

综述

自噬在结核分枝杆菌感染中作用的研究进展

马沁梅^{1,2} 韩璐^{1,2} 邓光存^{1,2} 吴晓玲^{1,2*}

(1西部特色生物资源保护与利用教育部重点实验室, 银川 750021; 2宁夏大学生命科学学院, 银川 750021)

摘要 结核病是一种由结核分枝杆菌感染引发的全球致死性传染病。结核分枝杆菌感染巨噬细胞后其在胞内的命运与细胞自噬的发生息息相关。但是, 由于结核分枝杆菌与细胞自噬之间的博弈过程十分复杂且机制尚未完全阐明。因此, 该文以结核分枝杆菌感染巨噬细胞后经典自噬和LAP对结核病发生发展的作用为切入点, 从自噬抗结核分枝杆菌感染与结核分枝杆菌破坏自噬发生两个方面阐述了自噬与结核分枝杆菌之间的相互作用, 从而为结核病发病机制的研究提供新的思路和视角。

关键词 结核病; 结核分枝杆菌; 巨噬细胞; 细胞自噬

The Research Progress of Autophagy in *Mycobacterium tuberculosis* InfectionMA Qinmei^{1,2}, HAN Lu^{1,2}, DENG Guangcun^{1,2}, WU Xiaoling^{1,2*}

(1Key Laboratory of Ministry of Education for Conservation and Utilization of Special Biological Resources in the Western China, Yinchuan 750021, China; 2School of Life Sciences, Yinchuan 750021, China)

Abstract The infection of *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) is the cause of tuberculosis (TB), which remains a fatal rate in most parts of the world. The mechanism of the interaction between Mtb and host cell is complicated and unclear. Moreover, the fate of Mtb and macrophage are related with autophagy. In this context, we summarize current knowledge about the role of autophagy in Mtb infection. By mostly morphological and mechanically studies, it showed that autophagy can effectively suppress Mtb infection to macrophage. Oppositely, Mtb break the autophagic process by self-protection. In light of the interaction between autophagy and *Mycobacterium tuberculosis*, it provides novel insights for studying pathogenesis and physiological control of tuberculosis.

Keywords tuberculosis; *Mycobacterium tuberculosis*; macrophage; autophagy

结核病(tuberculosis, TB)是一种全球致死性人畜共患传染病。尽管很多国家和国际机构实施了多种干预手段和预防措施, 但TB导致的全球死亡人数

每年仍达到170余万人。近年来, 随着新型耐药菌株涌现, HIV双重感染及卡介苗(BCG)免疫效果降低, 使得结核病的发病率及死亡率进一步上升。结核分

收稿日期: 2019-03-27

接收日期: 2019-07-22

国家自然科学基金(批准号: 31760324、31760326)、宁夏重点研发计划项目(批准号: 2018BFH03017)、西部一流学科建设重大创新项目(批准号: ZKZD2017001)和宁夏科技创新领军人才培养项目(批准号: KJT2017002)资助的课题

*通讯作者: Tel: 0951-2062812, E-mail: wuxiaol@nxu.edu.cn

Received: March 27, 2019

Accepted: July 22, 2019

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31760324, 31760326), the Key Research and Development Program of Ningxia (Grant No.2018BFH03017), Major Innovation Projects for the Construction of First-Class Subjects in the West (Grant No.ZKZD2017001) and the Project for Cultivation of Scientific and Innovative Talent (Grant No.0KJT2017002)

*Corresponding author: Tel: +86-951-2062812, E-mail: wuxiaol@nxu.edu.cn

网络出版时间: 2019-08-27 13:42:44

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.q.20190827.1342.002.html>

枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, Mtb)作为一种兼性细胞内生菌^[1], 由于膜识别受体不同, 在侵入机体时会产生不同的感染机制。据报道, 自噬(autophagy)作为细胞程序性死亡方式的一种, 在Mtb感染和治疗方面具有一定积极作用^[2]。但是, 随着人们对自噬与Mtb感染免疫应答机制的研究不断深入, 发现Mtb也演化出了多种应对策略逃避自噬对自身的调控作用。例如, 通过阻断吞噬溶酶体酸化防止溶酶体水解酶对其进行降解, 从而逃避自噬。由于Mtb与自噬的相互作用对TB的发生发展具有深远意义, 因此, 本综述着重就Mtb感染巨噬细胞后自噬与Mtb之间的免疫应答关系展开讨论, 以期深入了解Mtb侵入巨噬细胞时自噬发挥的作用, 并为TB的治疗以及寻找药物作用治疗的新靶点提供理论依据。

1 巨噬细胞与结核分枝杆菌

Mtb作为TB的致病菌, 是一种具有高度传染性的病原体。尽管近年来TB的治疗效果已经有了很大提升, 但其跟其他单一传染病相比仍然具有较高的致死率。巨噬细胞作为Mtb感染的靶细胞和机体固有免疫应答的主要细胞, 可最早感知病原体并对其进行吞噬。已有文献指出, 多种吞噬受体可以介导巨噬细胞摄入Mtb, 因此Mtb涉及的特定吞噬受体可能影响巨噬细胞之后控制感染能力^[3]。一般情况下, 当Mtb通过鼻腔和气溶胶途径抵达肺部时, 常驻肺泡巨噬细胞会通过Toll样、Dectin-1、甘露糖、DC-SIGN等表面受体以及NOD样、TLR-9等内部受体对其进行识别, 引发强烈的促炎反应, 在大多数情况下对胞内Mtb进行杀伤^[4]。之后为了应对Mtb感染, 宿主巨噬细胞会通过诱导细胞凋亡^[5]、细胞自噬^[6]、促进吞噬体-溶酶体融合^[7]、产生自由基ROS和RNS、分泌干扰素及包括IL-12、IL-17、IL-23在内的多种细胞因子, 靶向作用于病原体对其进行防御。同时, 这些反应通过抗原特异性细胞和随后产生的记忆T细胞启动针对清除Mtb的适应性免疫应答信号^[8]。但是, 由于巨噬细胞具有表型多样性^[9], 且肺泡巨噬细胞作为肺部免疫细胞防御的“哨兵”, 通常被用于限制炎症和最小化肺损伤以保持肺泡功能, 这可能使肺泡巨噬细胞缺乏足够的能力控制Mtb感染^[10]。由于Mtb会选择性地受纳单核细胞而不是更多的抗菌菌群招募到感染部位, 所以, 即使还未进入巨噬细胞, Mtb也可能通过选择性寄生更多的受纳细

