DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20241107.001
网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/46.1049.R.20241107.0946.002

高糖环境下氧化三甲胺对骨髓源性巨噬细胞的影响研究

黄 峥,戴 霞✉,徐子岚,李苏蓝,吴妮晓
(广西医科大学第一附属医院,广西 南宁 530021)

[摘要] **目的**:探究高糖环境下氧化三甲胺(trimethylamine N-oxide,TMAO)对骨髓源性巨噬细胞的影响。**方法**:本研究将骨髓源性巨噬细胞采用CCK-8法测定不同浓度TMAO孵育下细胞活力。将细胞分为3组:对照组、高糖组、和高糖+TMAO组;采用免疫荧光法检测各组细胞激活状态;荧光定量PCR方法检测IL-1β、IL-6和TNF-α表达;蛋白免疫印迹技术检测AMPK、PINK1、Parkin蛋白表达水平。**结果**:高糖状态下TMAO未表现出对骨髓源性巨噬细胞活力有显著影响($P>0.05$);TMAO(300 μmol/L)在高糖状态下可激活骨髓源性巨噬细胞表达($P<0.05$);与对照组相比,高糖组和高糖+TMAO组的炎症因子IL-1β、IL-6和TNF-α水平均显著升高($P<0.05$);高糖组AMPK、PINK1的蛋白表达较对照组明显下降($P<0.05$),而Parkin的蛋白表达无显著差异($P>0.05$),高糖+TMAO组AMPK、PINK1、Parkin的蛋白表达较对照组均有显著下降($P<0.05$)。**结论**:TMAO在高糖环境下对骨髓源性巨噬细胞活力无影响,但会刺激其细胞异常激活和加重炎症反应,其机制可能与AMPK、PINK1、Parkin有关。

[关键词] 巨噬细胞;氧化三甲胺;高糖;炎症
[中图分类号] R587.1 [文献标志码] A [文章编号] 2097-5953(2025)12-0881-07

Effects of trimethylamine N-oxide on bone marrow-derived macrophages under high glucose conditions

HUANG Zheng, DAI Xia✉, XU Zilan, LI Sulan, WU Nixiao
(*The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University*, *Nanning* 530021, *China*)

[*Foundation Project*]: *This study was supported by the National Natural Science Foundation of China* (82160440), *Natural Science Foundation Project of Guangxi Province* (2023*GXNSFAA*026323), *Innovation Project of Guangxi Graduate Education* (*YCSW*2024246)
[*Author*]: *HUANG Zheng*, *E-mail*: 393467158@qq.com.
[*Correspondence to*]: *DAI Xia*, *E-mail*: 2655947220@qq.com.
Received: 2024-07-06 *Revised*: 2024-10-24 *JHMU*, 2025;31(12):881-887

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] **Objective**: To investigate the effects of trimethylamine N-oxide (TMAO) on bone marrow-derived macrophages under high glucose conditions. **Methods**: Bone marrow-derived macrophages were subjected to different concentrations of TMAO using the CCK-8 assay to measure cell viability. Cells were divided into three groups: control, high glucose, and high glucose+TMAO. Immunofluorescence was employed to assess cellular activation states, while fluorescence quantitative PCR was used to detect IL-1β, IL-6 and TNF-α expression levels. Western blot was performed to evaluate AMPK, PINK1 and Parkin protein expression levels. **Results**: Under high glucose conditions, TMAO showed no significant effect on the viability of bone marrow-derived macrophages ($P>0.05$). TMAO at 300 μmol/L significantly activated macrophage expression under high glucose conditions ($P<0.05$). Compared to the control group, levels of inflammatory factors IL-1β, IL-6, and TNF-α were elevated in both the high glucose and high glucose+TMAO groups ($P<0.05$). The protein expression of AMPK and PINK1 in the high glucose group was significantly lower than that in the control group ($P<0.05$), while the expression of Parkin showed no difference ($P>0.05$). In

[基金项目]国家自然科学基金资助项目(82160440);广西自然科学基金资助项目(2023GXNSFAA026323);广西研究生教育创新计划项目(YCSW2024246)
[作者简介]黄峥,E-mail:393467158@qq.com。
[通讯作者]戴霞,E-mail:2655947220@qq.com。
[收稿日期]2024-07-06 [修回日期]2024-10-24 网络出版时间:2024-11-07 12:19:06

the high glucose+TMAO group, the protein expressions of AMPK, PINK1 and Parkin were all significantly decreased compared to the control group ($P<0.05$). **Conclusion**: TMAO does not affect the viability of bone marrow-derived macrophages under high glucose conditions but stimulates abnormal cellular activation and exacerbates inflammatory responses, its mechanisms potentially involve AMPK, PINK1, and Parkin.

