

宿主细胞利用异噬防御细菌感染研究进展

张春晨 (天津商业大学生物技术与食品科学学院, 天津 300134)

摘要 自噬是一种进化上古老且高度保守的真核生物机制, 该机制在维持细胞稳态和应对各种环境条件方面起着至关重要的作用。异噬属于自噬的一种, 由于其主要吞噬和降解的对象为入侵病原体, 故将其称为异噬。在分子水平上综述了不同细菌入侵细胞后触发的细胞异噬清除机制及其在国内外的研究进展。

关键词 自噬; 异噬; 细菌感染; 抗菌免疫

中图分类号 Q25 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2020)04-0008-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.04.002



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Advances in Research on Host Cells Using Xenophagy to Protect against Bacterial Infection

ZHANG Chun-chen (School of Biotechnology and Food Science, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134)

Abstract Autophagy is an evolutionarily ancient and highly conserved eukaryotic mechanism that plays a vital role in maintaining cell homeostasis and coping with various environmental conditions. Xenophagy is a kind of autophagy, which is called a xenophagy because its main phagocytosis and degradation are invading pathogens. At the molecular level, we reviewed the mechanism of cellular xenophagy clearance triggered by different bacterial invading cells and its research progress at domestic and foreign.

Key words Autophagy; Xenophagy; Bacterial infection; Antibacterial immunity

异噬(xenophagy)是Levine在2005年正式提出的概念^[1], 属于宿主细胞自噬(autophagy)作用的一种, 由于主要吞噬和降解的对象为入侵病原体, 故将其称为异噬。自噬被认为是一种进化上保守的真核生物机制, 真核细胞可利用其将自身胞质蛋白或细胞器等组分降解以维持细胞内的稳态环境^[2-4]。与泛素-蛋白酶体降解系统不同, 自噬可以降解相对较大的底物, 包括蛋白质聚集体, 细胞器或入侵病原体等^[1]。在营养缺乏条件下, 细胞通过自噬降解蛋白质和其他大分子, 从而为自身合成代谢提供必需的营养物质^[5-6]。此外, 自噬还可在缺氧、氧化应激以及辐射等条件下被诱导^[9]。

根据自噬降解方式的不同, 其可分为3种类型: 分子伴侣介导的细胞自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA), 微自噬(microautophagy)和巨自噬(macroautophagy)。CMA是由热休克蛋白(HSC70)介导的在溶酶体中降解细胞溶质蛋白的选择性自噬降解过程^[7]; 微自噬是通过溶酶体膜的内陷直接将临近细胞质摄入溶酶体内, 从而将所摄入内容物降解^[8]; 而巨自噬为溶酶体与含有待降解物的囊泡融合进而将其内组分降解, 其中涉及细胞内多种组分, 例如多肽、细胞器、细胞内蛋白聚集体和病原体等, 宿主细胞通过巨自噬降解入侵病原体的过程又称为异噬作用^[9]。

在病原体入侵细胞之初, 宿主细胞膜上Toll样受体(Toll-like receptors, TLR)可对不同微生物病原体相关模式分子(pathogen-associated molecular patterns, PAMP)进行识别, 从而引发异噬。在侵入细胞后, 病原体经泛素化信号通路被泛素化, 之后在衔接蛋白(p62, NDP52和NBR1等)的作用下被募集至异噬体中, 后者与溶酶体融合形成异噬溶酶体从而将病原体降解。不同微生物被异噬作用降解的分子机制略有

