

DOI: 10.13376/j.cblls/2019107

文章编号: 1004-0374(2019)09-0871-08

布鲁氏菌逃避宿主免疫机制的研究进展

谢士杰, 彭小薇, 冯宇, 许冠龙, 丁家波, 范学政*

(中国兽医药品监察所国家/OIE动物布鲁氏菌病参考实验室, 北京 100081)

摘要: 布鲁氏菌病是由布鲁氏菌引起的一种人畜共患性传染病, 可以对畜牧业生产和人类健康造成严重的危害。布鲁氏菌是兼性胞内寄生菌, 在长期与宿主免疫系统的相互作用中, 进化出了多种逃避宿主免疫应答的机制。该文主要概述了布鲁氏菌胞内循环过程和逃避宿主先天性免疫应答和适应性免疫应答的机制, 以及通过激活非典型自噬途径、抑制细胞凋亡、调控细胞焦亡等方式建立慢性感染的策略, 以期为进一步深入研究布鲁氏菌病以及病原与宿主的相互作用提供参考。

关键词: 布鲁氏菌; 胞内寄生; 先天性免疫应答; 获得性免疫应答; 细胞凋亡; 细胞焦亡

中图分类号: R378.5; R516.7; S852.4; S852.614 **文献标志码:** A

Mechanism of *Brucella* evading from host immune response

XIE Shi-Jie, PENG Xiao-Wei, FENG Yu, XU Guan-Long, DING Jia-Bo, FAN Xue-Zheng*

(National/OIE Reference Laboratory for Animal Brucellosis, China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China)

Abstract: Brucellosis is a zoonotic infection caused by *Brucella* that can cause serious harm to livestock production and human health. *Brucella* is a facultative intracellular parasite that has evolved a variety of mechanisms to evade host immune responses from the long-term interaction with the host immune system. In this review, we mainly summarize the mechanisms of intracellular circulation of *Brucella*, its evasion from host innate immune response and adaptive immune response, and the strategies for establishing chronic infection by activating atypical autophagy, inhibiting apoptosis and regulating pyroptosis. It is expected to provide a reference to further study of brucellosis and pathogen interaction with host.

Key words: *Brucella*; intracellular parasitic; innate immunity; adaptive immunity; apoptosis; pyroptosis

布鲁氏菌病 (Brucellosis), 又称地中海弛张热、马耳他热、波浪热, 是由布鲁氏菌 (*Brucella*) 引起的一种人畜共患病, 被世界动物卫生组织 (OIE) 列为法定报告动物疫病。人感染后, 病程长, 反复发作, 长期不愈, 严重者丧失劳动力。家畜感染则出现流产和不育, 对畜牧业生产和人类健康造成严重危害。布鲁氏菌种型较多, 一般而言粗糙型毒力较弱, 光滑型毒力较强, 光滑型中又以羊种布鲁氏菌对人的毒力最强。布鲁氏菌的传播途径很多, 如体表皮肤、黏膜、消化道、呼吸道等。由于布鲁氏菌易形成气溶胶, 造成广泛感染, 我国将其归类为 B 类生物恐怖剂。

布鲁氏菌的感染可以分为三个阶段^[1-2]: 第一阶段在感染 2 天内, 为病原入侵宿主阶段; 第二阶

段为 2 天至 3 周的感染急性阶段, 布鲁氏菌在网状内皮组织和生殖系统的不同器官中复制; 第三阶段是 6 个月到 1 年以上的慢性感染阶段, 病原菌在肝脾等器官内达到最高水平 (7~12 周), 然后逐渐下降, 直至从体内清除。慢性感染是布鲁氏菌和机体作用相平衡的结果。为更好地解释布鲁氏菌逃避宿主免疫应答的机制, 本文从以下几个方面进行综述。

1 布鲁氏菌的细胞内循环与慢性感染

了解布鲁氏菌的细胞侵袭方式和胞内循环途径, 有助于理解布鲁氏菌逃避宿主免疫应答的机制。

收稿日期: 2019-03-29; 修回日期: 2019-06-02

基金项目: “十三五”科技攻关项目(2018YFD0500505)

*通信作者: E-mail: fanxuezheng@ivdc.org.cn

布鲁氏菌侵入机体后主要在巨噬细胞、树突状细胞和胎盘滋养层细胞中存活和复制^[3]。布鲁氏菌在细胞内经过复杂的囊泡运转，最终完成细菌的繁殖和释放，启动新一轮细胞感染^[4]。

根据布鲁氏菌胞内感染过程绘制的转运模型如图1所示。光滑型布鲁氏菌通过脂筏与巨噬细胞的胞膜相互作用，进入胞内后形成被吞噬泡包裹的布氏小体 (*Brucella*-containing vacuole, BCV)。A类清道夫受体 (SR-A) 和朊蛋白 PrPc 两种受体介导了布鲁氏菌通过脂筏侵入细胞的过程^[5-6]。BCV 与早期内体短暂接触，获得一些宿主的标记分子，如 EEA1 和 Rab5 等，这时的 BCV 被称为 eBCV (endosomal *Brucella*-containing vacuole)。随着 BCV 的成熟，eBCV 会慢慢失去早期内体标记分子，继而获得晚期内体和溶酶体标记分子，如 Rab7、LAMP-1 等^[7]，作为溶酶体识别与作用的标记，以促进 BCV 与溶酶体的融合。

逃脱溶酶体降解作用的 BCV 将到达内质网 (endoplasmic reticulum, ER)，以依赖于 Sar1 和 Rab2 的方式与内质网发生融合，此时的 BCV 被称为 rBCV (replicative *Brucella*-containing vacuole)。大多数细胞