[**Key words**] Macrophages; Trimethylamine N-oxide; High glucose; Inflammation

随着社会经济的发展,糖尿病已成为一个重要的公共卫生问题。我国糖尿病患者人数约1.16亿[1],居全球首位。普遍认为,糖尿病导致的胰岛功能障碍会诱发患者体内高糖环境,干扰正常代谢过程,引发炎症等一系列病理变化[2]。巨噬细胞作为一种关键的免疫效应细胞,在调节胰腺微环境稳态中起到重要作用[3]。研究发现,巨噬细胞受不同环境刺激会发挥不同作用[4],糖尿病的高糖环境会引发巨噬细胞失调,增加炎症反应,导致伤口愈合受损[5],因此,深入探讨研究巨噬细胞在糖尿病发病机制中的角色至关重要,进一步深入了解其与炎症之间的关系,有望为治疗糖尿病及其并发症带来新的突破。

氧化三甲胺(trimethylamine N-oxide,TMAO)是由肠道菌群代谢产物三甲胺经肝脏由黄素单加氧化酶氧化生成[6]。动物实验研究发现,糖尿病小鼠体内TMAO浓度是非糖尿病小鼠的10倍[7],TMAO会介导小鼠体内肝脏中胰岛素信号通路使糖耐量受损,并可上调脂肪组织内的促炎因子[8]。临床试验研究表明,糖尿病患者体内TMAO循环水平高于非糖尿病患者,TMAO浓度与糖尿病患病风险呈正相关,并且高浓度TMAO会进一步增加糖尿病心血管相关并发症的发生、发展[9]。有研究显示,TMAO会激活巨噬细胞介导的免疫反应,诱导巨噬细胞极化,使IL-1β、IL-6和TNF-α等促炎因子分泌增多,加重炎症反应[10,11]。AMP-活性蛋白激酶(AMPK)是一种维持细胞能量稳态的关键酶,研究表明,AMPK下调与巨噬细胞促炎状态的发生密切相关[12],且在糖尿病炎症中扮演着重要角色[13]。进一步研究显示,AMPK受到抑制可下调PINK、Parkin的蛋白质表达[14]。然而,目前关于高糖环境和TMAO共同作用于巨噬细胞的相关研究还较少。因此,高糖环境下TMAO是否会对巨噬细胞产生影响值得深入研究。本研究采用小鼠原代骨髓源性巨噬细胞,高糖环境培养后添加TMAO干预处理,探讨高糖环境下TMAO对巨噬细胞活力、表达、炎症以及相关机制的影响,旨在为进一步研究糖尿病发病机制提供新思路。

1 材料与方法

1.1 细胞来源及主要试剂

小鼠原代骨髓巨噬细胞(赛百慷);原代巨噬细胞专用培养基(赛百慷);CCK-8法细胞增殖检测试剂盒(凯基生物);氧化三甲胺(源叶生物);无水葡萄糖(Solarbio);即用型DAPI染液(凯基生物);一抗:兔抗(Affinity);二抗:Cy3 Goat Anti-Rabbit IgG(H+L)(ABclonal);Trizon(CWBIO);RNA提取试剂盒(CWBIO);6×DNA loading buffer(TRANS);BCA蛋白定量试剂盒(Elabscience);内参一抗:鼠抗(TransGen Biotech);目的一抗:兔抗(Abclonal);二抗:HRP conjugated goat anti-mouse IgG(H+L)(Servicebio)。

1.2 试剂配制

30 mol/L葡萄糖配制:精密称取270.3 mg的葡萄糖,加入50 mL培养基溶解,配制成浓度为30 mol/L溶液,0.22 μm过滤除菌;TMAO配制:精密称取本品907.3 mg,加入10 mL的培养基溶解,配制成浓度为800 mol/L的溶液,0.22 μm过滤除菌备用。

1.3 CCK8法检测细胞活力

将细胞按5×10^3个细孔铺于96板中,待细胞贴壁后每孔加入培养基100 μL,先进行高糖造模24 h再加入0~2 000 μmol/L TMAO处理,空白组加入等量培养基,每孔按10∶1加入CCK-8试剂,置于培养箱中孵育3 h;酶标仪在450 nm波长处检测每孔的吸光值。

