

DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2015.09.019

# 贝氏柯克斯体的分子致病机理研究进展

王 涛, 宋立华

**摘要:** 贝氏柯克斯体(*Coxiella burnetii*, 简写为 *Cb*)是一类重要的人兽共患细胞内寄生菌, 在家畜中广泛感染, 感染人可导致不明发热—俗称 Q 热, 或伴有肺炎、心内膜炎、肝炎、脊髓炎等。在我国 Q 热是一类被忽视的烈性传染病, 误诊漏诊众多。需要警惕的是该病有突发爆发的可能。以荷兰为例, 自 2007 至 2010 年, 超过 4 000 荷兰人感染了 Q 热。近年来国外的 Q 热研究进展很快, 特别是新出现的 *Cb* 无细胞培养和遗传学操作方法促进了 *Cb* 的致病机理研究, 为研制新型实用的 Q 热防治策略提供了机遇。本文简要综述了 *Cb* 与宿主细胞间的相互作用机制, 主要是脂多糖的免疫调节功能、囊泡发育机制及四型分泌系统的可能作用机理。

**关键词:** Q 热; 贝氏柯克斯体; 专性胞内寄生菌; 人兽共患病

中图分类号: R376

文献标识码: A

文章编号: 1002-2694(2015)09-0876-05

## Advances on molecular pathogenesis of *Coxiella burnetii*

WANG Tao, SONG Li-hua

(State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity,  
Beijing Institute of Microbiology and Epidemiology, Beijing 100071, China)

**Abstract:** *Coxiella burnetii* is an important zoonotic obligate intracellular pathogen, which can cause wide-spread infections in domestic animals and human Q fever (unknown febrile illness) possibly accompanied by pneumonia, endocarditis, hepatitis, and osteomyelitis, etc. The recent Q fever outbreak in Netherlands raises the alert of Q fever outbreak in other areas. Basic research on Q fever has progressed dramatically owing to the recently developed axenic culture and genetic manipulation of *C. burnetii*. This paper reviewed our current understanding of the interactions between *C. burnetii* and host cells in the aspects of immune modulation by LPS, formation and development of *Coxiella*-containing vacuole, and possibly mechanisms of type IV secretion effectors.

**Keywords:** Q fever; *Coxiella burnetii*; obligate intracellular parasites; zoonosis

Corresponding author: Song Li-hua, Email: songlihua@gmail.com

贝氏柯克斯体(*Coxiella burnetii*, 简写为 *Cb*)是 Q 热的病原体, 经典的生物战剂, 传统上被称为 Q 热立克次体<sup>[1]</sup>。*Cb* 属  $\gamma$  变形菌纲, 与军团菌属亲缘关系密切<sup>[2]</sup>。按第二版《伯杰系统细菌学手册》, *Cb* 归军团菌目、柯克斯体科、柯克斯体属。*Cb* 在自然界广泛分布, 感染家畜如牛、羊等自然宿主主要导致流产, 感染人主要导致自限性发热, 伴有肺炎、心内膜炎、肝炎、脊髓炎等。人类 Q 热可分为急性和慢性两种临床类型, 导致这两种临床型的 *Cb* 可能存在特定的基因差异。

*Cb* 在特殊的囊泡(*Coxiella*-containing vacu-

ole, 简称 CCV)内繁殖, 有一个与衣原体类似的两相发育周期, 其两种不同的结构形式, 我们简称为小贝氏体(small cell variant, 小细胞变异数——代谢活力弱的体外感染型)和大贝氏体(large cell variant, 大细胞变异数——代谢活跃的体内增殖型)<sup>[3]</sup>。*Cb* 嗜感染专业吞噬细胞, 通过受体-配体相互作用的吞噬途径入侵单核细胞、巨噬细胞和树突状细胞。*Cb* 导致的各种疾病是病原体和宿主因素的协同体现, 目前对 *Cb* 致病机理的研究多集中在病原体本身的生物学机理上。

美国国立卫生研究院的 Robert A. Heinzen 课题组在 2009 年首次报道了用无生命培养基培养 *Cb*<sup>[4]</sup>, 并发展了多种 *Cb* 遗传学操作方法<sup>[5]</sup>, 为研究 *Cb* 的致病机理提供了新手段。*Cb* 遗传学操作方法

