min。在酶标包被板上分别加入 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的各浓度标准品 50 μ L,待测样品孔中先分别加入样品稀释液 40 μ L,然后加待测样品 10 μ L,将样品稀释 5 倍,置于 37℃ 培养箱孵育 30 min。将板条洗涤 5 次后拍干,每孔分别加入酶标试剂 50 μ L,孵育 30 min。洗板 5 次并拍干,随后每孔先后加入显色剂 A、B 各 50 μ L,避光孵育显色 10 min。每孔加入终止液 50 μ L 终止反应,以空白孔调零,15 min 内在 450 nm 波长处测量各孔的吸光度。将标准品浓度及其吸光度值绘制标准曲线后,将样品吸光度值代入公式计算样品浓度。

1.2.8 WB 检测 CA 处理后 MTB 感染的巨噬细胞与模型组炎症通路关键蛋白的表达 按 2×10^6 个细胞/皿向 60 mm 细胞培养皿内接种 4 mL 细胞悬液,培养至细胞贴壁。弃上清并用 PBS 洗涤 3 次,用培养基配制 MOI = 10 的 H37Ra 菌悬液,取 4 mL 加入模型组及 CA 处理组内感染巨噬细胞 4 h,细胞对照组加入 4 mL 培养基。弃上清并用 PBS 洗涤 3 次,向 CA 处理组加入 4 mL 培养基配制的浓度为 30 和 60 μ mol/L 的 CA,细胞对照组和模型组加入 4 mL 培养基,培养 24 h。弃上清并用 PBS 洗涤 3 次,每皿加入 400 μ L 含蛋白酶抑制剂(PMSF)的 RIPA 裂解液(RIPA:PMSF = 100:1)并置于冰

上裂解 30 min。将细胞裂解液经 BCA 定量(标准曲线 $R^2 = 0.998$)后进行 SDS-PAGE 电泳,随后将凝胶上的蛋白转印至 PVDF 膜,用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h。洗膜 3 次后,加入 GAPDH(1:6 000)、IRAK3(1:1 000)、p38(1:1 000)和 p-p38(1:1 000)一抗于 4℃ 孵育过夜。将一抗回收并洗膜 3 次,加入与一抗对应的二抗室温孵育 2 h 并洗膜 3 次,最后使用 ECL 显影剂于凝胶成像仪上显影,采用 ImageJ 软件分析目标蛋白灰度值。

$$\text{目标蛋白相对表达量} = \frac{\text{目标蛋白灰度值}}{\text{GAPDH 灰度值}}$$

1.3 统计学分析 采用 SPSS 29.0 (IBM Corp, Armonk, NY, USA, Version 29.0) 软件进行统计分析,所有数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,3 组及 3 组以上比较采用双因素方差分析(Two-way ANOVA),采用 Dunnett T3 检验进行事后多重比较。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CA 对巨噬细胞的毒性作用 CCK-8 结果显示,将 30~480 μ mol/L CA 作用于细胞 12 h 后,与对照组相比,30~120 μ mol/L CA 无毒性作用,240 和 480 μ mol/L CA 的毒性作用随浓度增大而增加;24 h 后,30 和 60 μ mol/L CA 无明显毒性作用,120~480 μ mol/L CA 的毒性作用显著增加(图 1)。结果提示,30 和 60 μ mol/L CA 作用于巨噬细胞 24 h 对巨噬细胞无明显毒性作用。

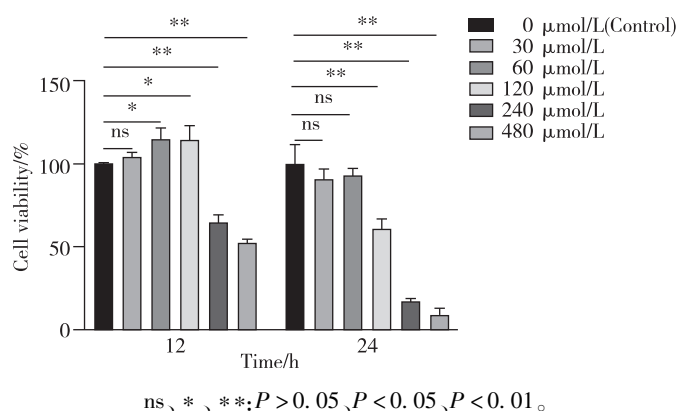
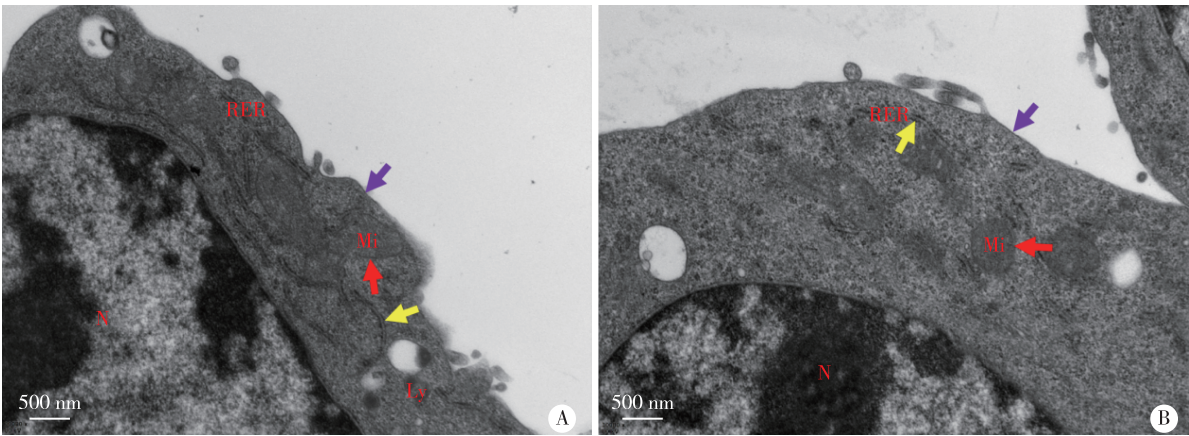