1.4 细胞分组及处理

将细胞分为对照组、高糖组、高糖+TMAO组。对照组加入等量培养基,高糖组用配置好的高糖溶液孵育24 h,高糖+TMAO组先用配置好的高糖溶液孵育24 h后,再用300 μmol/L TMAO进行处理。

1.5 免疫荧光检测细胞表面标志物

将细胞分为对照组、高糖组、和高糖+TMAO组(300 μmol/L),放入培养皿待细胞长至相应数,PBS洗3次;用4%的多聚甲醛固定15 min,PBS洗培养皿3次。在培养皿中滴加5%BSA,37 ℃封闭30 min。用移液枪吸干培养皿内的封闭液,每个培养皿加入一抗CD68(1∶200)、F4/80(1∶200)冰箱4 ℃过夜孵育。取出培养皿,室温复温45 min,PBS

洗3次,荧光二抗cy3(1∶200),37 ℃孵育30 min,PBS洗3次。滴加DAPI避光孵育5 min,用PBS洗3次,用50%甘油封闭培养皿。培养皿于荧光显微镜下观察并采集图像,DAPI染出来的细胞核在紫外的激发为蓝色,阳性表达为相应荧光素标记的红光。

1.6 荧光定量PCR方法检测IL-1β、IL-6和TNF-α表达

在在培养皿中加入1 mL Trizol裂解液,用移液枪混匀。将细胞悬液转移至1.5 mL离心管中。加入0.2 mL氯仿,旋涡混合器上震荡15 s,冰盒中静置5 min。于4 ℃、12 000 r/min下离心15 min,弃上清,转移至新的预冷1.5 mL RNase-Free离心管中。加入等体积的预冷无水乙醇,混匀。将溶液转移至吸附柱RM中,依次加入700 μL RW1和500 μL RW2缓冲液进行洗涤。于4 ℃、12 000 r/min下离心30 s,转移吸附柱至新的预冷1.5 mL RNase-Free离心管中,冰盒上晾干5～6 min,至乙醇挥发。加入38 μL RNase-Free H_2O,静置3～5 min,充分溶解RNA,于4 ℃、12 000 r/min下离心1 min。用1.3 μL样品在紫外分光光度仪上测定RNA浓度和纯度。根据RNA浓度,配制20 μL的反应体系,进行逆转录(50 ℃,15 min;85 ℃,5 s)。设置引物序列(表1),配制20 μL Real-Time PCR反应体系,在冰上混匀后进行PCR扩增,观察溶解曲线以确保引物特异性,以*β-actin*基因为内参,以空白组为参照,使用$2^{-\triangle\triangle Ct}$法计算mRNA相对表达量。

表1 引物序列

Tab 1 Primer sequences

引物名称	引物序列(5′～3′)	产物长度(bp)	退火温度(℃)
β-actin	F: AGGGAAATCGTGCGTGAC R: CATACCCAAGAAGGAAGGCT	192	58.6
TNF-a	F: CAGGCGGTGCCTATGTCTC R: CGATCACCCCGAAGTTCAGTAG	89	60.3
IL-1β	F: GAAATGCCACCTTTTGACAGTG R: TGGATGCTCTCATCAGGACAG	116	58.9
IL-6	F: TCCGGAGAGGAGACTTCACA R: TTGCCATTGCACAACTCTTTTC	130	59.1

1.7 蛋白免疫印迹技术检测AMPK、PINK1、Parkin蛋白表达水平

弃培养液,每孔加入200 μL的细胞裂解液,用细胞刮将细胞刮至一侧,收集至已做好标记的EP管中。细胞超声,12 000 r/min高速离心机离心10 min取上清液,移至新的EP管(BCA测定),弃沉淀,加入缓冲液,100 ℃煮5 min,放－80 ℃冰箱保存。制备蛋白凝胶后,根据蛋白浓度加入上样体积。60 V压缩蛋白30 min,80 V分离蛋白1 h。根据预计条带的位置裁剪好PVDF膜,甲醇激活15 s。切好大小合适含有内参或目的条带的胶。转至转膜仪上,300 mA,1 h 30 min转膜,完成后取出。用1×TBST配置3%的脱脂牛奶封闭液,封闭1 h。一抗4 ℃孵育过夜,二抗孵育2 h,用发光液浸湿PVDF膜后放置于超高灵敏度化学发光成像系统样品放置区运行程序显影成像。