通讯作者: 宋立华, Email: songlihua@gmail.com

作者单位: 病原微生物生物安全国家重点实验室, 军事医学科学院微生物流行病研究所, 北京 100071

及其致病机理研究也为设计新型 *Cb* 防治策略特别是研制减毒活疫苗提供了新方法新思路。本文简要综述了 *Cb* 毒力因子——脂多糖(LPS)的功能、囊泡发育机制及四型分泌系统的致病机理,以期对 *Cb* 的分子致病机制有进一步的了解和认识。

## 1 脂多糖是贝氏柯克斯体的重要毒力因子和保护性抗原

1956 年 Stoker 等首次报道了在鸡胚或传代细胞中连续传代时 *Cb* 会发生相变异——由光滑的毒力型 I 相变为粗糙的减毒型 II 相<sup>[6]</sup>。*Cb* I 相与 II 相间的差异一般认为是由于 LPS 的组成与结构发生了变化,两相 *Cb* 在基因组或蛋白质水平上的差异还需要进一步研究。与经典的细菌相变异不同,*Cb* 的相变异与基因的变异有关,是不可逆的,例如 LPS 合成相关基因的删除突变会产生 II 相<sup>[7]</sup>。LPS 占 I 相外膜组分的 75%,是重要的免疫原和保护性抗原。在遗传学方法出现之前,LPS 被认为是 *Cb* 的唯一毒力因子,在调节及逃逸宿主免疫方面发挥重要功能。

**1.1 贝氏柯克斯体脂多糖参与宿主免疫逃避** 脂多糖 O 抗原掩盖了 *Cb* 表面的病原识别模式(PRPs),使 *Cb* 达到隐身的目的。I 相 LPS 与 *Cb* 的免疫逃逸紧密相关,其掩盖 PRPs 的功能主要体现在 3 个方面:1)完整的 O 抗原可阻止补体因子 C3b 的表面沉积,使 I 相 *Cb* 在血液中具有抗补体杀伤的能力<sup>[8]</sup>;2)I 相 LPS 可掩盖 TLR2 的配体<sup>[9]</sup>,而 II 相 LPS 由于缺乏 O 抗原可导致 *Cb* 被 TLR2 识别,并激活巨噬细胞,释放 IL-12 和 TNF;3)树突状细胞的胞内外有多种模式识别受体,而 I 相 *Cb* 不会诱导原代人树突状细胞的成熟,仅诱导产生低水平的 IL-12 和 TNF<sup>[9]</sup>,说明 I 相 LPS 也掩盖了 *Cb* 的其它病原识别模式。

**1.2 贝氏柯克斯体的类脂 A 是 TLR4 的拮抗剂<sup>[10]</sup>,内毒素活性低** 早期研究发现 I 相 LPS 比大肠杆菌 LPS 的内毒素活性低了约 1 000 倍<sup>[11]</sup>。类脂 A 通常是内毒素活性的主要基团,*Cb* LPS 的低内毒素活性与 *Cb* 类脂 A 的 4 个酰基结构有关,该结构在其它细菌如鼠疫菌中可抑制 TLR4 通路,*Cb* 类脂 A 同样也是 TLR4 的拮抗剂。Honstettre 等认为 TLR4 在 *Cb* 感染时参与丝状肌动蛋白的重排,I 相的自噬和炎症反应,进一步研究表明 I 相和 II 相的 TLR4 信号传导差异与 O 抗原有关<sup>[12]</sup>。转录分析却发现两相感染的宿主细胞均没有 TLR4 相关基因的表达<sup>[13]</sup>。很明显,*Cb* LPS 与 TLR4 的

相互作用仍有待研究。

**1.3 在小鼠巨噬细胞中 LPS 阻止了 *Cb* 向吞噬溶酶体的转运<sup>[14]</sup>** 小鼠是常用的 *Cb* 动物模型,I 相可感染并致死小鼠,这与人类 Q 热的低致死率形成反差。有意思的是,I 相和 II 相在人巨噬细胞上均能建立有效感染且二者没有增殖差异,但在小鼠巨噬细胞上只有 I 相可以有效增殖而 II 相在建立感染后最终会被清除掉。Barry 等<sup>[14]</sup>发现 II 相可以激活小鼠巨噬细胞的 p38 $\alpha$ -MAPK 通路,使包含 II 相 *Cb* 的内吞泡运送至溶酶体被分解;而 I 相 *Cb* 可通过 LPS 参与的下述功能阻止其内吞泡与溶酶体的融合:抑制 TLR4、破坏 p38 $\alpha$ -MAPK 通路、阻止 Vps41(同型融合及蛋白分类复合物的组分)与内吞泡结合。Barry 等首次在小鼠模型中阐述了 LPS 的分子致病机制,但也提示用小鼠模型研究 Q 热疫苗等需要更加仔细地分析相关实验结果。