中，布鲁氏菌在 rBCV 中复制，同时，rBCV 获得大量的内质网分子标志，如钙调蛋白、钙网蛋白和内质网蛋白 sec61 等^[4]。2018 年，Sedzicki 等^[8]通过扫描电镜研究发现，rBCV 部分与内质网直接相连，表明内质网不仅为布鲁氏菌的复制提供了良好的场所，也为布鲁氏菌的复制提供了物质条件。

感染后期 rBCV 会转变为 aBCV (autophagic *Brucella*-containing vacuole)，但有别于传统意义上的自噬体。aBCV 的形成需要自噬起始因子 ULK1、Beclin1、ATG14L 和 PI3K 激酶，但不需要自噬延伸因子 ATG5、ATG16L1、ATG4B、ATG7 和 LC3B，这意味着 aBCV 不会继续成熟杀死细胞。布鲁氏菌完成细胞内循环后，最终通过裂解和非裂解机制释放病原体^[9]。

研究表明，布鲁氏菌、沙眼衣原体、冠状病毒等胞内寄生性病原体采用不同的策略参与宿主细胞自噬途径，甚至进化出了操纵自噬相关基因 (autophagy related gene, ATG) 表达和功能的机制，以确保其胞内生命周期的完成^[10]。在布鲁氏菌胞内循环过程中，需要 aBCV 来完成胞内生命周期循环和细胞间扩散^[11]。BCV 选择性地与自噬起始蛋白

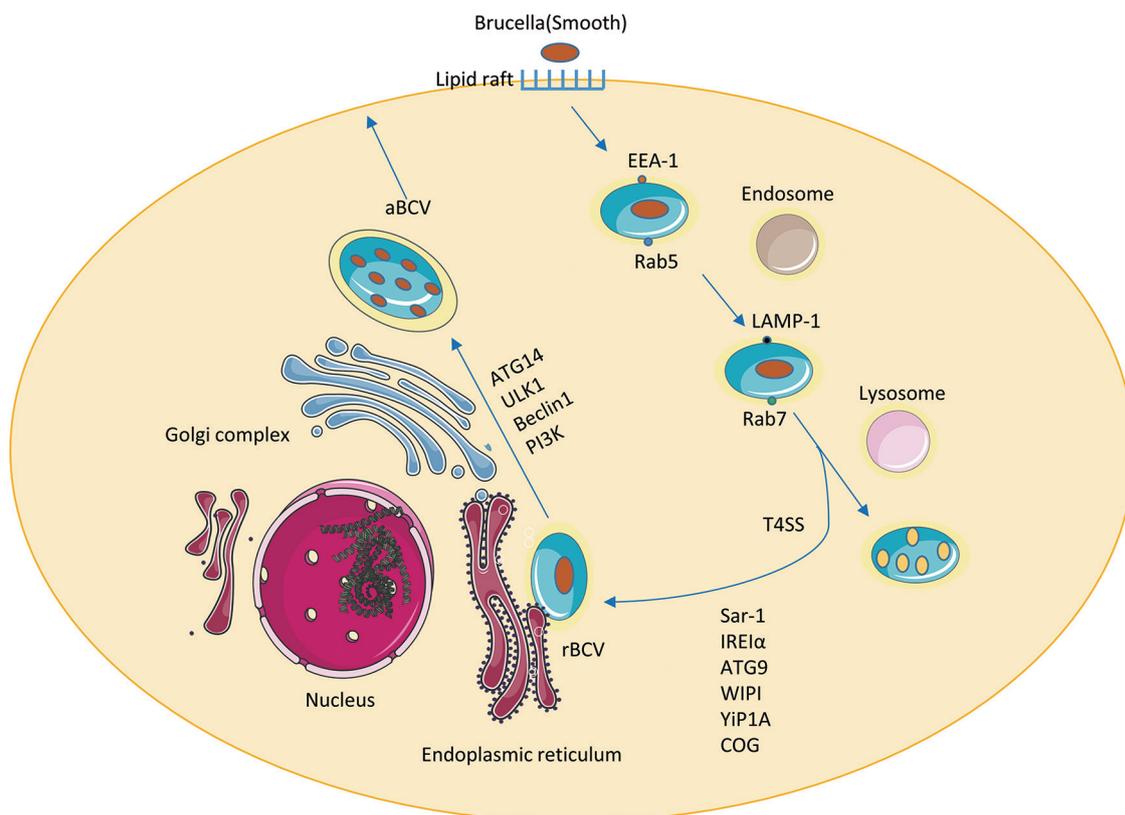


图1 布鲁氏菌的胞内转运模型

结合以破坏宿主的清除作用, 目前所涉及的机制仍未解释清楚。此外, aBCV 的形成还依赖于小 GTP 酶 Rab9^[9]。当内质网 Beclin1 和 PI3K 形成复合物时, rBCV 开始转化为 aBCV, 但随着 ATG14L 的消耗, aBCV 形成逐渐减少。有研究认为, 这种非经典自噬途径在宿主 - 病原体相互作用中发挥关键作用, 并且与典型自噬途径具有共同的上游调控因子^[12]。