1.8 统计学处理

数据分析使用SPSS 26.0统计软件进行。结果用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组比较采用单因素方差分析,而组间的两两比较则使用LSD-*t*检验。组内比较则采用配对样本*t*检验,$P<0.05$为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度TMAO对高糖环境下骨髓源性巨噬细胞活力的影响

将细胞按5×10^3个细孔铺于96板中高糖环境下培养24 h后,分别用200、400、600、800、1 000、2 000 μmol/L TMAO孵育24 h后CCK-8法检测细胞活力,结果显示各组细胞活力无统计学显著差异($F=2.254$,$P=0.067$),见图1。

2.2 TMAO对高糖状态下骨髓源性巨噬细胞激活状态的影响

采用免疫荧光实验检测对照组、高糖组、高糖＋TMAO组的骨髓巨噬细胞CD68和F4/80的表达。结果表明,高糖组CD68的表达与对照组无差异($P=0.204$);高糖＋TMAO组CD68的表达较高糖组和对照组显著升高($P=0.001$);高糖组和高糖＋TMAO组间差异有统计学意义($P=0.003$),见表

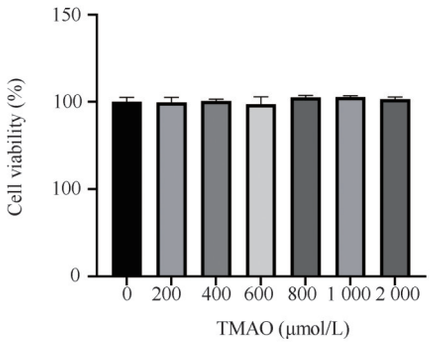


图1　氧化三甲胺对高糖环境下巨噬细胞活力的影响

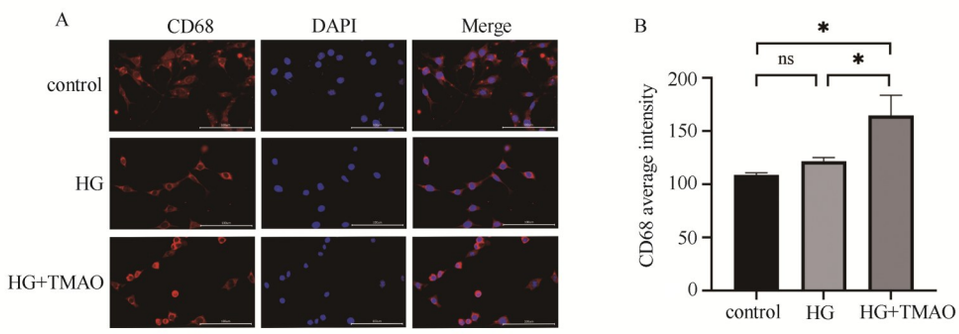
Fig 1　Effect of trimethylamine N-oxide on macrophage viability under high glucose conditions

2和图2。高糖组的F4/80表达较对照组显著升高（P=0.001），并且高糖＋TMAO组较对照组和高糖组也有显著增加（P=0.031），高糖组和高糖＋TMAO组间差异无统计学意义（P=0.237），见表2和图3。

表2　各组细胞免疫荧光强度比较（$\bar{x}\pm s$）

Tab2　Comparison of immunofluorescence intensity of cells in each group（$\bar{x}\pm s$）

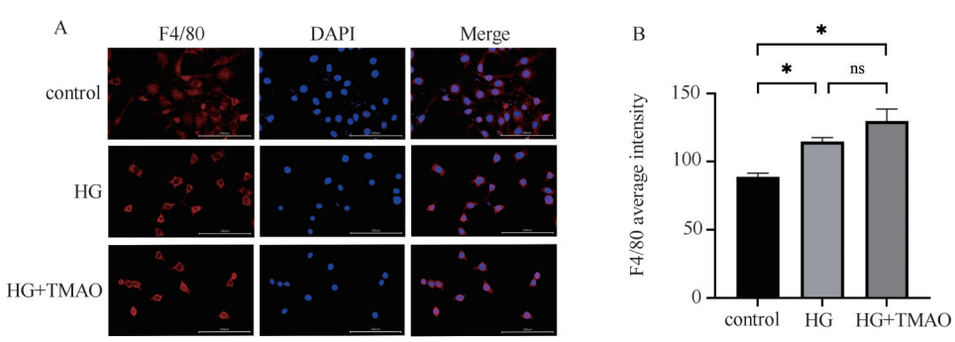
项目	对照组	高糖组	高糖＋TMAO组	F	P
CD68	108.50±2.23	121.59±3.38	164.59±19.04	20.441	0.002
F4/80	88.86±2.62	114.67±3.00	129.71±8.86	40.705	<0.001



