

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.16.010

雷帕霉素诱导 Ana-1 细胞自噬杀伤黑素化马尔尼菲青霉*

胡素侠¹,姚剑波²,张荣波³,杨立新⁴

(1.安徽省淮南市第一人民医院检验科 232007;2.江苏省盐城师范学院海洋与生物工程学院 224005;3.安徽理工大学医学院免疫与检验教研室,安徽淮南 232001;4.安徽省淮南市第一人民医院耳鼻喉科 232007)

[摘要] **目的** 探究巨噬细胞吞噬黑素化马尔尼菲青霉(PM)后的自噬水平变化,并探究雷帕霉素通过诱导巨噬细胞自噬杀灭该菌的可行性。**方法** 采用含多巴培养基培养获得酵母相黑素化 PM,蛋白质印记法检测黑素化及常规 PM 刺激后 Ana-1 细胞 II 型微管相关蛋白 1 轻链 3(LC3 II)的表达水平,并检测雷帕霉素预处理后 Ana-1 细胞 LC3 II 的表达水平,继而采用免疫荧光法显示 LC3 II 与黑素化 PM 在细胞内的定位;通过菌培养测算雷帕霉素的直接抗菌作用,并检测有无雷帕霉素预处理的 Ana-1 细胞对黑素化 PM 的杀菌效能。**结果** Ana-1 细胞吞噬黑素化 PM 后自噬水平无明显变化($P>0.05$),而雷帕霉素处理后染菌的 Ana-1 细胞 LC3 II 表达水平明显升高($P=0.009, P<0.05$),并且菌体与 LC3 蛋白呈共定位关系。雷帕霉素处理后 Ana-1 细胞与黑素化 PM 共孵育 3 h($P=0.026$)和 6 h($P=0.014$)后菌存活率明显降低($P<0.05$),而相同条件下单纯的 Ana-1 细胞或雷帕霉素无明显杀菌作用。**结论** 黑素化 PM 抑制巨噬细胞的自噬活化,雷帕霉素可通过诱导自噬提高巨噬细胞对该菌的杀菌效能。

[关键词] 马尔尼菲青霉;雷帕霉素;自噬;巨噬细胞**[中图分类号]** R392**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2018)16-2153-05Rapamycin-induced autophagy of Ana-1 cells play the lethality to melanized *Penicillium marneffei**HU Suxia¹, YAO Jianbo², ZHANG Rongbo³, YANG Lixin⁴

(1. Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Huainan City, Huainan, Anhui 232007, China; 2. School of Marine and Biological Engineering, Yancheng Teachers University, Yancheng, Jiangsu 224005, China; 3. Teaching and Research Section of Immunology and Laboratory Medicine, Medical School, Anhui University of Science and Technology, Huainan, Anhui 232001, China; 4. Department of Otolaryngology, the First People's Hospital of Huainan City, Huainan, Anhui 232007, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the autophagy level of Ana-1 cells after ingesting melanized *Penicillium marneffei* (PM), and to explore the feasibility of rapamycin in killing the bacteria by inducing macrophages autophagy. **Methods** Melanized PM was cultivated and isolated from the medium containing dopamine. The expression of microtubule-associated protein 1 light chain 3 II (LC3 II) in Ana-1 cells stimulated by conventional or melanized PM was detected by western blot. The expression levels of LC3 II protein in Ana-1 cells treated with rapamycin and incubated with melanized PM was detected. Then, the localization of LC3 II in Ana-1 cells which contained melanized PM was observed by immunofluorescence staining. Finally, the direct sterilization effect of rapamycin on melanized PM were detected, and the sterilization effect of Ana-1 cells treated with or without rapamycin on melanized PM was measured. **Results** No significant change was found in the LC3 II level of Ana-1 cells after ingesting melanized PM ($P>0.05$), while LC3 II level in Ana-1 cells treated with rapamycin which contained melanized PM was significantly increased ($P=0.009$). The colocalization of LC3 II with melanized PM in cytoplasm of Ana-1 cells was observed. For Ana-1 cells treated with rapamycin, 3 h and 6 h after incubated with melanized PM, the survival rates of melanized PM both were significantly reduced ($P=0.026, 0.014$). No significant sterilization effect of Ana-1 cells or rapamycin was observed under the same conditions. **Conclusion** Melanized PM can suppress the activation of macrophage autophagy, and rapamycin can improve sterilization effect of Ana-1 cells by inducing the activation of autophagy.