## 1.4 LPS 与诱导产生早期非保护性体液免疫相关

LPS 是主要的细胞壁组分,但宿主感染 *Cb* 后最先产生抗外膜蛋白抗体(I 相抗体)而不是抗 O 抗原抗体(I 相抗体),这与常见的 LPS 体液免疫应答不同。O 抗原是 *Cb* 的重要保护性抗原,很明显 *Cb* LPS 可以逃避 B 细胞的早期免疫监测以达到增殖和扩散的目的。在慢性 Q 热患者中,IL-10 高表达,诱导了体液免疫的增强及高球蛋白血症,I 相抗体浓度高于 II 相抗体,但 I 相抗体起不到清除性保护作用相反造成免疫损伤,这可能与 IL-10 抑制细胞免疫有关<sup>[15]</sup>。

**1.5 LPS 是公认的重要保护性抗原** 灭活 I 相菌具有完整的 LPS,可诱导良好保护性免疫应答,但由于在少数 Q 热康复患者中导致不良反应而不适合大范围免疫接种。国外上世纪研究的氯仿-甲醇提取组分保留了完整的 LPS,不含致敏组分,是理想的 Q 热候选亚单位疫苗<sup>[16-17]</sup>,但该疫苗的制备工艺严重受制于特殊的培养条件和高级别生物安全的要求。LPS 亚单位疫苗的一个优点是其广泛的交叉保护。*Cb* 及其宿主在自然界的广泛分布决定了其基因组的多态性,不同分离株的 LPS 也有差异,但上述 LPS 特殊的生物学功能决定了其保守的抗原性,这与不同 *Cb* 分离株间存在广泛的交叉保护相一致。

## 2 贝氏柯克斯体通过挟持吞噬体通路维持在吞噬细胞酸性囊泡内的增殖

以上主要概述了 LPS 在维持 *Cb* 体内感染时的关键作用。在人(不是鼠)吞噬细胞微环境中,*Cb* 通

过不依赖 LPS 的策略逃避细胞自主性免疫(cell-autonomous immunity), 策略之一是调控形成类吞噬溶酶体的酸性繁殖囊泡。*Cb* 与沙眼衣原体有类似之处: 在囊泡(或称包涵体)内增殖, 类似的发育周期, 在小鼠模型上 CD8<sup>+</sup> T 细胞无保护作用等。但这两类菌不管在分类还是在基因组上都差异较大, 衣原体通常感染上表皮细胞而 *Cb* 则主要感染吞噬细胞, *Cb* 的生存微环境最为恶劣。*Cb* 的囊泡(*Coxiella*-containing vacuole, 简称 CCV)具有独特的吞噬溶酶体性质, 是 *Cb* 逃脱吞噬细胞内清除机制顺利进行繁殖的关键。van Schaik 等较好地总结了目前对 *Cb* 囊泡内发育周期的认识<sup>[18]</sup>, 简要说可分为受体吸附、吞噬、吞噬体转变、囊泡生长、菌体分裂发育共 5 个阶段。

### 2.1 受体吸附与吞噬

吞噬细胞表面的  $\alpha_v\beta_3$  整合素(integrin)被认为是 *Cb* 的主要受体, 其配体可能是含有 RGD 结构域的外膜蛋白<sup>[19]</sup>。*Cb* 通过气溶胶进入肺, 与肺泡内巨噬细胞的  $\alpha_v\beta_3$  整合素相结合, 在依赖肌动蛋白的吞噬作用下进入胞内, 生成囊泡(*Coxiella*-containing vacuole, 简称 CCV)<sup>[20-21]</sup>。 $\alpha_v\beta_3$  整合素通常参与凋亡细胞的清除, 与抑制炎症反应相关, 因而 *Cb* 与  $\alpha_v\beta_3$  整合素的结合可能同时达到隐身的目的。另外, I 相和 II 相均可结合  $\alpha_v\beta_3$  整合素, 但只有 I 相在吞噬过程中引起明显的细胞骨架重组装, 这可能与两相间的分泌差异有关。这是因为感染诱发的细胞骨架变化通常与分泌系统有关, 分泌蛋白可以通过激活宿主 GTPase 促进吞噬作用。