宿主蛋白 Yip1A 在 rBCV 和 aBCV 的形成方面起到了重要作用。布鲁氏菌感染后, 通过分泌多种效应蛋白引起内质网未折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR)。介导 UPR 的 IRE1 分子与 Yip1A 在内质网出口位点 (ER export sites, ERES) 形成复合物, 使自身磷酸化。活化的 IRE1 可促进 ER 衍生泡的生成。ER 衍生泡与含有布鲁氏菌的溶酶体囊泡融合形成 rBCV, 通过持续与分泌的 ER 囊泡融合来促进布鲁氏菌增殖。在 Yip1A 敲除的细胞中, 布鲁氏菌不能形成 rBCV, 使得其保留在溶酶体内。IRE1 的敲除导致 IRE1 α 途径不能被激活, 呈现相同表型^[13]。Yip1A 激活 UPR 的 IRE1 α 通路后, Atg9 和 WIPI1 在 ERES 募集, 并上调 ER 衍生的细胞质被膜复合体 II (coat protein complex II, COPII) 的组分 Sar1、Sec23 和 Sec24D, 增强 COPII 囊泡从 ERES 分泌的能力。研究表明, COPII 囊泡是自噬体膜的来源, 在自噬体形成过程中起到重要作用^[14]。自噬相关蛋白在 rBCV 向 aBCV 的转化中起重要作用

而 Yip1A 在布鲁氏菌的复制和 aBCV 的形成中也是必需的。

BCV 酸化 (pH 降低至 4.0~4.5) 是 BCV 成熟过程中的一个重要环节, 而酸性环境有助于布鲁氏菌 VirB 操纵子的表达^[15]。VirB 操纵子调控的 IV 型分泌系统 (type IV secretion system, T4SS) 对布鲁氏菌胞内生存是必需的。除了 T4SS 以外, 双组分调节系统 (two-component regulatory system, BvrS/BvrR)、环状 β - 葡聚糖 (cyclic β -glucan)、LuxR 样转录调节因子 (LuxR-like transcriptional regulator, VjbR)、脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS)、鞭毛样结构 (flagellum-like structure)、转运蛋白样蛋白 (transporter-like protein, BacA) 和磷脂酰胆碱 (phosphatidylcholine) 等, 都是其侵入和胞内存活所必需的组分^[16]。CD98hc 跨膜蛋白对胞内增殖和信号通路调节也具有重要作用^[17]。粗糙型布鲁氏菌的内化和胞内运输机制尚不清楚^[18]。

2 布鲁氏菌逃避宿主免疫应答的机制

2.1 布鲁氏菌逃避宿主先天性免疫应答

先天性免疫应答作为机体的第一道免疫防线, 在保护机体免受病原侵袭的过程中起到了非常重要的作用。布鲁氏菌作为胞内寄生菌, 在长期与机体的相互作用中也进化出了许多干扰先天性免疫识别和应答的机制 (图 2)^[19]。

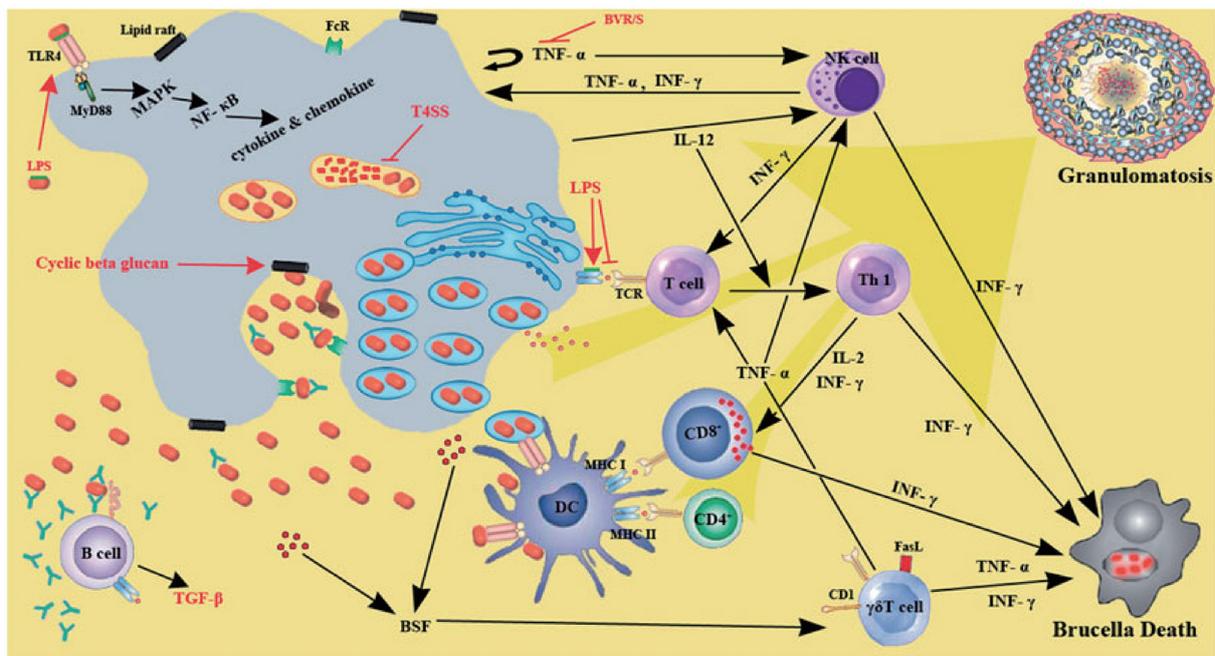


图2 宿主细胞对布鲁氏菌的免疫应答反应^[19]

机体主要通过中性粒细胞 (PMN)、自然杀伤细胞 (NK)、巨噬细胞 (M ϕ s)、树突状细胞 (DC)、细胞因子、模式识别受体 (PRRs) 识别病原相关分子模式 (PAMPs) 和补体系统等, 抑制和杀灭侵入的病原菌。