不同, 该研究综述了侵入性细菌, 例如结核分枝杆菌、鼠伤寒沙门氏菌、福氏志贺氏菌和化脓性链球菌等通过宿主异噬防御机制被清除的分子机制。

1 宿主细胞利用异噬防御细菌感染的分子机制

1.1 结核分枝杆菌诱导的异噬机制 结核分枝杆菌是第一个被鉴定出能够诱导异噬的细菌^[11]。研究表明, 在感染巨噬细胞初期, 结核分枝杆菌仍可在宿主细胞的吞噬泡内存活。随着细菌的增殖, 吞噬泡形成异噬体的过程受到抑制, 阻碍了异噬体与溶酶体的融合从而阻断异噬流^[12]。但在各种外源性刺激的诱导下异噬作用仍会发生, 例如营养缺乏、Toll样受体(TLR)^[13]信号传导、干扰素(IFN)- γ ^[11]、雷帕霉素^[14]和维生素D的作用^[15]等。这些外源性刺激通过促进吞噬泡酸化有效地增强了异噬作用, 从而抑制巨噬细胞中结核分枝杆菌的繁殖。此外, 即使没有外源刺激, 在感染后期大约30%的细菌也能通过与LC3和ATG12的相互作用被宿主细胞选择性地靶向清除^[16]。其中所涉及的分子机制仍然知之甚少, 但现已发现2种重要的异噬信号传导途径。

一种信号传导途径为结核分枝杆菌通过其VII型分泌系统ESX-1分泌的效应蛋白ESAT-6(early secreted antigenic target of 6 kDa)破坏宿主细胞吞噬泡进而诱导异噬。结核分枝杆菌从破溃的吞噬泡中逃逸至宿主细胞胞浆, 激活STING/TBK-1/IRF3途径启动异噬, 从而导致IFN- β 分泌以及细菌蛋白质的泛素化^[15]。泛素化过程涉及E3泛素连接酶Parkin, 其在异噬过程中的泛素化底物尚不明确, 但研究表明, Parkin通过Lys63多聚泛素蛋白链标记细菌后, 泛素化的细菌与衔接蛋白p62(也称为SQSTM1), NDP52和异噬体修饰物LC3共定位并被递送至异噬通路, 从而细菌被降解^[15]。此外, Manzanillo^[16]发现Parkin在体外和体内均能抑制结核分枝杆菌的繁殖, 表明Parkin在泛素化结核分枝杆菌诱导的异噬过程中起重要作用。

另一种信号传导途径是结核分枝杆菌激活宿主细胞

基金项目 国家自然科学基金面上项目(31870122); 天津市自然科学基金项目(18JCYBJC96000)。

作者简介 张春晨(1994—), 男, 甘肃白银人, 硕士, 从事微生物生物化学研究。

收稿日期 2019-10-24

TLR/白细胞介素-1 受体 (IL1R)-MYD88-NF- κ B 先天免疫传感途径,在衔接蛋白 p62 以及细胞溶质内 DNA 传感器 STING(stimulator of interferon genes)的协助下,促进 DRAM1(DNA damage-regulated autophagy modulator 1)的表达,引发异噬。进一步研究发现,DRAM1 的沉默会使巨噬细胞抵御结核分枝杆菌的能力降低,而其过度表达则会显著增强异噬作用从而导致感染降低^[17]。

1.2 鼠伤寒沙门氏菌诱导的异噬机制 由图 1 可知,鼠伤寒沙门氏菌侵入肠上皮细胞后主要以 2 种方式存在^[18],一部分鼠伤寒沙门氏菌被沙门氏菌内含小泡 SCV(Salmonella-containing vacuole)包被,另一部分鼠伤寒沙门氏菌会从破溃的 SCV 中逃逸出来游离于宿主细胞胞浆中,并以较快的速度繁殖,将其称为超级繁殖(hyper-replication)菌^[19]。SCV 包被的鼠伤寒沙门氏菌会在 SCV 中继续生长繁殖,直至一部分细菌通过其致病岛 1 III 型分泌系统(salmonella pathogenicity island 1 type III secretion system, SPI-1 T3SS)分泌效应蛋白对 SCV 膜打孔,破坏 SCV 膜的完整性,从而使沙门氏菌逃逸到胞质溶胶中^[20]形成游离沙门氏菌,游离沙门氏菌与破溃的 SCV 膜均可引起宿主细胞异噬反应。