control：对照组；HG：高糖组；HG＋TMAO：高糖＋TMAO组；组间比较，$^{*}P$<0.05，^{ns}P>0.05

图2　各组骨髓源性巨噬细胞表面标志物CD68的平均免疫荧光强度（100×）

Fig 2　Average immunofluorescence intensity of the surface marker CD68 on bone marrow-derived macrophages in each group（100×）



control：对照组；HG：高糖组；HG＋TMAO：高糖＋TMAO组；组间比较，$^{*}P$<0.05，^{ns}P>0.05

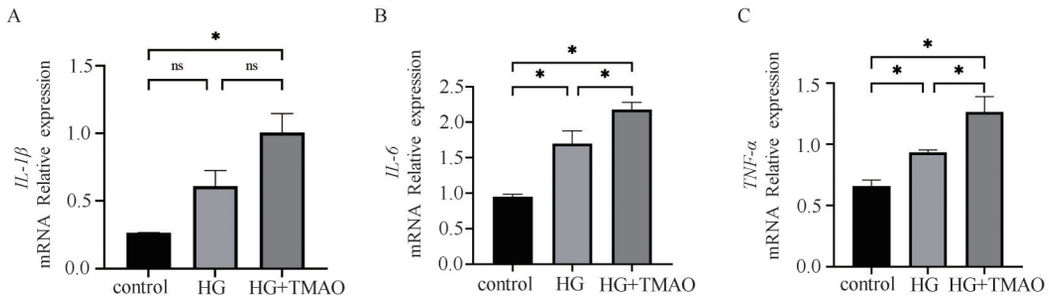
图3　各组骨髓源性巨噬细胞表面标志物F4/80的平均免疫荧光强度（100×）

Fig 3　Average immunofluorescence intensity of the surface marker F4/80 on bone marrow-derived macrophages in each group（100×）

2.3　TMAO对高糖状态下骨髓源性巨噬细胞炎症的影响

用荧光定量PCR方法检测各组骨髓源性巨噬细胞中IL-1β、IL-6和TNF-α水平。结果显示，高糖组骨髓源性巨噬细胞IL-1β水平表达与对照组相比无显著性差异（P=0.101），高糖＋TMAO组较对照组显著升高（P=0.035），高糖组与高糖＋TMAO组间差异无统计学意义（P=0.062）；高糖组的骨髓源性巨噬细胞IL-6水平表达较对照组有显著性提高（P<0.001），高糖＋TMAO也显著高于对照组（P<

0.001),高糖组与高糖+TMAO组间差异有统计学意义(P=0.003);与对照组相比,高糖组TNF-α水平表达(P=0.005)和高糖+TMAO组表达(P<0.001)均有显著上升,且高糖+TMAO组较高糖组的表达上升更显著(P=0.002),见表3和图4。



control:对照组;HG:高糖组;HG+TMAO:高糖+TMAO组;组间比较,*P<0.05,ns$P$>0.05

图4 各组炎症因子*IL-1β*、*IL-6*和*TNF-α*水平的比较

Fig 4 Comparison of *IL-1β*, *IL-6*, and *TNF-α* levels in each group

表3 各组炎症因子表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 3 Comparison of inflammatory factor levels in each group ($\bar{x}\pm s$)

项目	对照组	高糖组	高糖+TMAO组	F	P
IL-1β	0.27±0.01	0.61±0.11	1.01±0.14	37.292	<0.001
IL-6	0.95±0.35	1.70±1.83	2.18±0.10	76.210	<0.001
TNF-α	0.66±0.48	0.93±0.22	1.26±0.13	44.799	<0.001