中性粒细胞 (PMN) 吞噬病原后主要依靠细胞内吞噬体中的各种消化酶消灭病原, 具有强大的吞噬、杀灭和清除病原菌的能力, 但是布鲁氏菌侵入机体后, 能够抑制中性粒细胞的脱颗粒反应, 从而阻止具有抗菌作用的过氧化氢酶的释放反应^[20]。研究发现, 在适应性免疫开始前去除 PMN, 有助于小鼠清除细菌, 表明中性粒细胞抑制了机体对布鲁氏菌的免疫应答^[21]。布鲁氏菌对次氯酸盐 (hypohalide)、磷脂酶 A2 (phospholipase A2)、导管素 (cathelicidin)、溶菌酶 (lysozyme) 和防御素 (defensins) 等也有不同的抵抗机制, 以保证其在淋巴组织中的转运过程。

活化的自然杀伤 (NK) 细胞, 作为抵御布鲁氏菌感染的第一道防线, 具有杀灭感染细胞的能力。布鲁氏菌诱导抗原递呈细胞分泌 IL-2 并激活 NK 细胞, NK 细胞活化后分泌 IFN- γ 、TNF- α 、GM-CSF 等细胞因子, 在 Th1 和 Tc1 反应中起到重要作用^[22]。然而, 也有研究显示, 人的自然杀伤细胞在布鲁氏菌急性感染时并不会分泌 IFN- γ , 同时还会抑制其对布鲁氏菌的细胞毒性作用。

巨噬细胞 (M ϕ s) 表面具有所有模式识别受体 (PRRs), 可根据病原模式分子的特性启动相应的免疫应答。布鲁氏菌在巨噬细胞中繁殖也影响了巨噬细胞的功能^[23]。在巨噬细胞中, *B. abortus* 可以抑制 IFN- γ 介导的吞噬功能, 还可以抑制巨噬细胞 TNF- α 的表达^[24]。感染的 M ϕ s 可以产生促炎症因子 (TNF- α 、IL-6、IL-12) 和炎症趋化因子 (GRO- α 、IL-8、MCP-1)。TNF- α 能够显著增强 M ϕ s 的杀菌能力, IL-12 能够诱导 Th1 免疫反应并产生 IFN- γ 。布鲁氏菌通过调节 IFN- γ 的分泌来调控 MHC-I 和 MHC-II 的表达, IFN- γ 介导的 Th1 型免疫应答对于布鲁氏菌的清除是必需的^[25]。

树突状细胞 (DC) 是专职抗原递呈细胞, 在先天性免疫和获得性免疫中发挥着重要的连接作用。研究表明, 布鲁氏菌在体内和体外的 DC 内均能有效增殖, *B. abortus* 2308 和 *B. suis* 1330 对 DC 的成熟具有明显的抑制作用^[26]。布鲁氏菌通过阻碍 TLR2 受体通路从而影响 DC 的成熟, 并通过减少 IL-12 的分泌和阻止 DC 对 T 细胞的激活来干扰 Th1 型免疫应答的建立^[27]。MHC-II 类分子是将外

源蛋白抗原呈递给特定 T 细胞所必需的, 感染后 DC 中 MHC-II 类分子以及 CD80 和 CD86 分子的表达均降低, 抑制了 DC 表型成熟, 导致促炎细胞因子分泌减少, 影响抗原的递呈, 最终影响细胞免疫应答^[28]。此外, 未成熟 DC 与幼稚 CD4⁺T 细胞的接触不能有效激活 CD8⁺ 细胞毒性 T 细胞 (CTL) 的作用, 并且还会诱导调节性 T 细胞 (Tregs) 分泌 TGF- β , 抑制 Th1 免疫应答^[29]。IL-10 水平的降低表明宿主对布鲁氏菌抵抗能力的提高^[30]。

宿主细胞主要通过模式识别受体 PRRs (TLRs、NLRs、RLRs、CLRs) 与病原相关分子模式 (PAMPs) 相互作用来识别对机体有害的物质, 启动相关免疫应答, 从而达到杀灭和清除病原物质的目的。TLRs 是一大类模式识别受体, 分布于细胞表面和内噬体膜, 能广泛识别细菌、病毒、寄生虫等。细菌中有独特的 PAMPs, 如脂多糖、鞭毛蛋白、磷壁酸和脂蛋白等。TLR1 和 TLR6 能与 TLR2 形成复合受体, 主要识别宿主微生物的脂蛋白成分; TLR2 主要识别宿主细胞外的脂蛋白和糖脂, TLR4 主要识别宿主细胞外的病原菌细胞壁的脂多糖, TLR5 主要识别病原菌的鞭毛蛋白^[31]。NLRs 是存在于细胞浆中的一类模式识别受体, 主要识别进入胞浆内的病原菌。研究表明, NLRP3 和 AIM2 参与了布鲁氏菌的识别^[32]。在抵御布鲁氏菌感染时, 模式识别受体之间的相互协助在抗感染中起着重要作用, 如产生具有活性的 IL-1 β 需要 TLRs 和 NLRs 的共同参与。布鲁氏菌 LPS 含有较长的乙酰基侧链 (C28), 降低了 TLR4 识别和激活的可能性^[33]。布鲁氏菌的鞭毛蛋白缺乏 TLR5 识别的特异性结构域, 在免疫逃逸中也发挥着重要作用^[34]。