图 1 CA 对巨噬细胞的毒性作用

2.2 CA 对巨噬细胞形态结构的影响 进一步通过透射电镜观察 60 μ mol/L CA 作用后巨噬细胞形态结构的改变,结果显示,CA 作用后的巨噬细胞细胞核、线粒体、粗面内质网、溶酶体结构正

常,细胞膜连续完整,与正常巨噬细胞相比无明显改变(图 2),提示 60 μ mol/L CA 不影响巨噬细胞的形态结构。

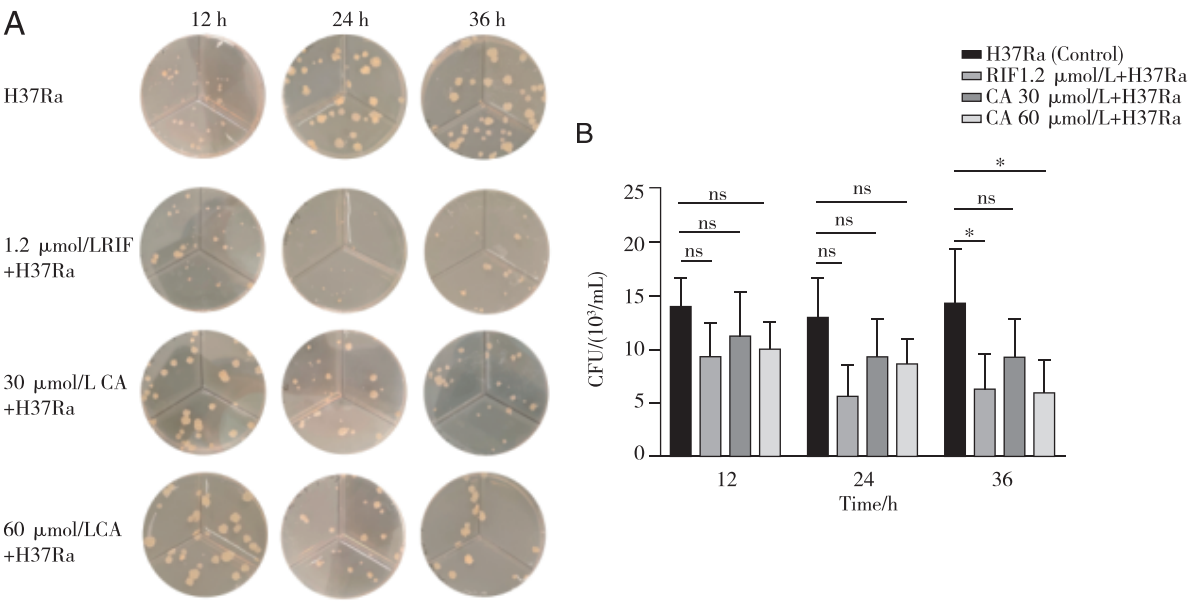


A:正常巨噬细胞;B:CA 作用后的巨噬细胞;放大倍数: $\times 30\ 000$;红色箭头指向 Mi 线粒体,黄色箭头指向 RER 粗面内质网,紫色箭头指向细胞膜;N:细胞核;Ly:溶酶体。

图 2 CA 对巨噬细胞形态结构的影响

2.3 CA 对巨噬细胞内 MTB 存活的影响 为明确 CA 是否对巨噬细胞内 MTB 的存活产生影响,研究人员通过 CFU 计数检测了 CA 的胞内抗菌作用。结果显示,将 $60\ \mu\text{mol/L}$ CA 作用于 MTB 感染的巨噬细胞 36 h 后,与模型组相比,其细胞裂解液在

7H10 培养基上培养 4 周后的 MTB 菌落数量显著降低(图 3),CA 对 MTB 的生长表现出明显的抑制作用,其抗菌效果接近一线抗结核药物 $1.2\ \mu\text{mol/L}$ RIF 作用组。结果提示,CA 可降低巨噬细胞内 MTB 的存活水平。



A:7H10 培养基上 MTB 的生长情况;B:CFU 计数统计结果;ns、* : $P > 0.05$ 、 $P < 0.05$ 。

图 3 CA 对巨噬细胞内 MTB 存活的影响

2.4 HPLC 检测巨噬细胞内 CA 浓度 根据 CA 标准品配制浓度及相应出峰面积,得到 CA 标准品出峰时间为 2 min(图 4A、B)。由标准品出峰时间判断 CA + 细胞组、CA + 感染的细胞组中检出 CA,细胞对照组、模型组未检出 CA(图 4C)。由于 CA

处理组细胞内 CA 浓度 $< 0.8\ \mu\text{mol/L}$,远低于文献报道的 CA 对 MTB 的 MIC 值,表明其直接抗菌作用微弱,提示 CA 进入巨噬细胞内直接作用于 MTB 可能不是其发挥抗菌作用的主要途径,CA 可能通过调节宿主免疫作用发挥胞内抗菌活性。

