

杨建伟,何树梅,樊红艳,等. 肿瘤坏死因子在斑马鱼-海分枝杆菌模型中的研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(4): 578-582.

Yang JW, He SM, Fan HY, et al. Research progress regarding the role of tumor necrosis factor in a zebrafish-mycobacterium marinum model[J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(4): 578-582.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2020.04.021

# 肿瘤坏死因子在斑马鱼-海分枝杆菌模型中的研究进展

杨建伟,何树梅\*,樊红艳,刘红旭

(西藏民族大学基础医学院,陕西 咸阳 712082)

**【摘要】** 肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)对于结核病的发生和控制是至关重要的。斑马鱼-海分枝杆菌模型是结核研究中应用的越来越多的模型,该模型能够帮助我们探讨 TNF 与巨噬细胞、肉芽肿、分枝杆菌三者之间的关系,更好地了解影响 TNF 生成的相关因素和其在结核病程中所发挥的作用。

**【关键词】** 结核病;肿瘤坏死因子;斑马鱼;海分枝杆菌;巨噬细胞

**【中图分类号】** Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2020)04-0578-05

## Research progress regarding the role of tumor necrosis factor in a zebrafish-mycobacterium marinum model

YANG Jianwei, HE Shumei\*, FAN Hongyan, LIU Hongxu

(School of Basic Medicine, Xizang Minzu University, Xianyang 712082, China)

Corresponding author: HE Shumei. E-mail: 573447802@qq.com

**【Abstract】** Tumor necrosis factor (TNF) is essential for the development and control of tuberculosis. The zebrafish-marine mycobacterium model is one of a growing number of models currently used in tuberculosis research. This model can help us to explore the relationship between TNF and macrophages, granuloma, or mycobacterium, so as to better understand the relevant factors affecting TNF production and the role of TNF in the course of tuberculosis.

**【Keywords】** tuberculosis; tumor necrosis factor; zebrafish; Mycobacterium marinis; macrophage

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

结核病(tuberculosis)作为“死亡”和“消耗性疾病”的代名词,数百年来困扰着医生和科学家们,对于医疗水平高度发展的今天,结核病仍然危及着全世界人民的健康<sup>[1]</sup>。对于结核病的预防和治疗,我们依旧依赖于唯一的疫苗——卡介苗(Bacillus Calmette-Guerin Vaccine, BCG vaccine)并不能有效的预防结核病,几种结核病治疗药物存在着治疗周期长,容易耐药等缺点<sup>[1]</sup>。再加上潜伏性结核病的

多发,使结核病的预防和治疗依旧是科学家们研究的难题。在2019年世界卫生组织发表的结核病报告中显示,2018年全世界范围内仍有约1000万人发病,并且这一数字在近几年保持稳定<sup>[2]</sup>。出于结核病情严峻性,研究人员对它的研究从未停止,而在结核病中发挥重要作用的肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)一直备受关注。肿瘤坏死因子正如它的名字一样,这是一种能使肿瘤细胞出血性

**【基金项目】** 西藏自治区自然科学基金(XZ2019ZR G-37(z))。

Funded by Natural Science Foundation of Xizang (Tibet) Autonomous Region (XZ2019ZR G-37(z)).