补体系统包含多种可溶性和膜结合型蛋白类天然免疫分子, 活化后参与先天性免疫和适应性免疫应答。多数革兰氏阴性菌易被补体裂解, 如鼠伤寒沙门氏菌, 其 O- 抗原中具有游离羟基残基, 有利于与 C3 结合。而布鲁氏菌的 O- 抗原中具有 1,2- 连接的 4,6- 二脱氧 -4- 甲酰胺基 - α -d- 吡喃甘露糖基 (1,2-linked 4,6-dideoxy-4-formamido- α -d-mannopyranosyl residues) 的线性均聚物, 缺乏自由羟基。布鲁氏菌 O- 抗原与 C3 接触后, 抑制了 C3a 和 C5a 的产生。同时, 菌体表面的细胞壁脂多糖 LPS 有很多长的多糖侧链, 阻止了攻膜复合体接触细胞膜。不同的研究表明, 通过与脂筏和巨噬细胞 SR-A 的相互作用, O- 抗原在促进非炎症反应中起重要作用^[5]。

这些研究表明, 布鲁氏菌在调节先天免疫应答中关键的策略是调节吞噬细胞状态, 抑制 TLR、NLR 的作用以及对补体系统的干扰, 但仍需要进一步研究体内 DC 的成熟和新的蛋白在先天免疫应答中的作用以及对适应性免疫应答的影响, 以更全面地了解慢性感染的过程。

2.2 布鲁氏菌逃避宿主获得性免疫应答

机体的适应性免疫应答主要包括体液免疫应答和细胞免疫应答两个方面, 体液免疫和细胞免疫常常处于平衡状态。布鲁氏菌作为胞内寄生性病原菌, 主要以细胞免疫应答为主, 其并不能完全逃脱机体的免疫防御功能。

在长期的进化中, 布鲁氏菌产生了干扰信息从先天性免疫到获得性免疫的传递机制, 从而建立慢性感染。布鲁氏菌感染机体后, 引起的获得性免疫应答主要有三种作用机制。一是 CD4⁺/CD8⁺γδT 细胞分泌 IFN-γ 激活巨噬细胞的杀菌功能, 阻止布鲁氏菌的胞内寄生; 二是 CD8⁺γδT 细胞的细胞毒性作用, 可杀伤受感染的巨噬细胞; 三是 Th1 型抗体亚型, 如 IgG2a/IgG3, 通过调理作用, 促进对降解的 BCVs 的吞噬作用^[1-2]。此外, IL-12、IFN-γ 和 TNF-α 等细胞因子, 在启动先天和适应性免疫反应中也发挥着重要作用。LPS 增强了 Th1 型细胞因子, 如 IL-10 和 IFN-γ 的反应^[35]。

在慢性布鲁氏菌感染中, 随着脾脏中 CD4⁺CD25⁺T 细胞增加, 机体呈现出免疫抑制状态。CD4⁺T 细胞和 CD25⁺T 细胞可以通过抗体作用消除感染的布鲁氏菌, 而 CD4⁺CD25⁺ 调节性 Treg 细胞能够限制 CD4⁺T 细胞的作用。相比之下, MHC-II 类和 CD4⁺ Ab 缺陷型小鼠比野生型小鼠能够更快地消除布鲁氏菌。布鲁氏菌感染后 Mφs 和 DCs 募集的减少导致 CD8⁺T 淋巴细胞活化减少, 进而形成免疫抑制, 有利于布鲁氏菌的复制和慢性感染^[36]。

布鲁氏菌的非典型的 LPS, 其特殊的结构在逃避先天性免疫过程中起到非常重要的作用, 但却有助于启动抗原递呈和适应性免疫应答。LPS 与 MHC-II 类分子和脂筏在巨噬细胞表面形成较大的结构簇, 促进了免疫应答的启动^[37]。纯化的 LPS 在 MHC-II 分子存在的情况下, 会抑制巨噬细胞将卵清溶菌酶 (HEL) 抗原肽呈递给特定 CD4⁺T 细胞的能力。

布鲁氏菌毒力因子 prpA 是建立慢性感染所必需的几种因子之一, 其与巨噬细胞相互作用促进 B 细胞增殖。在感染初期 prpA 能够调节 IFN-γ、TNF-α、IL-10 和 TGF-β1 等细胞因子的分泌水平^[38]。研究

表明, PrpA、Btp1/TcpB 和 LPS 作为免疫调节分子, 具有抑制 IFN-γ 分泌和促进 IL-10 分泌的能力, 进而影响 Th1 免疫应答^[35]。

布鲁氏菌通过表达含有 TIR 结构域 Btp1/TcpB 的分泌蛋白抑制免疫信号转导。该蛋白的详细机制仍未完全了解, 但有证据表明, 与含有 TIR 结构域的衔接蛋白 (TIRAP/Mal) 结合时, 其与 MyD88 (myeloid differentiation response gene 88) 竞争, 最终促进 TIRAP/Mal 的泛素化降解, 抑制 TLR4 和 TLR2 信号转导^[39]。通过这种方式, 布鲁氏菌抑制 DC 的成熟和促炎细胞因子 IL-12 和 TNF-α 等的产生。此外, 该蛋白还抑制了 CD8⁺T 细胞对布鲁氏菌靶细胞的杀伤作用^[40]。效应蛋白 BspB 通过与保守的寡聚高尔基体 (conserved oligomeric Golgi, COG) 相互作用, 调节 COG 依赖性运输, 将高尔基体衍生的囊泡重定向到 BCV, 促进 rBCV 的形成, 从而促进布鲁氏菌的胞内增殖^[41]。布鲁氏菌二氧四氢喋啶合酶 (*Brucella* lumazine synthase, BLS) 通过 TLR4 传递信号, 诱导 DC 成熟和 CD8⁺T 细胞毒性作用, 从而抑制肿瘤生长, 调节先天和适应性免疫应答^[42]。本实验室也试图通过挖掘更多分泌蛋白的作用, 进一步解释布鲁氏菌慢性感染和逃避宿主免疫的机制。目前已鉴定出几个影响布鲁氏菌毒力的新分泌蛋白 (相关数据暂未发表)。