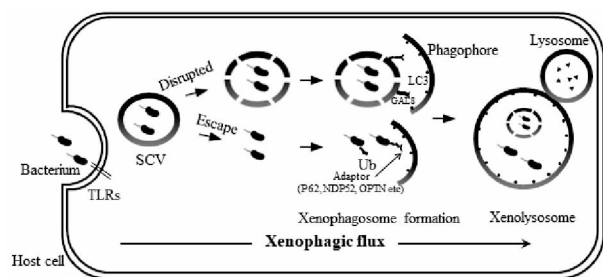


图 1 宿主细胞利用异噬防御入侵沙门氏菌

Fig.1 Host cells use xenophagy to protect against invasive salmonella

异噬过程中涉及到 E3 泛素连接酶 LRSAM1 识别细菌的富含亮氨酸重复序列(leucine rich repeat, LRR)并泛素化细菌, LRSAM1 与沙门氏菌共定位,被泛素化的细菌招募衔接蛋白进入异噬流,从而减弱了宿主细胞胞质中游离鼠伤寒沙门氏菌的繁殖^[21]。除 LRSAM1 外,线粒体自噬相关的 E3 泛素连接酶 Parkin 也参与了鼠伤寒沙门氏菌的异噬清除^[22],但其具体分子机制尚不清楚。

被泛素化的鼠伤寒沙门氏菌招募的衔接蛋白主要有 3 种。从图 1 可以看出,沙门氏菌入侵细胞后,细胞质中的细菌被泛素化蛋白修饰,这使得它们可以招募 p62,然后 p62 通过与 LC3 的相互作用将细菌靶向异噬体^[23]。第 2 种衔接蛋白 Optineurin 也具有抗沙门氏菌感染的作用,因其先天免疫受体 TANK 结合激酶 1(TBK1)的磷酸化增加了 LC3 对沙门氏菌结合位点的亲和力,从而加强了细菌的消除^[24]。参与异噬清除沙门氏菌的第 3 种衔接蛋白是 NDP52(图 1),NDP52 在识别受损的 SCV 膜过程中起关键作用。一方面,NDP52 能够检测细胞质中带有聚泛素化蛋白的沙门氏菌,从而使细菌在泛素依赖性降解途径中被降解^[25]。另一方面,在 SCV 膜破损后,存在于 SCV 膜内部的 β -半乳糖苷暴露于胞质溶胶中,然后被胞质内半乳糖结合凝集素 8(Galec-

tin-8, GAL8) 作为感受器感知并结合。GAL8 随后结合 NDP52,致使 LC3 修饰的异噬体募集破损的 SCV 并使其降解。值得注意的是,在该途径中,NDP52 由 GAL8 募集,而不是由泛素化蛋白募集^[26]。

1.3 福氏志贺氏菌诱导的异噬机制 福氏志贺氏菌入侵宿主细胞(上皮细胞和巨噬细胞)后不久,便可脱离吞噬泡,在宿主细胞胞质中进行复制^[27]。在胞质溶胶中,福氏志贺氏菌募集肌动蛋白相关蛋白 2/3(actin related protein 2/3, Arp2/3)复合物和 N-WASP 以诱导基于肌动蛋白的细胞间感染^[28],且该过程可被外膜转运蛋白 IcsA 所促进。

在感染细胞后,福氏志贺氏菌通过 2 种途径被宿主细胞异噬作用降解。一种为非泛素蛋白依赖性降解途径,在该途径中,ATG5 通过识别 IcsA,触发隔离膜的形成以包被细菌,而后 ATG5 与 TECPR1 结合,后者在与 PI3P 和 WIPI-2 相互作用下,促进细菌被招募至 LC3 修饰的异噬体内,进行异噬消灭^[29]。Nagatake 等^[30]也发现在 TECPR1 缺陷的小鼠胚胎成纤维细胞中,福氏志贺氏菌诱导的选择性异噬存在缺陷,导致胞内福氏志贺氏菌大量繁殖,表明了 TECPR1 在异噬通路中的重要性。另一种为泛素蛋白依赖性降解途径,在该途径中,GTP 结合蛋白 Septins 组装成非极性细丝、与肌动蛋白丝、微管和细胞膜结合^[31]形成复合体,作为细胞骨架成分并被募集到由 IcsA 诱导的肌动蛋白聚合位点,形成笼状结构,从而捕捉胞质中的细菌,在泛素连接酶、衔接蛋白 p62 和 NDP52 的作用下,于 LC3 修饰的异噬体中将细菌降解^[32-33]。另外,研究发现在斑马鱼中同样存在 septin 笼,表明其在进化上是一种保守的宿主防御成分^[34]。