胞并促进细胞间表面受体相互作用成功侵入机体。此外, 已知几种Mtb相关蛋白会干扰吞噬体-溶酶体融合^[11-12]。一旦Mtb通过抑制吞噬体-溶酶体融合存活下来, 它可能会受到其他方面的制约, 包括程序性细胞死亡和其他细胞死亡的调控形式。其中, 由自噬介导的一系列反应已经成为俘获和清除Mtb的关键过程。

2 细胞自噬

细胞自噬又名“自我进食”, 在细胞生长更新及维持内环境稳态中发挥重要作用。自噬这一概念由比利时科学家德迪夫(Christian de Duve)于1963年在溶酶体国际会议上提出。它由大约32个基因高度保守的基因产物介导, 具有较高的选择性与进化保守性, 主要在细胞质中发生^[13-14]。随着自噬在宿主防御和针对细胞内病原体的先天免疫应答方式不断趋于复杂, 研究人员将所有自噬类型归为经典自噬(canonical autophagy)与非经典自噬(noncanonical autophagy)^[15]。

经典自噬一般根据待降解物进入溶酶体的不同途径分为巨自噬、微自噬以及分子伴侣介导的自噬^[16]。虽然巨自噬双层膜的具体形成机制尚未完全阐明^[17], 但目前对其研究最为深入, 因此本文讨论的经典自噬主要为巨自噬。其主要发生过程包括前自噬体的形成、自噬体延伸、自噬溶酶体成熟、被包裹内容物的降解与再利用。该自噬类型涉及多种细胞因子参与(图1)。

非经典自噬主要是指以胞内大分子为目标的LC3相关吞噬作用(LC3-associated phagocytosis, LAP)^[15,18]。其与经典自噬不同的是不会导致双膜结构的形成^[18]。通常情况下, LAP通过Toll样受体将LC3直接招募到单膜吞噬体, 促进吞噬体的成熟和巨噬细胞内微生物的杀灭^[19]。在这一过程中, 需要NADPH氧化酶2(NADPH oxidase-2, NOX2)催化产生ROS协助吞噬体完成对LC3的招募^[20]。同时, LAP不依赖于传统自噬机制的核心起始前复合物的活性, 而是涉及某些自噬蛋白的功能, 如Atg7、Atg5以及Atg3等。重要的是, *Rubicon*作为经典自噬途径中的一个非必要基因, 是LAP的关键调控因子^[20]。它在持续将磷脂酰肌醇-3-磷酸(phosphatidylinositol-3-phosphate, PI3P)积聚到吞噬体的同时还稳定了NOX2复合物的形成, 为之后脂化的LC3II与吞噬体

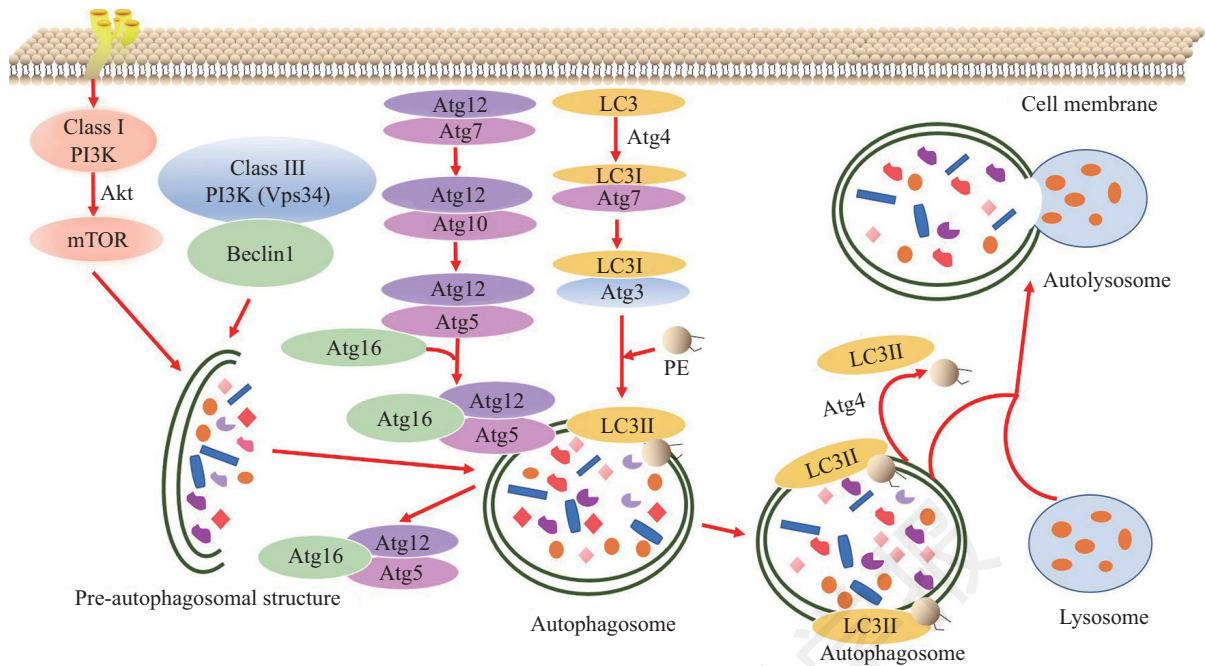


图1 经典自噬的形成过程(根据参考文献[16]修改)

Fig.1 Formation process of canonical autophagy (modified from reference [16])

