

# 细菌与自噬的抗争——死亡或重生

王招弟, 丁红雷

西南大学 动物科技学院 兽医传染病学实验室, 重庆 400715

王招弟, 丁红雷. 细菌与自噬的抗争——死亡或重生. 生物工程学报, 2020, 36(8): 1471–1483.

Wang ZD, Ding HL. Fighting between bacteria and autophagy——death or rebirth. Chin J Biotech, 2020, 36(8): 1471–1483.

**摘 要:** 自噬是一种高度保守的细胞内成分的降解过程, 不仅维持细胞的代谢稳定, 还与机体对抗各种病原菌感染有着密切关系。自噬能协助机体清除病原体, 但有些细菌进化出多种策略干扰自噬信号通路或抑制自噬体与溶酶体融合形成自噬溶酶体来逃避自噬的降解, 甚至利用自噬来促进其生长增殖。文中从自噬的分子机制出发, 讨论多种致病菌与宿主细胞自噬关系的最新进展, 以及自噬与病原菌感染的作用和意义, 以期为病原菌感染导致的自噬研究提供参考。

**关键词:** 自噬, 细菌, 感染, ATG, 支原体

## Fighting between bacteria and autophagy——death or rebirth

Zhaodi Wang, and Honglei Ding

Laboratory of Veterinary Infectious Diseases, College of Animal Science and Technology, Southwest University, Chongqing 400715, China

**Abstract:** Autophagy is a highly conserved degradation process that targets cytoplasmic components, maintains metabolic stability in cells, and combats infection with various pathogenic bacteria. Autophagy can help body to eliminate invading pathogens; however, some bacteria have evolved multiple strategies to interfere with the autophagy signaling pathway or inhibit the fusion of autophagosomes with lysosomes to form autolysosomes to escape autophagic degradation, and even use autophagy to promote their growth and proliferation. This review discusses the newest progress in the relationship between pathogens and autophagy of host cell, and the role of autophagy in bacterial infection. We hope that this review provides useful knowledge for the research on autophagy caused by pathogenic infection.

**Keywords:** autophagy, bacteria, infection, ATG, *Mycoplasma*

**Received:** December 8, 2019; **Accepted:** February 21, 2020

**Supported by:** State Key Laboratory of Veterinary Biotechnology Foundation (No. SKLVBF201905), Fundamental Research Funds for the Central Universities (No. XDJK2020B012), Chongqing Technology Innovation and Application Development Project (No. cstc2019jscx-msxmX0402).

**Corresponding author:** Honglei Ding. Tel: +86-23-68251196; E-mail: hongleiding@swu.edu.cn

兽医生物技术国家重点实验室开放课题基金 (No. SKLVBF201905), 中央高校基本科研业务费专项资金 (No. XDJK2020B012), 重庆市技术创新与应用发展专项 (No. cstc2019jscx-msxmX0402) 资助。

网络出版时间: 2020-04-28

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20200428.1243.001.html>

自噬 (Autophagy) 是细胞质中非特异性蛋白质被具有双层膜结构的自噬体 (Autophagosome) 包裹, 与溶酶体融合形成自噬溶酶体 (Autolysosome), 最终将自噬溶酶体中包裹的物质降解的过程。1956 年 Clark 用电镜观察新生小鼠肾组织时发现细胞中含有大量具有膜样结构的致密体, 而且其中常含有类似于线粒体等的胞质结构<sup>[1]</sup>。在 1963 年的溶酶体国际会议上, Christian de Duve 将细胞内包裹的胞质组分送入溶酶体的过程定义为自噬<sup>[2]</sup>。1984 年, Rikihiisa 研究立克次体感染豚鼠多形核白细胞 (Polymorphonuclear leukocytes, PMN) 时发现溶酶体样物质, 这种物质被称为自噬体, 而未感染立克次体的 PMN 无自噬体<sup>[3]</sup>。这是关于细菌感染诱导细胞自噬的首次报道。此后, 大量研究显示, 细菌感染细胞后能导致细胞自噬的发生, 进而抑制细菌的生长和增殖; 反过来, 一些细菌通过挟持自噬发生过程中的信号通路, 抑制细胞吞噬或细胞凋亡等过程, 避免细菌在胞内被宿主细胞杀灭, 甚至利用自噬促进细菌在胞内增殖<sup>[4]</sup>。

基于自噬在病原菌与宿主细胞相互作用中扮演的重要角色, 本文在简述自噬发生过程的基础上, 综述了不同细菌在自噬过程中的分子和细胞事件 (表 1), 并对今后病原菌与宿主相互作用中自噬研究的发展方向 and 如何利用病原菌导致的自噬过程开发抗菌药物进行了展望。

## 1 自噬发生的过程

自噬过程包括一系列的步骤 (图 1): ①自噬的激活。不协调 51 样激酶 1 (Uncoordinated-51-like kinase, ULK1) 复合物是启动自噬的信号, 它在募集自噬相关基因 (Autophagy-related gene, Atg) 蛋白到吞噬泡组装位点 (Phagophore assembly site, PAS) 过程中起关键作用。ULK1 复合物包括 ULK1、Atg13、Atg101 和 200 kDa 的 FAK 家族激酶相互作用蛋白 (FAK family kinase-

interacting protein of 200 kDa, FIP200)<sup>[5]</sup>。在营养丰富的情况下, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 1 (Mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1) 通过使 ULK1 和 Atg13 磷酸化, 抑制 ULK1 复合物向 PAS 募集; 相反, 在营养缺乏或雷帕霉素处理情况下, mTORC1 失活, ULK1 被释放, 从而将 FIP200 磷酸化并转移至 PAS, 并募集其他 Atg 蛋白为自噬体形成作准备<sup>[6]</sup>。②囊泡 (Phagophore) 成核。ULK1 复合物将 Beclin 1、Atg14 样 (Atg14-like, Atg14L) 蛋白和磷酸肌醇 3-激酶调节亚基 4 (Phosphoinositide 3-kinase regulatory subunit 4, PIK3R4) 募集到 PAS, 随后在此处启动囊泡成核过程。该过程在 III 类 PtdIns3 激酶 (PtdIns3-kinase class III, PtdIns3KC3) 的参与下在囊泡产生 PtdIns3P, 进而募集 PtdIns3P 结合蛋白如 WD-重复域磷酸肌醇相互作用 1 (WD-repeat domain phosphoinositide-interacting 1, WIPI1) 和 WIPI2 到 PAS, 并通过募集下游的 Atg 蛋白, 如 Atg16、Atg8、Atg9 等, 协助囊泡组装<sup>[7]</sup>。③自噬体的形成。自噬体的形成主要由两个泛素样连接系统所介导。第一个是 Atg12-Atg5 泛素样连接系统, 它通过 E1 样酶 Atg7 和 E2 样酶 Atg10 激活, 促进囊泡的延伸<sup>[8]</sup>。此外, Atg12-Atg5 与 Atg16L1 形成的复合体与囊泡膜的扩展有关; 当囊泡闭合形成自噬体时, 该复合体从自噬体膜释放下来<sup>[9]</sup>。Atg16L1 相关前体小泡之间的相互融合由可溶性 N-乙基马来酰亚胺敏感因子黏附蛋白受体 (Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptors, SNARE) 蛋白介导, 该过程可能参与了囊泡的扩张过程。第二个是轻链 3-磷脂酰乙醇胺 (Light chain 3-Phosphatidylethanolamine, LC3-PE) 泛素样连接系统。LC3 和 PE 分别被 E1 样酶 Atg7 和 E2 样酶 Atg3 激活。Atg12-Atg5-Atg16L1 复合物将 LC3 转移至囊泡膜, 然后通过具有 E3 样酶活性的 Atg12-Atg5 与 PE 连接<sup>[10]</sup>。LC3-PE 的形成还需要