**【作者简介】** 杨建伟(1995—),男,硕士在读,主要从事高原相关疾病研究。Email: 945151689@qq.com

**【通信作者】** 何树梅,女,硕士,副教授,硕士研究生导师,主要从事机体免疫研究。Email: 573447802@qq.com

坏死的细胞因子,是一种强大的抗癌细胞因子,并且是调控炎症的主要细胞因子<sup>[3]</sup>。除了感染分枝杆菌的巨噬细胞会产生肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )以外,T淋巴细胞、CD4和CD8细胞亚群、自然杀伤细胞(natural killer cell,NK)等也参与了肿瘤坏死因子的产生<sup>[4]</sup>。TNF是控制结核病的关键因子,可以通过诱导巨噬细胞的其他免疫细胞的聚集形成肉芽肿发挥保护作用。TNF拮抗剂治疗疾病将会导致结核病的再激活风险增加,并且TNF的中和会导致小鼠肉芽肿的组织紊乱,巨噬细胞发生溶解,表明TNF对于维持肉芽肿的结构是必不可少的<sup>[5]</sup>。所以在结核进程中,TNF是一种非常重要的细胞因子,研究TNF在结核病中的作用和机制能够更好的了解结核病。结核病的研究需要动物模型,对于一些常用的动物模型如鼠,某些非人类灵长类动物,受到成本和道德伦理的制约,并且老鼠复制人类病理能力也有局限性<sup>[6]</sup>。近些年来,斑马鱼-海分枝杆菌模型走进人们的视线,越来越多的运用于结核病的研究。这是由于斑马鱼(*Danio rerio*, Zebrafish)幼鱼通体透明易于观察,特别是可以独立研究先天免疫与细菌感染,而海分枝杆菌(*Mycobacterium marinis*)作为感染性的致病菌,和结核分支杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)在感染宿主方面有着类似致病机理和毒力因子,同样可以存活于巨噬细胞内<sup>[7]</sup>。基因组研究表明这两个物种之间有着密切的亲缘关系,因为它们有大约3000个同源基因,平均氨基酸同源率为85%<sup>[8]</sup>。传统的结核菌研究只能在生物安全三级实验室进行,而海分枝杆菌的主要宿主是鱼类和两栖类,对人的感染是机会型的,所以海分枝杆菌的研究可以在生物安全二级实验室进行。由于海分枝杆菌感染斑马鱼以后,同样会诱导受感染的巨噬细胞聚集,形成结核性肉芽肿<sup>[9]</sup>,能够很大程度上模拟人类结核病程。并且Praveen等<sup>[10]</sup>研究发现鱼类与哺乳动物的TNF- $\alpha$ 具有大致相同的基因同源性,并且生物学功能相似。所以应用这个模型去探究TNF在结核病中扮演的角色,可以很大程度上作为TNF与人类结核病作用的参照。TNF的缺乏会导致人结核病发病几率增加,并且结核分支杆菌感染小鼠肉芽肿组织紊乱,结构破坏<sup>[5]</sup>,鉴于目前TNF信号在此过程中的作用尚不明确,因此需要对TNF在结核病及其模型中的作用进行综述,本文是对近些年来TNF在斑马鱼-海分枝杆菌模型上的研究进展进行综述。

## 1 在斑马鱼-海分枝杆菌模型中影响TNF分泌的因素

### 1.1 细菌因素

#### 1.1.1 海分枝杆菌 SecA2 分泌位点对 TNF 的影响

细菌存在蛋白输送系统,可以将蛋白质从细胞质转运到细胞外,这一作用在细菌的生理和致病机制中发挥着重要作用。除了正常的 SecA 蛋白输送系统外,分枝杆菌还有一个蛋白分泌位点 SecA2,这是一种与运输相关的 ATP 酶<sup>[11]</sup>。分枝杆菌 SecA2 蛋白分泌位点可以阻滞巨噬细胞吞噬小体的成熟,使细菌在巨噬细胞中得以继续生长<sup>[12]</sup>。在斑马鱼模型中,Watkins 等<sup>[13]</sup>使用缺乏 SecA2 分泌位点的海分枝杆菌注入斑马鱼后很快被清除,无法在斑马鱼体内寄生,证明海分枝杆菌上的 SecA2 分泌位点是其生长和生存所必须的。接下来使用缺乏 SecA2 分泌位点的海分枝杆菌研究 SecA2 分泌位点与 TNF- $\alpha$  分泌间的关系,发现无论是在小鼠还是斑马鱼体内,缺乏 SecA2 分泌位点的菌株诱导生成的 TNF- $\alpha$  量都低于正常菌株所诱导生成的 TNF- $\alpha$  的量,并且实验后期发现正常菌株在斑马鱼体内诱导的 TNF- $\alpha$  量是缺乏 SecA2 分泌位点菌株的 4 倍,虽然其中的机制尚不清楚,但是 SecA2 分泌位点明显在细菌感染后期增加了 TNF- $\alpha$  的合成<sup>[13]</sup>。