[Key words] *Penicillium marneffei*; rapamycin; autophagy; macrophages

马尔尼菲青霉(*Penicillium marneffei*, PM)是一种双相性机会致病真菌,在环境温度中以菌丝相生长并通过分生孢子扩散,而在侵袭人或动物时的体温条件下可呈酵母相存在于网状内皮-巨噬细胞系统内,通过分泌色素及多种胞外酶抵抗宿主细胞的杀伤作用,长期存在于巨噬细胞内并分裂增殖^[1-2]。在艾滋病患者、器官移植及大量使用糖皮质激素等免疫力低下的患者体内,PM 可引发散播性感染^[3-4]。由于 PM 对氟康唑等经验性抗真菌药物的治疗敏感度不佳、易于误诊等原因该病的致死率较高^[5]。黑素是多种病原真菌共有的毒力因子,通过抵抗巨噬细胞的吞噬功能和活性氧杀伤作用提高致病性,因而黑素化 PM 侵袭力更强、更易出现散播性感染,给马尔尼菲青霉病的治疗造成更大困难。

细胞自噬作为保守的胞内成分降解机制,通过降解废旧蛋白、衰老细胞器,以及参与固有免疫与适应性免疫维持内环境稳态^[6]。近年来已发现巨噬细胞的自噬活化在抵抗白假丝酵母、烟曲霉等常见侵袭性致病真菌中扮演重要角色,然而自噬在 PM 感染中发挥的作用未见报道^[7-8]。笔者前期预实验发现,巨噬细胞吞噬 PM 后自噬水平升高受限,而黑素化 PM 显著抑制了巨噬细胞的自噬活化。基于自噬的抗真菌作用,本研究采用小鼠巨噬细胞系 Ana-1 细胞,探讨通过经典的自噬诱导剂雷帕霉素激活巨噬细胞自噬抵抗黑素化 PM 的可行性,从而为该病的治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料 RPMI-1640 基础培养基、胎牛血清、胰蛋白酶-乙二胺四乙酸(EDTA)细胞消化液购自美国 Hyclone 公司;兔源抗 LC3 多克隆抗体、兔抗小鼠 3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)单克隆抗体及辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔 IgG 购自美国 Abcam 公司;Alexa Fluor 488 标记的山羊抗兔 IgG 购自美国 Invitrogen 公司;雷帕霉素购自美国 Selleck 公司;左旋多巴胺(L-DOPA)、天门冬酰胺购自美国 Sigma-Aldrich 公司;脑心浸液(BHI)培养基购自美国 Difco 公司,马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)为自行配置。Ana-1 细胞系与 PM 菌株由安徽理工大学医学院免疫与检验教研室保存。

1.2 方法

1.2.1 黑素化酵母相 PM 悬液的制备 将冻存的 PM 以三点法接种于 PDA 培养基进行复苏,于 25 °C 恒温培养箱中培养 7 d,再以相同方法转接 3 次纯化菌种后,接种于 BHI 培养基斜面中 37 °C 培养 7 d,传代 3 次,挑取少量菌种进行乳酸酚棉兰染色,显微镜下观察并计算酵母相细胞比例。酵母相细胞比例达到 70 % 以上后,在培养 PM 菌的 BHI 培养基斜面中加入 2 mL 含 0.1% 吐温-20 的磷酸盐缓冲液(PBST),轻柔刮落菌落并涡旋 5 min,静置 10 min 后

吸取上清液获得悬液。配置含 150 mL/L 胎牛血清的 RPMI-1640 完全培养基,含多巴 RPMI-1640 完全培养基另加入 0.1 g/L L-DOPA、1.0 g/L 天门冬酰胺。将部分 PM 悬液转接入含或不含多巴的完全培养基中,于电热恒温培养箱中 37 °C、200 r/min 避光震荡培养 10 d,分别获得黑素化或常规酵母相 PM 悬液。菌液用 PBS 洗涤 3 次后以 RPMI-1640 完全培养基重悬,调节菌液密度为 1×10^7 CFU/mL 备用^[9]。