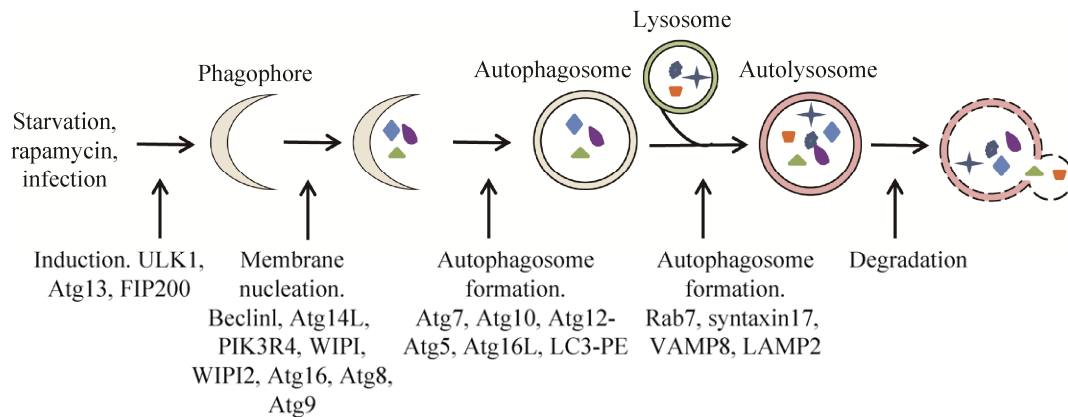


图 1 细胞的自噬过程

Fig. 1 A diagram of the autophagy pathway.

半胱氨酸蛋白酶 Atg4B 参与, 因为 Atg4B 能够切割 LC3 的羧基末端, 暴露甘氨酸残基后与 PE 共价结合<sup>[11]</sup>。此外, 当自噬体完全形成后 Atg4B 解离一部分 LC3-PE 复合物, 以便于 LC3 的循环, 形成新的自噬体<sup>[12]</sup>。④自噬溶酶体的形成。自噬体通过与内体和溶酶体的一系列融合事件形成自噬溶酶体。在哺乳动物中, 自噬体与溶酶体的融合需要小 GTP 酶 Rab7、自噬体 SNARE 蛋白 syntaxin 17、溶酶体 SNARE 囊泡相关膜蛋白 8 (Vesicle-associated membrane protein 8, VAMP8) 和一些溶酶体膜蛋白, 如溶酶体相关膜蛋白 2 (Lysosomal-associated membrane protein 2, LAMP2)<sup>[13-15]</sup>等的参与。⑤自噬溶酶体的降解。自噬溶酶体中的包裹物被降解成小分子物质后释放到细胞质中, 这些小分子物质还可以被细胞重新利用。该降解过程依赖囊泡的酸化和多种溶酶体蛋白酶的参与。

## 2 自噬与革兰氏阳性菌感染

### 2.1 金黄色葡萄球菌

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, SA) 感染可引起化脓性疾病和毒素性疾病。SA 侵入 HeLa 细胞后被迅速泛素化, 与具有结合泛素化底物的自噬受体整合体 1 (Sequestosome 1, SQSTM1)、核点蛋白 52 (Nuclear dot protein 52,

NDP52) 和视神经蛋白 (Optineurin, OPTN) 结合诱导细胞自噬<sup>[16]</sup>, 其重要标志是 SA 与 LC3 形成明显的共定位, 但是自噬体与溶酶体的融合受阻不能形成完整自噬流<sup>[17]</sup>。用 SA 感染牛乳腺上皮细胞 (Bovine mammary epithelial cells, BMEC) 后, BMEC 中自噬标志蛋白 LC3-II 的表达量升高, 该研究在不同的细胞系中证明了 SA 感染导致自噬<sup>[18]</sup>。

SA 可通过激活某些蛋白或信号通路逃避自噬。SA 侵入 HeLa 细胞后, 激活丝裂原活化蛋白激酶 14 (Mitogen-activated protein kinase 14, MAPK14)、磷酸化 Atg5 来抑制自噬体与溶酶体的融合, 逃避自噬的降解<sup>[16]</sup>。另外, SA 感染小鼠巨噬细胞系 RAW264.7 导致的自噬与 PI3K/Akt-Beclin1 信号通路密切相关, 抑制该信号通路后, SA 诱导的自噬水平明显下调<sup>[19]</sup>。这些研究均显示, SA 感染细胞后由于自噬体与溶酶体不能融合, 形成不完整自噬, 使自噬体不能被酸化, 造成 SA 不被降解而在自噬体内增殖<sup>[17-19]</sup>。

### 2.2 A 群链球菌

A 群链球菌 (Group A *Streptococcus*, GAS) 是一种在自然界广泛存在的致病菌。GAS 侵入宿主细胞后, 胞质中大多数 GAS 包裹在含 GAS 的自噬体样空泡 (GAS-containing autophagosome-like vacuoles, GcAVs) 中, 通过自噬途径降解; 在无

法形成自噬体的 *atg5*<sup>-/-</sup> 小鼠胚胎成纤维细胞 (Mouse embryo fibroblasts, MEFs) 中, GAS 能够存活、增殖并从细胞中释放出来<sup>[20]</sup>。说明自噬对 GAS 的生长与增殖有抑制作用。

为了能够在细胞内长期生存, GAS 演化出多种逃避自噬的策略。例如 GAS 利用某些毒力因子来逃避自噬的降解。链球菌致热外毒素 B (Streptococcal pyrogenic exotoxin B, SpeB) 是链球菌分泌的一种半胱氨酸蛋白酶, 研究发现 MIT1 血清型 GAS 利用 SpeB 降解宿主细胞胞质中的 SQSTM1、NDP52 和 BRCA 1 相邻基因 1 (Neighbor of BRCA 1 gene 1, NBR1) 蛋白, 阻止宿主细胞自噬相关蛋白的识别<sup>[21]</sup>。链球菌溶血素 O (Streptolysin O, SLO) 是胆固醇依赖的成孔细胞溶素保守家族的成员之一, GAS 利用 SLO 在早期内膜上形成孔隙, 帮助细菌逃逸到细胞质中<sup>[22]</sup>。最近研究发现, SLO 通过直接或间接促进  $\beta$ 1 整合素表达, 募集 NADPH 氧化酶 2 (NADPH oxidase 2, NOX2) 和产生活性氧 (Reactive oxygen species, ROS), 诱导产生 LC3 相关吞噬作用 (LC3-associated phagocytosis, LAP), 导致自噬溶酶体酸化不足, 促进了 GAS 的增殖<sup>[23]</sup>。

宿主细胞内的蛋白也对 GAS 诱导的自噬产生影响。抗凋亡 Bcl-2 家族成员 Bcl-xL 通过抑制自噬体-溶酶体融合直接抑制 GAS 诱导的自噬, 并通过与 Beclin 1-抗紫外线相关基因蛋白 (Uv radiation resistance related gene protein, UVRAG) 相互作用抑制 GAS 的内化作用, 进而间接抑制 GAS 诱导的自噬<sup>[24]</sup>。GAS 感染 HeLa 细胞后, Rab30 通过募集  $\beta$ -磷脂酰肌醇 4-激酶 (Phosphatidylinositol 4-kinase beta, PI4KB), 使之将磷脂酰肌醇 (Phosphatidylinositol, PtdIns) 转变为磷脂酰肌醇-4-磷酸 (Phosphatidylinositol-4-phosphate, PtdIns4P), 在 PtdIns4P 的参与下形成 GcAVs, 而 GcAVs 对于有效清除 GAS 具有重要作用<sup>[25]</sup>。