#### 1.1.2 卡介苗接种对 TNF 生成的影响

TNF 的发现和卡介苗的关系很是紧密,TNF 最初是由于将脂多糖(Lipopolysaccharide,LPS)注射到接种过卡介苗的小鼠体内后,检测小鼠血清发现的一种可以使肿瘤组织或细胞坏死的细胞因子<sup>[14]</sup>。一直以来,卡介苗作为唯一的结核病疫苗被广泛使用,但是接种卡介苗的人并不会不患结核病。使用斑马鱼-海分枝杆菌模型能很好的呈现接种卡介苗以后机体的变化。与人类一样,斑马鱼接种卡介苗以后并不能完全避免海分枝杆菌的感染,但是斑马鱼抵抗力明显增强,探究斑马鱼接种卡介苗后细胞因子的变化,发现卡介苗疫苗能够减少海分枝杆菌诱导的 TNF 表达,表明斑马鱼接种卡介苗会限制 TNF 的过度表达,有助于减少炎症<sup>[15]</sup>。与斑马鱼中的发现相似,接种卡介苗的小鼠体内 TNF- $\alpha$  显著降低,并且接种疫苗的小鼠体内分支杆菌数量明显减少,减轻了小鼠的肺部损害<sup>[16]</sup>。

### 1.2 宿主因素

#### 1.2.1 白三烯 A4 水解酶 (Leukotriene A4 Hydrolase, LTA4H) 对 TNF 的影响

白三烯水解酶是参与花生四烯酸代谢过程的一种酶,其作用是可以将 LTA4 转化为其另一种强效促炎物质 LTB<sub>4</sub><sup>[17]</sup>。当斑马鱼感染海分枝杆菌时,无论 LTA<sub>4</sub>H 的表达水平过高或者过低都会引起幼鱼对分枝杆菌感染的高敏感性,使分枝杆菌数量增多,这一反应经研究发现是与 TNF 表达相联系的<sup>[18]</sup>。LTA<sub>4</sub>H 缺乏的时候, TNF 会缺乏,表现为细菌的数量的增加,最后使得巨噬细胞裂解,可以通过加入 TNF 进行补充控制细菌生长,而 LTA<sub>4</sub>H 量过高的时候 TNF 高表达,虽然细菌的量有所减少,但是巨噬细胞还是会坏死,能够使用敲除 TNF 基因的方法进行正常表达<sup>[18]</sup>。除此之外,还可以通过抑制 LTA<sub>4</sub>H 的生成降低 TNF 的表达进而控制炎症。在大鼠身上的研究发现,通过使用白三烯 A<sub>4</sub> 水解酶抑制剂,可以显著抑制 TNF 的生成<sup>[19]</sup>。