1.2.2 黑素化 PM 感染 Ana-1 细胞后 LC3 II 蛋白表达水平的检测 以含 100 mL/L 胎牛血清和 10 mL/L 青霉素-链霉素的 RPMI-1640 完全培养基常规培养 Ana-1 细胞。当倒置显微镜下观察 Ana-1 细胞的汇合率为 85% 时,采用 2.5 g/L 胰蛋白酶-EDTA 消化细胞,按 2×10^5 cells/cm² 的密度在 6 孔细胞培养板中接种 5 组细胞:雷帕霉素对照组(A 组)、白假丝酵母对照组(B 组)、黑素化 PM 组(C 组)、常规 PM 组(D 组)和空白对照组(E 组)。细胞培养过夜后,B、C、D 组分别按感染复数约为 8 加入相应菌液共孵育 3 h, A 组以 50 nmol/L 雷帕霉素孵育 48 h, E 组加入等体积 RPMI-1640 完全培养基作为空白对照。孵育结束后以预冷的 PBS 洗涤细胞,裂解细胞后以 GAPDH 蛋白作为内参,采用蛋白质免疫印记法(Western blot)检测 LC3 II 蛋白表达水平。免疫杂交时使用兔源抗 LC3 多克隆抗体(1:1 000)、4 °C 条件下孵育过夜, PBST 洗涤 3 次后加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG (1:4 000), 37 °C 孵育 1 h, 电化学发光(ECL)法显色曝光。上述实验重复 3 次于结果分析^[10]。

1.2.3 雷帕霉素处理黑素化 PM 感染后 Ana-1 细胞的自噬水平检测 将 Ana-1 细胞按 2×10^5 cells/cm² 的密度在 6 孔细胞培养板中接种 4 组细胞:黑素化 PM+雷帕霉素组(A 组)、黑素化 PM 组(B 组)、雷帕霉素组(C 组)、空白对照组(D 组)。Ana-1 细胞培养过夜至贴壁后, A、C 组加入雷帕霉素至 50 nmol/L, 细胞培养箱中孵育 48 h, 继而在 A、B 组中按感染复数约为 8 分别加入黑素化 PM 悬液共孵育 3 h, D 组加入等体积 RPMI-1640 完全培养基作为空白对照。孵育结束后,按 1.2.2 中 Western blot 的实验条件进行 II 型微管相关蛋白 1 型轻链 3(LC3 II)表达水平的检测,实验重复 3 次并分析结果。

1.2.4 雷帕霉素处理后黑素化 PM 感染的 Ana-1 细胞 LC3 蛋白定位的观察 将 Ana-1 细胞按 1×10^5 cells/cm² 的密度在 24 孔细胞培养板中接种 A、B、C、D、E 共 5 组细胞。待 Ana-1 细胞培养过夜至贴壁后, A 组与 D 组细胞分别加入雷帕霉素至 50 nmol/L 并于细胞培养箱中孵育 48 h, 之后于 A、B 组中按感染复数约为 8 分别加入黑素化 PM 悬液, C 组细胞按相同感染复数加入常规 PM 悬液孵育 3 h, E 组加入等体积 RPMI-1640 完全培养基作为空白对照。孵育结束后以预冷的 PBS 洗去未被吞噬的菌体,采用 10 g/L

多聚甲醛固定细胞 10 min, 5 mL/L Triton X-100 透膜 20 min, 正常山羊血清封闭 20 min。免疫杂交时以兔源抗 LC3 多克隆抗体(1:200)于 37 °C 湿盒中孵育 1 h, PBST 洗涤 3 次后采用 Alexa Fluor 488 标记的山羊抗兔 IgG(1:500)于 37 °C 湿盒中孵育 1 h。荧光倒置显微镜观察并采集图像^[11]。