1.4 化脓性链球菌诱导的异噬机制 化脓性链球菌,也称为 A 族链球菌(GAS),研究发现,其侵入 HeLa 细胞后可在外毒素链球菌溶血素 O(SLO)介导下从内体逃逸到细胞质中^[35],同时 SLO 也诱导异噬的发生^[36]。Sakurai 等^[35]利用 SLO 基因缺失型 GAS 感染 HeLa 细胞后,发现宿主细胞内体中的 GAS 不会被募集到 LC3 修饰的异噬体中,从而不能被异噬清除,因此能比野生型菌株存活更长的时间,表明化脓性链球菌的 SLO 是诱导宿主细胞产生异噬作用的关键因素。

另一项研究表明,在 GAS 感染的人口腔角质形成细胞中,细菌通过其 SLO 和外毒素链球菌溶血素 S(SLS)来破坏内体膜并逃逸到胞质溶胶中。内体膜结构被破坏后,逃逸的 GAS 在泛素化信号通路作用下被泛素化,进而招募衔接蛋白 NDP52, p62 和 NBR1 并结合,从而进入异噬流。此外,破溃的宿主细胞内体膜与 GAL8 结合后招募衔接蛋白 NDP52,引发宿主细胞异噬反应。其中, SLO 是与泛素结合所必需的,而 SLS 是与 Galectin-8 结合所必需的^[37]。

研究表明,在异噬清除 GAS 过程中, RAB9A 对于异噬体的形成和异噬体与溶酶体的融合是不可缺少的^[38],但迄今为止,尚未发现 RAB9A 参与传统自噬过程中自噬体的形成,突显了该蛋白在细胞内异噬清除病原体的独特作用。此外,在感染过程中,宿主细胞 CD46 受体也可通过激活 Beclin-1 与 PI3K 参与异噬的诱导和 GAS 的清除^[39]。

2 小结与展望

在过去 10 多年中,已经证明了异噬作用在宿主细胞免疫病原体中的关键作用。目前,已有研究发现了识别不同微生物靶标的多种分子机制,如 p62、NDP52 和 NBR1 等衔接蛋白选择性识别不同病原体 PAMP,这一过程是引发宿主细胞异噬反应进而清除病原体所必需的。此外,泛素连接酶(如 Parkin 和 LRSAM-1)在宿主细胞异噬通路中起关键作用。研究发现, Parkin 是宿主细胞线粒体自噬通路中的关键分子,且与帕金森综合征有关,而后又证明其参与宿主细胞异噬靶向清除结核分枝杆菌,表明宿主细胞异噬作用与线粒体自噬之间存在某种相关性。如今,对宿主细胞抗菌异噬级联反应分子机制的研究日渐深入,但该领域尚未解决的一个关键问题是宿主细胞如何感知细胞质中的细菌并用泛素标记它们以启动异噬级联反应。此外,不同病原体微生物在宿主细胞中被异噬作用清除的分子机制各不相同。因此,未来需要进一步研究免疫细胞中的异噬分子机制,以便充分了解这些复杂的、多层次的异噬防御机制。在异噬发生的同时,各种细菌也进化出了逃避异噬清除机制的方法,因此,充分研究不同微生物逃避异噬的分子机制是未来的另一目标。

抗菌药物耐药性的广泛出现已经引起人们对宿主定向疗法(host-directed therapies, HDT)的兴趣。充分了解不同的异噬过程和微生物免疫逃避机制,有利于针对病原微生物疾病的临床治疗。通过调节宿主免疫途径的特定定位点,可以限制微生物在体内的感染。这些针对宿主免疫途径的药物可以在很大程度上避免细菌抗生素耐药性的发展。总之,这些宿主定向药物为抗菌治疗提供了新的研究思路。