### 1.2.2 糖酵解抑制剂对 TNF 生成的影响

当结核分枝杆菌感染宿主时,机体的先天免疫在对抗细菌的感染中发挥非常重要的作用,而巨噬细胞(macrophage)作为先天免疫中重要的一环,一些对巨噬细胞起作用的因素可能会影响巨噬细胞与分枝杆菌之间的作用。巨噬细胞受到结核分枝杆菌感染时会发生代谢转变,从氧化磷酸化转变为糖酵解,使巨噬细胞内分枝杆菌的存活受到限制<sup>[20]</sup>。糖酵解对结核分枝杆菌的作用为结核辅助治疗提供了新的研究方向,接下来研究人员使用 2-脱氧葡萄糖(2-deoxy-d-glucose, 2-DG)糖酵解抑制剂进一步研究相关机制。2-DG 作为一种葡萄糖类似物,可以抑制糖酵解,同时也是一种天然抗生素,已然发现它在治疗癌症、病毒感染、抗衰老、癫痫等相关疾病中有显著疗效<sup>[21]</sup>。在 2-DG 预处理过的海分枝杆菌感染的斑马鱼模型中,海分枝杆菌的增长受到限制,使幼鱼得到保护性生长,并且这种作用与 TNF- $\alpha$  相关,因为使用 2-DG 预处理后,斑马鱼体内 TNF- $\alpha$  表达增加。与此相反的是,当斑马鱼被海分枝杆菌感染后再加入 2-DG 并不能阻止海分枝杆菌的增长<sup>[22]</sup>。这与之前在小鼠模型中的研究一致,感染分枝杆菌的小鼠使用 2-DG 处理后,发现肺部细菌数量增加,并且在离体的小鼠肺部细胞中发现 TNF- $\alpha$  分泌减少<sup>[23]</sup>。总之,我们可以知道的是糖酵解对于结核感染来说具有双面性,2-DG 预处理可以增加 TNF- $\alpha$  表达量,进而控制斑马鱼体内海分枝杆菌的增长。而当宿主感染分枝杆菌以后再阻断糖酵解,则会损伤宿主免疫能力,导致分枝杆菌的

增长。

## 2 TNF 与斑马鱼结核性肉芽肿之间的关系

结核分枝杆菌感染宿主发病会形成典型的肉芽肿病理结构。把海分枝杆菌注入斑马鱼体内,发现斑马鱼对这一细菌感染十分敏感,会在体内产生肉芽肿一样的病理结构,而且还能观察到发生干酪样坏死,与人类结核性肉芽肿很是相似<sup>[24]</sup>。斑马鱼因为其幼鱼的通体透明性,能够很好的观察肉芽肿病理进展和研究它的形成机制。肉芽肿的形成需要巨噬细胞的参与,而巨噬细胞又与分枝杆菌存在紧密联系。Clay 等<sup>[25]</sup>发现,在没有巨噬细胞的条件下,海分枝杆菌不能迁移到宿主其他组织,表明巨噬细胞介导了海分枝杆菌的体内迁移。而巨噬细胞对海分枝杆菌的这种运输能力并不需要 TNF 的参与,因为在敲除 TNF 受体的斑马鱼幼鱼中,巨噬细胞仍然能够携带海分枝杆菌进行跨膜运输<sup>[26]</sup>。对于巨噬细胞来说, TNF 的作用是将那些没有被感染的巨噬细胞募集到感染初始部位和使已经感染的或者没有被感染的巨噬细胞聚集到一起<sup>[27]</sup>。当分枝杆菌感染巨噬细胞时,巨噬细胞上的 TLR2 受体产生的肿瘤坏死因子,称之为 TNF- $\alpha$ <sup>[28]</sup>。由于 TNF 与巨噬细胞之间的紧密关系,而肉芽肿的形成主要是巨噬细胞和其他免疫细胞的聚集,那么 TNF 与肉芽肿间必然有着联系。Clay 等<sup>[26]</sup>后期实验发现,在缺乏 TNF 信号的斑马鱼中,肉芽肿形成数量增多,体积增大,并且细菌的生长和体内传播加速,这是由于 TNF 信号缺乏导致肉芽肿破损或者单个巨噬细胞死亡加速释放胞内海分枝杆菌。类似的是,在 TNF 缺乏的小鼠体内,分枝杆菌增长速度加快,数量增多,而肉芽肿形成不受影响,只是形成延迟,结构紊乱<sup>[5,29]</sup>。斑马鱼实验研究表明,肉芽肿的形成并不需要 TNF,而是通过抑制海分枝杆菌的生长和防止巨噬细胞死亡来维持肉芽肿的完整性,所以 TNF 对肉芽肿的维持至关重要<sup>[26]</sup>。