1.2.5 雷帕霉素对黑素化 PM 直接杀灭效能的测定 取部分 1.2.1 中以 RPMI-1640 完全培养基混悬、菌液密度为 1×10^7 CFU/mL 的黑素化 PM 悬液等分为 3 组。其中两组加入雷帕霉素至 50 nmol/L, 并于细胞培养箱中分别孵育 3、6 h; 另一组加入等体积溶剂作为空白对照。之后将 4 组菌液分别离心、弃上清液, 以无菌超纯水重悬并梯度稀释, 接种于 PDA 培养基中 37 °C 培养 7 d 并计数菌落, 根据与对照组活菌数相比计算菌存活率。

1.2.6 不同时间段雷帕霉素处理对 Ana-1 细胞杀灭黑素化 PM 效能影响的测定 Ana-1 细胞按 2×10^5 cells/cm² 的密度在 6 孔细胞培养板中接种 6 组细胞, 培养过夜后其中 3 组分别加入 50 nmol/L 雷帕霉素并孵育 48 h, 继而在各组中均按感染复数约为 8 分别加入黑素化 PM 悬液, 37 °C 孵育 0、3、6 h 时分别取出 1 组含或不含雷帕霉素的细胞, 转移上清液。以无菌超纯水充分裂解 Ana-1 细胞, 将各组细胞裂解物与相应上清液混匀, 全部平铺于 PDA 培养基上 37 °C 培养 7 d 并计数菌落, 计算各组 Ana-1 细胞对黑素化 PM 的杀菌效率。

1.2.7 不同浓度雷帕霉素对 Ana-1 细胞杀灭黑素化 PM 效能影响的测定 Ana-1 细胞按 2×10^5 cells/cm² 的密度在 6 孔细胞培养板中接种 5 组细胞, 培养过夜后其中 4 组分别加入 25、50、100 及 200 nmol/L 雷帕霉素并孵育 48 h, 继而在各组中均按感染复数约为 8 分别加入黑素化 PM 悬液, 在 37 °C 孵育 3 h 后分别吸取各组细胞的上清液。以无菌超纯水充分裂解细胞, 将各组细胞裂解物与相应上清液混匀, 全部平铺于 PDA 培养基上 37 °C 培养 7 d 并计数菌落, 计算各组 Ana-1 细胞对黑素化 PM 的杀菌效率。

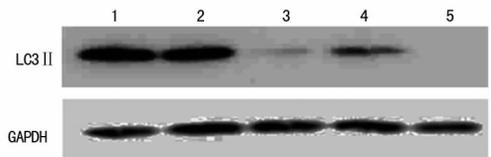
1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 黑素化 PM 抑制 Ana-1 细胞的自噬活化 Western blot 结果显示, 白假丝酵母与雷帕霉素刺激 Ana-1 细胞后 LC3II 的表达水平较空白对照组明显升高(均 $P < 0.01$); 而在相同感染复数的常规 PM 刺激下, Ana-1 细胞的 LC3II 表达水平较白假丝酵母组明显降低($P = 0.018$), 并且黑素化 PM 组的 Ana-1 细胞 LC3II 表达水平明显低于常规 PM 组($P = 0.005$), 见图 1。

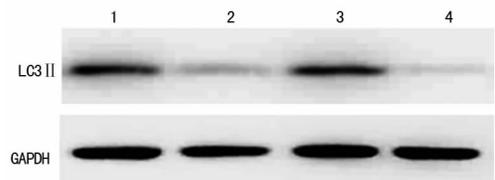
2.2 雷帕霉素处理后黑素化 PM 感染的 Ana-1 细胞的自噬水平 无雷帕霉素预处理时 Ana-1 细胞吞噬

黑素化 PM 后 LC3 II 表达水平与空白对照组比较无明显差异($P = 0.218$); 而在雷帕霉素预处理后, 吞噬黑素化 PM 的 Ana-1 细胞 LC3 II 表达水平明显升高($P = 0.009$), 并且与雷帕霉素组比较无明显差异($P = 0.173$), 见图 2。