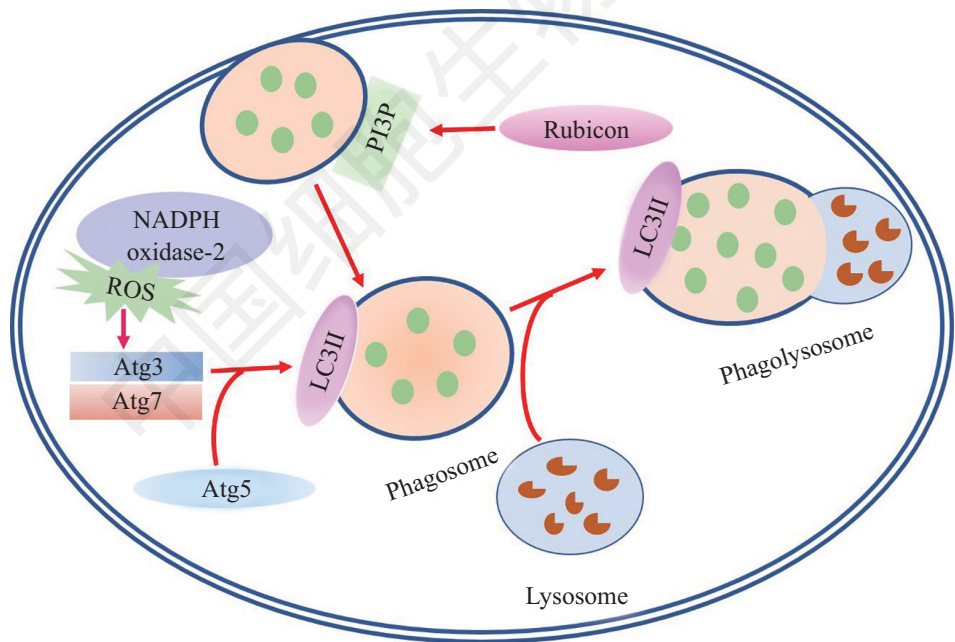


图2 LAP途径的形成过程

Fig.2 Formation process of LAP pathway

的结合提供了保障(图2)。

作为生命科学领域研究的热点,细胞自噬水平与感染性疾病的发生发展密切相关。尤其在TB的治疗中自噬已被证明是限制宿主细胞内Mtb生长的重要过程^[21-22]。因此,全面了解自噬在抗Mtb感染中

的作用,对揭示TB的致病机理具有深远意义。

3 自噬与结核分枝杆菌感染

自噬作为一种由多基因分工协作逐步完成的渐进式过程,一般情况下可识别并杀灭Mtb。但在二

者的博弈过程中, Mtb也开辟了多种负向调控机制干扰自噬的发生, 进而逃避巨噬细胞的免疫杀伤。

3.1 自噬抗结核分枝杆菌感染

3.1.1 经典自噬抗结核分枝杆菌感染 作为宿主清除Mtb以及防御其感染的策略, 经典自噬被微生物模式受体(pattern recognition receptors, PRRs, 包括TLR、RLR和NLR)激活后, 会触发并激活下游信号通路如p38/MAPK、RIP1/ERK, 进而激活VPS34复合物及其他下游信号。其中, TLR4是第一个通过TRIF-p38而不是MyD88与自噬相关的PRRs^[23]。为了成功消灭病原体, 先天免疫反应和适应性免疫反应都会集中于自噬。有研究认为, 宿主细胞因子IL-1 β ^[24]和IFN- γ ^[25]作为宿主的保护机制可诱导自噬, 另外, P2X嘌呤受体也参与自噬的诱导^[26]。同时, 特异性T细胞与感染Mtb的巨噬细胞在细胞与细胞之间的接触过程中也可诱导自噬^[27]。NOD2作为一种细胞内受体, 可识别细菌分子(即肽聚糖)并诱导表达上调的自噬相关蛋白, 如IRGM、LC3和ATG16, 这有助于减少Mtb毒力^[28]。近年来, 对自噬防御Mtb感染的阐释着重于自噬因子, 多项研究采用自噬相关基因 *Atg5*、*Atg12*、*Atg16*、*p62*、*NDP52*、*Beclin1* 和 *LC3* 等与Mtb共定位的方式探究自噬相关基因在抗Mtb感染过程中的作用。为了进一步了解自噬在清除Mtb时发挥的作用, 有研究利用Cre-Lox系统在小鼠体内敲除 *Atg* 相关基因, 实验证明了 *Atg* 相关基因的可缺性^[29]。最近, 在关于斑马鱼模型的报道中介绍了一种新的蛋白家族, 称为DNA损伤调节自噬相关蛋白(DNA damage-regulated autophagy modulator protein, DRAM), 其功能是通过STING/P62通路选择性靶向胞质Mtb^[30-31]。然而在该过程中, Mtb会通过靶向mi-R144*调控所涉基因的表达^[32]。这些发现改变了以往人们对自噬在Mtb感染中作用的认识, 进一步说明了自噬在调节TB等疾病病理的先天免疫事件中的复杂性。

3.1.2 LAP抗结核分枝杆菌感染 在LAP途径中, 巨噬细胞被Mtb感染后, 吞噬体会快速成熟(甚至在成形之前吞噬体就已经开始成熟), 一旦吞噬体从细胞膜表面脱离, 就会立即依次与早期核内体、晚期核内体和溶酶体融合, 发展为吞噬溶酶体^[33]。在该过程中, 吞噬体膜的表面积不会明显增加。与此同时, 吞噬体膜的重构会使得吞噬体酸化获得溶酶体水解酶与抗菌肽, 限制胞内铁等必需营养素的生