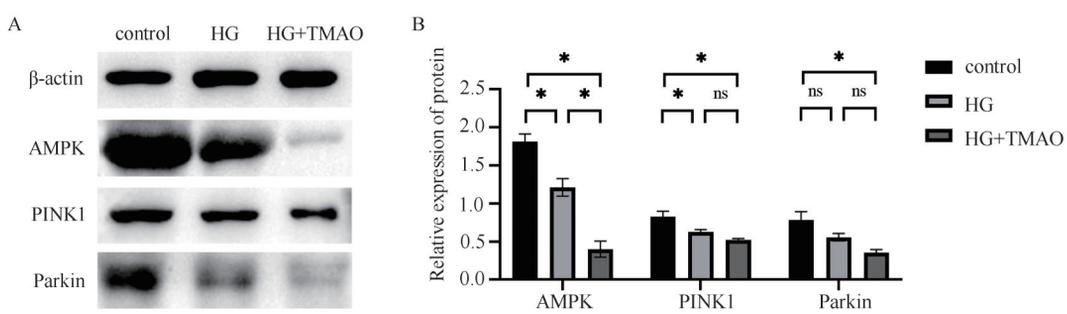
2.4 各组细胞AMPK、PINK1、Parkin蛋白表达水平

Western blot法检测各组骨髓源性巨噬细胞的AMPK、PINK1、Parkin蛋白表达水平。结果显示:与对照组比较,高糖组骨髓源性巨噬细胞AMPK的蛋白表达明显降低(P=0.007),高糖+TMAO组表达降低更显著(P<0.001),高糖组与高糖+TMAO两组间的差异有统计学意义(P=0.002);高糖组骨髓源性巨噬细胞PINK1蛋白水平表达与对照组相比显著降低(P=0.019),高糖+TMAO组较对照组也显著降低(P=0.003),高糖组与高糖+TMAO组间差异无统计学意义(P=0.151);高糖组骨髓源性巨噬细胞Parkin蛋白表达水平与对照组无显著差异(P=0.069),高糖+TMAO组较对照组表达显著降低(P=0.006),高糖组与高糖+TMAO组间表达无显著差异(P=0.098),见表4和图5。

表4 各组蛋白相对表达量比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 4 Comparison of relative protein expression levels in each group ($\bar{x}\pm s$)

项目	对照组	高糖组	高糖+TMAO组	F	P
AMPK	1.81±0.18	1.21±0.19	0.40±0.18	43.502	<0.001
PINK1	0.83±0.12	0.62±0.50	0.52±0.30	11.968	0.008
Parkin	0.78±0.19	0.56±0.08	0.36±0.07	8.699	0.017



control:对照组;HG:高糖组;HG+TMAO:高糖+TMAO组;组间比较,*P<0.05,ns$P$>0.05

图5 各组AMPK、PINK1、Parkin蛋白表达水平比较

Fig 5 Comparison of AMPK, PINK1, and Parkin protein expression levels in each group

3 讨论

全球糖尿病的患病率和发病率持续上升，成为人类痛苦和死亡的重要原因[15]。快速的经济发展和城市化导致世界许多地方的糖尿病负担加重[16]。肠道菌群代谢衍生物TMAO在糖尿病及其并发症的发生发展中起到了重要作用[17]，在这样的背景下，理解和干预肠道菌群代谢产物对糖尿病的影响变得尤为重要。

巨噬细胞是参与免疫反应的重要免疫细胞[18]，在组织修复和维持身体稳态中发挥重要作用[19]。并且，巨噬细胞葡萄糖氧化还与体重减轻、胰岛素抵抗降低和脂肪组织炎症减少有关[20]，研究其作用机制对防治糖尿病及其并发症有重要价值。

目前的证据表明，血浆TMAO高浓度会使体内促炎因子IL-1β和TNF-α水平升高，抗炎因子IL-10水平降低[21]。Mohammadi等[22]研究发现TMAO会使巨噬细胞异常活化，并诱导其氧化应激。Geng等[23]进一步研究发现，TMAO处理后巨噬细胞中IL-6、TNF-α和ICAM-1的蛋白质和mRNA表达大幅增加。Janeiro等[24]研究也证实了TMAO会使巨噬细胞RAW264.7炎症因子IL-1β、IL-6和TNF-α表达加重，这与本研究的发现一致。本研究发现高糖环境下TMAO能够刺激巨噬细胞异常表达，显著增加巨噬细胞促炎因子IL-1β、IL-6和TNF-α的分泌，这表明TMAO可能在糖尿病炎症过程中发挥重要作用。