## 3 TNF 介导的巨噬细胞的坏死

TNF 信号缺乏会导致巨噬细胞的坏死,而 TNF 表达过量也会对巨噬细胞有影响。研究发现, TNF 过多会使得活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成增加,刚开始时可以杀死斑马鱼体内海分枝杆菌,对机体有益,但随着 ROS 的增加,巨噬细胞会发生坏死,胞内细菌释放到胞外,对机体产生有害影



响<sup>[30]</sup>。高 TNF 条件下的巨噬细胞坏死是通过 RIP1-RIP3 激酶途径介导的,该途径介导的坏死需要 ROS 的参与<sup>[30]</sup>。细胞内的 ROS 主要是由线粒体生成的,线粒体的氧化损伤可以增加线粒体释放如细胞色素 c (cytc) 这样的蛋白通过线粒体外膜透化作用进入细胞质,从而激活细胞的凋亡机制<sup>[31]</sup>。所以感染结核分枝杆菌的巨噬细胞 RIP1-RIP3 激酶坏死途径需要线粒体产生 ROS 进行介导。高 TNF 除了在线粒体途径诱导坏死,还有别的途径。通过抑制组织蛋白酶 D, BID 和 BAX 蛋白, TNF 介导的感染巨噬细胞的坏死也被抑制,这个途径是由溶酶体介导的,溶酶体神经酰胺通过激活组织蛋白酶 D 导致 BID 激活进而激活 BAX 介导巨噬细胞的坏死<sup>[32]</sup>。而 BAX 介导坏死的机制是通过 RyR 受体作用于内质网,促进  $Ca^{2+}$  从内质网进入线粒体,最终导致线粒体钙离子超载和坏死;而 TNF 诱导的线粒体 ROS 会使溶酶体活化,最后导致线粒体钙离子超载,这就让我们明白钙离子超载需要 TNF 的参与<sup>[32]</sup>。TNF 仅在感染的巨噬细胞中诱导线粒体 ROS 的产生,而线粒体 ROS 会激活线粒体-溶酶体-内质网回路,导致线粒体钙离子超载和巨噬细胞坏死<sup>[32]</sup>,所以 ROS 将 TNF 和各细胞器介导的巨噬细胞坏死联系在了一起。关于 TNF 介导的细胞坏死很早之前就有在小鼠模型中的相关报道,斑马鱼模型中 TNF 介导的细胞坏死与小鼠模型中的发现是一致的,ROS 在坏死过程中扮演着重要角色,通过阻断 ROS 的生成,相关细胞的坏死也被抑制<sup>[33]</sup>。斑马鱼结核模型在更细致的角度研究了 TNF 与巨噬细胞坏死之间的关系,还介绍了相关坏死途径及与细胞器之间的关系。我们还知道了钙离子超载对巨噬细胞坏死的重要性,通过使用钙离子拮抗剂去治疗 TNF 高表达的斑马鱼,发现 TNF 介导的巨噬细胞坏死和钙离子超载被抑制<sup>[32]</sup>。鉴于钙离子拮抗剂发挥的重要作用,在未来结核病的辅助治疗中会有非常好的应用前景。

## 4 结论与展望

以上我们重点介绍了 TNF 在斑马鱼-海分枝杆菌模型上进行的研究及取得的成果,加深了我们对 TNF 在结核病程中扮演角色的理解, TNF 过高或者过低都会引起巨噬细胞的坏死,假如要把 TNF 作为结核的一个治疗靶点还需要更加深入的研究。要在之前的研究基础上结合斑马鱼模型的优势,可以