除了单核细胞与巨噬细胞, 非吞噬细胞如支气管上皮细胞和血管内皮细胞也是 *Cb* 的靶细胞<sup>[22]</sup>。在这类非职业吞噬细胞和休眠的单核细胞中,  $\alpha_v\beta_3$  整合素表达量低, 不大可能是主要受体, 其介导拉链效应的受体仍有待鉴定。不论受体的种类, 在体外细胞模型上如鼠成纤维细胞(L929)、非洲绿猴肾细胞(Vero)、人单核细胞(THP-1)和鼠巨噬细胞(J774), II 相比 I 相的感染性强但在侵入胞内后二者有相同的生长特性。另外, 前面的 LPS 部分已介绍了类脂 A 可抑制 TLR4 通路, I 相 LPS 可通过 SRC 酪氨酸激酶介导肌动蛋白细胞骨架的运动。根据以上研究结果, 我们推测 TLR4 可能是 *Cb* 的另一主要受体, 类脂 A 与 TLR4 的结合在抑制炎症反应的同时可能起到受体-配体的拉链作用。

### 2.2 CCV 的早期发育是 *Cb* 感染吞噬细胞的关键

CCV 的发育无疑离不开 *Cb* 蛋白的调控, 但具体的蛋白种类及调控机理还不清楚, 该过程中的效应

蛋白无疑是关键毒力因子。这里的 CCV 早期发育阶段指的是从发生吞噬至吞噬体产生后的 2 h。在这个阶段, CCV 具有吞噬溶酶体的典型特征, 其大小不发生改变, 溶酶体酶类开始积累, 囊泡内 pH 逐渐降至 4.5, 80% 以上的小贝氏体已转化为大贝氏体, 也即 *Cb* 完成了关键的溶酶体逃逸。

对早期发育的研究主要集中在 3 个时间点上。吞噬发生后约 5 min, CCV 与 RAB5(小分子 GTPase)、EEA1(早期内含体的标记蛋白)和微管结合蛋白 LC3(自噬体标记)相结合<sup>[23-24]</sup>。其中, RAB5 刺激 CCV 与早期内含体的融合使囊泡内 pH 酸化至约 5.4, 而 CCV 与 LC3 的结合需要未知 *Cb* 蛋白的参与。CCV 与早期内含体融合后会通过分裂移除部分膜组分以维持恒定大小。吞噬发生后 40~60 min, CCV 与晚期内含体发生融合分裂, 解离 RAB5 和 EEA1, 获得 RAB7、LAMP1-2(溶酶体相关膜糖蛋白)和 ATPase, 后者向 CCV 内泵入质子使 pH 降至 5, 60 min 后约 80% 的小贝氏体已转变为大贝氏体<sup>[25]</sup>。吞噬发生后 2 h, CCV 与溶酶体部分融合, 开始积累溶酶体酶如组织蛋白酶 D(CTSD), ATPase 将 pH 值进一步降至 4.5。正常的吞噬体中溶酶体酶在 15 min 即开始积累, 而 CCV 中溶酶体酶的获得时间发生在小贝氏体进行结构变化之前, 这可能为小贝氏体向大贝氏体的转化提供了时间窗口。

自噬是宿主天然及获得性免疫的一部分, 自噬体标记 LC3 与新生 CCV 的结合说明 *Cb* 可能通过调控自噬在延迟溶酶体酶积累、小贝氏体结构转变等中发挥作用。自噬在 *Cb* 生长中的作用目前仍不清楚。但研究发现, 如果在 *Cb* 感染细胞前诱导自噬, *Cb* 的生长数量和 CCV 的体积均会增加<sup>[26-27]</sup>。自噬囊泡中的原料可能为 *Cb* 生长如小贝氏体到大贝氏体转化等提供了必要的营养。另外需要指出的是, CCV 的早期发育不需要 *Cb* 新合成蛋白质的参与, 因为在抑制 *Cb* 蛋白合成时 CCV 仍然可以正常获得 LAMP 蛋白并酸化, 这与正常的吞噬体成熟过程类似。

### 2.3 CCV 的体积增长及菌体分裂离不开 *Cb* 蛋白的合成与分泌

CCV 的结构维持需要 *Cb* 合成新蛋白质及激活宿主的蛋白激酶 C、蛋白激酶 A 和肌球蛋白轻链激酶, 其体积增长需要获得脂类和胆固醇等。内吞后第 8 h, *Cb* 的四型分泌系统开始转运效应蛋白, CCV 开始具备囊泡融合能力。CCV 间可以同源融合, 也可与自噬体、内含体和溶酶体的囊泡进行异源融合。在内吞后的 8~48 h, CCV 早期