1: 雷帕霉素对照组; 2: 白假丝酵母对照组; 3: 黑素化 PM 组; 4: 常规 PM 组; 5: 空白对照组

图 1 黑素化 PM 抑制 Ana-1 细胞 LC3 II 蛋白的表达



1: 黑素化 PM+雷帕霉素组; 2: 黑素化 PM 组; 3: 雷帕霉素组; 4: 空白对照组

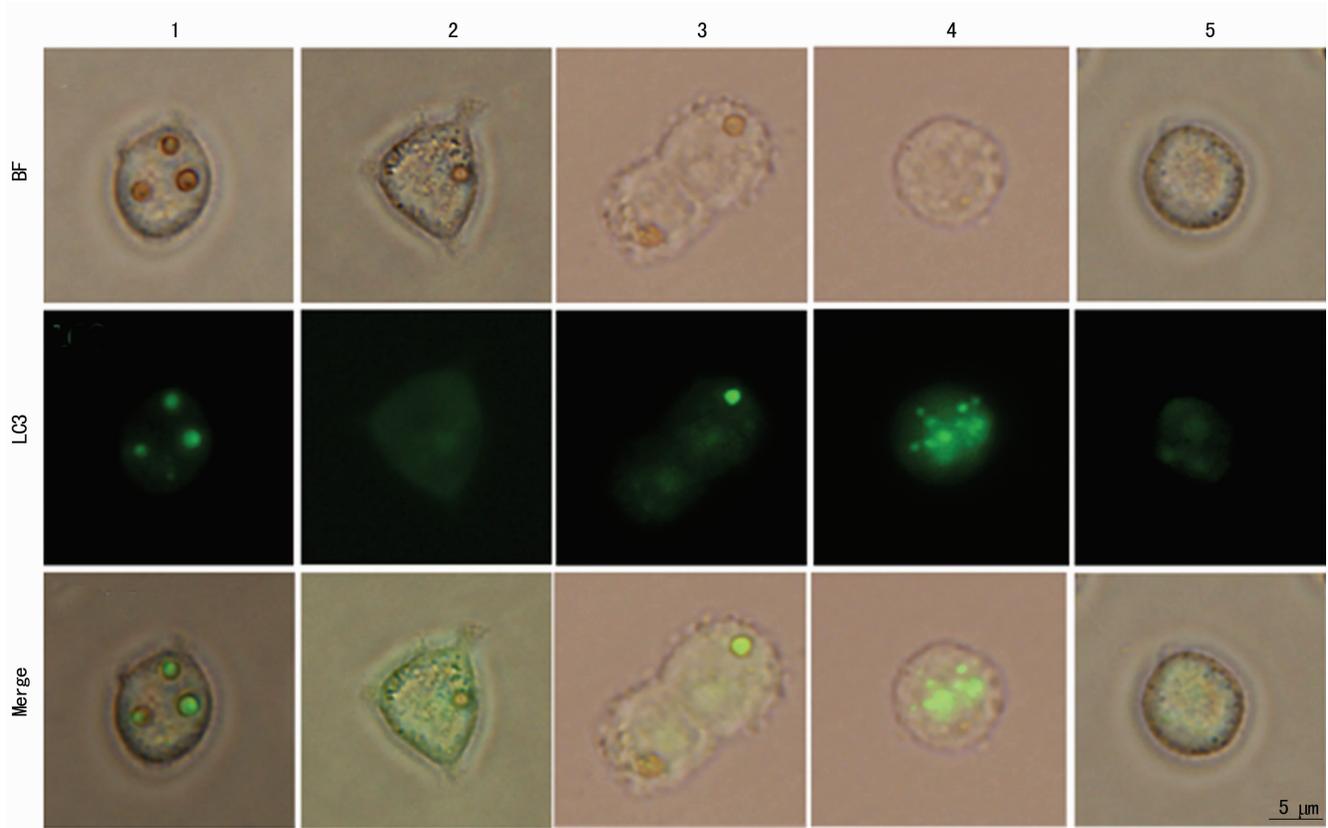
图 2 雷帕霉素处理后黑素化 PM 感染的 Ana-1 细胞 LC3 II 表达升高

2.3 雷帕霉素引发黑素化 PM 与 LC3 蛋白的共定位 免疫荧光实验显示, 空白对照组细胞绿色荧光均匀分布于细胞质内, 而单纯使用雷帕霉素处理后细胞质内出现大量的较为细小的绿色荧光斑点。吞噬了黑素化 PM 的 Ana-1 细胞 LC3 蛋白在细胞质内的分布较为均匀, 而雷帕霉素预处理后自噬体膜标记蛋白 LC3 聚集为明亮的绿色斑点, 显示了自噬体的构建。与此同时, 绿色斑点与黑素化 PM 具有明确的共定位关系, 见图 3。