AMPK是一种多聚体的丝/苏氨酸激酶，能量缺乏时，AMPK表达失活。AMPK除了调节各种能量代谢外，还参与了细胞的其他如炎症反应、细胞凋亡和细胞自噬等过程[25]。有学者报道高浓度TMAO会抑制AMPK表达[26]，AMPK表达受到抑制时可下调PINK1、Parkin的蛋白质导致细胞自噬水平下降[27]。Qing等[28]的研究显示，二甲双胍可以通过上调AMPK信号通路诱导改善巨噬细胞炎症，改善创面愈合情况。Pan等[29]的研究发现，AMPK信号通路的激活，可以改善巨噬细胞炎症表达，但其机制尚不清楚。进一步研究显示，PINK1、Parkin线粒体自噬信号通路可能参与调控巨噬细胞活化[30]，Li等[31]的研究发现PINK1、Parkin通路的上调，会使血清中促炎因子IL-1β、IL-6和TNF-α降低，抑炎因子IL-10表达升高，表明PINK1、Parkin通路可能在控制炎症中同样起到重要作用。本研究中显示高糖环境下TMAO会下调巨噬细胞AMPK、PINK1、Parkin蛋白表达水平，这也表明TMAO可能是通过影响巨噬细胞能量代谢和自噬途径来影响其表达和炎症因子水平。

综上，本研究通过探讨高糖环境下TMAO对巨噬细胞的影响，可能有助于减轻糖尿病炎症反应并改善其相关的并发症，为开发新的治疗策略提供了新的靶点。尽管本研究提供了关键的初步数据，但也存在一些局限性。首先，使用的体外巨噬细胞模型可能无法完全模拟体内巨噬细胞在复杂糖尿病微环境中的反应。未来的研究可以考虑使用动物模型验证TMAO的作用，并进一步探索其在巨噬细胞线粒体自噬中作用机制。此外，应进一步研究TMAO与其他糖尿病相关分子之间的相互作用，以全面理解其在疾病发展中的角色。

作者贡献度说明：

戴霞：提出课题思路和进行实验指导；黄峥：开展相关实验并进行文章书写；徐子岚：进行数据分析；李苏蓝、吴妮晓：进行图表制作和核对。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

1 Li Y, Teng D, Shi X, et al. Prevalence of diabetes recorded in mainland China using 2018 diagnostic criteria from the American Diabetes Association: National cross sectional study[J]. BMJ, 2020, 369: m997.

2 Nichols GA, Hillier TA, Erbey JR, et al. Congestive heart failure in type 2 diabetes: Prevalence, incidence, and risk factors[J]. Diabetes Care, 2001, 24(9): 1614-1619.

3 Ryu S, Lee EK. The pivotal role of macrophages in the pathogenesis of pancreatic diseases[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(11): 5765.

4 Viola A, Munari F, Sánchez-Rodríguez R, et al. The metabolic signature of macrophage responses[J]. Front Immunol, 2019, 10: 1462.

5 Clayton SM, Shafikhani SH, Soulika AM. Macrophage and neutrophil dysfunction in diabetic wounds[J]. Adv Wound Care (New Rochelle), 2024, 13(9): 463-484.

6 Zhu W, Buffa JA, Wang Z, et al. Flavin monooxygenase 3, the host hepatic enzyme in the metaorganismal trimethylamine N-oxide-generating pathway, modulates platelet responsiveness and thrombosis risk [J]. J Thromb Haemost, 2018, 16(9): 1857-1872.

7 Dambrova M, Latkovskis G, Kuka J, et al. Diabetes is associated with higher trimethylamine N-oxide plasma levels[J]. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2016, 124(4): 251-256.