分泌通路相互作用,不断募集 RHO GTPase 和 RAB1B,体积不断增大直至占据多数胞质空间,与吞噬溶酶体不变的体积形成反差。RHO GTPase 可能参与维持囊泡结构,而来自内质网的 RAB1B 可能参与 CCV 膜的生长。让人吃惊的是,CCV 虽最终占据了大多数细胞质空间,其体积远超出 *Cb* 所需要的空间,但宿主细胞的活力没有受到影响,这点与衣原体有相似之处。

**2.4 CCV 的成熟及菌体扩散** 大贝氏体在 6 d 后充满了 CCV,并开始向小贝氏体分化。晚期成熟的 CCV 仍然保留了前期的特征,包括 pH 小于 4.5~5,与未感染细胞中吞噬溶酶体的 pH 相同、相同的蛋白标记物、囊泡融合能力及保持了宿主细胞的正常活力(增殖时间和基因组稳定性均未受到影响)。目前对晚期 CCV 维持宿主细胞的活力与否有不同的看法。一是认为 *Cb* 通过抑制凋亡和诱导促生存因子维持被感染细胞的存活力,这可能有利于建立 *Cb* 慢性感染。*Cb* 的抗凋亡活性可能是 CCV 膜蛋白 BECN1(自噬启动蛋白)和 BCL2(抗凋亡蛋白)间的互作结果,后者可阻止线粒体细胞色素 c 的释放。另外,*Cb* 感染可持续激活促生存信号通路蛋白 ERK1(MAPK3),ERK2(MAPK1)和 AKT 家族,从而诱导宿主细胞产生促生存因子。二是认为 *Cb* 可诱导细胞色素 c 的释放及细胞凋亡,以利于 *Cb* 扩散至附近的易感细胞。

CCV 的生长发育是一个高度有序的宿主和 *Cb* 互作的过程,其详细机制仍有待研究。目前对 *Cb* 的理解主要来自在体外细胞模型上的研究,我们对 *Cb* 在人体内的扩散机制仍知之甚少。*Cb* 是目前已知的致病力最强的病原之一,其最低感染剂量仅为 1~10 个菌,说明 *Cb* 感染人肺泡巨噬细胞后可快速扩散至其它易感细胞或组织。但在常用的 Vero 细胞上,*Cb* 不能扩散感染相邻细胞,不形成其它胞内菌或病毒上常见的空斑。上面研究发现 *Cb* 既可抑制又可诱导凋亡说明 *Cb* 可能采取了与其它胞内寄生菌如结核分枝杆菌类似的策略,即在感染早期抑制凋亡以保障增殖,而在感染末期诱导细胞死亡以促进扩散。

### 3 贝氏柯克斯体的胞内生存离不开 Dot/Icm 分泌系统(IV 型分泌系统)

胞内寄生菌的 Dot/Icm (Defect in organelle trafficking/Intracellular multiplication) 分泌系统一直受到关注,主要原因是分泌型因子与宿主细胞直接进行对话互作,有可能是关键的毒力因子,深入了

解它们的互作机理有可能为研究新型疾病防控策略提供思路。*Cb* 编码 I 型(T1SS)、II 型(T2SS,常与菌毛生长有关)和 IV 型(T4BSS,常与接合作用相关)共 3 个分泌系统。目前对 *Cb* T1SS 和 T2SS 的了解还很少,对 T4BSS 的认识多基于嗜肺军团菌替代模型。*Cb* T4BSS 与嗜肺军团菌近缘,其分泌底物有 4 个显著特点:①数量多。目前已鉴定了约 120 个 *Cb* Dot/Icm 底物,约占 *Cb* 蛋白质组的 5.8%,而嗜肺军团菌约 8.5% 的蛋白质可通过 Dot/Icm 进行转运。②冗余性高。*Cb* 有类似嗜肺军团菌的冗余策略,针对某一信号通路有多个调控型分泌因子以保障胞内生存,如三个分泌因子(AnkG, CaeA 和 CaeB)均可抑制细胞凋亡。③多样性。不同致病型 *Cb* 间的分泌因子有惊人的多样性,在急性 Q 热和慢性 Q 热分离株中只发现了 19 个保守的分泌因子(其中 3 个来自质粒)<sup>[28]</sup>。④很多底物中含有真核生物蛋白的结构域,说明部分底物可能通过水平基因传递从真核生物获得,这为研究蛋白功能提供了线索。