2.4 雷帕霉素通过诱导巨噬细胞自噬杀伤黑素化 PM 在 50 nmol/L 雷帕霉素、37 °C 共孵育 3 h 或 6 h 的条件下, 黑素化 PM 与未经雷帕霉素处理组的菌存活率比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 见图 4A。而 Ana-1 细胞与黑素化 PM 共孵育 3 h ($P = 0.026$) 或 6 h ($P = 0.014$) 后, 雷帕霉素处理组的菌存活率较同时段无雷帕霉素处理组明显降低($P < 0.05$)。与此同时, 在与无雷帕霉素的 Ana-1 细胞共孵育 0、3 及 6 h 后, 各组间黑素化 PM 的存活率明显变化($P > 0.05$), 见图 4B。

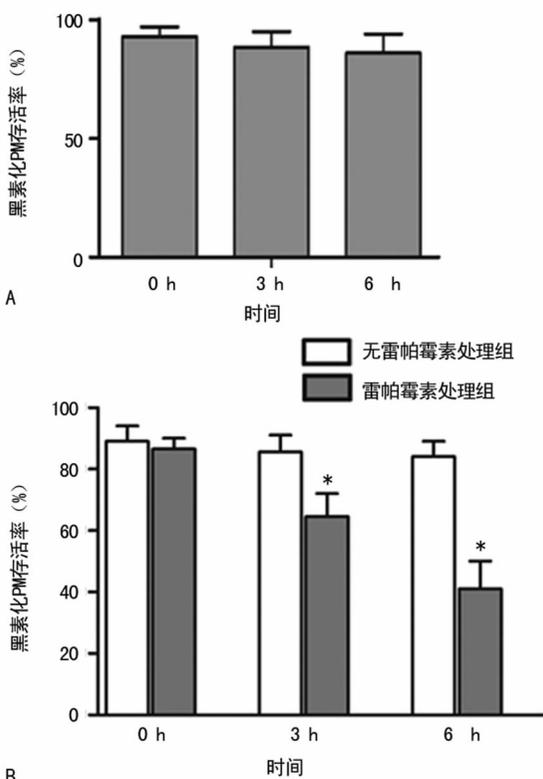
2.5 雷帕霉素诱导巨噬细胞自噬杀伤黑素化 PM 的剂量依赖性 为观察不同浓度雷帕霉素对 Ana-1 细胞杀伤在黑素化 PM 效能的影响, 采用 25、50、100 及 200 nmol/L 的雷帕霉素预处理 Ana-1 细胞孵育 48 h。通过菌培养与菌落计数后发现, 50、100 及 200 nmol/L 雷帕霉素处理组黑素化 PM 的存活率明显低于空白对照组($P < 0.05$), 相邻浓度处理组之间黑素化 PM 的存活率相比, 差异均有统计学意义($P < 0.05$),

并且黑素化 PM 的存活率随雷帕霉素浓度升高而降低,见图 5。



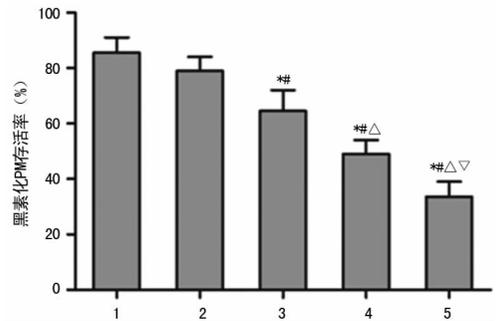
1: 黑素化 PM+雷帕霉素; 2: 黑素化 PM 组; 3: 常规 PM 组; 4: 雷帕霉素对照组; 5: 空白对照组; BF 示明场, 绿色荧光示 LC3 蛋白, Merge 示明场与绿色荧光的组合

图 3 雷帕霉素引发黑素化 PM 与 LC3 蛋白的共定位



A: 雷帕霉素对黑素化 PM 直接抗菌效能的检测; B: 有无雷帕霉素预处理的 Ana-1 细胞对黑素化 PM 抗菌效能的检测; * : $P < 0.05$, 与无雷帕霉素处理组比较