## 2.3 结核分枝杆菌

结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*, MTB) 是一种胞内寄生菌。1971 年, Armstrong 等发现 MTB 能够抑制小鼠腹腔巨噬细胞中吞噬体与溶酶体融合<sup>[26]</sup>。巨噬细胞中 MTB 感染诱导的自噬可增强含分枝杆菌吞噬体的酸化作用和成熟, 从而抑制胞内 MTB 的存活<sup>[27]</sup>。干扰素- $\gamma$  (Interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) 在机体抵抗细菌感染过程中具有重要作用。在巨噬细胞中加入 IFN- $\gamma$  能促进 LC3 从胞质到内膜的转运, 导致自噬发生; 加入 IFN- $\gamma$  下游效应蛋白 LRG-47, 可发现自噬标记单丹磺酰戊二胺 (Monodansylcadaverine) 阳性小泡的形成<sup>[28]</sup>。进一步的研究发现, IFN- $\gamma$  诱导产生鸟苷酸结合蛋白 (Guanylate-binding proteins, Gbp), 并利用 Gbp 具有促进宿主细胞对细菌的氧化杀灭作用和递呈抗菌肽至自噬溶酶体的功能, 抑制胞内 MTB 的增殖, 以保护宿主免受细菌感染<sup>[29]</sup>, 表明 IFN- $\gamma$  在 MTB 诱导自噬以及抑制胞内 MTB 的增殖中具有重要作用。

MTB 能利用其分泌蛋白影响巨噬细胞的自噬发生和自噬体成熟, 主要有 4 种分泌蛋白参与 MTB 诱导的巨噬细胞自噬: ①增强型胞内生存蛋白 (Enhanced intracellular survival protein, Eis)。该蛋白通过乙酰化激活 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 通路, 降低 ROS 的水平, 减弱自噬水平, 增强胞内 MTB 的存活<sup>[30]</sup>; ②真核酶样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 G (Eukaryotic enzyme-like serine/threonine protein kinase G, PknG)。该蛋白通过破坏宿主细胞信号分子, 抑制吞噬体-溶酶体融合, 调节 MTB 的代谢和在胞内的存活<sup>[31-32]</sup>; ③分泌型酸性磷酸酶 M (Secretory acid phosphatase M, SapM)。此蛋白通过水解磷脂酰肌醇 3-磷酸 (Phosphatidylinositol 3-phosphate, PI3P) 抑制自噬体成熟, 还通过与 Rab7 相互作用阻断自噬体与溶酶体融合抑制自噬流形成<sup>[33-35]</sup>; ④热休克蛋白 16.3 (Heat shock

protein 16.3, Hsp16.3)。该蛋白能干扰 LC3 表达以破坏自噬体的形成,从而抑制巨噬细胞对 MTB 的清除<sup>[36]</sup>。

此外, MTB 的细胞壁抗原以及 DNA 也能够影响自噬反应。研究发现,只有 NADPH 氧化酶通过其催化作用产生的 ROS 促进 LC3-II 与吞噬体结合后,才能限制 MTB 的生存与增殖; MTB 利用其胞壁蛋白 CpsA 阻断 NADPH 氧化酶的活化使其不能发挥作用,以逃避 LAP 的杀伤作用<sup>[37]</sup>。MTB 感染巨噬细胞,核苷酸结合寡聚化结构域 2(Nucleotide-binding oligomerization domain 2, Nod2)受体识别胞壁酰二肽 (Muramyl dipeptide, MDP)产生大量 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  等炎症因子,激活 NF- $\kappa$ B 通路,导致自噬标记蛋白 LC3、Atg16L1 和 IRGM (Murine immunity related GTPases) 的表达增加,诱导自噬<sup>[38-39]</sup>。巨噬细胞通过透化作用将 MTB 的 DNA 暴露,随后被干扰素基因刺激蛋白 (Stimulator of interferon genes, STING) 识别,在泛素连接酶作用和自噬蛋白 (如 NDP52 和 p62) 介导下,含有 MTB 的吞噬体被泛素化,经泛素化的吞噬体与溶酶体融合形成吞噬溶酶体<sup>[40]</sup>。

宿主细胞也能利用自身的维生素激活抗菌肽来影响自噬,进而影响 MTB 的生存与增殖。1,25-二羟基维生素 D3 (1,25-dihydroxyvitamin D3, 1,25-D3) 是维生素 D3 的活性形式, Yuk 等研究发现, 1,25-D3 通过对 MTB 有杀伤作用的抗菌蛋白 cathelicidin 诱导人单核细胞自噬,从而激活自噬相关基因 *beclin 1* 和 *atg5* 的转录; 1,25-D3 还依赖 cathelicidin 诱导分枝杆菌吞噬体与自噬体的共定位<sup>[41]</sup>。在细胞内 MTB 诱导 LAP 的过程中, III 类 PI3K 复合物的募集增加了 PI3P 的产生,使 NOX2 复合物稳定产生 ROS 并募集自噬蛋白 Atg5、Atg12、Atg16L、Atg7 和 Atg3,还将脂化的 LC3-II 与吞噬体膜结合,促进细胞自噬<sup>[42]</sup>。

微小 RNA (MicroRNA, miRNA) 是一种由 21-23 个核苷酸组成的单链非编码 RNA,通过形

成 RNA 沉默复合体等方式与一些 mRNA 的 3' 非编码区 (3' untranslated region, 3'UTR) 结合,阻止 mRNA 翻译并将其降解,调控转录后的蛋白表达。巨噬细胞内的 miRNA 在 MTB 诱导细胞自噬过程中起重要作用。大部分 miRNA,如 miR-20a、miR-23a-5p、miR-30a、miR-33、miR-106b-5p、miR-125a-3p、miR-3619b-5p 和 miR-144 等,具有抑制细胞自噬、增强 MTB 在细胞内存活的能力;有的 miRNA,如 miR-26a,则促进细胞自噬,抑制胞内 MTB 的生长;个别 miRNA,如 miR-17-5p 和 miR-155,通过靶向调控/负调控不同的自噬相关基因,促进或抑制自噬过程,进而抑制或促进 MTB 在细胞内存活<sup>[43]</sup>。

#### 2.4 产单核细胞李斯特菌

产单核细胞李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*, LM) 是一种可胞内寄生的人兽共患病原菌。宿主细胞感染 LM 后,通过自身的识别受体激活自噬。 $\beta$ 2 整合素巨噬细胞抗原 1 (Macrophage antigen 1, MAC-1) 是巨噬细胞表达的一种识别多种微生物配体的受体。研究表明,宿主细胞的 MAC-1 通过激活酸性鞘磷脂酶 (Acid sphingomyelinase, ASM) 和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 2 (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate 2, NADH2) 产生 ROS,诱导 LAP。而 LAP 促进含 LM 的吞噬体与溶酶体的融合,从而增强巨噬细胞的抗菌能力和机体的免疫应答<sup>[44]</sup>。TLR2 参与 LM 产生的自噬反应,在 *tlr2*<sup>-/-</sup> 巨噬细胞中, LM 与 LC3 不能形成共定位;进一步研究证明 TLR2 通过其下游的 ERK 信号通路参与这一自噬过程<sup>[45]</sup>。

LM 侵入宿主细胞后,类似于 GAS,也能够利用其毒力因子协助其从自噬体中逃逸,然后进入胞质中继续增殖。其毒力因子李斯特菌溶血素 O (Listeriolysin O, LLO) 是一种胆固醇依赖的成孔细胞溶素。LM 进入巨噬细胞后,在感染早期,依赖于 LLO 诱导自噬,LM 的增殖受到抑制<sup>[46]</sup>;感染一段时间后,在两种磷脂酶 C (Phospholipase