2.3 布鲁氏菌逃避宿主免疫反应的其他机制

2.3.1 布鲁氏菌抑制细胞凋亡

细胞凋亡 (apoptosis) 是一种调控细胞程序性死亡的方式, 通常由半胱天冬氨酸水解酶 (caspase) 启动, 促进对胞内寄生菌的防御性反应。抑制感染细胞的凋亡也是布鲁氏菌维持其胞内存活的重要逃逸方式。布鲁氏菌感染后诱导细胞内钙水平上调是其在巨噬细胞内存活的重要因素之一。感染后胞内钙依赖的 E3 泛素连接酶 Nedd4 的活性显著增加, 通过降解钙依赖性蛋白酶 calpain2 抑制巨噬细胞凋亡^[43]。caspase-2 参与许多促进巨噬细胞凋亡的基因的调节^[44]。此外, 锌指蛋白 A20 会影响肿瘤坏死因子受体 1 (tumor necrosis factor receptor 1, TNFR1) 的信号通路, 同时抑制巨噬细胞活化和凋亡。A20 上调可抑制 NF-κB 通路, 限制 caspase-8 依赖性巨噬细胞死亡, 促进细菌的胞内生长^[45]。在 *B. melitensis* 感染中, 一些涉及线粒体凋亡通路的基因也明显下调。

光滑型布鲁氏菌侵入巨噬细胞进行复制后, 部分能转化为对巨噬细胞有细胞毒性的粗糙型突变体,

从而有利于细菌的排出和传播^[46]。*B. abortus* 2308 粗糙型突变株 LPS 不完整,不能抑制细胞凋亡^[18],可能与 T4SS 和 LPS 抑制 TLR 信号转导有关。布鲁氏菌以依赖于 TNF- α 分泌的方式通过脂蛋白 (OMP19) 引起 T 细胞凋亡,直接抑制 T 细胞应答,从而逃避适应性免疫应答。此外,被感染的中性粒细胞和单核细胞中各种黏附分子如 CD106 和 CD54 明显地上调,从而抑制感染细胞的凋亡^[47]。这些证据表明,抑制细胞凋亡是布鲁氏菌在细胞内复制的一种策略,有助于逃避免疫应答。

2.3.2 布鲁氏菌调控细胞焦亡

细胞焦亡 (pyroptosis) 是先天免疫系统对病原体产生的重要免疫反应,又称细胞炎性坏死,是一种程序性细胞坏死。其特征为依赖于 caspase-1,并伴有大量促炎症因子的释放。活化的 caspase-1 可分别将 pro-IL-1 β 和 pro-IL-18 切割成成熟形式 IL-1 β 和 IL-18 促进炎症反应,且 caspases 能与消皮素 D (gasermin D, GSDMD) 相互作用,调控细胞焦亡。炎症小体 (inflammasome) 是由胞浆内模式识别受体 (PRRs) 参与组装的多蛋白复合物,能够识别 PAMPs,招募和激活 caspase-1,调节 caspase-1 依赖的 pyroptosis。

不同的研究表明,细胞焦亡限制了布鲁氏菌的感染。caspase-1、IL-1 β 、IL-18、NLRP3、AIM2 等在保护宿主免受病原菌感染方面发挥了重要的作用^[48]。而 NLRP12 能抑制促炎细胞因子的产生,削弱宿主对流产布鲁氏菌的防御作用^[49]。布鲁氏菌同样能引发 caspase-11/GSDMD 非经典炎性体激活途径^[32]。目前在嗜肺军团菌、结核分枝杆菌、沙眼衣原体和布鲁氏菌等多种病原体中均有报道,病原体通过抑制宿主细胞炎性体的作用,从而调控细胞焦亡,逃避宿主的免疫应答。研究表明,感染巨噬细胞中炎性小体的激活需要 T4SS 的作用。在巨噬细胞中,效应蛋白 TcpB 能抑制 LPS 诱导的非经典炎性体激活,并且能够诱导 caspase-1、caspase-4、caspase-11 的泛素化和降解,从而抑制细胞焦亡^[48]。TcpB 也能抑制 TLR4 和 caspase-4、caspase-11 介导的炎症^[50]。细胞焦亡有助于免疫细胞的募集和激活,对限制体内病原体感染十分重要,而布鲁氏菌抑制细胞焦亡的更详细的机制还有待进一步研究阐明。

3 结语

先天性免疫和适应性免疫在宿主对布鲁氏菌病的抗感染免疫中都起着重要作用。虽然先天性细胞

免疫能够发挥复杂的免疫功能,但其抗感染效果有限,布鲁氏菌引发的免疫应答以适应性细胞免疫为主。病原体与宿主的互作机制是十分复杂的。尽管许多宿主对布鲁氏菌的免疫应答机制以及布鲁氏菌逃避宿主免疫反应的方式和策略已经被报道,但仍有许多问题需要进一步研究:如布鲁氏菌抑制宿主细胞凋亡的详细机制仍有待进一步发掘;布鲁氏菌诱导自噬影响其胞内存活和扩散的具体方式;sRNA 如何干扰先天性和适应性免疫应答,调节其胞内存活;分泌蛋白在布鲁氏菌逃避机体免疫应答中的作用;布鲁氏菌调控宿主细胞焦亡的机制等。以上将是未来几年内深入研究布鲁氏菌胞内存活和逃避宿主免疫反应机制的重点。