图 4 雷帕霉素通过诱导 Ana-1 细胞自噬杀伤黑素化 PM



1: 空白对照组; 2: 25 nmol/L 雷帕霉素处理组; 3: 50 nmol/L 雷帕霉素处理组; 4: 100 nmol/L 雷帕霉素处理组; 5: 200 nmol/L 雷帕霉素处理组; * : $P < 0.05$, 与空白对照组比较; # : $P < 0.05$, 与 25 nmol/L 雷帕霉素处理组比较; △ : $P < 0.05$, 与 50 nmol/L 雷帕霉素处理组比较; ▽ : $P < 0.05$, 与 100 nmol/L 雷帕霉素处理组比较

图 5 雷帕霉素通过诱导 Ana-1 细胞自噬杀伤黑素化 PM

3 讨 论

近年来对细胞自噬机制愈加深入的研究揭示, 自噬在应对多种病原生物感染的过程中扮演了重要角色, 但目前对于自噬在抗真菌感染中机制的认识相对较少。白假丝酵母及克柔假丝酵母在感染巨噬细胞时后者的自噬水平显著升高, 而阻断自噬体的构建则使巨噬细胞对二者的杀菌效能明显降低^[12-13]。在本研究中, 笔者采用白假丝酵母菌作为阳性对照, 首先观察了吞噬常规及黑素化 PM 后巨噬细胞内自噬体标记蛋白

LC3 II 的表达水平。结果发现,常规 PM 对巨噬细胞系 Ana-1 细胞激活自噬的作用有限。有趣的是,吞噬了黑素化 PM 的 Ana-1 细胞自噬水平较空白对照组细胞无明显差异,推测黑素对 PM 感染应激下的自噬激活具有抑制作用。笔者前期研究发现,烟曲霉感染时还原型辅酶 II (NADPH) 氧化酶 (NADPH oxidase, NOX) 通过产生活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 活化巨噬细胞自噬,而在 PM 的感染同样会触发巨噬细胞的呼吸爆发^[14]。已知的是,在线粒体衰老泄露、多种病原体感染应激时 ROS 均可作为引发自噬体构建的上游调节分子^[15]。根据黑素对 ROS 的消除作用,笔者推测 PM 可以通过分泌黑素干扰宿主细胞的自噬功能,但 PM 的其他毒力因子是否具有抑制自噬的作用有待进一步明确,后续笔者也将纯化 PM 产生的黑素并探究黑素能否独立影响巨噬细胞自噬^[16-17]。

自噬作为古老的保守机制,多种病原体在与宿主细胞自噬的长久斗争中进化出能逃逸甚至颠覆自噬的防御作用,而通过调节自噬提高杀伤效能成为治疗此类病原体感染的策略之一,据此笔者探究了自噬诱导剂雷帕霉素在治疗 PM 感染中的价值。值得注意的是,较高浓度的雷帕霉素可直接抑制多种致病真菌。但由于雷帕霉素的免疫抑制作用和毒性,患者难以耐受有效的药物浓度而限制其应用价值。因此,笔者提出采用低浓度雷帕霉素通过激活自噬通路的策略对黑素化 PM 发挥抗菌效能。接受器官移植、大剂量糖皮质激素治疗等免疫抑制患者是散播性真菌感染的主要好发人群。基于雷帕霉素的以上特性,该药物对以上免疫抑制患者的抗真菌治疗可能具有特殊优势。通过 Western blot 与免疫荧光实验,笔者发现雷帕霉素能有效提高吞噬黑素化 PM 的 Ana-1 细胞自噬水平,并且诱导的自噬体可包绕黑素化 PM,为雷帕霉素激活的巨噬细胞自噬可降解黑素化 PM 提供了直接证据。

继而,笔者测定了雷帕霉素对黑素化 PM 的抗菌效能。在本研究条件下,雷帕霉素对黑素化 PM 的生存率无明显影响,并且 Ana-1 细胞与黑素化 PM 共孵育 3 或 6 h 后菌存活率也无明显变化,表明低浓度雷帕霉素对黑素化 PM 无直接杀伤作用,并且 Ana-1 细胞在 6 h 以内也无抗菌作用。而以雷帕霉素预处理后,与 Ana-1 细胞共孵育的黑素化 PM 存活率明显降低,并且与雷帕霉素浓度存在明显的剂量依赖性。