C, PLC)——磷脂酰肌醇磷脂酶 C (Phosphatidylinositol phospholipase C, PI-PLC) 和磷脂酰胆碱特异磷脂酶 C (Phosphatidylcholine-specific phospholipase C, PC-PLC) 的帮助下, 逃逸出自噬体<sup>[46-47]</sup>。LLO 则与胆固醇结合插入宿主细胞膜, 聚合形成孔隙, 以利于 LM 从细胞中逃逸<sup>[48-49]</sup>。因此, 依赖于 LLO 诱导的自噬反应在 LM 的感染中随着时间延长呈现动态变化。肌动蛋白 A (Actin A, ActA) 是 LM 的一种重要的毒力因子, 参与了 LM 逃避宿主细胞的自噬。敲除 *actA* 基因能够降低 LM 感染细胞后自噬的发生<sup>[46]</sup>; 该过程是 ActA 通过将肌动蛋白相关蛋白 2/3 (Actin-related proteins, Arp2/3) 复合物和可提取核抗原/血管舒张剂刺激磷蛋白 (Extractable nuclear antigen/vasodilator-stimulated phosphoprotein, Ena/VASP) 募集到细菌表面, 这两种蛋白伪装成细菌, 从而使细菌不被自噬识别<sup>[50]</sup>。LM 还利用其表面的内化素 K (Internalins K, InlK) 将主穹隆蛋白 (Major vault protein, MVP) 招募到细菌表面, 随后通过 ActA 取代 InlK、肌动蛋白取代 MVP 来修饰细菌, 阻止泛素蛋白的招募、p62 的识别和 LC3 的募集, 帮助 LM 逃避自噬<sup>[51-52]</sup>。除了 ActA 蛋白, 在感染后期, PI-PLC 和 PC-PLC 在自噬逃逸中也发挥重要作用<sup>[39]</sup>。

### 3 自噬与革兰氏阴性菌感染

#### 3.1 沙门氏菌

沙门氏菌 (*Salmonella*) 主要引起人和哺乳动物的胃肠炎。沙门氏菌包含两种 III 型分泌系统 (Type III secretion system, T3SS), 分别为沙门氏菌毒力岛 1 (*Salmonella* pathogenicity island 1, SPI-1) 和 SPI-2。SPI-1 对于沙门氏菌的侵袭是必不可少的, SPI-2 则促进沙门氏菌在胞内的存活。

自噬通过两种方式作用于沙门氏菌。沙门氏菌寄居的吞噬泡称为含沙门氏菌液泡 (*Salmonella*-containing vacuole, SCV)。大部分沙门氏菌存在

于 SCV 中, 只有一小部分从 SCV 逃逸到细胞质中复制。从 SCV 逃逸的沙门氏菌被泛素化, 泛素化修饰招募多种自噬衔接蛋白, 包括 SQSTM1/p62、NDP52 和 OPTN 等, 这些蛋白通过泛素化结合结构域与发生泛素化的细菌结合, 然后再通过与自噬体膜锚定的 Atg8 家族成员相互作用连接新生的自噬体。含沙门氏菌的自噬体与溶酶体融合后在水解环境下被杀死。另一种方式是 SPI-1 在 SCV 打孔, 造成受损的 SCV 被自噬识别。在这种情况下, 沙门氏菌不需要进入细胞质被自噬捕获。SPI-1 在 SCV 形成小孔导致多种胞质半乳糖凝集素 (Galectin) 的聚集, 如监测细胞内容物完整性 (Endolysosomal integrity) 的 galectin-8。SCV 经 galectin-8 修饰后招募泛素连接酶和 NDP-52 到细胞膜, 从而使 SCV 成分被自噬清除<sup>[53]</sup>。

自噬识别细菌的过程通常与泛素化作用相关, 而 E3 连接酶对细胞自噬过程中的泛素化作用具有重要意义。其中人亮氨酸富集不育  $\alpha$  模体 1 (Human leucine rich repeat and sterile  $\alpha$  motif containing 1, LRSAM1) 通过其富含亮氨酸的重复序列 (Leucine rich repeat, LRR) 结构域和 RING (Really interesting new gene) 结构域识别 HeLa 细胞胞质中鼠伤寒沙门氏菌, 启动泛素依赖的自噬反应, 从而抑制鼠伤寒沙门氏菌感染<sup>[54]</sup>。另外 E3 连接酶线性泛素链组装复合物 (Linear ubiquitin chain assembly complex, LUBAC) 在鼠伤寒沙门氏菌的表面产生线性多聚泛素, 募集受体 OPTN、NDP52 和 SQSTM1/p62, 从而限制鼠伤寒沙门氏菌的增殖<sup>[55]</sup>。还有 RBR (Ring-between-Ring) E3 连接酶 ARIH1 可直接将鼠伤寒沙门氏菌靶向自噬体<sup>[56]</sup>。鼠伤寒沙门氏菌感染细胞后, LRSAM1 和 ARIH1 的消耗致使 LUBAC 依赖的泛素化增强, 从而抑制细胞质中鼠伤寒沙门氏菌的生长<sup>[55-57]</sup>。说明宿主细胞能够通过细菌表面募集不同的泛素连接酶启动自噬, 以阻止细胞内鼠伤寒沙门氏菌的增殖。

除了泛素化作用,脂类在鼠伤寒沙门氏菌感染诱导的自噬过程中也发挥重要作用。鼠伤寒沙门氏菌感染诱导的自噬中需要甘油二酯(Diacylglycerol, DAG)参与,而 DAG 则需要磷脂酶 D (Phospholipase D, PLD)和磷脂酸磷酸酶(Phosphatidic acid phosphatase, PAP)的参与产生<sup>[58]</sup>。半乳糖凝集素(Galectin)是一种 $\beta$ -半乳糖苷结合凝集素,存在于胞质中。galectin-8 能够通过暴露于受损的 SCV 表面的宿主聚糖结合来监测体内/溶酶体的完整性和监测鼠伤寒沙门氏菌的入侵,进而 galectin-8 与 NDP52 结合形成异源二聚体并导致 NDP52 发生泛素化后与自噬标志蛋白 LAMP1 结合,从而导致自噬发生,限制鼠伤寒沙门氏菌在胞内增殖<sup>[59]</sup>。

鼠伤寒沙门氏菌感染细胞后通过激活胞内一些信号通路来影响自噬反应。鼠伤寒沙门氏菌感染细胞后导致短暂的胞内能量缺失,激活 AMP 依赖的蛋白激酶(Adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK),启动自噬发生。这一过程是通过胞内肝激酶 B1(Liver kinase B1, LKB1) 复合体(包括 Sirt1 和 LKB1)对 AMPK 活性的调控来实现的。鼠伤寒沙门氏菌进入细胞后,某些毒力因子和 Sirt1 相互作用,使 Sirt1 将 LKB1 的乙酰基脱去,去乙酰化的 LKB1 活化后进一步激活 AMPK<sup>[60]</sup>。也有研究发现,鼠伤寒沙门氏菌感染 RAW 264.7 细胞能激活多种 Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR),TLRs 激活 TGF- $\beta$ -活化激酶 1(TGF- $\beta$ -activated kinase 1, TAK1)后将 AMPK 活化,从而诱导细胞自噬;抑制 TAK1 活性后则阻断了细胞自噬,有利于细胞内鼠伤寒沙门氏菌的生长。这些结果表明,鼠伤寒沙门氏菌通过 TLRs/TAK1/AMPK 信号通路导致自噬发生,清除胞内鼠伤寒沙门氏菌<sup>[61]</sup>。尽管细胞内 Sirt1 和 TLRs 都可以诱导 AMPK 通路的细胞自噬,但对细胞内鼠伤寒沙门氏菌存活的影响迥异,导致这两种不同结果的原因有待进一步