成, 产生大量有毒的锌^[34]; 且PRRs引起的信号通路活化后可通过不断补充NADPH氧化酶来增强吞噬体的抗菌能力。其中, NADPH氧化酶由两个完整的膜亚基(p22^{phox}和gp91^{phox})和一个三聚体胞质络合物(p40^{phox}、p47^{phox}和p67^{phox})组成, 其活性需要通过内体循环获得的黄酮类细胞色素b558介导, 且该过程需要GTP结合物Rac1/2参与^[35]。值得一提的是, 只有NADPH氧化酶催化产生ROS促进吞噬体与LC3II结合后, 才能限制Mtb的生存与增殖。然而, 仍然有一部分Mtb会利用吞噬体膜的通透性从吞噬体逃逸到细胞质中发生泛素化。当LAP途径发生缺陷, 死亡细胞被巨噬细胞吞噬时释放众多促炎因子, 这就使得机体极易患上自身免疫性疾病^[36]。但不可否认的是, LAP作为机体提高天然免疫及适应性免疫反应的途径, 在快速杀灭Mtb过程中起到了重要作用。

3.2 结核分枝杆菌破坏自噬的发生

3.2.1 结核分枝杆菌对经典自噬的破坏作用 迄今为止, 已有多篇文献报道Mtb破坏经典自噬发生。当巨噬细胞被Mtb成功感染后, 后者会破坏宿主诱导的死亡规划。一般情况下, 为能长期存活于巨噬细胞且保持自身毒力, Mtb会通过多种自身菌体蛋白影响吞噬体与自噬体成熟, 包括Eis蛋白、Hsp16.3、SapM、pknG等^[37]。其中, Eis蛋白一方面通过调控宿主TNF- α /IL-10水平, 诱导宿主处于局部免疫抑制状态; 另一方面通过激活JNK通路降低ROS水平抑制自噬^[38]。Hsp16.3作为Mtb的膜蛋白, 在Mtb感染巨噬细胞早期促进巨噬细胞产生IFN- γ 清除Mtb, 抑制IL-10产生; 而在Mtb处于休眠菌状态时, Hsp16.3会促进IL-10产生, 从而通过抑制T细胞产生大量IFN- γ 减弱自噬流, 影响巨噬细胞活化^[39]。胡东等^[40]选用GFP-LC3-Raw264.7细胞(稳定表达GFP-LC3的Raw264.7细胞)证实, SapM作为Mtb分泌的酸性磷酸酶, 可阻碍自噬溶酶体的形成。同时, PknG通过干扰宿主细胞内信号调节Mtb代谢并介导其在胞内存活^[41]。由于Mtb对非经典自噬LAP的破坏作用尚未完全清晰, 因此我们将重点讨论Mtb对LAP的破坏机制。

3.2.2 结核分枝杆菌对LAP的破坏作用 LAP作为非经典自噬的主要途径, 当Mtb进入巨噬细胞以穿透吞噬体的方式破坏LAP发生时更多依赖于ESX-1型VII分泌系统, 它是决定巨噬细胞中Mtb命运最关键的因素。ESX-1分泌多种细胞效应因子, 包括由EsxA/ESAT-6和EsxB/CFP-10组成的异二聚体^[42]。其

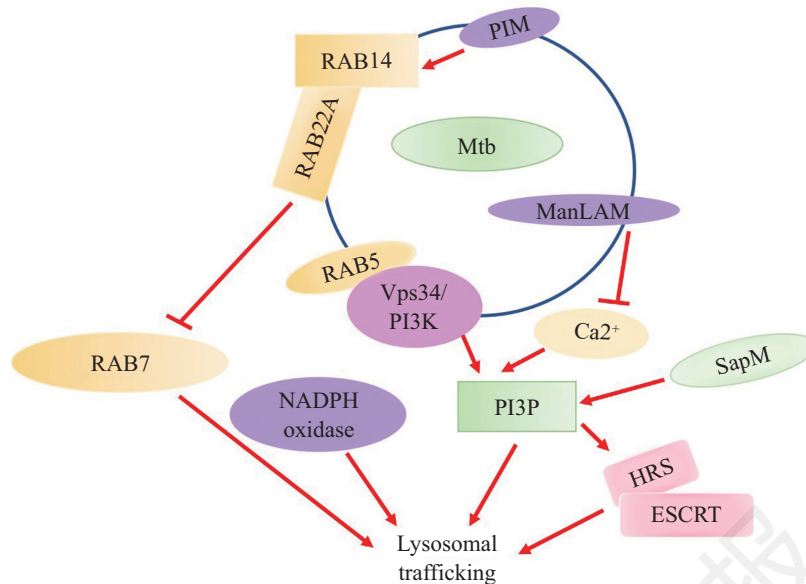


图3 Mtb损伤溶酶体运输的机制(根据参考文献[37]修改)

Fig.3 Mechanism of Mtb damage the transportation of lysosomal (modified from reference [37])

中, EsxA蛋白与吞噬体的破裂有关, 但其本身是否具有直接的膜裂解活性, 目前仍存在争议^[43]。但研究已经表明, 存在缺陷的Mtb突变体中EsxA除了对吞噬体没有穿透作用外, 其膜裂解活性更低^[23,44]。因此, EsxA在自噬或其他细胞表型中的作用也可能是间接的。虽然吞噬体的膜裂解活性还未完全阐明, 但已有报道称, Mtb可能是以一种接触依赖的方式对吞噬体造成破坏^[43,45]。最近的研究表明, Mtb脂质PDIM协同EsxA介导吞噬体损伤^[46-47]。与EsxA缺陷突变体一样, PDIM突变体的突变能力被削弱后, 既不能促进宿主细胞死亡, 也不能诱导I型干扰素, 但二者均与吞噬体的损伤有关。与此同时, 其他细胞内因素如鞘磷脂酶SpmT/Rv0888也可能导致吞噬体损伤, 因为它和ESX-1都能促进Mtb的溶血性活动^[48]。