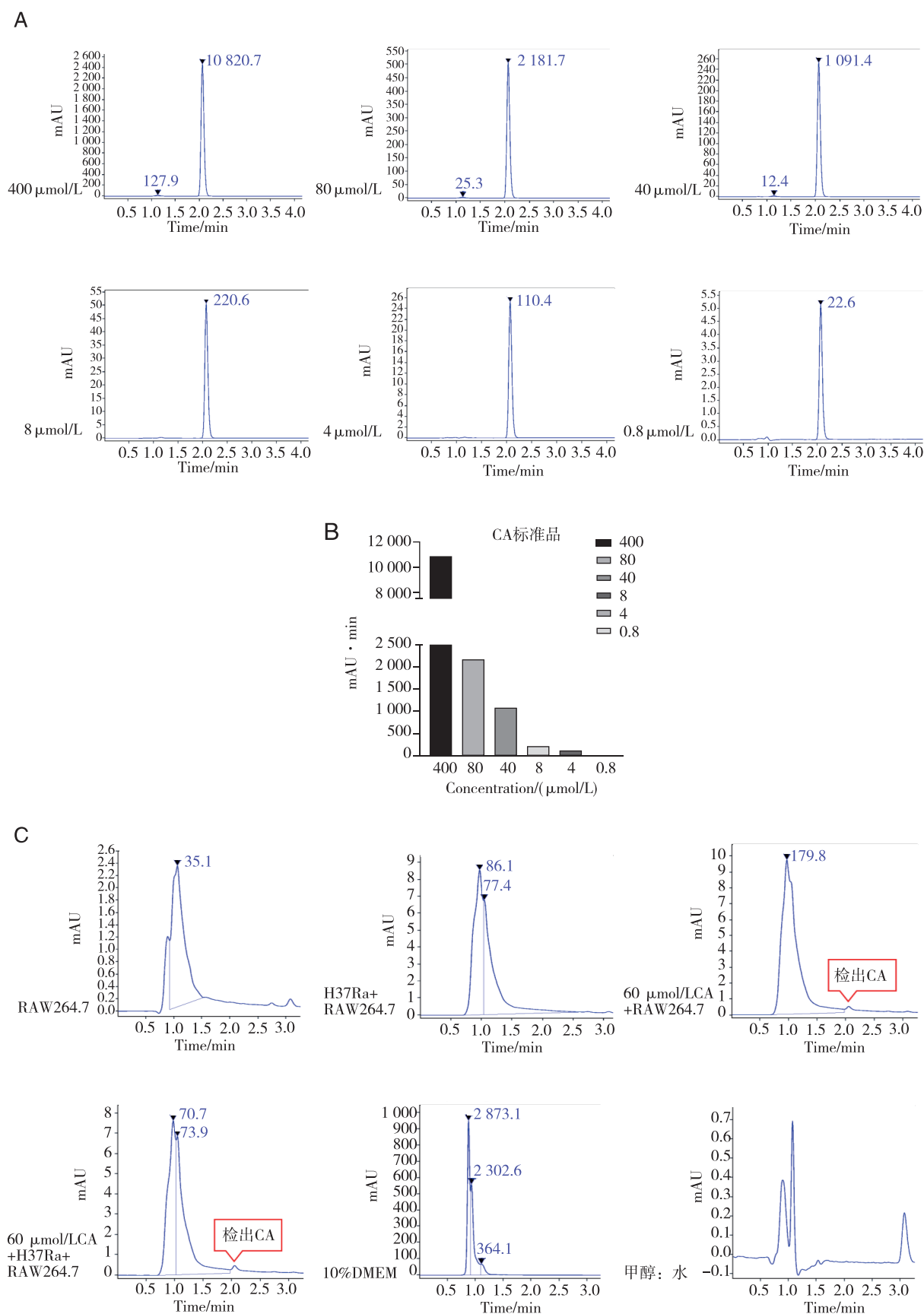
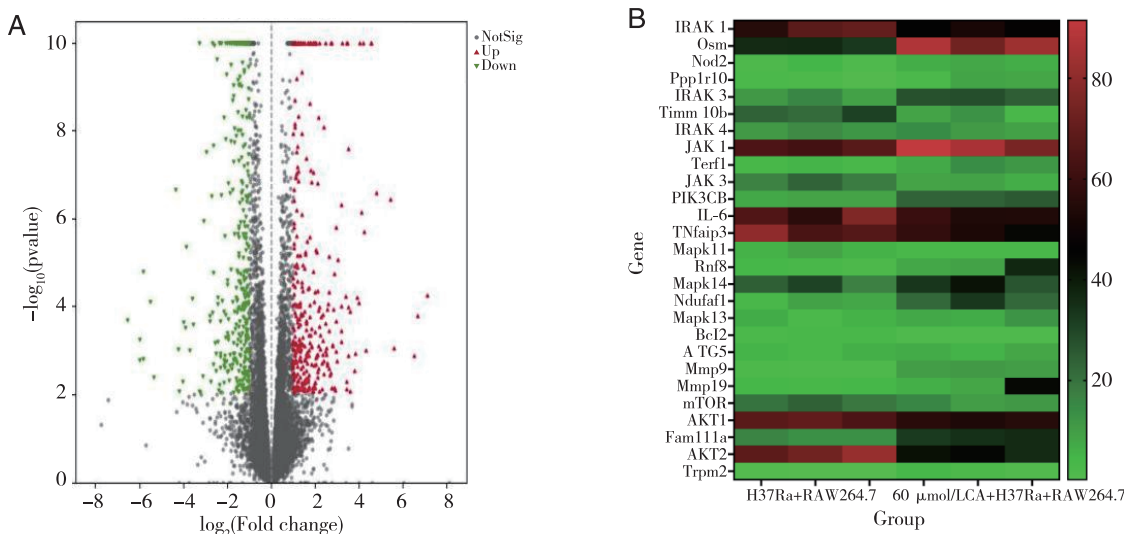


图 4 CA 处理后巨噬细胞内 CA 浓度检测

2.5 CA 处理后 MTB 感染的巨噬细胞与模型组的差异表达基因分析 将 CA 处理后 MTB 感染的巨噬细胞与模型组分别进行 RNA-Seq,共富集到 953 个表达量具有差异的基因,并筛选到与巨噬细胞炎

症通路相关的多个表达量差异基因(图 5),其中 *IRAK3* 和 *p38β* 在两组中的表达具有显著性差异, $FDR < 0.05, |\log_2FC| > 1$ 。