研究。

### 3.2 福氏志贺氏菌

福氏志贺氏菌 *Shigella flexneri* 是一种肠道致病菌,可引起人的痢疾。Nod1 和 Nod2 可募集 Atg16L 至细胞表面,然后福氏志贺氏菌在 Atg16L 定位区域进入细胞后引起自噬<sup>[38]</sup>。在此过程中,在线粒体的协助下,细胞骨架蛋白 Septins 形成牢笼样结构将福氏志贺氏菌限制在其内部,并抑制了福氏志贺氏菌的增殖。而当线粒体破裂之后,福氏志贺氏菌则能从 Septin 牢笼样结构中逃逸出来<sup>[62]</sup>。福氏志贺氏菌可通过其 VirG 蛋白与 Atg5 蛋白结合来诱导自噬发生<sup>[63]</sup>。膜融合相关蛋白 Tecpr1 (Tectonin domain-containing protein) 和 Atg5 蛋白均位于吞噬泡上,它与 WIPI2 相互作用促进含志贺氏菌囊泡成核和自噬发生,该过程是通过 Tecpr1-Atg5 与 VirG 蛋白作用实现的<sup>[64]</sup>。福氏志贺氏菌 T3SS 分泌的 IcsB 蛋白也能与 Atg5 结合,且其与 Atg5 的结合位点和 VirG 与 Atg5 的结合位点相同。因此,福氏志贺氏菌可通过分泌 IcsB 并与 VirG 竞争性结合 Atg5 阻断自噬发生,使得福氏志贺氏菌能逃避自噬降解<sup>[63]</sup>, IcsB 的胆固醇结合结构域(Cholesterol binding domain, CBD)在其介导的自噬逃逸中发挥重要作用<sup>[65]</sup>。Rab1 是细胞内一种小 Rab GTP 酶,不但介导蛋白质从内质网到高尔基体运输,最近发现其对自噬体形成也是必不可少的<sup>[66-67]</sup>。抑制 Rab1 的活性,能够阻断福氏志贺氏菌感染细胞中自噬体形成<sup>[68]</sup>。

### 3.3 嗜肺军团菌

嗜肺军团菌 *Legionella pneumophila* 是一种革兰氏阴性致病菌,可引起人致死性肺炎或流感样症状。嗜肺军团菌进入宿主细胞吞噬体后,Atg7 蛋白马上与之结合,然后与 Atg8 结合形成含军团菌液泡(Legionella-containing vacuole, LCV)<sup>[69-70]</sup>。LCV 可与内质网来源的囊泡融合,有利于嗜肺军团菌在其中的复制,融合过程需要

Rab1 和 Sec22b 蛋白的参与<sup>[71]</sup>。

SNARE 蛋白 Syntaxin 17 在自噬体膜形成过程中发挥重要作用,它可以将 Atg14L 蛋白募集到内质网-线粒体结合位点,以帮助其形成自噬体<sup>[72]</sup>。另外 Syntaxin 17 对于自噬体和溶酶体的融合也是必不可少的,其功能发挥依赖于其 C 端的发夹结构<sup>[14]</sup>。嗜肺军团菌的效应蛋白 Lpg1137 是一种丝氨酸蛋白酶,它可切割 Syntaxin 17,进而阻断自噬发生<sup>[73]</sup>。此外, RavZ 蛋白能够阻断自噬体膜上的 Atg8 (LC3) 蛋白与 PE 的结合,其过程是 RavZ 水解 Atg8 C 端的甘氨酸残基和相邻的芳香族残基之间的酰胺键,使之不能脂化和 PE 形成 LC3-PE 复合体在囊泡聚集,进而阻断自噬体形成<sup>[74]</sup>。

### 3.4 鲍曼不动杆菌

鲍曼不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*, AB) 是一种机会致病菌。AB 诱导的自噬是通过泛素 E3 连接酶 LRSAM1 与泛素化蛋白包绕菌体,并与募集的自噬配体蛋白 NDP52 及 SQSTM1/p62 作用而启动的。敲除骨架蛋白基因 *sept2* 和 *sept9* 后, SQSTM1 和 NDP52 则不能在菌体周围募集,细胞自噬受到抑制,说明 AB 诱导的自噬依赖于骨架蛋白成分。Beclin-1/Atg7/Atg8、MEK/ERK 及 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路参与了 AB 诱导的自噬反应的发生<sup>[75]</sup>。

### 3.5 其他革兰氏阴性菌

牙龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*, Pg) 感染宿主细胞诱导自噬,但自噬途径取决于宿主细胞类型。例如在胎牛心脏内皮细胞 (Fetal bovine heart endothelial cells, FBHEC) 和牛主动脉内皮细胞 (Bovine aortic endothelial cells, BAEC) 诱导的自噬中 Pg 存在于多膜囊泡,而人冠状动脉内皮细胞 (Human coronary artery endothelial cells, HCAEC) 中则存在于自噬体<sup>[76]</sup>。Pg 感染后能够阻断自噬体与溶酶体融合<sup>[76]</sup>。

幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, Hp) 感染

人单核细胞 THP-1 能诱导自噬体形成,并在其中增殖; *vacA* 或 *cagA* 缺失菌株中, Hp 的增殖能力下降<sup>[77]</sup>。进一步研究发现, VacA 通过改变细胞内氨基酸平衡抑制 mTORC1 的活性,使 mTORC1 从溶酶体表面解离,导致 ULK1 复合物活化,引起自噬<sup>[78]</sup>。CagA 在自噬中的作用还未见报道。

## 4 自噬与支原体感染

与其他病原菌相比,关于自噬与支原体感染之间关系的研究还较少。鸡毒支原体 (*Mycoplasma gallisepticum*, MG) 感染 RAW264.7 后可诱导自噬,该自噬反应经 ERK 信号通路激活,TLR2 则调节 MG 感染经 ERK 信号通路引起的自噬反应<sup>[79]</sup>。绵羊支原体 (*Mycoplasma ovipneumoniae*, MO) 感染小鼠上皮细胞 TC-1 诱导的自噬参与宿主细胞对 MO 的清除,该自噬反应经 JNK-Bcl-2/Beclin 1 信号通路完成,且受 Nod2 调控<sup>[80-81]</sup>。Raymond 等研究证明,猪肺炎支原体 (*Mycoplasma hyopneumoniae*, Mhp) 能够进入细胞内<sup>[82]</sup>。本实验室验证了 Raymond 等的研究结果,发现在 Mhp 感染猪肺组织的临床样本中,与 Mhp 阴性样品相比,LC3-II 的表达量明显升高,且与 Mhp 形成共定位;Mhp 感染猪肾传代细胞 PK-15 能显著增加自噬标志蛋白的表达,说明 Mhp 感染宿主细胞也能导致自噬发生。此外还发现自噬体与溶酶体不能融合形成完整的自噬流,这造成了 Mhp 在细胞内随着感染时间延长大量增殖,表明自噬促进了 Mhp 在细胞内的增殖,但这种自噬反应是通过哪条信号通路介导还需进一步明确。自噬体与溶酶体的融合需要 SNARE 复合物 (包括 syntaxin 17、SNAP29、VAMP8 等蛋白) 和 Rab7、LAMP2 的参与,SNAP47、ATG14 也参与了这一融合过程。Mhp 如何与这些蛋白相互作用阻断自噬体与溶酶体的融合也是本实验室下一步要开展的工作。



表 1 病原菌与宿主自噬相互作用的机制

Table 1 Mechanisms involved in the interaction of pathogenic bacteria with host autophagy