参考文献

- LEVINE B, MIZUSHIMA N, VIRGIN H W. Autophagy in immunity and inflammation[J]. *Nature*, 2011, 469(7330): 323-335.
- HUANG J, KLIONSKY D J. Autophagy and human disease[J]. *Cell cycle*, 2007, 6(15): 1837-1849.
- LEVINE B, KLIONSKY D J. Autophagy wins the 2016 Nobel Prize in Physiology or Medicine Breakthroughs in baker's yeast fuel advances in biomedical research[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(2): 201-205.
- NAH J, YUAN J Y, JUNG Y K. Autophagy in neurodegenerative diseases: From mechanism to therapeutic approach[J]. *Molecular cells*, 2015, 38(5): 381-389.
- LEVINE B, KROEMER G. Autophagy in the pathogenesis of disease[J]. *Cell*, 2008, 132(1): 27-42.
- MIZUSHIMA N, KOMATSU M. Autophagy: Renovation of cells and tissues[J]. *Cell*, 2011, 147(4): 728-741.
- MORTIMORE G E, LARDEUX B R, ADAMS C E. Regulation of microautophagy and basal protein turnover in rat liver. Effects of short-term starvation[J]. *The journal of biological chemistry*, 1988, 263(5): 2506-2512.
- FRED DICE J. Chaperone-mediated autophagy[J]. *Autophagy*, 2007, 3(4): 295-299.
- RADOMSKI N, REBBIG A, LEONHARDT R M, et al. Xenophagic pathways and their bacterial subversion in cellular self-defense-παντα πει- everything is in flux[J]. *International journal of medical microbiology*, 2018, 308(1): 185-196.
- RIKIHISA Y. Glycogen autophagosomes in polymorphonuclear leukocytes induced by rickettsiae[J]. *The anatomical record*, 1984, 208(3): 319-327.
- GUTIERREZ M G, MASTER S S, SINGH S B, et al. Autophagy is a defense mechanism inhibiting BCG and *Mycobacterium tuberculosis* survival in infected macrophages[J]. *Cell*, 2004, 119(6): 753-766.
- ARMSTRONG J A, HART P D. Phagosome-lysosome interactions in cultured macrophages infected with virulent tubercle bacilli. Reversal of the usual nonfusion pattern and observations on bacterial survival[J]. *Journal*