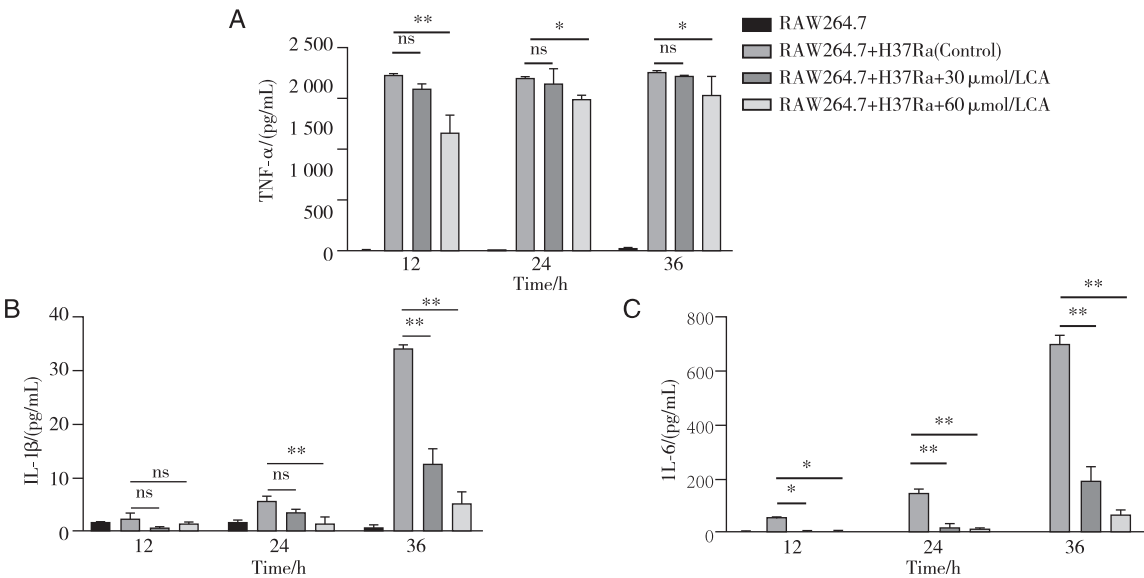


A: 差异表达基因火山图,其中每个点代表一个基因,横坐标表示差异倍数的 $\log_2$ 值,纵坐标表示 P value 的负 $\log_{10}$ 值;红点:上调表达的基因;绿点:下调表达的基因;灰点:未满足筛选条件的基因;B: 差异表达基因热图;基于基因表达量,对样本和基因间的关系进行层级聚类分析,图中每列代表一个样品,每行代表一个基因,基因在不同样品中的表达量用不同颜色表示,颜色越红表示表达量越高,颜色越绿表示表达量越低。

图 5 CA 处理后 MTB 感染的巨噬细胞与模型组的差异表达基因分析

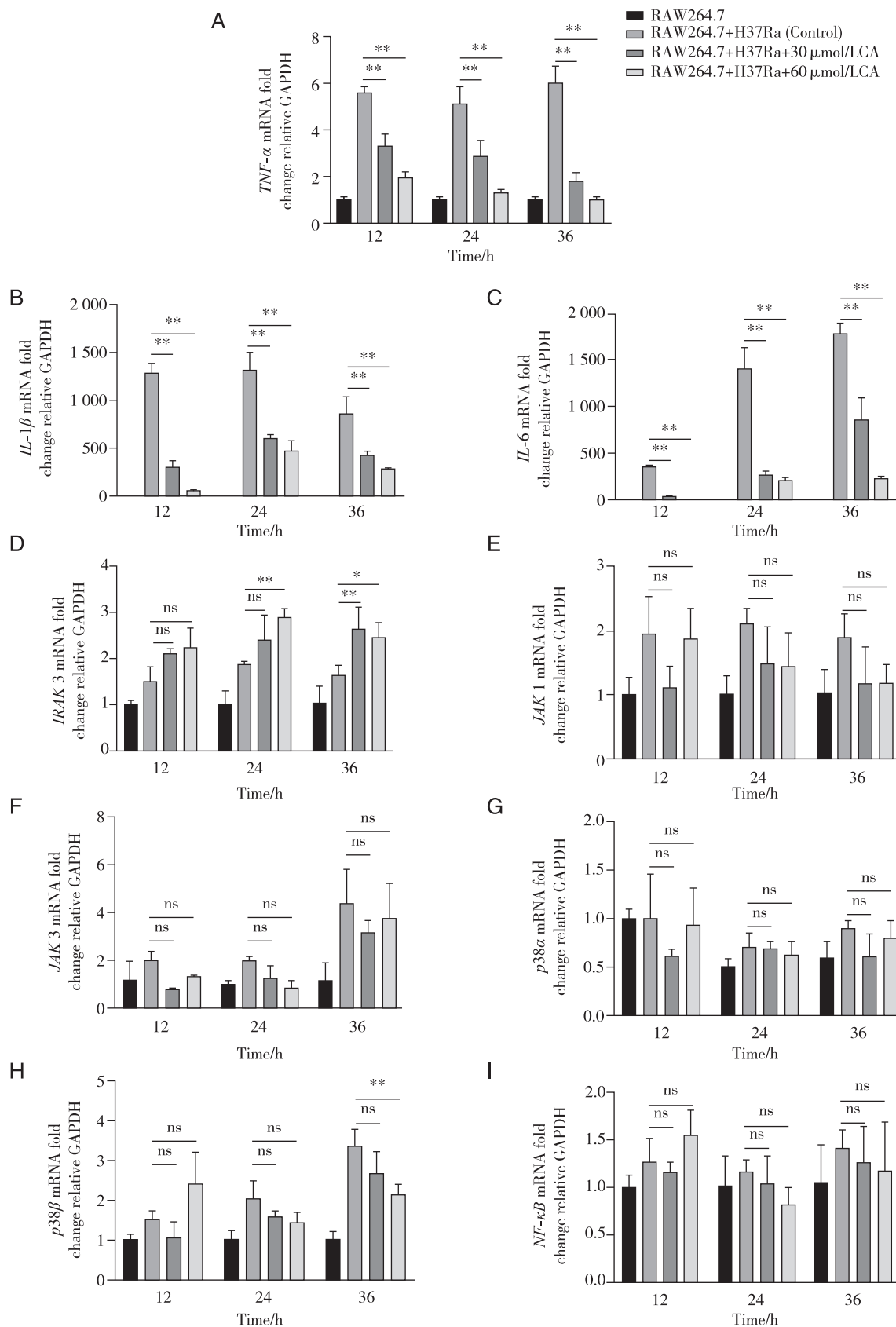
2.6 CA 对 MTB 感染的巨噬细胞炎症因子表达的影响 ELISA 结果显示,CA 处理组较模型组细胞培养上清中炎症因子 $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 、 $IL-6$ 分泌显著降低(图 6)。RT-qPCR 结果显示,CA 处理组较模型组炎症因子 $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 、 $IL-6$ 表达显著降低,炎症通路基因 *IRAK3* 表达显著升高、*p38* 表达显著