Pathogen	G <sup>-</sup> or G <sup>+</sup>	Function (B: pathogenic bacteria; C: host cells)	Reference
<i>Staphylococcus aureus</i>	G <sup>+</sup>	C: Activation of MAPK14 and the phosphorylation of Atg5 inhibit the fusion of autophagic and lysosomes to escape the degradation of autophagy; PI3K/Akt pathway downregulates the autophagic level.	[16,19]
Group A <i>Streptococcus</i>	G <sup>+</sup>	B: SpeB degrades SQSTM1, NDP52 and NBR1, preventing recognition by host cell autophagy-related proteins; SLO promote replication of GAS and help GAS escape to cytoplasm. C: Bcl-xL inhibites autophagy; Rab30 promote the removal of GAS in cell.	[21–25]
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	G <sup>+</sup>	B: Eis, Pkn G, Sap A and Hsp16.3 inhibite autophagy; CpsA promote MTB escape from LAP; MDP were recognized by Nod2 to enhance autophagy; some miRNA (such as miR-20a, miR-23a-5p, miR-30a, miR-33, miR-106b-5p, miR-125a-3p, miR-3619b-5p and miR-144) inhibite autophagy, miR-26a induces autophagy, miR-17-5p and miR-155 promote or inhibit autophagy in different conditions. C: IFN- $\gamma$ is beneficial to clear MTB; 1, 25-D3 induce autophagy.	[28–43]
<i>Listeria monocytogenes</i>	G <sup>+</sup>	B: ActA, InlB, PLC and InlK help LM escape from autophagy, C: MAC-1 induce LAP to enhance the antibacterial ability.	[44,46–52]
<i>Salmonella typhimurium</i>	G <sup>-</sup>	B: SPI-1 and SPI-2. C: consumption of E3 ligases LRSAM1 and ARIH1 enhanced LUBAC-dependent ubiquitin, which inhibited the growth of <i>Salmonella typhimurium</i> in the cytoplasm. DAG is required for autophagy; galectin-8 restricts replication of <i>Salmonella typhimurium</i> in host cell.	[54–61]
<i>Shigella flexneri</i>	G <sup>-</sup>	B: VirG binds to Atg5 to induce autophagy. C: inhibition of Rab1 activity blocks formation of autophagosomes.	[63–64,66–67]
<i>Legionella pneumophila</i>	G <sup>-</sup>	B: RavZ prevents formation of autophagosomes. Lpg1137 cuts Syntaxin 17 to block autophagy.	[73–74]
<i>Acinetobacter baumannii</i>	G <sup>-</sup>	B: autophagy dependent on Sept 2 and Sept 9 C: Beclin-1/Atg7/Atg8, MEK/ERK and AMPK-mTOR-ULK1 are involved in autophagy.	[75]
<i>Helicobacter pylori</i>	G <sup>-</sup>	B: VacA inhibite autophagy.	[77–78]
<i>Mycoplasma gallisept</i>	G <sup>-</sup>	C: ERK signaling pathway causes autophagy response.	[79]
<i>Mycoplasma ovipneumoniae</i>	G <sup>-</sup>	C: NOD2 affects autophagy through JNK-Bcl-2/Beclin1 pathway.	[80–81]

## 5 总结与展望

细菌感染宿主细胞后，自噬和细菌相互作用的结果有：①阻止细菌增殖，或是自噬通过与其他免疫因子(如炎症因子、IFN- $\gamma$ 等)相互作用，以控制细菌的感染；②细菌利用其毒力因子、合成 miRNA 或分泌某些蛋白质和脂质等来阻断完整的自噬过程，从而逃避自噬对其增殖或杀灭作用。

虽然已经有很多细菌导致自噬的报道，但大部分研究还仅仅是自噬现象的发现。细菌进入细胞引起的自噬是导致细菌被杀灭，还是促进了细菌的生长和繁殖，或者二者兼具；造成细菌杀灭或增殖的机制是什么？这是研究细菌与自噬关系需要进一步开展的工作。自噬现象往往不是独立存在的，其与泛素化、炎症、免疫反应、miRNA 等存在千丝万缕的联系，深入探讨自噬与其相互关系

是了解细菌致病机制的重要窗口。细菌中的哪些成分在其引起的自噬中发挥重要作用也是细菌引起自噬研究的短板之一。构建基因突变菌株或基因转染等是研究细菌蛋白在自噬中发挥功能的重要手段。明确细菌感染导致自噬的分子过程和致病中发挥重要功能的细菌蛋白在自噬过程中的作用对预防性生物制品、小分子靶向抗菌药物的开发具有重要的理论指导意义。

## REFERENCES

- [1] Clark SL Jr. Cellular differentiation in the kidneys of newborn mice studied with the electron microscope. *J Biophys Biochem Cytol*, 1957, 3(3): 349–362.
- [2] De Duve C, Wattiaux R. Functions of lysosomes. *Annu Rev Physiol*, 1966, 28: 435–492.
- [3] Rikihisa Y. Glycogen autophagosomes in polymorphonuclear leukocytes induced by rickettsiae. *Anat Rec*, 1984, 208(3): 319–327.
- [4] Wu YW, Li F. Bacterial interaction with host autophagy. *Virulence*, 2019, 10(1): 352–362.
- [5] Mizushima N. The role of the Atg1/ULK1 complex in autophagy regulation. *Curr Opin Cell Biol*, 2010, 22(2): 132–139.
- [6] Jung CH, Jun CB, Ro SH, et al. ULK-Atg13-FIP200 complexes mediate mTOR signaling to the autophagy machinery. *Mol Biol Cell*, 2009, 20(7): 1992–2003.
- [7] Nair U, Cao Y, Xie ZP, et al. Roles of the lipid-binding motifs of Atg18 and Atg21 in the cytoplasm to vacuole targeting pathway and autophagy. *J Biol Chem*, 2010, 285(15): 11476–11488.
- [8] Mizushima N, Noda T, Yoshimori T, et al. A protein conjugation system essential for autophagy. *Nature*, 1998, 395(6700): 395–398.
- [9] Mizushima N, Kuma A, Kobayashi Y, et al. Mouse Atg16L, a novel WD-repeat protein, targets to the autophagic isolation membrane with the Atg12-Atg5 conjugate. *J Cell Sci*, 2003, 116(9): 1679–1688.
- [10] Hanada T, Noda NN, Satomi Y, et al. The Atg12-Atg5 conjugate has a novel E3-like activity for protein lipidation in autophagy. *J Biol Chem*, 2007, 282(52): 37298–37302.
- [11] Yu ZQ, Ni T, Hong B, et al. Dual roles of Atg8-PE deconjugation by Atg4 in autophagy. *Autophagy*, 2012, 8(6): 883–892.
- [12] Hirata E, Ohya Y, Suzuki K. Atg4 plays an important role in efficient expansion of autophagic isolation membranes by cleaving lipidated Atg8 in *Saccharomyces cerevisiae*. *PLoS One*, 2017, 12(7): e0181047.
- [13] Jäger S, Bucci C, Tanida I, et al. Role for Rab7 in maturation of late autophagic vacuoles. *J Cell Sci*, 2004, 117(20): 4837–4848.
- [14] Itakura E, Kishi-Itakura C, Mizushima N. The hairpin-type tail-anchored SNARE syntaxin 17 targets to autophagosomes for fusion with endosomes/lysosomes. *Cell*, 2012, 151(6): 1256–1269.
- [15] Eskelinen EL, Illert AL, Tanaka Y, et al. Role of LAMP-2 in lysosome biogenesis and autophagy. *Mol Biol Cell*, 2002, 13(9): 3355–3368.
- [16] Neumann Y, Bruns SA, Rohde M, et al. Intracellular *Staphylococcus aureus* eludes selective autophagy by activating a host cell kinase. *Autophagy*, 2016, 12(11): 2069–2084.
- [17] Schnaith A, Kashkar H, Leggio SA, et al. *Staphylococcus aureus* subvert autophagy for induction of caspase-independent host cell death. *J Biol Chem*, 2007, 282(4): 2695–2706.
- [18] Wang H, Zhou YQ, Zhu QC, et al. *Staphylococcus aureus* induces autophagy in bovine mammary epithelial cells and the formation of autophagosomes facilitates intracellular replication of *Staph. aureus*. *J Dairy Sci*, 2019, 102(9): 8264–8272.
- [19] Lv YX, Fang L, Ding PS, et al. PI3K/Akt-Beclin1 signaling pathway positively regulates phagocytosis and negatively mediates NF- $\kappa$ B-dependent inflammation in *Staphylococcus aureus*-infected macrophages. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 510(2): 284–289.
- [20] Nakagawa I, Amano A, Mizushima N, et al. Autophagy defends cells against invading group A *Streptococcus*. *Science*, 2004, 306(5698): 1037–1040.
- [21] Barnett TC, Liebl D, Seymour LM, et al. The