把 TNF 作为实验靶点,无论是结核治疗药物还是疫苗开发都可以利用斑马鱼模型结合对 TNF 的作用进行研究,比如目前应用 TNF 拮抗剂治疗疾病引起潜伏性结核的再激活病例屡见不鲜,可以利用斑马鱼建立潜伏性结核病研究模型,探究 TNF 拮抗剂激活潜伏性结核病的机制。目前已经有人将斑马鱼模型用于新药的开发,尽管还处于探索阶段,但是鉴于斑马鱼模型在结核研究和药物测试中所取得的重要进展,这个研究是非常有前景和价值的。对于还没被发现的可以影响 TNF 表达量的因素,可以通过斑马鱼模型进行验证。斑马鱼作为结核病研究模型是可行的,其养殖周期短,幼鱼通体透明可进行可视化观察,荧光探针技术,高内涵显微镜等都可用于斑马鱼的研究,并且遗传操作技术成熟,再加上海分枝杆菌与结核分枝杆菌的类似致病机理和高基因组同源性,使用该模型进行结核病的研究,将为人类结核病的探索提供新的见解和思路。总之,通过斑马鱼-海分枝杆菌模型去研究 TNF,对于一些还未被发现的 TNF 观点,在之前的研究基础上一定会取得新的发现。

## 参 考 文 献 (References)

- [1] Ramakrishnan L. The zebrafish guide to tuberculosis immunity and treatment. Cold Spring Harb Symp Quant Biol, 2013;78:179-192.
- [2] World Health Organization. Global tuberculosis report 2019[R]. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2019.
- [3] Balkwill F. Tumour necrosis factor and cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2009,5(9): 361-371.
- [4] Dorhoi A, Kaufmann SH. Tumor necrosis factor alpha in mycobacterial infection[J]. Semin Immunol, 2014,26(3):203-209.
- [5] Chakravarty SD, Zhu G, Tsai MC, et al. Tumor necrosis factor blockade in chronic murine tuberculosis enhances granulomatous inflammation and disorganizes granulomas in the lungs [J]. Infect Immun, 2008,76(3): 916-926.
- [6] Myllymäki H, Bäuerlein CA, Rämetsä M. The zebrafish breathes new life into the study of tuberculosis [J]. Front Immunol, 2016,7:196.
- [7] Tobin DM, Ramakrishnan L. Comparative pathogenesis of *Mycobacterium marinum* and *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Cell Microbiol, 2008,10(5):1027-1039.
- [8] Stinear TP, Seemann T, Harrison PF, et al. Insights from the complete genome sequence of *Mycobacterium marinum* on the evolution of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Genome Res, 2008,18(5):729-741.
- [9] Gomes MC, Mostowy S. The case for modeling human infection in zebrafish [J]. Trends Microbiol, 2020, 28(1):10-18.