降低(图 7)。WB 结果显示,CA 处理组较模型组 *IRAK3* 表达显著升高、磷酸化 *p38* 表达显著降低(图 8)。以上结果提示,CA 可能通过上调 *IRAK3*,进而下调 *p38* 的表达,进一步抑制 MTB 感染巨噬细胞的炎症反应。



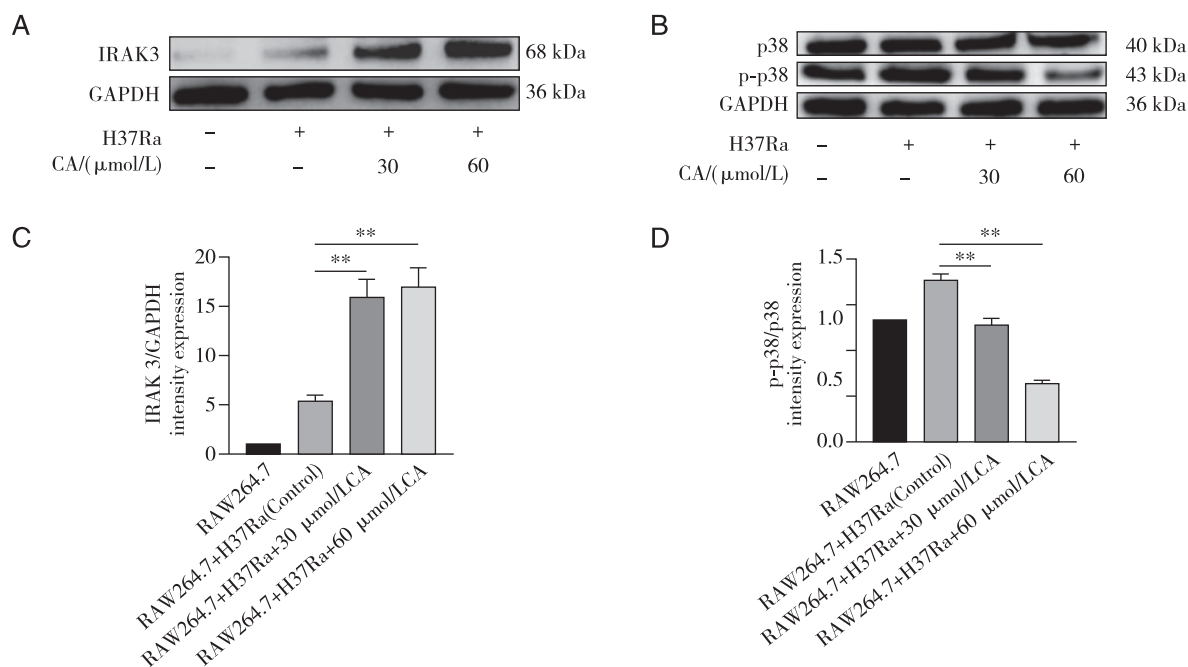
A ~ C: 细胞培养上清中 $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 、 $IL-6$ 的分泌水平;ns、*、**、***: $P > 0.05$ 、 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 。

图 6 CA 对 MTB 感染的巨噬细胞炎症因子分泌的影响



A ~ I: *TNF-α*、*IL-1β*、*IL-6*、*IRAK3*、*JAK1*、*JAK3*、*p38α*、*p38β*、*NF-κB* 的 mRNA 表达水平, ns、*、**、***: $P > 0.05$ 、 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 。

图7 CA 对 MTB 感染的巨噬细胞炎症通路相关基因 mRNA 表达的影响



A、B: WB 代表性条带; C、D: 蛋白相对表达量; ns、*、**: $P > 0.05$ 、 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 。

图8 CA 对 MTB 感染的巨噬细胞 IRAK3/p38 MAPK 信号通路蛋白表达的影响

3 讨论

炎症反应是机体应对外界环境刺激时产生的防御和保护性机制^[18], 尽管 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等炎症细胞因子在 MTB 感染后的免疫防御中发挥重要的作用, 但其生成过多会对机体产生不利影响^[5]。本研究通过检测 CA 对巨噬细胞内 MTB 存活的影响, 探究了 CA 的胞内抗菌活性。研究发现, CA 可能通过对巨噬细胞炎症反应的调节进而对巨噬细胞内 MTB 的存活产生抑制作用, 其机制可能与调控 IRAK3/p38 MAPK 信号通路相关。

CA 的广谱抗菌活性被广泛应用于抗感染药物研究^[12], 相关研究指出, CA 对 MTB 的 MIC 值分别为 23.6、60.7、75.7 $\mu\text{g/mL}$ ^[19-21], 本研究选择了 0 ~ 480 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度范围检测了 CA 对 RAW264.7 巨噬细胞的毒性效应, 在 60 $\mu\text{mol/LCA}$ 处理巨噬细胞 24 h 后, 其毒性作用 < 10% 且不影响巨噬细胞的形态结构, 此结果与 CA 对 J774A.1 巨噬细胞毒性特征相符^[22], 这为探究 CA 的胞内抗菌作用及机制奠定了基础。