- globally disseminated MIT1 clone of group A *Streptococcus* evades autophagy for intracellular replication. *Cell Host Microbe*, 2013, 14(6): 675–682.
- [22] Sakurai A, Maruyama F, Funao J, et al. Specific behavior of intracellular *Streptococcus pyogenes* that has undergone autophagic degradation is associated with bacterial streptolysin O and host small G proteins Rab5 and Rab7. *J Biol Chem*, 2010, 285(29): 22666–22675.
- [23] Cheng YL, Kuo CF, Lu SL, et al. Group A *Streptococcus* induces LAPosomes via SLO/ $\beta$ 1 integrin/NOX2/ROS pathway in endothelial cells that are ineffective in bacterial killing and suppress xenophagy. *MBio*, 2019, 10(5): e02148–19.
- [24] Nakajima S, Aikawa C, Nozawa T, et al. Bcl-xL affects group A *Streptococcus*-induced autophagy directly, by inhibiting fusion between autophagosomes and lysosomes, and indirectly, by inhibiting bacterial internalization via interaction with Beclin 1-UVRAG. *PLoS ONE*, 2017, 12(1): e170138.
- [25] Nakajima K, Nozawa T, Minowa-Nozawa A, et al. RAB30 regulates PI4KB (phosphatidylinositol 4-kinase beta)-dependent autophagy against group A *Streptococcus*. *Autophagy*, 2019, 15(3): 466–477.
- [26] Armstrong JA, Hart PD. Response of cultured macrophages to *Mycobacterium tuberculosis*, with observations on fusion of lysosomes with phagosomes. *J Exp Med*, 1971, 134(3): 713–740.
- [27] Gutierrez MG, Master SS, Singh SB, et al. Autophagy is a defense mechanism inhibiting BCG and *Mycobacterium tuberculosis* survival in infected macrophages. *Cell*, 2004, 119(6): 753–766.
- [28] Singh SB, Ornatowski W, Vergne I, et al. Human IRGM regulates autophagy and cell-autonomous immunity functions through mitochondria. *Nat Cell Biol*, 2010, 12(12): 1154–1165.
- [29] Kim BH, Shenoy AR, Kumar P, et al. A family of IFN-gamma-inducible 65-kD GTPases protects against bacterial infection. *Science*, 2011, 332(6030): 717–721.
- [30] Yoon HJ, Kim KH, Yang JK, et al. A docking study of enhanced intracellular survival protein from *Mycobacterium tuberculosis* with human DUSP16/MKP-7. *J Synchrotron Radiat*, 2013, 20(6): 929–932.
- [31] Othieno C, Hirsch CS, Hamilton BD, et al. Interaction of *Mycobacterium tuberculosis*-induced transforming growth factor  $\beta$ 1 and interleukin-10. *Infect Immun*, 1999, 67(11): 5730–5735.
- [32] Rieck B, Degiacomi G, Zimmermann M, et al. PknG senses amino acid availability to control metabolism and virulence of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathog*, 2017, 13(5): e1006399.
- [33] Vergne I, Chua J, Lee HH, et al. Mechanism of phagolysosome biogenesis block by viable *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(11): 4033–4038.
- [34] Nguyen L, Walburger A, Houben E, et al. Role of protein kinase G in growth and glutamine metabolism of *Mycobacterium bovis* BCG. *J Bacteriol*, 2005, 187(16): 5852–5856.
- [35] Puri RV, Reddy PV, Tyagi AK. Secreted acid phosphatase (SapM) of *Mycobacterium tuberculosis* is indispensable for arresting phagosomal maturation and growth of the pathogen in guinea pig tissues. *PLoS One*, 2013, 8(7): e70514.
- [36] Yang L, Zhang CQ, Zhao Y, et al. Effects of *Mycobacterium tuberculosis* mutant strain Hsp16.3 gene on murine RAW 264.7 macrophage autophagy. *DNA Cell Biol*, 2018, 37(1): 7–14.
- [37] Köster S, Upadhyay S, Chandra P, et al. *Mycobacterium tuberculosis* is protected from NADPH oxidase and LC3-associated phagocytosis by the LCP protein CpsA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(41): E8711–E8720.
- [38] Travassos LH, Carneiro LAM, Ramjeet M, et al. Nod1 and Nod2 direct autophagy by recruiting ATG16L1 to the plasma membrane at the site of bacterial entry. *Nat Immunol*, 2010, 11(1): 55–62.
- [39] Shaw MH, Kamada N, Warner N, et al. The ever-expanding function of NOD2: autophagy, viral recognition, and T cell activation. *Trends Immunol*, 2011, 32(2): 73–79.
- [40] Watson RO, Manzanillo PS, Cox JS. Extracellular *M. tuberculosis* DNA targets bacteria for autophagy by activating the host DNA-sensing pathway. *Cell*, 2012, 150(4): 803–815.
- [41] Yuk JM, Shin DM, Lee HM, et al. Vitamin D3 induces autophagy in human