- [10] Praveen K, Evans DL, Jaso-Friedmann L. Constitutive expression of tumor necrosis factor- $\alpha$  in cytotoxic cells of teleosts and its role in regulation of cell-mediated cytotoxicity [J]. *Mol Immunol*, 2006, 43(3): 279–291.
- [11] Braunstein M, Bensing BA, Sullam PM. The two distinct types of *seca2*-dependent export systems [J]. *Microbiol Spectr*, 2019; 7(3): 10.1128/microbiolspec.PSIB-0025-2018.
- [12] Sullivan JT, Young EF, McCann JR, et al. The *Mycobacterium tuberculosis* SecA2 system subverts phagosome maturation to promote growth in macrophages [J]. *Infect Immun*, 2012, 80(3): 996–1006.
- [13] Watkins BY, Joshi SA, Ball DA, et al. *Mycobacterium marinum* SecA2 promotes stable granulomas and induces tumor necrosis factor  $\alpha$  in vivo [J]. *Infect Immun*, 2012, 80(10): 3512–3520.
- [14] Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, et al. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1975, 72(9): 3666–3670.
- [15] Oksanen KE, Myllymäki H, Ahava MJ, et al. DNA vaccination boosts *Bacillus Calmette-Guérin* protection against mycobacterial infection in zebrafish [J]. *Dev Comp Immunol*, 2016, 54(1): 89–96.
- [16] Li W, Huang H, Hua W, et al. Neonatal revaccination with *Bacillus Calmette-Guérin* elicits improved, early protection against *Mycobacterium tuberculosis* in mice [J]. *Vaccine*, 2012; 30(21): 3223–3230.
- [17] Tobin DM, Vary JC Jr, Ray JP, et al. The *Ita4h* locus modulates susceptibility to mycobacterial infection in zebrafish and humans [J]. *Cell*, 2010, 140(5): 717–730.
- [18] Tobin DM, Roca FJ, Oh SF, et al. Host genotype-specific therapies can optimize the inflammatory response to mycobacterial infections [J]. *Cell*, 2012, 148(3): 434–446.
- [19] Whittle BJ, Varga C, Berko A, et al. Attenuation of inflammation and cytokine production in rat colitis by a novel selective inhibitor of leukotriene A4 hydrolase [J]. *Br J Pharmacol*, 2008, 153(5): 983–991.
- [20] Gleeson LE, Sheedy FJ, Palsson-McDermott EM, et al. Cutting edge: *Mycobacterium tuberculosis* induces aerobic glycolysis in human alveolar macrophages that is required for control of intracellular bacillary replication [J]. *J Immunol*, 2016, 196(6): 2444–2449.
- [21] Xi H, Kurtoglu M, Lampidis TJ. The wonders of 2-deoxy-D-glucose [J]. *IUBMB Life*, 2014, 66(2): 110–121.
- [22] Kan Y, Meng L, Xie L, et al. Temporal modulation of host aerobic glycolysis determines the outcome of *Mycobacterium marinum* infection [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2020, 96: 78–85.
- [23] Huang L, Nazarova EV, Tan S, et al. Growth of *Mycobacterium tuberculosis in vivo* segregates with host macrophage metabolism and ontogeny [J]. *J Exp Med*, 2018, 215(4): 1135–1152.
- [24] Swaim LE, Connolly LE, Volkman HE, et al. *Mycobacterium marinum* infection of adult zebrafish causes caseating granulomatous tuberculosis and is moderated by adaptive immunity [J]. *Infect Immun*, 2006, 74(11): 6108–6117.
- [25] Clay H, Davis JM, Beery D, et al. Dichotomous role of the macrophage in early *Mycobacterium marinum* infection of the zebrafish [J]. *Cell Host Microbe*, 2007, 2(1): 29–39.
- [26] Clay H, Volkman HE, Ramakrishnan L. Tumor necrosis factor signaling mediates resistance to mycobacteria by inhibiting bacterial growth and macrophage death [J]. *Immunity*, 2008, 29(2): 283–294.
- [27] Miller EA, Ernst JD. Illuminating the black box of TNF action in tuberculous granulomas [J]. *Immunity*, 2008, 29(2): 175–177.
- [28] Inoue M, Niki M, Ozeki Y, et al. High-density lipoprotein suppresses tumor necrosis factor  $\alpha$  production by mycobacteria-infected human macrophages [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 6736.
- [29] Flynn JL, Goldstein MM, Chan J, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  is required in the protective immune response against *Mycobacterium tuberculosis* in mice [J]. *Immunity*, 1995, 2(6): 561–572.
- [30] Roca FJ, Ramakrishnan L. TNF dually mediates resistance and susceptibility to *Mycobacteria* through mitochondrial reactive oxygen species [J]. *Cell*, 2013, 153(3): 521–534.
- [31] Murphy MP. How mitochondria produce reactive oxygen species [J]. *Biochem J*, 2009, 417(1): 1–13.
- [32] Roca FJ, Whitworth LJ, Redmond S, et al. TNF induces pathogenic programmed macrophage necrosis in tuberculosis through a mitochondrial-lysosomal-endoplasmic reticulum circuit [J]. *Cell*, 2019, 178(6): 1344–1361.
- [33] Lin Y, Choksi S, Shen HM, et al. Tumor necrosis factor-induced nonapoptotic cell death requires receptor-interacting protein-mediated cellular reactive oxygen species accumulation [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(11): 10822–10828.

[收稿日期] 2020-03-25