研究表明, 天然产物可对巨噬细胞内 MTB 发挥有效抗菌作用^[10-11], 其中 CA 被报道能够通过调节宿主的先天免疫反应, 抑制粪肠球菌生物被膜形成, 并促进宿主体内细菌的清除^[23]。然而, 目前尚

未见关于 CA 是否可通过类似机制影响巨噬细胞内 MTB 存活的报道。本研究通过构建 H37Ra 感染模型, 发现经 60 $\mu\text{mol/L}$ CA 处理后的巨噬细胞内 MTB 存活率较模型组显著降低, 表明 CA 可能通过特定机制发挥胞内抗菌活性。虽然 HPLC 在 CA 处理后的巨噬细胞内检出了 CA, 但是其浓度远远小于 0.8 $\mu\text{mol/L}$, 与文献报道的 CA 对 MTB 的 MIC 值^[19-21] 相差甚远。因此, CA 发挥胞内抗菌活性的主要途径可能是通过调节其免疫作用产生, 与文献报道的 CA 可通过调节宿主免疫反应促进胞内细菌的清除吻合^[23]。

丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPKs) 属于丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶, 其在调控细胞活动方面包括细胞增殖、分化、凋亡及存活等过程发挥重要作用, 并且在炎症、先天免疫和癌症等疾病的发病机制中具有关键意义^[24]。哺乳动物 MAPK 家族包括 c-Jun NH2 末端激酶 (JNK1、JNK2、JNK3)、p38 MAPK (p38 α 、p38 β 、p38 γ 、p38 δ) 以及细胞外信号调控激酶 (ERK1 和 ERK2), 这 3 种激酶家族各自发挥独特的生物学功能, 且彼此间存在相互作用^[25]。P38 MAPK 通路作为细胞内重要的信号传导途径, 其激活依赖于连续的蛋白激酶级联反应。外界刺激会引发一系列信号转导事件, 最终促使 P38 MAPK 发生磷酸化并活化。活化后的 P38 MAPK 能够通过作用于转录

因子、蛋白激酶等下游底物,进而对细胞的生物学功能进行调控,例如炎症反应、细胞周期调控及细胞分化等^[26]。P38 MAPK 是治疗各种炎症反应的重要靶点,并且在类风湿关节炎、炎症性肠病和帕金森病等炎症性疾病的研究中日益受到关注^[27]。白细胞介素-1 受体相关激酶家族 IRAK 是一类在先天免疫信号通路中发挥关键作用的蛋白家族,其成员包括 IRAK1、IRAK2、IRAK3(也称为 IRAK-M)和 IRAK4,主要参与 Toll 样受体(toll-like receptor, TLR)和白细胞介素-1 受体(interleukin-1 receptor, IL-1R)信号通路。该家族成员通过与适配蛋白 MyD88 相互作用,形成信号复合物,从而调节下游信号通路,如 NF- κ B 和 MAPK 通路,介导炎症反应和免疫应答。其中,IRAK3 可通过负向调控 TLR 信号,阻止 IRAK 和 IRAK 4 从 MyD88 中解离,防止 IRAK-TRAF6 复合物的形成,维持先天免疫稳态,避免过度炎症反应对机体造成损伤^[28]。

既往研究表明,CA 可通过抑制 TLR/IL-1R 介导的炎症通路,增强对胞内菌的清除能力^[13, 29]。在创伤性脑损伤模型中,CA 能够通过抑制 IRAK 4/TAK 1 轴减轻神经炎症^[30];IRAK 1/2/4 作为 TLR/IL-1R 信号通路的关键激酶,可通过激活下游 MAPK(p38/JNK)及 NF- κ B 通路,进而驱动促炎因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等的转录水平升高^[31],而 IRAK3(IRAK-M)作为核心负调控因子,可通过竞争性结合 MyD88 或抑制 IRAK 1/4 的激酶活性,重塑免疫稳态^[32],在 TLR 介导的 NF- κ B 炎症通路中,IRAK3 作为负调节因子,可降低巨噬细胞的炎症反应,从而用于治疗肺部炎症^[33-34],在气道炎症模型中,IRAK3 过表达能够拮抗 JNK/p38 信号传导^[35]。

转录组学旨在通过系统解析特定生理状态下细胞的转录产物的集合,可动态揭示基因表达差异、剪接变体、RNA 修饰及功能。本研究的 RNA-Seq 结果提示,CA 可能通过 IRAK3 介导的负反馈通路,抑制巨噬细胞的炎症反应,与文献报道的 CA 通过抑制炎症实现巨噬细胞内细菌的清除机制契合^[13, 29]。在 RT-qPCR 和 ELISA 结果中,CA 处理组炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 表达显著下调,细胞培养上清中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 分泌显著降低,上述结果与转录组数据变化趋势一致。此外,RT-qPCR 及 WB 结果显示,IRAK3 表达显著升高,p38 β 表达显著降低,这与 TLR 信号负反馈调节^[32-34]及 IRAK3 通过竞争性抑制 MyD88-IRAK4 复合体形成、阻断 p38 MAPK 通路的分子机制一致^[31-32]。文

献报道,CA 可通过抑制 IRAK4 通路和巨噬细胞 MAPK 信号下调 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等炎症介质的分泌,而 IRAK3 为炎症通路的负调节因子,其表达缺乏会导致 p38 MAPK 过度激活,不利于胞内菌的清除^[36]。综上所述,研究表明 CA 可能通过上调 IRAK3 表达,阻断 IRAK1/2-MyD88-IRAK4 信号通路,抑制下游 p38 MAPK 通路的活性,降低炎症因子表达水平,进而促进巨噬细胞内 MTB 的清除。