- monocytes/macrophages via cathelicidin. *Cell Host Microbe*, 2009, 6(3): 231–243.
- [42] Martinez J, Malireddi RKS, Lu Q, et al. Molecular characterization of LC3-associated phagocytosis reveals distinct roles for Rubicon, NOX2 and autophagy proteins. *Nat Cell Biol*, 2015, 17(7): 893–906.
- [43] Zhang YY, Yi ZJ, Fu YR. Advances of the functions of microRNA in *Mycobacteria tuberculosis* resistance to autophagy. *Prog Biochem Biophys*, 2019, 46(1): 43–50 (in Chinese).  
张益源, 伊正君, 付玉荣. microRNA 在结核分枝杆菌抗细胞自噬作用中的研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2019, 46(1): 43–50.
- [44] Gluschko A, Herb M, Wiegmann K, et al. The  $\beta$ 2 integrin Mac-1 induces protective LC3-associated phagocytosis of *Listeria monocytogenes*. *Cell Host Microbe*, 2018, 23(3): 324–337.e5.
- [45] Anand PK, Tait SWG, Lamkanfi M, et al. TLR2 and RIP2 pathways mediate autophagy of *Listeria monocytogenes* via extracellular signal-regulated kinase (ERK) activation. *J Biol Chem*, 2011, 286(50): 42981–42991.
- [46] Birmingham CL, Canadien V, Gouin E, et al. *Listeria monocytogenes* evades killing by autophagy during colonization of host cells. *Autophagy*, 2007, 3(5): 442–451.
- [47] Py BF, Lipinski MM, Yuan JY. Autophagy limits *Listeria monocytogenes* intracellular growth in the early phase of primary infection. *Autophagy*, 2007, 3(2): 117–125.
- [48] Kayal S, Charbit A. Listeriolysin O: a key protein of *Listeria monocytogenes* with multiple functions. *FEMS Microbiol Rev*, 2006, 30(4): 514–529.
- [49] Seveau S, Pizarro-Cerda J, Cossart P. Molecular mechanisms exploited by *Listeria monocytogenes* during host cell invasion. *Microbes Infect*, 2007, 9(10): 1167–1175.
- [50] Yoshikawa Y, Ogawa M, Hain T, et al. *Listeria monocytogenes* ActA-mediated escape from autophagic recognition. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(10): 1233–1240.
- [51] Dortet L, Mostowy S, Louaka AS, et al. Recruitment of the major vault protein by InlK: a *Listeria monocytogenes* strategy to avoid autophagy. *PLoS Pathog*, 2011, 7(8): e1002168.
- [52] Dortet L, Mostowy S, Cossart P. *Listeria* and autophagy escape involvement of InlK, an internalin-like protein. *Autophagy*, 2012, 8(1): 132–134.
- [53] Owen KA, Casanova JE. *Salmonella* manipulates autophagy to "serve and protect". *Cell Host Microbe*, 2015, 18(5): 517–519.
- [54] Huett A, Heath RJ, Begun J, et al. The LRR and RING domain protein LRSAM1 is an E3 ligase crucial for ubiquitin-dependent autophagy of intracellular *Salmonella typhimurium*. *Cell Host Microbe*, 2012, 12(6): 778–790.
- [55] Noad J, von der Malsburg A, Pathe C, et al. LUBAC-synthesized linear ubiquitin chains restrict cytosol-invading bacteria by activating autophagy and NF- $\kappa$ B. *Nat Microbiol*, 2017, 2: 17063.
- [56] Polajnar M, Dietz MS, Heilemann M, et al. Expanding the host cell ubiquitylation machinery targeting cytosolic *Salmonella*. *EMBO Rep*, 2017, 18(9): 1572–1585.
- [57] van Wijk SJL, Fricke F, Herhaus L, et al. Linear ubiquitination of cytosolic *Salmonella typhimurium* activates NF- $\kappa$ B and restricts bacterial proliferation. *Nat Microbiol*, 2017, 2: 17066.
- [58] Shahnazari S, Yen WL, Birmingham CL, et al. A diacylglycerol-dependent signaling pathway contributes to regulation of antibacterial autophagy. *Cell Host Microbe*, 2010, 8(2): 137–146.
- [59] Thurston TLM, Wandel MP, von Muhlinen N, et al. Galectin 8 targets damaged vesicles for autophagy to defend cells against bacterial invasion. *Nature*, 2012, 482(7385): 414–418.
- [60] Ganesan R, Hos NJ, Gutierrez S, et al. *Salmonella Typhimurium* disrupts Sirt1/AMPK checkpoint control of mTOR to impair autophagy. *PLoS Pathog*, 2017, 13(2): e1006227.
- [61] Liu W, Zhuang J, Jiang YY, et al. Toll-like receptor signalling cross-activates the autophagic pathway to restrict *Salmonella Typhimurium* growth in macrophages. *Cell Microbiol*, 2019, 21(12): e13095.
- [62] Sirianni A, Krokowski S, Lobato-Márquez D, et al. Mitochondria mediate septin cage assembly to promote autophagy of *Shigella*. *EMBO Rep*, 2016, 17(7): 1029–1043.

- [63] Ogawa M, Yoshimori T, Suzuki T, et al. Escape of intracellular *Shigella* from autophagy. *Science*, 2005, 307(5710): 727–731.
- [64] Ogawa M, Yoshikawa Y, Kobayashi T, et al. A Tecpr1-dependent selective autophagy pathway targets bacterial pathogens. *Cell Host Microbe*, 2011, 9(5): 376–389.
- [65] Kayath CA, Hussey S, EL hajjami N, et al. Escape of intracellular *Shigella* from autophagy requires binding to cholesterol through the type III effector, IcsB. *Microbes Infect*, 2010, 12(12-13): 956–966.
- [66] Huang J, Birmingham CL, Shahnazari S, et al. Antibacterial autophagy occurs at PI(3)P-enriched domains of the endoplasmic reticulum and requires Rab1 GTPase. *Autophagy*, 2011, 7(1): 17–26.
- [67] Zoppino FCM, Militello RD, Slavin I, et al. Autophagosome formation depends on the small GTPase Rab1 and functional ER exit sites. *Traffic*, 2010, 11(9): 1246–1261.
- [68] Dong N, Zhu YQ, Lu QH, et al. Structurally distinct bacterial TBC-like GAPs link Arf GTPase to Rab1 inactivation to counteract host defenses. *Cell*, 2012, 150(5): 1029–1041.
- [69] Horwitz MA. Formation of a novel phagosome by the Legionnaires' disease bacterium (*Legionella pneumophila*) in human monocytes. *J Exp Med*, 1983, 158(4): 1319–1331.
- [70] Amer AO, Swanson MS. Autophagy is an immediate macrophage response to *Legionella pneumophila*. *Cell Microbiol*, 2005, 7(6): 765–778.
- [71] Kagan JC, Stein MP, Pypaert M, et al. *Legionella* subvert the functions of Rab1 and Sec22b to create a replicative organelle. *J Exp Med*, 2004, 199(9): 1201–1211.
- [72] Hamasaki M, Furuta N, Matsuda A, et al. Autophagosomes form at ER-mitochondria contact sites. *Nature*, 2013, 495(7441): 389–393.
- [73] Arasaki K, Mikami Y, Shames SR, et al. *Legionella* effector Lpg1137 shuts down ER-mitochondria communication through cleavage of syntaxin 17. *Nat Commun*, 2017, 8: 15406.
- [74] Choy A, Dancourt J, Mugo B, et al. The *Legionella* effector RavZ inhibits host autophagy through irreversible Atg8 deconjugation. *Science*, 2012, 338(6110): 1072–1076.
- [75] Wang Y. Autophagy plays an essential role in the clearance of *Acinetobacter baumannii* from mammalian cells[D]. Changchun: Jilin University, 2015 (in Chinese).  
汪杨. 自噬在真核细胞对鲍曼不动杆菌的清除中的作用的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2015.
- [76] Rodrigues PH, Bélanger M, Dunn W Jr, et al. *Porphyromonas gingivalis* and the autophagic pathway: an innate immune interaction?. *Front Biosci*, 2008, 13: 178–187.
- [77] Wang YH, Wu JJ, Lei HY. The autophagic induction in *Helicobacter pylori*-infected macrophage. *Exp Biol Med*, 2009, 234(2): 171–180.
- [78] Kim IJ, Lee J, Oh SJ, et al. *Helicobacter pylori* infection modulates host cell metabolism through VacA-dependent inhibition of mTORC1. *Cell Host Microbe*, 2018, 23(5): 583–593.e8.
- [79] Lu ZY, Xie DY, Chen Y, et al. TLR2 mediates autophagy through ERK signaling pathway in *Mycoplasma gallisepticum*-infected RAW264.7 cells. *Mol Immunol*, 2017, 87: 161–170.
- [80] Sun YH. Preliminary study of autophagy in lung epithelial cells induced by *M. ovipneumoniae* infection[D]. Yinchuan: Ningxia University, 2016 (in Chinese).  
孙远航. 绵羊肺炎支原体诱导肺脏上皮细胞自噬的初步研究[D]. 银川: 宁夏大学, 2016.
- [81] Wu XX. Role of NOD2 mediates autophagy in *Mycoplasma ovipneumoniae*-infected RAW264.7 cells[D]. Yinchuan: Ningxia University, 2018 (in Chinese).  
吴习习. NOD2 在绵羊肺炎支原体诱导巨噬细胞自噬中的作用机制[D]. 银川: 宁夏大学, 2018.
- [82] Raymond BBA, Turnbull L, Jenkins C, et al. *Mycoplasma hyopneumoniae* resides intracellularly within porcine epithelial cells. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 17697.

(本文责编 陈宏宇)