- of experimental medicine, 1975, 142(1): 1-16.
- DELGADO M D, ELMAOUED R A, DAVIS A S, et al. Toll-like receptors control autophagy[J]. *The EMBO Journal*, 2008, 27(7): 1110-1121.
- WATSON R O, MANZANILLO P S, COX J S. Extracellular *M. tuberculosis* DNA targets bacteria for autophagy by activating the host DNA-sensing pathway[J]. *Cell*, 2012, 150(4): 803-815.
- MARTINEAU A R, WILKINSON R J, WILKINSON K A, et al. A single dose of vitamin D enhances immunity to mycobacteria[J]. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2007, 176(2): 208-213.
- MANZANILLO P S, AYRES J S, WATSON R O, et al. The ubiquitin ligase parkin mediates resistance to intracellular pathogens[J]. *Nature*, 2013, 501(7468): 512-516.
- VAN DER VAART M, KORBEE C J, LAMERS G E M, et al. The DNA damage-regulated autophagy modulator DRAM1 links mycobacterial recognition via TLR-MYD88 to autophagic defense[J]. *Cell host & microbe*, 2014, 15(6): 753-767.
- KNODLER L A. *Salmonella enterica*: Living a double life in epithelial cells[J]. *Current opinion in microbiology*, 2015, 23: 23-31.
- KNODLER L A, NAIR V, STEELE-MORTIMER O. Quantitative assessment of cytosolic *Salmonella* in epithelial cells[J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): 1-13.
- BIRMINGHAM C L, SMITH A C, BAKOWSKI M A, et al. Autophagy controls *Salmonella* infection in response to damage to the *Salmonella*-containing vacuole[J]. *Journal of biological chemistry*, 2006, 281(16): 11374-11383.
- HUETT A, HEATH R J, BEGUN J, et al. The LRR and RING domain protein LRSAM1 is an E3 ligase crucial for ubiquitin-dependent autophagy of intracellular *Salmonella* Typhimurium[J]. *Cell host microbe*, 2012, 12(6): 778-790.
- MANZANILLO P S, AYRES J S, WATSON R O, et al. The ubiquitin ligase parkin mediates resistance to intracellular pathogens[J]. *Nature*, 2013, 501(7468): 512-516.
- ZHENG Y T, SHAHNAZARI S, BRECH A, et al. The adaptor protein p62/SQSTM1 targets invading bacteria to the autophagy pathway[J]. *J Immunol*, 2009, 183(9): 5909-5916.
- WILD P, FARHAN H, MCEWAN D G, et al. Phosphorylation of the autophagy receptor optineurin restricts *Salmonella* growth[J]. *Science*, 2011, 333(6039): 228-233.
- THURSTON T L M, RYZHAKOV G, BLOOR S, et al. The TBK1 adaptor and autophagy receptor NDP52 restricts the proliferation of ubiquitin-coated bacteria[J]. *Nature immunology*, 2009, 10(11): 1215-1221.
- THURSTON T L M, WANDEL M P, VON MUHLINEN N, et al. Galectin 8 targets damaged vesicles for autophagy to defend cells against bacterial invasion[J]. *Nature*, 2012, 482(7385): 414-418.
- FREDLUND J, ENNINGA J. Cytoplasmic access by intracellular bacterial pathogens[J]. *Trends in microbiology*, 2014, 22(3): 128-137.
- HAGLUND C M, WELCH M D. Pathogens and polymers: Microbe-host interactions illuminate the cytoskeleton[J]. *Journal of cell biology*, 2011, 195(1): 7-17.
- CHEN D D, FAN W L, LU Y J, et al. A mammalian autophagosome maturation mechanism mediated by TECPR1 and the Atg12-Atg5 conjugate[J]. *Molecular cell*, 2012, 45(5): 629-641.
- OGAWA M, YOSHIKAWA Y, KOBAYASHI T, et al. A Tecpr1-dependent selective autophagy pathway targets bacterial pathogens[J]. *Cell host & microbe*, 2012, 9(5): 376-389.
- BEZANILLA M, GLADFELTER A S, KOVAR D R, et al. Cytoskeletal dynamics: A view from the membrane[J]. *Journal of cell biology*, 2015, 209(3): 329-337.
- MOSTOWY S, SANCHE-SHIMIZU V, HAMON M A, et al. p62 and NDP52 proteins target intracytosolic *Shigella* and *Listeria* to different autophagy pathways[J]. *Journal of biological chemistry*, 2011, 286(30): 26987-26995.
- MOSTOWY S, BONAZZI M, HAMON M A, et al. Entrapment of intracytosolic bacteria by septin cage-like structures[J]. *Cell host & microbe*, 2010, 8(5): 433-444.
- MOSTOWY S, BOUCONTET L, MAZON MOYA M J, et al. The zebrafish as a new model for the *in vivo* study of *Shigella flexneri* interaction with phagocytes and bacterial autophagy[J]. *PLoS Pathogens*, 2013, 9(9): 1-18.