吞噬体作为LAP发生的初始细胞器, Mtb对它的穿透能力决定了Mtb能否成功躲避自噬杀伤感染机体, 因为这是Mtb向胞质传递其多数效应物的方式。最近的研究表明, 结核坏死性毒素(tuberculosis necrotizing toxin, TNT)被困在ESX-1突变吞噬体中, 而在野生型Mtb感染期间它们能够进入细胞质。一旦进入细胞质, TNT对宿主烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD^+)进行水解, 引起细胞坏死^[49]。这就反映了未将效应物传递至细胞质或内膜损伤后的次要后果。另外, 吞噬体损伤也可能为Mtb提供重要的营养物质, 因为随着时间推移, 膜损伤的增加最终会使Mtb转移到细胞质中^[44,50]。然而究竟是Mtb穿透吞噬体

“进入”细胞质, 还是其完全破坏细胞器后转移到细胞质中, 目前尚不清楚。这是因为吞噬体的损伤程度不仅取决于菌株, 还与宿主细胞的类型有着紧密联系。也就是说, 影响吞噬体酸化、NRAMP功能和磷脂酶A2活性的宿主决定性因素可能还会影响吞噬体的膜层厚度^[51]。虽然损伤本身的性质和调节损伤的宿主因素尚未完全阐明, 但可以肯定的是, 穿透吞噬体的效果是显著的: 当Mtb效应物被释放后, 宿主会通过改变细胞运输以及激活炎症信号的方式对损伤作出反应。因此可以说, 一系列复杂的措施将决定Mtb最终的感染结果。

Mtb不仅可以直接穿透吞噬体膜, 而且还会通过破坏RAB蛋白、PI3K以及NADPH氧化酶的功能以损害溶酶体运输的方式间接阻断吞噬体的成熟(图3)。其中, 关于NADPH氧化酶的功能不再赘述。通常情况下, RAB蛋白与GTP结合后会调控细胞器之间的囊泡运输^[52], 其中RAB5和RAB7作为内吞作用和吞噬作用的主要调节因子, 当自噬发生时, RAB5被新生吞噬体募集, 在成熟过程中被晚期内吞的RAB7取代。之后, RAB7募集下游效应因子赋予溶酶体融合能力。但是当Mtb作用于巨噬细胞后, 吞噬体会通过NdkA与PtpA干扰招募RAB的动力学: 前者在体外具有针对RAB5、RAB7的GTP酶活化蛋白(GTPase-activating protein, GAP)活性; 后者使参与溶酶体运输的哺乳动物特异性内体靶向复合物Vps33B去磷酸化。与此同时, Mtb操纵RAB蛋白使

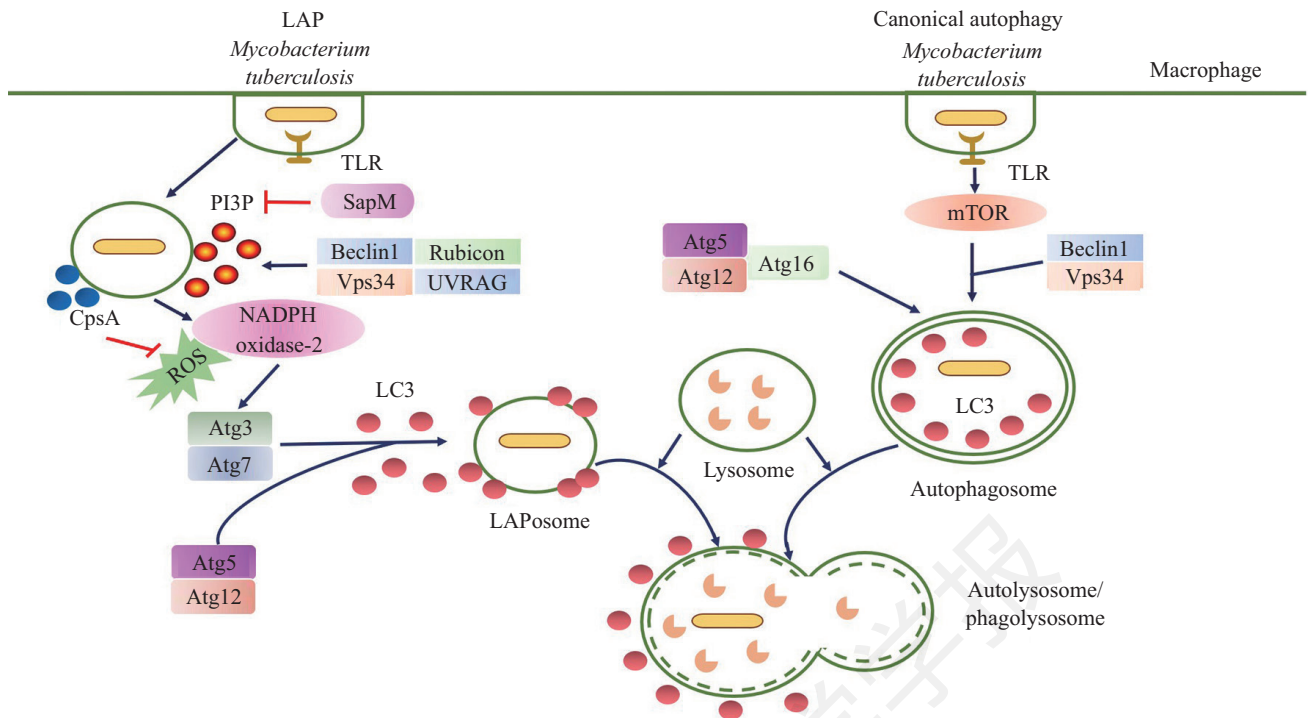


图4 Mtb感染期间的LAP与经典自噬(根据参考文献[15,18]修改)

Fig.4 LAP versus canonical autophagy during Mtb infection (modified from references [15,18])