[参 考 文 献]

- [1] Martirosyan A, Moreno E, Gorvel JP. An evolutionary strategy for a stealthy intracellular *Brucella* pathogen. *Immunol Rev*, 2011, 240: 211-34
- [2] Grillo MJ, Blasco JM, Gorvel JP, et al. What have we learned from brucellosis in the mouse model? *Vet Res*, 2012, 43: 29
- [3] Copin R, Vitry MA, Hanot Mambres D, et al. *In situ* microscopy analysis reveals local innate immune response developed around *Brucella* infected cells in resistant and susceptible mice. *PLoS Pathog*, 2012, 8: e1002575
- [4] Celli J, de Chastellier C, Franchini DM, et al. *Brucella* evades macrophage killing via VirB-dependent sustained interactions with the endoplasmic reticulum. *J Exp Med*, 2003, 198: 545-56
- [5] Kim S, Watarai M, Suzuki H, et al. Lipid raft microdomains mediate class A scavenger receptor-dependent infection of *Brucella abortus*. *Microb Pathog*, 2004, 37: 11-9
- [6] Watarai M, Kim S, Erdenebaatar J, et al. Cellular prion protein promotes *Brucella* infection into macrophages. *J Exp Med*, 2003, 198: 5-17
- [7] von Bargen K, Gorvel JP, Salcedo SP. Internal affairs: investigating the *Brucella* intracellular lifestyle. *FEMS Microbiol Rev*, 2012, 36: 533-62
- [8] Sedzicki J, Tschon T, Low SH, et al. 3D correlative electron microscopy reveals continuity of *Brucella*-containing vacuoles with the endoplasmic reticulum. *J Cell Sci*, 2018, 131: jcs210799
- [9] Starr T, Child R, Wehrly TD, et al. Selective subversion of autophagy complexes facilitates completion of the *Brucella* intracellular cycle. *Cell Host Microbe*, 2012, 11: 33-45
- [10] Bestebroer J, V'Kovski P, Mauthe M, et al. Hidden behind autophagy: the unconventional roles of ATG proteins. *Traffic*, 2013, 14: 1029-41
- [11] Starr T, Ng TW, Wehrly TD, et al. *Brucella* intracellular replication requires trafficking through the late endosomal/lysosomal compartment. *Traffic*, 2008, 9: 678-94
- [12] Manjithaya R, Subramani S. Autophagy: a broad role in