本研究存在一定的局限性,因实验采用 MTB 减毒菌株 H37Ra,其与临床野生型和耐药菌株的毒力差异可能导致 CA 作用效果不同,需在后续研究中进行验证;本研究目前仅进行体外细胞实验,缺乏体内动物模型(如小鼠结核模型)以验证 CA 的抗结核效果及安全性;另外,尚需进一步明确 IRAK3 与 p38 的直接相互作用,如是否通过蛋白结合抑制 p38 磷酸化;虽然本研究证实了 IRAK3 对炎症相关通路的调控作用,但 IRAK3 其他下游信号分子(如 I κ B α 等)的磷酸化状态也需进一步探究;此外,后续需进一步构建 IRAK3 敲低或敲除的巨噬细胞株,若在 IRAK3 缺失的细胞中,CA 抑制炎症因子和清除 MTB 的效应被显著削弱或消失,则证明 IRAK3 是 CA 发挥作用的关键节点。

综上所述,本研究证实了 CA 通过重塑宿主免疫稳态发挥抗结核作用,为研发新型宿主导向治疗药物提供了参考依据。CA 作为低毒性、天然植物来源的化合物,未来有望作为抗结核辅助治疗药物,与一线药物联用降低炎症损伤、改善治疗效果。

[参考文献]

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2025[R]. Geneva: World Health Organization, 2025.
- [2] Lange C, Dheda K, Chesov D, et al. Management of drug-resistant tuberculosis[J]. Lancet, 2019, 394(10202): 953-966.
- [3] Bo H, Moure U A E, Yang Y, et al. Mycobacterium tuberculosis-macrophage interaction: molecular updates[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2023, 13:1062963.
- [4] Krishnan V, Nath S, Nair P, et al. Mycobacterium tuberculosis and its clever approaches to escape the deadly macrophage[J]. World J Microbiol Biotechnol, 2023, 39(11): 300.
- [5] Ravesloot-Chávez M M, Van Dis E, Stanley S A. The innate immune response to Mycobacterium tuberculosis infection[J]. Annu Rev Immunol, 2021, 39:611-637.
- [6] Tobin D M. Host-directed therapies for tuberculosis[J].

- Cold Spring Harb Perspect Med, 2015, 5(10):a021196.
- [7] Qiao M, Li S, Yuan J, et al. Delamanid suppresses CX-CL10 expression via regulation of JAK/STAT1 signaling and correlates with reduced inflammation in tuberculosis patients[J]. Front Immunol, 2022, 13:923492.
- [8] 黄欢,韩晓群,邓琴,等.二甲双胍基于PPAR γ /p38MAPK通路抑制结核分枝杆菌感染巨噬细胞的炎症反应[J].免疫学杂志,2023,39(6):493-499.
- [9] Tanner L, Mashabela G T, Omollo C C, et al. Intracellular accumulation of novel and clinically used TB drugs potentiates intracellular synergy[J]. Microbiol Spectr, 2021, 9(2): e0043421.
- [10] Jubilee R, Komala M, Patel S. Therapeutic potential of resveratrol and lignans in the management of tuberculosis[J]. Cell Biochem Biophys, 2024, 82(3): 1809-1823.
- [11] Huang X, Lowrie D B, Fan X Y, et al. Natural products in anti-tuberculosis host-directed therapy[J]. Biomed Pharmacother, 2024, 171:116087.
- [12] Guo J, Yan S, Jiang X, et al. Advances in pharmacological effects and mechanism of action of cinnamaldehyde[J]. Front Pharmacol, 2024, 15:1365949.
- [13] Hua K F, Lin Y B, Chiu H W, et al. Cinnamaldehyde inhibits the NLRP3 inflammasome by preserving mitochondrial integrity and augmenting autophagy in *Shigella sonnei*-infected macrophages[J]. J Inflamm (Lond), 2024, 21(1): 18.
- [14] Kim M E, Na J Y, Lee J S. Anti-inflammatory effects of trans-cinnamaldehyde on lipopolysaccharide-stimulated macrophage activation via MAPKs pathway regulation[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2018, 40(3): 219-224.
- [15] Kim N Y, Kim S, Park H M, et al. Cinnamomum verum extract inhibits NOX2/ROS and PKC δ /JNK/AP-1/NF- κ B pathway-mediated inflammatory response in PMA-stimulated THP-1 monocytes[J]. Phytomedicine, 2023, 112:154685.
- [16] 吴霞,彭章丽,刘梅,等.肉桂醛抗结核分枝杆菌作用及胞内杀菌机制的研究[J].遵义医科大学学报,2025,48(5):455-460.
- [17] Jain N, Kalam H, Singh L, et al. Mesenchymal stem cells offer a drug-tolerant and immune-privileged niche to *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 3062.
- [18] Fioranelli M, Roccia M G, Flavin D, et al. Regulation of inflammatory reaction in health and disease[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(10): 5277.
- [19] Sawicki R, Golus J, Przekora A, et al. Antimycobacterial activity of cinnamaldehyde in a *Mycobacterium tuberculosis* (H37Ra) model[J]. Molecules, 2018, 23(9): 2381.
- [20] Andrade-Ochoa S, Nevárez-Moorillón G V, Sánchez-Torres L E, et al. Quantitative structure-activity relationship of molecules constituent of different essential oils with antimycobacterial activity against *Mycobacterium tuberculosis* and *mycobacterium bovis*[J]. BMC Complement Altern Med, 2015, 15:332.
- [21] 蒋昌河.吡嗪酰胺与中药联合抗结核杆菌的药理学研究[D].贵阳:贵州大学,2020.
- [22] Chao L K, Hua K F, Hsu H Y, et al. Cinnamaldehyde inhibits pro-inflammatory cytokines secretion from monocytes/macrophages through suppression of intracellular signaling[J]. Food Chem Toxicol, 2008, 46(1): 220-231.
- [23] Akshaya B S, Premraj K, Iswarya C, et al. Cinnamaldehyde inhibits enterococcus faecalis biofilm formation and promotes clearance of its colonization by modulation of phagocytes in vitro[J]. Microb Pathog, 2023, 181: 106157.
- [24] Brennan C M, Emerson C P Jr, Owens J, et al. p38 MAPKs-roles in skeletal muscle physiology, disease mechanisms, and as potential therapeutic targets[J]. JCI insight, 2021, 6(12): e149915.
- [25] Díaz-Chamorro S, Garrido-Jiménez S, Barrera-López J F, et al. p38 δ regulates IL6 expression modulating ERK phosphorylation in preadipocytes[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9:708844.
- [26] Yong H Y, Koh M S, Moon A. The p38 MAPK inhibitors for the treatment of inflammatory diseases and cancer[J]. Expert Opin Investig Drugs, 2009, 18(12): 1893-1905.
- [27] Wang J, Liu Y, Guo Y, et al. Function and inhibition of P38 MAP kinase signaling: targeting multiple inflammation diseases[J]. Biochem Pharmacol, 2024, 220: 115973.
- [28] Kobayashi K, Hernandez L D, Galón J E, et al. IRAK-M is a negative regulator of toll-like receptor signaling[J]. Cell, 2002, 110(2): 191-202.
- [29] Chung J, Kim S, Lee H A, et al. Trans-cinnamic aldehyde inhibits aggregatibacter actinomycetemcomitans-induced inflammation in THP-1-derived macrophages via autophagy activation[J]. J Periodontol, 2018, 89(10): 1262-1271.
- [30] 韩福新,武伟男,张蕊.肉桂醛通过抑制 IRAK4/TAK1 信号通路发挥对创伤性脑损伤大鼠的神经保护作用[J].中医学报,2025,40(6):1311-1317.