吞噬体维持与早期核内体的相互作用。例如, 含有活BCG的吞噬体保留了RAB14和RAB22A, 但二者在含有热灭活BCG的吞噬体中被清除。由此可见, RAB14和RAB22A的保留可能对吞噬体维持其早期内体状态十分重要^[53-54]。此外, 无论ESX-1分泌系统或吞噬体损伤如何, Mtb包膜糖脂都会嵌入宿主膜, 在宿主膜中调节转运^[55]。例如, 分枝杆菌细胞包膜糖脂磷脂酰肌醇甘露糖苷(phosphatidyl-myo-inositol mannoside, PIM)已被证明可以通过改变RAB编程促进吞噬体与早期内体融合^[56]。同时, ManLAM可破坏钙依赖性钙调蛋白信号通路, 损害PI3P的产生和吞噬体的成熟^[57]。事实上, ManLAM包被的珠子显示优先保留RAB14^[58], 因此, ESX-1独立效应因子如PIM和ManLAM, 可能在Mtb感染期间与细胞溶质效应物协同作用。III类PI3K Vps34在吞噬体的成熟过程中也起着十分重要的作用, 在早期内体中其产生的PI3P对于招募早期参与蛋白分选、膜转运和多蛋白复合物组装的核内体蛋白至关重要。研究证实, PI3P在LAP起始过程中具有重要意义, 但活性Mtb的吞噬体比死亡Mtb的吞噬体积聚更少的PI3P。同时, 除了之前讨论的ManLAM会影响PI3P的产生外, Mtb毒力因子SapM也被认为可作为PI3P磷酸酶去除PI3P。此外, 酪氨酸激酶底物(HRS)作为PI3P结合

蛋白, 通常定位于早期核内体, 在那里它招募转运所需的核内体分类复合物(endosomal complex required for transport, ESCRT), 该复合物可使得溶酶体降解。

4 展望

巨噬细胞与Mtb之间的相互作用极其复杂, 涉及多种细胞免疫反应, 其中就包括细胞凋亡、坏死、自噬等程序性死亡方式, 这些过程均对Mtb的发生发展具有十分重要的意义。毫无疑问, 自噬作为机体免疫防御网络的重要方式之一, 在抗Mtb感染时具有关键调控作用(图4)。但目前, 自噬与Mtb感染调控关系的研究尚处于初级阶段, 仍有许多问题亟待解决。如在Mtb感染后, 哪些炎症因子诱导了自噬的发生以及哪些自噬相关基因参与了抗TB的过程; 另外, 由于自噬相关靶蛋白对抗TB有一定的积极作用, 因此对靶蛋白作用机制的正确认识很有可能决定抗结核药物的发展。同时, 自噬与miRNA之间的新兴关系开始在Mtb感染中发挥重要作用。越来越多的研究已经阐明miRNA调控特征, 这些特征可能是控制Mtb增殖和巨噬细胞自噬的关键机制, 因此确定miRNA在Mtb感染期间影响宿主免疫应答的作用和机制将有助于澄清并更好地理解TB的免疫发病机制。基于以上, 进一步讨论细胞自噬与Mtb相互

作用关系, 对以自噬通路为靶标预防和治疗结核病将有深远的意义。

参考文献 (References)