为何病原体需要如此多的分泌因子?这些分泌因子是否真正可以分泌到细胞质中?在嗜肺军团菌中,至少 30% 的 Dot/Icm 效应子与建立胞内感染没有关联,而与适应不同的宿主有关。*Cb* 可以感染很多哺乳类和节肢类宿主,多样化的 T4BSS 底物可能有类似的功能,它们在 *Cb* 跨物种传播中的作用仍有待研究。*Cb* 与衣原体类似,都在囊泡内增殖并有独特的发育周期。最近国外多个课题组对衣原体 CPAF 蛋白的研究对目前鉴定囊泡菌分泌蛋白的方法提出了挑战<sup>[29]</sup>,如何重新鉴定囊泡菌的分泌蛋白已成为当务之急。研究者利用转座和位点特异性突变技术已经确认 *Cb* 的胞内存活离不开 Dot/Icm 系统<sup>[18]</sup>。今后的研究热点是鉴定特定分泌蛋白的作用靶标及功能。分泌因子是囊泡菌的研究热点,我们将另文综述分析它们的研究进展及存在问题。

### 4 结语

*Cb* 分布广泛、感染性强、可引起动物及人多种疾病,特别是慢性 Q 热致死率高,*Cb* 的防控无疑应引起重视。2007—2010 年,荷兰总计超过 4 000 人感染 Q 热,传染源被认为是当地的流产家畜<sup>[30]</sup>。这次疫情是否与 *Cb* 流行株的变异有关还不明确,但 *Cb* 的遗传多样性说明 *Cb* 虽然保守地在吞噬溶酶体样囊泡内增殖但 *Cb* 本身仍在不停地进化。我们需要警惕 Q 热突发暴发的可能,特别是 *Cb* 变异后可能会导致人与人之间传播。国内外目前只有少数几

个专业实验室从事 *Cb* 研究,国外对 *Cb* 的研究处于复兴阶段。我国有必要抓住 *Cb* 无细胞培养和遗传操作的机遇,加深 *Cb* 分子致病机理的研究,为研制方便实用的 Q 热检测试剂和疫苗等提供新思路。毫无疑问,在遗传学时代,以上概述的 LPS 免疫调节功能、囊泡发育机制和四型分泌系统仍将是今后的研究热点。