- 动物微生态学分会第五届第十三次全国学术研讨会论文集.北京:中国畜牧兽医学会,2018:1.
- [9] 广泽宇.一株生防芽孢杆菌的分离与鉴定[J].乡村科技,2018(11):91-93.
 - [10] 杨瑞先,蔡学清,范晓静,等.内生芽孢杆菌防治植物病害的应用及作用机制研究进展[J].武夷科学,2012,28(1):106-113.
 - [11] 陈志谊,刘永峰,刘邗洲,等.植物病害生防芽孢杆菌研究进展[J].江苏农业学报,2012,28(5):999-1006.
 - [12] 王晓阁.枯草芽孢杆菌研究进展与展望[J].中山大学研究生学刊(自然科学·医学版),2012,33(3):14-23.
 - [12] LEONG J.Siderophores: Their biochemistry and possible role in the bio-control of plant pathogens[J].Annu Rev Phytopathol,1986,24(1):187-209.
 - [13] SHODA M.Bacterial control of plant diseases[J].J Biosci Bioeng,2000,89(6):515-521.
 - [14] WEISBEEK P,OGESHI A,KOBAYASHI K,et al.Plant growth-promoting rhizobacteria present status and future prospects [C] //Japan-OECD Joint Workshop.Workshop on plant growth-promoting rhizobacteria.Sapporo,Japan;Japan-OECD Joint Workshop,1997:102-106.
 - [15] 伏波,解定粉芽孢杆菌 EDR4 对葡萄霜霉病的生防作用研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2017.
 - [16] 杨安明.金钗石斛内生菌的分离鉴定及活性物质发现研究[D].贵阳:贵州大学,2017.
 - [17] 陈奕鹏,杨扬,桑建伟,等.拮抗内生芽孢杆菌 BEB17 分离鉴定及其挥发性物质抑菌活性分析[J].植物病理学报,2018,48(4):537-546.
 - [18] 林福星,李德葆.枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)S9 对植物病原真菌的溶菌作用[J].植物病理学报,2003,33(2):174-177.
 - [19] 黄现青,别小妹,吕凤霞,等.枯草芽孢杆菌 fmbJ 产脂肽抑制点青霉效果及其桃防腐试验[J].农业工程学报,2008,24(1):263-267.
 - [20] LIU Y F,CHEN Z Y,NG T B,et al.Bacisubin,an antifungal protein with ribonuclease and hemagglutinating activities from *Bacillus subtilis* strain B-916[J].Peptidok,2007,28:553-559.
 - [21] UKNESS S,WINTER A M,DELANEY T.Biological induction of systemic acquired resistance in *Arabidopsis*[J]. Mol Plant-Microbe Interact,1993,6:692-698.
 - [22] PLETERSE C M J,VAN WEES S C M,VAN PELT J A,et al.A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in *Arabidopsis*[J]. The plant cell,1998,10:1571-1580.
 - [23] VAN DER ENT S,VAN WEES S C M,PIETERSE C M.Jasmonate signaling in plant interactions with resistance-inducing beneficial microbes[J]. Phytochemistry,2009,70(13/14):1581-1588.
 - [24] NIU D D,LIU H X,JIANG C H,et al.The plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus cereus* ARI56 induces systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* by simultaneously activating salicylate-and jasmonate / ethylene-dependent signaling pathways[J].Molecular plant-microbe interactions,2011,24(5):533-542.
 - [25] ONGENA M,JACQUES P.*Bacillus* lipopeptides: Versatile weapons for plant disease biocontrol[J].Trends Microbiol,2008,16(3):115-125.
 - [26] JOURDAN E,HENRY G,DUBY F,et al.Insights into the defense-related events occurring in plant cells following perception of surfactin-type lipopeptide from *Bacillus subtilis*[J].Molecular plant-microbe interactions,2009,22(4):456-468.
 - [27] RYU C M,FARAG M A,HU C H,et al.Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*[J].Plant Physiol,2004,134:1017-1026.
 - [28] RYU C M,FARAG M A,HU C H,et al.Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*[J].Proc Natl Acad Sci USA,2003,100(8):4927-4932.