- 1 赵润鹏, 吴静, 胡东. 结核分枝杆菌感染的巨噬细胞的死亡和自噬. 细胞与分子免疫学杂志 (Zhao Runpeng, Wu Jing, Hu Dong. Death and autophagy of macrophage infected with *M. tuberculosis*. Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology) 2016; 32(12): 1711-4.
- 2 孙慧杰, 董梅, 王迪. 自噬参与结核杆菌感染免疫应答调控的研究进展. 解放军医学院学报 (Sun Huijie, Dong Mei, Wang Di. Advances in autophagy involved in the regulation of immune response to *Mycobacterium tuberculosis* infection. Academic Journal of PLA Postgraduate Medical School) 2015; 36(2): 197-200.
- 3 Stamm CE, Collins AC, Shiloh MU. Sensing of *Mycobacterium tuberculosis* and consequences to both host and bacillus. Immunol Rev 2015; 264(1): 204-19.
- 4 Mortaz E, Adcock IM, Tabarsi P, Masjedi MR, Mansouri D, Velayati AA, et al. Interaction of pattern recognition receptors with *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Immunol 2015; 35(1): 1-10.
- 5 张嘉美. Wnt/catenin信号通路对细胞凋亡和坏死的调控研究进展. 中国细胞生物学学报 (Zhang Jiamei, Zhao Ning, Wu Xiaoling, Deng Guangcun. Progress in regulative role of Wnt/ β -catenin signaling pathway in apoptosis and necrosis. Chinese Journal of Cell Biology) 2015; 37(9): 1309-16.
- 6 Bento CF, Empadinhas N, Mendes V. Autophagy in the fight against tuberculosis. DNA Cell Biol 2015; 34(4): 228-42.
- 7 Halaas O, Steigedal M, Haug M, Awuh JA, Ryan L, Brech A, et al. Intracellular *Mycobacterium avium* intersect transferrin in the Rab11⁺ recycling endocytic pathway and avoid lipocalin 2 trafficking to the lysosomal pathway. J Infect Dis 2010; 201(5): 783-92.
- 8 Lam A, Prabhu R, Gross CM, Riesenberger LA, Singh V, Aggarwal S. Role of apoptosis and autophagy in tuberculosis. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2017; 313(2): L218-29.
- 9 Jakubczik CV, Randolph GJ, Henson PM. Monocyte differentiation and antigen-presenting functions. Nat Rev Immunol 2017; 17(6): 349-62.
- 10 Rajaram MV, Ni B, Dodd CE, Schlesinger LS. Macrophage immunoregulatory pathways in tuberculosis. Semin Immunol 2014; 26(6): 471-85.
- 11 Wong D, Bach H, Sun J, Hmama Z, Av-Gay Y. *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine phosphatase (PtpA) excludes host vacuolar-H⁺-ATPase to inhibit phagosome acidification. Proc Natl Acad Sci USA 2011; 108(48): 19371-6.
- 12 Dong H, Jing W, Runpeng Z, Xuwei X, Min M, Ru C, et al. ESAT6 inhibits autophagy flux and promotes BCG proliferation through MTOR. Biochem Biophys Res Commun 2016; 477(2): 195-201.
- 13 刘艳, 刘中洋, 裘荣刚, 王晓波. 自噬与人类疾病最新研究进展. 临床与实验病理学杂志 (Liu Yan, Liu Zhongyang, Qiu Ronggang, Wang Xiaobo. Recent advances in autophagy and human diseases. Chinese Journal of Clinical and Experimental Pathology) 2014; 30(7): 771-3.
- 14 Nakatogawa H, Suzuki K, Kamada Y, Ohsumi Y. Dynamics and diversity in autophagy mechanisms: lessons from yeast. Nat Rev Mol Cell Biol 2009; 10(7): 458-67.
- 15 Sil P, Muse G, Martinez J. A ravenous defense: canonical and non-canonical autophagy in immunity. Curr Opin Immunol 2018; 50: 21-31.
- 16 陈兰芳, 肖亮, 杨军平. 细胞自噬的分子机制及其功能. 实验与检验医学 (Chen Lanfang, Xiao Liang, Yang Junping. Molecular mechanism and function of autophagy. Laboratory and Laboratory Medicine) 2014; 32(2): 157-63.
- 17 Juhasz G, Neufeld TP. Autophagy: a forty-year search for a missing membrane source. PLoS Biol 2006; 4(2): e36.
- 18 Mehta P, Henault J, Kolbeck R, Sanjuan MA. Noncanonical autophagy: one small step for LC3, one giant leap for immunity. Curr Opin Immunol 2014; 26: 69-75.
- 19 Sanjuan MA, Dillon CP, Tait SWG, Moshiah S, Dorsey F, Connell S, et al. Toll-like receptor signalling in macrophages links the autophagy pathway to phagocytosis. Nature 2007; 450(7173): 1253-7.
- 20 Martinez J, Malireddi RK, Lu Q, Cunha LD, Pelletier S, Gingras S, 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.
- 21 Bah A, Lacarriere C, Vergne I. Autophagy-related proteins target ubiquitin-free *Mycobacterial* compartment to promote killing in macrophages. Front Cell Infect Microbiol 2016; 6: 53.
- 22 Deretic V. Autophagy in tuberculosis. Cold Spring Harb Perspect Med 2014; 4(11): a018481.
- 23 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): 803-15.
- 24 Pilli M, Arko-Mensah J, Ponpuak M, Roberts E, Master S, Mandell MA, et al. TBK-1 promotes autophagy-mediated antimicrobial defense by controlling autophagosome maturation. Immunity 2012; 37(2): 223-34.
- 25 Klug-Micu GM, Stenger S, Sommer A, Liu PT, Krutzik SR, Modlin RL, et al. CD40 ligand and interferon-gamma induce an antimicrobial response against *Mycobacterium tuberculosis* in human monocytes. Immunology 2013; 139(1): 121-8.
- 26 Biswas D, Qureshi OS, Lee WY, Croudace JE, Mura M, Lamas DA. ATP-induced autophagy is associated with rapid killing of intracellular *Mycobacteria* within human monocytes/macrophages. BMC Immunol 2008; 9: 35.
- 27 Petruccioli E, Romagnoli A, Corazzari M, Coccia EM, Butera O, Delogu G, et al. Specific T cells restore the autophagic flux inhibited by *Mycobacterium tuberculosis* in human primary macrophages. J Infect Dis 2012; 205(9): 1425-35.
- 28 Juarez E, Carranza C, Hernandez-Sanchez F, Leon-Contreras JC, Hernandez-Pando R, Escobedo D, et al. NOD2 enhances the innate response of alveolar macrophages to *Mycobacterium tuberculosis* in humans. Eur J Immunol 2012; 42(4): 880-9.
- 29 Kimmey JM, Huynh JP, Weiss LA, Park S, Kambal A, Debnath J, et al. Unique role for ATG5 in neutrophil-mediated immunopathology during *M. tuberculosis* infection. Nature 2015; 528(7583): 565-9.
- 30 van der Vaart M, Korbek CJ, Lamers GE, Tengeler AC, Hoeseni R, Haks MC, et al. The DNA damage-regulated autophagy modulator DRAM1 links *Mycobacterial* recognition via TLR-MYD88 to autophagic defense. Cell Host Microbe 2014; 15(6): 803-15.