## 参 考 文 献:

- [1] Yu SR. Prevention and treatment of Q fever agent [M]. Chongqing: scientific and technological literature publishing house, 1990: 10. (in Chinese)
- 俞树荣. Q 热的病原与防治 [M]. 重庆: 科学技术文献出版社, 1990: 10.
- [2] Hu TH, Wen BH, Wan ZS, et al. Analysis of 16s-23s rDNA sequence of Chinese Q fever strains[J]. Microbiol Report, 2001, 28(6): 30-34. (in Chinese)
- 胡廷徽, 温博海, 万泽生, 等. Q 热立克次体中国株的 16S-23S rDNA 间区序列分析 [J]. 微生物学通报, 2001, 28(6): 30-34.
- [3] Sandoz KM, Sturdevant DE, Hansen B, et al. Developmental transitions of *Coxiella burnetii* grown in axenic media[J]. J Microbiol Methods, 2014, 96: 104-110. DOI: 10.1016/j.mimet.2013.11.010
- [4] Omsland A, Cockrell DC, Howe D, et al. Host cell-free growth of the Q fever bacterium *Coxiella burnetii*[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(11): 4430-4434. DOI: 10.1073/pnas.0812074106
- [5] Beare PA. Genetic manipulation of *Coxiella burnetii* [J]. Adv Exp Med Biol, 2012, 984: 249-271. DOI: 10.1073/pnas.0812074106
- [6] Stoker MG, Fiset P. Phase variation of the Nine Mile and other strains of *Rickettsia burnetii*[J]. Can J Microbiol, 1956, 2(3): 310-321.
- [7] Hoover TA, Culp DW, Vodkin MH, et al. Chromosomal DNA deletions explain phenotypic characteristics of two antigenic variants, phase II and RSA 514 (crazy), of the *Coxiella burnetii* nine mile strain[J]. Infect Immun, 2002, 70(12): 6726-6733.
- [8] Vishwanath S, Hackstadt T. Lipopolysaccharide phase variation determines the complement-mediated serum susceptibility of *Coxiella burnetii*[J]. Infect Immun, 1988, 56(1): 40-44.
- [9] Shannon JG , Howe D. Virulent *Coxiella burnetii* does not activate human dendritic cells; role of lipopolysaccharide as a shielding molecule[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102(24): 8722-8727. DOI: 10.1073/pnas.0501863102
- [10] Zamboni DS, Campos MA, et al. Stimulation of toll-like receptor 2 by *Coxiella burnetii* is required for macrophage production of pro-inflammatory cytokines and resistance to infection[J]. J Biol Chem, 2004, 279(52): 54405-54415. DOI: 10.1074/jbc.M410340200
- [11] Amano K, Williams JC, Missler SR, et al. Structure and biological relationships of *Coxiella burnetii* lipopolysaccharides[J]. J Biol Chem, 1987, 262(10): 4740-4747.
- [12] Honstettre A, Ghigo E, Moynault A, et al. Lipopolysaccharide from *Coxiella burnetii* is involved in bacterial phagocytosis, filamentous actin reorganization, and inflammatory responses through Toll-like receptor 4[J]. J Immunol, 2004, 172(6): 3695-3703. DOI: 10.4049/jimmunol.172.6.3695
- [13] Benoit M, Barbarat B, Bernard A, et al. *Coxiella burnetii*, the agent of Q fever, stimulates an atypical M2 activation program in human macrophages[J]. Eur J Immunol, 2008, 38 (4): 1065-1070. DOI: 10.1002/eji.200738067
- [14] Barry AO, Boucherit N, Mottola G, et al. Impaired stimulation of p38alpha-MAPK/Vps41-HOPS by LPS from pathogenic *Coxiella burnetii* prevents trafficking to microbicidal phagolysosomes[J]. Cell Host Microbe, 2012, 12(6): 751-763. DOI: 10.1002/cih.200738067
- [15] Meghari S, Bechah Y, Capo C, et al. Persistent *Coxiella burnetii* infection in mice overexpressing IL-10: an efficient model for chronic Q fever pathogenesis[J]. PLoS Pathog, 2008, 4 (2): e23. DOI: 10.1371/journal.ppat.0040023
- [16] Williams JC, Damrow TA, Waag DM, et al. Characterization of a phase I *Coxiella burnetii* chloroform-methanol residue vaccine that induces active immunity against Q fever in C57BL/10 ScN mice[J]. Infect Immun, 1986, 51(3): 851-858.
- [17] Fries LF, Waag DM, Williams JC. Safety and immunogenicity in human volunteers of a chloroform-methanol residue vaccine for Q fever[J]. Infect Immun, 1993, 61(4): 1251-1258.
- [18] van Schaik EJ, Chen C, Mertens K, et al. Molecular pathogenesis of the obligate intracellular bacterium *Coxiella burnetii*[J]. Nat Rev Microbiol, 2013, 11(8): 561-573. DOI: 10.1038/nrmicro3049
- [19] Seshadri R, Paulsen IT, Eisen JA, et al. Complete genome sequence of the Q-fever pathogen *Coxiella burnetii*[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(9): 5455-5460. DOI: 10.1073/pnas.0931379100
- [20] Baca OG, Klassen DA, Aragon AS, et al. Entry of *Coxiella burnetii* into host cells[J]. Acta Virol, 1993, 37(2-3): 143-155.
- [21] Tujulin E, Macellaro A, Lilliehook B, et al. Effect of endocytosis inhibitors on *Coxiella burnetii* interaction with host cells [J]. Acta Virol, 1998, 42(3): 125-131.
- [22] Russell-Lodrigue KE, Zhang GQ, Zhang GQ, et al. Clinical and pathologic changes in a guinea pig aerosol challenge model of acute Q fever[J]. Infect Immun, 2006, 74(11): 6085-6091. DOI: 10.1128/IAI.00763-06
- [23] Beron W, Gutierrez MG, Rabinovitch M, et al. *Coxiella burnetii* localizes in a Rab7-labeled compartment with autophagic characteristics[J]. Infect Immun, 2002, 70(10): 5816-5821. DOI: 10.1128/IAI.70.10.5816-5821
- [24] Romano PS, Gutierrez MG, Beron W, et al. The autophagic pathway is actively modulated by phase II *Coxiella burnetii* to efficiently replicate in the host cell[J]. Cell Microbiol, 2007, 9 (4): 891-909. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2006.00838

(下转第 885 页)