 - [29] 李德全,陈志谊,聂亚锋.生防菌 Bs-916 及高效突变菌株抗菌物质及其对水稻抗性诱导作用的研究[J].植物病理学报,2008,38(2):192-198.
 - [30] 吴剑,何军,李祥军,等.诱导抗病剂与生防制剂在烟草上的防效研究[J].昆明学院学报,2015,37(6):7-10,17.
 - [31] 朱忠彬,吴秉奇,丁延芳,等.短短芽孢杆菌 DZQ3 对烟草的促生及系统抗性诱导作用[J].中国烟草科学,2012,33(3):92-96,106.
 - [32] 雷丽萍.烟草内生芽孢杆菌降低烟叶亚硝酸盐类物质含量的研究[J].西南农业学报,2007,20(3):515-520.
 - [33] ADHIKARI T B,JOSEPH C M,YANG G,et al.Evaluation of bacteria isolated from rice for plant growth promotion and biological control of seedling disease of rice[J].Canadian journal of microbiology,2001,47(10):916-924.
 - [34] 刘栋.生防芽孢杆菌对植物的促生作用及其机理的研究[D].济南:山东师范大学,2009.
 - [35] 陈莉.棉花生防芽孢杆菌 A57、A178 的抑菌机理、拮抗性物质及防病、促生作用[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2007.
 - [36] 张璐,杜秉海,魏珉,等.黄瓜枯萎病拮抗菌的生防效果及其对植株生长代谢的影响[J].山东农业科学,2007(4):89-92.
 - [37] 蔡学清,林彩萍,何红,等.内生枯草芽孢杆菌 BS-2 对水稻苗生长的效应[J].福建农业大学学报(自然科学版),2005,34(2):189-194.
 - [38] 何红,邱思鑫,蔡学清,等.辣椒内生细菌 BS-1 和 BS-2 在植物体内的定殖及鉴定[J].微生物学报,2004,44(1):13-18.
 - [39] 何红.辣椒内生枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)防病促生作用的研究[D].福州:福建农林大学,2003.
 - [40] 何红,蔡学清,洪永聪,等.辣椒内生细菌的分离及拮抗菌的筛选[J].中国生物防治,2002,18(4):171-175.
 - [41] 张霞,唐文华,张力群.枯草芽孢杆菌 B931 防治植物病害和促进植物生长的作用[J].作物学报,2007,33(2):236-241.
 - [42] 王心选,高小宁,郑刚,等.内生枯草芽孢杆菌 E1R-J 对萝卜、白菜促生作用[J].西北农业学报,2009,18(6):231-236.
 - [43] 齐爱勇,赵绪生,刘大群.芽孢杆菌生物防治植物病害研究现状[J].中国农学通报,2011,27(12):277-280.
 - [44] 陈云堂,郭东权,王娟娟.辐照技术在我国烟草中的应用研究进展[J].中国烟草科学,2011,32(2):90-95.
 - [45] 王树林,刘好宝,史万华,等.论烟草轻简高效栽培技术与对策[J].中国烟草科学,2010,31(5):1-6.
 - [46] 董志坚,宋秀中,程彪.基于“3S”技术的数字化烟草农业研究概况及展望[J].中国烟草学报,2008,14(3):65-70.
 - [47] 谭仲夏,杨龙祥.烟草赤星病的生物防治研究现状及展望[J].中国烟草学报,2005,11(3):34-38.
 - [48] 马志远,李金岭,冯志珍,等.1 株烟草赤星病拮抗芽孢杆菌的鉴定与活性研究[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2012,40(3):117-125.
 - [49] 易有金,刘如石,尹华群,等.烟草青枯病拮抗内生细菌的分离、鉴定及其田间防效[J].应用生态学报,2007,18(3):554-558.
 - [50] 章四平,刘圣明,王建新,等.枯草芽孢杆菌生防菌株 NJ-18 的发酵条件优化[J].南京农业大学学报,2010,33(2):58-62.
 - [51] 徐辉,熊霞.烟草青枯病防治技术研究进展[J].湖南农业科学,2009(4):91-94.
 - [52] 陈巧玲,胡江,汪汉成,等.生物有机肥对盆栽烟草根际青枯病原菌和短短芽孢杆菌数量的影响[J].南京农业大学学报,2012,35(1):75-79.
 - [53] 陈雪丽,王光华,金剑,等.多粘类芽孢杆菌 BRF-1 和枯草芽孢杆菌 BRF-2 对黄瓜和番茄枯萎病的防治效果[J].中国生态农业学报,2008,16(2):446-450.
 - [54] 刘波微,彭化贤,陈素清,等.芽孢杆菌抑制多种经济作物病原真菌及稳定性研究[J].云南农业大学学报,2005,20(1):16-19,30.

(上接第 10 页)

- [35] 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].The journal of biological chemistry,2010,285(29):22666-22675.
- [36] NAKAGAWA I,AMANO A,MIZUSHIMA N,et al.Autophagy defends cells against invading group A *Streptococcus* [J]. Science,2004,306(5698):1037-1040.
- [37] O'EAGHDHA M,WESSELS M R.Streptolysin O and its Co-Toxin NAD-glycohydrolase protect group A *Streptococcus* from xenophagic killing[J]. PLoS Pathogens,2013,9(6):1-14.
- [38] NOZAWA T,AIKAWA C,GODA A,et al.The small GTPases Rab9A and Rab23 function at distinct steps in autophagy during Group A *Streptococcus* infection[J].Cellular microbiology,2012,14(8):1149-1165.
- [39] JOUBERT P E,MEIFFREN G,GRÉGOIRE I P,et al.Autophagy induction by the pathogen receptor CD46[J].Cell host & microbe,2009,6(4):354-366.