- 753-67.
- 31 Meijer AH, van der Vaart M. DRAM1 promotes the targeting of *Mycobacteria* to selective autophagy. *Autophagy* 2014; 10(12): 2389-91.
- 32 Kim JK, Lee HM, Park KS, Shin DM, Kim TS, Kim YS, *et al.* MIR144* inhibits antimicrobial responses against *Mycobacterium tuberculosis* in human monocytes and macrophages by targeting the autophagy protein DRAM2. *Autophagy* 2017; 13(2): 423-41.
- 33 Desjardins M, Huber LA, Parton RG, Griffiths G. Biogenesis of phagolysosomes proceeds through a sequential series of interactions with the endocytic apparatus. *J Cell Biol* 1994; 124(5): 677-88.
- 34 Padilla-Benavides T, Long JE, Raimunda D, Sasseti CM, Arguello JM. A novel P(1B)-type Mn^{2+} -transporting ATPase is required for secreted protein metallation in *Mycobacteria*. *J Biol Chem* 2013; 288(16): 11334-47.
- 35 Nunes P, Demareux N, Dinauer MC. Regulation of the NADPH oxidase and associated ion fluxes during phagocytosis. *Traffic* 2013; 14(11): 1118-31.
- 36 Koster S, Klever T, Papavinasundaram K, Sasseti CM, Portal-Celhay C, Philips JA. Consequence of enhanced LC3-trafficking for a live, attenuated *M. tuberculosis* vaccine. *Vaccine* 2018; 36(7): 939-44.
- 37 张彩勤, 杨丽, 张廷芬, 师长宏. 结核分枝杆菌分泌蛋白调控巨噬细胞自噬诱导持续性感染. 科学技术与工程(Zhang Cai-qin, Yang Li, Zhang Tingfen, Shi Changhong. *Mycobacterium tuberculosis* secretory protein regulates macrophages autophagy-induced persistent infection. *Science Technology and Engineering*) 2018; 18(32): 124-8.
- 38 Shin DM, Jeon BY, Lee HM, Jin HS, Yuk JM, Song CH, *et al.* *Mycobacterium tuberculosis* eis regulates autophagy, inflammation, and cell death through redox-dependent signaling. *PLoS Pathog* 2010; 6(12): e1001230.
- 39 Othieno C. Interaction of *Mycobacterium tuberculosis*-induced transforming growth factor β 1 and interleukin-10. *Infect Immun* 1999; 67(11): 5730-5.
- 40 胡东, 王婉, 赵润鹏, 徐雪维, 邢应如, 徐从景, 等. 结核分枝杆菌分泌性酸性磷酸酶(SapM)抑制小鼠巨噬细胞自噬. 细胞与分子免疫学杂志(Hu Dong, Wang Wan, Zhao Runpeng, Xu Xue-wei, Xing Yingru, Xu Congjing, *et al.* Secretory acid phosphatase of *Mycobacterium tuberculosis* inhibits the autophagy of murine macrophages. *Chin J Cell Mol Immunol*) 2016; 32(6): 726-9.
- 41 O'Hare HM, Duran R, Cervenansky C, Bellinzoni M, Wehenkel AM, Pritsch O, *et al.* Regulation of glutamate metabolism by protein kinases in *Mycobacteria*. *Mol Microbiol* 2008; 70(6): 1408-23.
- 42 Champion PA, Stanley SA, Champion MM, Brown EJ, Cox JS. C-terminal signal sequence promotes virulence factor secretion in *Mycobacterium tuberculosis*. *Science* 2006; 313(5793): 1632-6.
- 43 Conrad WH, Osman MM, Shanahan JK, Chu F, Takaki KK, Cameron J, *et al.* *Mycobacterial* ESX-1 secretion system mediates host cell lysis through bacterium contact-dependent gross membrane disruptions. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017; 114(6): 1371-6.
- 44 Simeone R, Bobard A, Lippmann J, Bitter W, Majlessi L, Brosch R, *et al.* Phagosomal rupture by *Mycobacterium tuberculosis* results in toxicity and host cell death. *PLoS Pathog* 2012; 8(2): e1002507.
- 45 Schnettger L, Rodgers A, Repnik U, Lai RP, Pei G, Verdoes M, *et al.* A Rab20-dependent membrane trafficking pathway controls *M. tuberculosis* replication by regulating phagosome spaciousness and integrity. *Cell Host Microbe* 2017; 21(5): 619-28.e5.
- 46 Barczak AK, Avraham R, Singh S, Luo SS, Zhang WR, Bray MA, *et al.* Systematic, multiparametric analysis of *Mycobacterium tuberculosis* intracellular infection offers insight into coordinated virulence. *PLoS Pathog* 2017; 13(5): e1006363.
- 47 Quigley J, Hughitt VK, Velikovsky CA, Mariuzza RA, El-Sayed NM, Briken V. The cell wall lipid PDIM contributes to phagosomal escape and host cell exit of *Mycobacterium tuberculosis*. *MBio* 2017; 8(2): e00148-17.
- 48 Speer A, Sun J, Danilchanka O, Meikle V, Rowland JL, Walter K, *et al.* Surface hydrolysis of sphingomyelin by the outer membrane protein Rv0888 supports replication of *Mycobacterium tuberculosis* in macrophages. *Mol Microbiol* 2015; 97(5): 881-97.
- 49 Sun J, Siroy A, Lokareddy RK, Speer A, Doornbos KS, Cingolani G, *et al.* The tuberculosis necrotizing toxin kills macrophages by hydrolyzing NAD. *Nat Struct Mol Biol* 2015; 22(9): 672-8.
- 50 Houben D, Demangel C, van Ingen J, Perez J, Baldeon L, Abdallah AM, *et al.* ESX-1-mediated translocation to the cytosol controls virulence of *Mycobacteria*. *Cell Microbiol* 2012; 14(8): 1287-98.
- 51 Jamwal SV, Mehrotra P, Singh A, Siddiqui Z, Basu A, Rao KV. *Mycobacterial* escape from macrophage phagosomes to the cytoplasm represents an alternate adaptation mechanism. *Sci Rep* 2016; 6: 23089.
- 52 Prashar A, Schnettger L, Bernard EM, Gutierrez MG. Rab GTPases in immunity and inflammation. *Front Cell Infect Microbiol* 2017; 7: 435.
- 53 Kyei GB, Vergne I, Chua J, Roberts E, Harris J, Junutula JR, Deretic V. Rab14 is critical for maintenance of *Mycobacterium tuberculosis* phagosome maturation arrest. *EMBO J* 2006; (25): 5250-9.
- 54 Roberts EA, Chua J, Kyei GB, Deretic V. Higher order Rab programming in phagolysosome biogenesis. *J Cell Biol* 2006; 174(7): 923-9.
- 55 Beatty WL, Rhoades ER, Ullrich HJ, Chatterjee D, Heuser JE, Russell DG. Trafficking and release of *Mycobacterial* lipids from infected macrophages. *Traffic* 2000; 1(3): 235-47.
- 56 Vergne I, Fratti RA, Hill PJ, Chua J, Belisle J, Deretic V. *Mycobacterium tuberculosis* phagosome maturation arrest: *Mycobacterial* phosphatidylinositol analog phosphatidylinositol mannoside stimulates early endosomal fusion. *Mol Biol Cell* 2004; 15(2): 751-60.
- 57 Rutilio A, Fratti JC, Isabelle Vergne, and Vojo Deretic. *Mycobacterium tuberculosis* glycosylated phosphatidylinositol causes phagosome maturation arrest. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(9): 5437-42.
- 58 Shui W, Petzold CJ, Redding A, Liu J, Pitcher A, Sheu L, *et al.* Organelle membrane proteomics reveals differential influence of *Mycobacterial* lipoglycans on macrophage phagosome maturation and autophagosome accumulation. *J Proteome Res* 2011; 10(1): 339-48.