- [enteroaggregative *Escherichia coli*] heat-stable enterotoxin 1-harboring *E. coli* (EAST1EC) derived from sporadic diarrheal patients[J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2012, 64(3): 314-320.
- [7] Zajacova ZS, Konstantinova L, Alexa P. Detection of virulence factors of *Escherichia coli* focused on prevalence of EAST1 toxin in stool of diarrheic and non-diarrheic piglets and presence of adhesion involving virulence factors in astA positive strains[J]. Vet Microbiol, 2012, 154(3/4): 365-375.
- [8] Kaur P, Chakraborti A, Asea A. Enteropathogenic *Escherichia coli*: An emerging enteric food borne pathogen[J]. 2010, 254. DOI: 10.1155/2010/254159
- [9] Campos LC, Franzolin MR, Trabulsi LR, et al. Diarrheagenic *Escherichia coli* categories among the traditional enteropathogenic *E. coli* O serogroups-a review[J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2004, 99(6): 545-552.
- [10] Chen AP, Chen JH, Yang JS, et al. Application of molecular biology techniques in diagnosis of diarrheagenic *Escherichia coli* [J]. Chin J Zoonoses, 2011, 27(9): 808-811. (in Chinese)  
陈爱平, 陈建辉, 杨劲松, 等. 分子生物学技术在肠致泻性大肠杆菌诊断中的应用[J]. 中国人兽共患病学报, 2011, 27(9): 808-811.
- [11] Yang JS, Li YY, Liao H. Analysis on the surveillance of diarrheagenic *Escherichia coli*, Fujian Province, 2010-2012 [J]. Prev Med Tribune, 2014, 20(3): 161-162. (in Chinese)  
杨劲松, 李玉燕, 廖慧. 2010—2012年福建省致泻性大肠杆菌监测结果分析[J]. 预防医学论坛, 2014, 20(3): 161-162.
- [12] Guo BC, Yan LQ, Hao Q, et al. The epidemiological characteristics and current status of the drug resistance of diarrheagenic *Escherichia coli* in Ningxia[J]. Ningxia Med J, 2013, 35(4): 307-309. (in Chinese)  
郭邦成, 闫立群, 郝琼, 等. 宁夏致泻性大肠杆菌的流行特征及耐药现状研究[J]. 宁夏医学杂志, 2013, 35(4): 307-309.
- [13] Pang H, Zhao AL, Bai XN, et al. Detection and analysis of diarrheagenic *Escherichia coli* from stool specimens of patients with infectious diarrhea in Changzhi area[J]. Chin J Zoonoses, 2013, 29(5): 520-522. (in Chinese)  
庞慧, 赵爱兰, 白向宁. 长治地区腹泻患者致泻性大肠杆菌的检测与分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2013, 29(5): 520-522.

收稿日期:2014-10-11;修回日期:2015-01-23

## (上接第 880 页)

- [25] Howe D, Mallavia LP. *Coxiella burnetii* exhibits morphological change and delays phagolysosomal fusion after internalization by J774A.1 cells[J]. Infect Immun, 2000, 68(7): 3815-3821. DOI: 10.1128/IAI.68.7.3815-3821.2000
- [26] Gutierrez MG, Vazquez CL, Munafó DB, et al. Autophagy induction favours the generation and maturation of the *Coxiella*-replicative vacuoles[J]. Cell Microbiol, 2005, 7(7): 981-993. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2005.00527
- [27] McDonough JA, Newton HJ, Klum S, et al. Host pathways important for *Coxiella burnetii* infection revealed by genome-wide RNA interference screening [J]. MBio, 2013, 4(1): e00606-12. DOI: 10.1128/Mbio.00606-12

- [28] Carey KL, Newton HJ, Luhrmann A, et al. The *Coxiella burnetii* Dot/Icm system delivers a unique repertoire of type IV effectors into host cells and is required for intracellular replication [J]. PLoS Pathog, 2011, 7(5): 1002056. DOI: 10.1371/Journal.ppat.1002056
- [29] Chen A L, Johnson KA, Lee JK, et al. CPAF: A Chlamydial protease in search of an authentic substrate[J]. PLoS Pathog, 2012, 8(8): 1002842. DOI: 10.1371/Journal.ppat.1002842
- [30] van der Hoek W, Morroy G, Renders NH, et al. Epidemic Q fever in humans in the Netherlands[J]. Adv Exp Med Biol, 2012, 984: 329-364. DOI: 10.1007/978-94-007-4315-1\_17

收稿日期:2014-10-16;修回日期:2014-12-24