综上所述,黑素化 PM 可抑制巨噬细胞的自噬活化,而雷帕霉素可通过诱导自噬提高巨噬细胞对该菌的杀菌效能。后续,笔者将通过散播性黑素化 PM 感染的动物模型,进一步探究雷帕霉素在黑素化 PM 感染的治疗价值与病理机制。

参考文献

- [1] 魏沙沙,李玉叶. 马尔尼菲青霉菌致病机制的研究进展[J]. 皮肤病与性病,2016,38(4):259-261.
- [2] 黄晓,张军民,蒋丽,等. 马尔尼菲青霉酸性磷酸酶在宿主氧化杀伤中的作用[J]. 中国人兽共患病学报,2015,31(9):817-821.
- [3] 刘昕超,索小英,汪雯,等. 艾滋病合并马尔尼菲青霉菌感染 11 例临床分析并文献复习[J]. 北京医学,2015,37(9):820-823.
- [4] 王英歌,林熹,李志春,等. 咽喉部马尔尼菲青霉感染合并卡氏肺孢子菌肺炎一例并文献复习[J]. 中国人兽共患病学报,2017,33(10):903-907.
- [5] 徐志平,严立,彭丽,等. 误诊为肺结核的马尔尼菲青霉菌 2 例并文献复习[J]. 第三军医大学学报,2016,38(14):1686-1690.
- [6] ACHARYA M, SOKOLOVSKA A, TAM J M, et al. α integrin-triggered association of autophagy components with toll-like receptors regulates B cell responses[J]. Nat Commun,2016,7(4):34-48.
- [7] TAM J M, MANSOUR M K, ACHARYA M, et al. The role of autophagy-related proteins in candida albicans infections[J]. Pathogens,2016,5(2):365-378.
- [8] SHROFF A, SEQUEIRA R, REDDY K V R. Human vaginal epithelial cells augment autophagy marker genes in response to candida albicans infection[J]. Am J Reprod Immunol,2017,77(4):1-13.
- [9] 谭伟芬. 黑素在马尔尼菲青霉抵抗巨噬细胞吞噬中的作用[D]. 南宁:广西医科大学,2013.
- [10] 曹红丹,张朝鸿,吕琳,等. IL-24 联合靶向减毒沙门菌载体 SL7207/pBud-V P3 对胃癌细胞的生长抑制作用[J]. 重庆医学,2016,45(19):2610-2613.
- [11] KHAN N S, KASPERKOVITZ P V, TIMMONS A K, et al. Dectin-1 controls TLR9 trafficking to phagosomes containing beta-1,3 glucan[J]. J Immunol,2016,196(5):2249-2261.
- [12] ANDRE M N, PATRICIA A, LUIS R M, et al. Macrophage autophagy in immunity to cryptococcus neoformans and andi-da albicans[J]. Infect Immun,2012,80(9):3065-3076.
- [13] 黄振山,刘家传,张永明,等. 克柔假丝酵母菌通过 Dectin-1/Syk 信号通路活化巨噬细胞自噬[J]. 中国微生态学杂志,2017,29(9):1037-1041.
- [14] 胡素侠,杨小康,何江. 烟曲霉感染时 NADPH 氧化酶通过诱导活性氧活化巨噬细胞自噬[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2015,31(2):190-193.
- [15] 杨小康,何江,顾志波,等. 活性氧簇在白假丝酵母诱导 RAW264.7 细胞自噬中的作用[J]. 中国微生态学杂志,2014,26(7):798-801.
- [16] KENNO S, PERITO S, MOSCI P, et al. Autophagy and reactive oxygen species are involved in neutrophil extracellular traps release induced by c-albicans morphotypes [J]. Front Microbiol,2016,7(7):879-893.
- [17] VAN DE VEERDONK F L, DINARELLO C A. Dinarello CA. deficient autophagy unravels the ROS paradox in chronic granulomatous disease [J]. Autophagy,2014,10(6):1141-1142.