8 Gao X, Liu X, Xu J, et al. Dietary trimethylamine N-oxide exacerbates impaired glucose tolerance in mice fed a

high fat diet[J]. J Biosci Bioeng, 2014, 118(4): 476-481.
9 Zhuang R, Ge X, Han L, et al. Gut microbe-generated metabolite trimethylamine N-oxide and the risk of diabetes: A systematic review and dose-response meta-analysis[J]. Obes Rev, 2019, 20(6): 883-894.
10 Wu K, Yuan Y, Yu H, et al. The gut microbial metabolite trimethylamine N-oxide aggravates GVHD by inducing M1 macrophage polarization in mice[J]. Blood, 2020, 136(4): 501-515.
11 Atri C, Guerfali FZ, Laouini D. Role of human macrophage polarization in inflammation during infectious diseases[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(6): 1801.
12 Calixto MC, LintomenL, Andre DM, et al. 2013. Metformin attenuates the exacerbation of the allergic eosinophilic inflammation in high fat-diet-induced obesity in mice[J]. PLoS One, 2013, 8(10): e76786.
13 Zhang Z, Zheng Y, Chen N, et al. San Huang Xiao Yan recipe modulates the HMGB1-mediated abnormal inflammatory microenvironment and ameliorates diabetic foot by activating the AMPK/Nrf2 signalling pathway[J]. Phytomedicine, 2023, 118: 154931.
14 Wang T, Zhu Q, Cao B, et al. Cadmium induces mitophagy *via* AMP-activated protein kinases activation in a PINK1/Parkin-dependent manner in PC12 cells[J]. Cell Prolif, 2020, 53(6): e12817.
15 Khan MA, Hashim MJ, King JK, et al. Epidemiology of type 2 diabetes-global burden of disease and forecasted trends[J]. J Epidemiol Glob Health, 2020, 10(1): 107-111.
16 Onyango EM, Onyango BM. The rise of noncommunicable diseases in Kenya: An examination of the time trends and contribution of the changes in diet and physical inactivity[J]. J Epidemiol Glob Health, 2018, 8(1-2): 1-7.
17 Yu X, Wang Y, Yang R, et al. Trimethylamine N-oxide predicts cardiovascular events in coronary artery disease patients with diabetes mellitus: A prospective cohort study[J]. Front Endocrinol, 2024, 15: 1360861.
18 Weisberg SP, McCann D, Desai M, et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue[J]. J Clin Invest, 2003, 112(12): 1796-1808.
19 Rasheed A, Rayner KJ. Macrophage responses to environmental stimuli during homeostasis and disease[J]. Endocr Rev, 2021, 42(4): 407-435.
20 Min BK, Park S, Kang HJ, et al. Pyruvate dehydrogenase kinase is a metabolic checkpoint for polarization of macrophages to the M1 phenotype[J]. Front Immunol, 2019, 10: 944.
21 Chen K, Zheng X, Feng M, et al. Gut microbiota-dependent metabolite trimethylamine N-oxide contributes to cardiac dysfunction in western diet-induced obese mice[J]. Front Physiol, 2017, 8: 139.
22 Mohammadi A, Vahabzadeh Z, Jamalzadeh S, et al. Trimethylamine-N-oxide, as a risk factor for atherosclerosis, induces stress in J774A.1 murine macrophages[J]. Adv Med Sci, 2018, 63(1): 57-63.
23 Geng J, Yang C, Wang B, et al. Trimethylamine N-oxide promotes atherosclerosis *via* CD36-dependent MAPK/JNK pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 97: 941-947.
24 Janeiro MH, Solas M, Orbe J, et al. Trimethylamine N-oxide as a mediator linking peripheral to central inflammation: An *in vitro* study[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(24): 17557.
25 Sen K, Pati R, Jha A, et al. NCoR1 controls immune tolerance in conventional dendritic cells by fine-tuning glycolysis and fatty acid oxidation[J]. Redox Biol, 2023, 59: 102575.
26 Zhou S, Xue J, Shan J, et al. Gut-flora-dependent metabolite trimethylamine-N-oxide promotes atherosclerosis-associated inflammation responses by indirect ROS stimulation and signaling involving AMPK and SIRT1[J]. Nutrients, 2022, 14(16): 3338.
27 Lee SB, Kim JJ, Han SA, et al. The AMPK-Parkin axis negatively regulates necroptosis and tumorigenesis by inhibiting the necrosome[J]. Nat Cell Biol, 2019, 21(8): 940-951.
28 Qing L, Fu J, Wu P, et al. Metformin induces the M2 macrophage polarization to accelerate the wound healing *via* regulating AMPK/mTOR/NLRP3 inflammasome singling pathway[J]. Am J Transl Res, 2019, 11(2): 655-668.
29 Pan T, Chang Y, He M, et al. β-Hydroxyisovalerylshikonin regulates macrophage polarization *via* the AMPK/Nrf2 pathway and ameliorates sepsis in mice[J]. Pharm Biol, 2022, 60(1): 729-742.
30 Shin HJ, Park H, Shin N, et al. Pink1-mediated chondrocytic mitophagy contributes to cartilage degeneration in osteoarthritis[J]. J Clin Med, 2019, 8(11):1849.
31 Li B, Shen E, Wu Z, et al. BMSC-derived exosomes attenuate rat osteoarthritis by regulating macrophage polarization through PINK1/Parkin signaling pathway[J]. Cartilage, 2024, 20: 19476035241245805.

[**本文编辑**] 雷 燕 宋睿璞 陈思润