- unconventional protein secretion? Trends Cell Biol, 2011, 21: 67-73
- [13] Taguchi Y, Imaoka K, Kataoka M, et al. Yip1A, a novel host factor for the activation of the IRE1 pathway of the unfolded protein response during *Brucella* infection. PLoS Pathog, 2015, 11: e1004747
- [14] Wang J, Tan D, Cai Y, et al. A requirement for ER-derived COPII vesicles in phagophore initiation. Autophagy, 2014, 10: 708-9
- [15] Porte F, Liautard JP, Köhler S. Early acidification of phagosomes containing *Brucella suis* is essential for intracellular survival in murine macrophages. Infect Immun, 1999, 67: 4041-7
- [16] Roop RM, Gaines JM, Anderson ES, et al. Survival of the fittest: how *Brucella* strains adapt to their intracellular niche in the host. Med Microbiol Immunol, 2009, 198: 221-38
- [17] Keriél A, Botella E, Estrach S, et al. *Brucella* intracellular life relies on the transmembrane protein CD98 heavy chain. J Infect Dis, 2015, 211: 1769-78
- [18] Pei J, Turse JE, Wu Q, et al. *Brucella abortus* rough mutants induce macrophage oncosis that requires bacterial protein synthesis and direct interaction with the macrophage. Infect Immun, 2006, 74: 2667-75
- [19] Amjadi O, Rafiei A, Mardani M, et al. A review of the immunopathogenesis of Brucellosis. Infect Dis, 2019, 51: 321-33
- [20] Barquero-Calvo E, Mora-Cartin R, Arce-Gorvel V, et al. *Brucella abortus* induces the premature death of human neutrophils through the action of its lipopolysaccharide. PLoS Pathog, 2015, 11: e1004853
- [21] Mora-Cartin R, Gutierrez-Jimenez C, Alfaro-Alarcon A, et al. Neutrophils dampen adaptive immunity in brucellosis. Infect Immun, 2019, 87: e00118-19
- [22] Gao N, Jennings P, Guo Y, et al. Regulatory role of natural killer (NK) cells on antibody responses to *Brucella abortus*. Innate Immun, 2011, 17: 152-63
- [23] Caswell CC. Assessment of survival and replication of *Brucella* spp. in murine peritoneal macrophages. Methods Mol Biol, 2019, 1960: 181-9
- [24] Barrionuevo P, Delpino MV, Velasquez LN, et al. *Brucella abortus* inhibits IFN- γ -induced Fc γ RI expression and Fc γ RI-restricted phagocytosis via toll-like receptor 2 on human monocytes/macrophages. Microbes Infect, 2011, 13: 239-50
- [25] Velasquez LN, Milillo MA, Delpino MV, et al. Inhibition of MHC-I by *Brucella abortus* is an early event during infection and involves EGFR pathway. Immunol Cell Biol, 2017, 95: 388-98
- [26] Salcedo SP, Marchesini MI, Lelouard H, et al. *Brucella* control of dendritic cell maturation is dependent on the TIR-containing protein Btp1. PLoS Pathog, 2008, 4: e21
- [27] Avila-Calderon ED, Flores-Romo L, Sharon W, et al. Dendritic cells and *Brucella* spp. interaction: the sentinel host and the stealthy pathogen. Folia Microbiol (Praha), 2019 [Epub ahead of print]
- [28] Barrionuevo P, Giambartolomei GH. Inhibition of antigen presentation by *Brucella*: many more than many ways. Microbes Infect, 2019 [Epub ahead of print]
- [29] Elfaki MG, Al-Hokail AA. Transforming growth factor β production correlates with depressed lymphocytes function in humans with chronic brucellosis. Microbes Infect, 2009, 11: 1089-96
- [30] Smith CM, Wilson NS, Waithman J, et al. Cognate CD4⁺ T cell licensing of dendritic cells in CD8⁺ T cell immunity. Nat Immunol, 2004, 5: 1143-8
- [31] Hoebe K, Janssen E, Beutler B. The interface between innate and adaptive immunity. Nat Immunol, 2004, 5: 971-4
- [32] Cerqueira DM, Gomes MTR, Silva ALN, et al. Guanylate-binding protein 5 licenses caspase-11 for Gasdermin-D mediated host resistance to *Brucella abortus* infection. PLoS Pathog, 2018, 14: e1007519
- [33] Lapaque N, Muller A, Alexopoulou L, et al. *Brucella abortus* induces Irgm3 and Irga6 expression via type-I IFN by a MyD88-dependent pathway, without the requirement of TLR2, TLR4, TLR5 and TLR9. Microb Pathog, 2009, 47: 299-304
- [34] Andersen-Nissen E, Smith KD, Strobe KL, et al. Evasion of Toll-like receptor 5 by flagellated bacteria. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102: 9247-52
- [35] Kianmehr Z, Soleimanjahi H, Ardestani SK, et al. Influence of *Brucella abortus* lipopolysaccharide as an adjuvant on the immunogenicity of HPV-16 L1VLP vaccine in mice. Med Microbiol Immunol, 2015, 204: 205-13
- [36] Pasquali P, Thornton AM, Vendetti S, et al. CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells limit effector T cells and favor the progression of brucellosis in BALB/c mice. Microbes Infect, 2010, 12: 3-10
- [37] Lapaque N, Takeuchi O, Corrales F, et al. Differential inductions of TNF- α and IGTP, IIGP by structurally diverse classic and non-classic lipopolysaccharides. Cell Microbiol, 2006, 8: 401-13
- [38] Spera JM, Comerchi DJ, Ugalde JE. *Brucella* alters the immune response in a prpA-dependent manner. Microb Pathog, 2014, 67-68: 8-13
- [39] Snyder GA, Deredge D, Waldhuber A, et al. Crystal structures of the Toll/Interleukin-1 receptor (TIR) domains from the *Brucella* protein TcpB and host adaptor TIRAP reveal mechanisms of molecular mimicry. J Biol Chem, 2014, 289: 669-79
- [40] Durward M, Radhakrishnan G, Harms J, et al. Active evasion of CTL mediated killing and low quality responding CD8⁺ T cells contribute to persistence of brucellosis. PLoS One, 2012, 7: e34925
- [41] Miller CN, Smith EP, Cundiff JA, et al. A *Brucella* type IV effector targets the COG tethering complex to remodel host secretory traffic and promote intracellular replication. Cell Host Microbe, 2017, 22: 317-29, e7
- [42] Rossi AH, Farias A, Fernandez JE, et al. *Brucella* spp. lumazine synthase induces a TLR4-mediated protective response against B16 melanoma in mice. PLoS One, 2015, 10: e0126827
- [43] Cui G, Wei P, Zhao Y, et al. *Brucella* infection inhibits

- macrophages apoptosis via Nedd4-dependent degradation of calpain2. *Vet Microbiol*, 2014, 174: 195-205
- [44] Bronner DN, O'Riordan MX, He Y. Caspase-2 mediates a *Brucella abortus* RB51-induced hybrid cell death having features of apoptosis and pyroptosis. *Front Cell Infect Microbiol*, 2013, 3: 83
- [45] Wei P, Cui G, Lu Q, et al. A20 promotes *Brucella* intracellular growth via inhibition of macrophage cell death and activation. *Vet Microbiol*, 2015, 175: 50-7
- [46] Pei J, Kahl-McDonagh M, Ficht TA. *Brucella* dissociation is essential for macrophage egress and bacterial dissemination. *Front Cell Infect Microbiol*, 2014, 4: 23
- [47] Scian R, Barrionuevo P, Rodriguez AM, et al. *Brucella abortus* invasion of synoviocytes inhibits apoptosis and induces bone resorption through RANKL expression. *Infect Immun*, 2013, 81: 1940-51
- [48] Marim FM, Franco MMC, Gomes MTR, et al. The role of NLRP3 and AIM2 in inflammasome activation during *Brucella abortus* infection. *Semin Immunopathol*, 2017, 39: 215-23
- [49] Silveira TN, Gomes MT, Oliveira LS, et al. NLRP12 negatively regulates proinflammatory cytokine production and host defense against *Brucella abortus*. *Eur J Immunol*, 2017, 47: 51-9
- [50] Jakka P, Namani S, Murugan S, et al. The *Brucella* effector protein TcpB induces degradation of inflammatory caspases and thereby subverts non-canonical inflammasome activation in macrophages. *J Biol Chem*, 2017, 292: 20613-27