(下转第 751 页)

- novel tunnel in mycobacterial type III polyketide synthase reveals the structural basis for generating diverse metabolites[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2004, 11(9): 894-900.
- [20] 陈晓博, 李俊. 抗结核药物靶点的结构研究进展[J]. 自然杂志, 2021, 43(5): 335-342.
- [21] Maurya R K, Bharti S, Krishnan M Y. Triacylglycerols: fuelling the hibernating *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2018, 8: 450.
- [22] Kim H, Shin S J. Revolutionizing control strategies against *Mycobacterium tuberculosis* infection through selected targeting of lipid metabolism[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2023, 80(10): 291.
- [23] Shi X J, Shi K X, Han F, et al. Genetic determinants of *Mycobacterium tuberculosis* adaptation and drug efficacy during stationary phase growth [J]. *Microbiol Spectr*, 2025, 13(9): e0109625.
- [24] Martini M C, Alonso M N, Cafiero J H, et al. Loss of glycerol catabolism confers carbon-source-dependent artemisinin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2024, 68(10): e0064524.
- [25] 张春菁, 谢宗会, 万成杰, 等. 结核分枝杆菌外排泵研究进展[J]. 微生物与感染, 2022, 17(3): 163-171.
- [26] Cassio Barreto de Oliveira M, Balan A. The ATP-binding cassette (ABC) transport systems in *Mycobacterium tuberculosis*: structure, function, and possible targets for therapeutics[J]. *Biology (Basel)*, 2020, 9(12): 443-468.
- [27] Zhang Q, Fujita M. Why nature evolved GPI-anchored proteins: unique structure characteristics enable versatile cell surface functions[J]. *Glycobiology*, 2024, 34(12): cwae089.
- [28] Abrahams K A, Besra G S. Mycobacterial cell wall biosynthesis: a multifaceted antibiotic target[J]. *Parasitology*, 2018, 145(2): 116-133.
- [29] Alderwick L J, Harrison J, Lloyd G S, et al. The mycobacterial cell wall--peptidoglycan and arabinogalactan [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2015, 5(8): a021113.
- [30] Sharma A, Islam M H, Fatima N, et al. Elucidation of marine fungi derived anthraquinones as mycobacterial mycolic acid synthesis inhibitors: an in silico approach[J]. *Mol Biol Rep*, 2019, 46(2): 1715-1725.
- [收稿 2026-02-04;修回 2026-06-24]
(编辑:王福军)
- (上接第 740 页)
- [31] Su J, Xie Q, Wilson I, et al. Differential regulation and role of interleukin-1 receptor associated kinase-M in innate immunity signaling[J]. *Cell Signal*, 2007, 19(7): 1596-1601.
- [32] Pantazi I, Al-Qahtani A A, Alhamlan F S, et al. SARS-CoV-2/ACE2 interaction suppresses IRAK-M expression and promotes pro-Inflammatory cytokine production in macrophages[J]. *Front Immunol*, 2021, 12:683800.
- [33] Nguyen H A, Rajaram M V, Meyer D A, et al. Pulmonary surfactant protein A and surfactant lipids upregulate IRAK-M, a negative regulator of TLR-mediated inflammation in human macrophages[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2012, 303(7): L608-L616.
- [34] Kobayashi H, Nolan A, Naveed B, et al. Neutrophils activate alveolar macrophages by producing caspase-6-mediated cleavage of IL-1 receptor-associated kinase-M[J]. *J Immunol*, 2011, 186(1): 403-410.
- [35] Li J, Zheng Z, Liu Y, et al. IRAK-M has effects in regulation of lung epithelial inflammation[J]. *Respir Res*, 2023, 24(1): 103.
- [36] Pal R, Maurya V, Borah S, et al. The SH3-binding domain of chorismate mutase protein of *Mycobacterium tuberculosis* contributes to mycobacterial virulence [J]. *iScience*, 2024, 27(11): 111044.
- [收稿 2026-01-16;修回 2026-04-08]
(编辑:王先恒)