

弓形虫感染对 THP-1 巨噬细胞极化影响的研究

刘学雷¹, 王云杰¹, 杨宁爱¹, 安童童¹, 康宇婷¹, 贾伟^{2,3}, 苏雅静³, 赵志军^{2,3}

摘要: 目的 探讨弓形虫感染对体外诱导的人外周血单核细胞(Human acute monocytic leukemia cell line, THP-1)极化特点的影响。方法 用佛波酯(PMA)诱导 THP-148 h 使之由悬浮的单核细胞诱导为贴壁的巨噬细胞, 体外选择不同时间点感染弓形虫, 用 Diff 染色分析弓形虫在细胞内的增殖情况。Western blot 检测极化相关蛋白, Q-PCR 检测 mRNA 的表达情况。结果 成功诱导得到贴壁的巨噬细胞模型, 感染弓形虫后, M1 型巨噬细胞标志性蛋白 iNOS 及 M2 型巨噬细胞标志型蛋白 Arg-1 36 h 表达量与对照组差异明显($t=10.23, P<0.05$)。Q-PCR 的结果显示不同的处理组 IL-1、IL-12、iNOS 和 TNF- α 逐渐减少, 而 IL-10、Arg-1 呈逐渐增加, 到 36 h 达到顶峰($t=9.587, P<0.05$)。结论 弓形虫 RH 株感染 THP-1 巨噬细胞后可以在胞内生长增殖, THP-1 细胞感染后向 M2 型巨噬细胞方向极化。

关键词: THP-1 ; 弓形虫感染 ; 巨噬细胞极化

中图分类号: R382.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-2694(2018)10-0902-06

Effects of the polarization of the macrophage differentiated from THP-1 which infected with *Toxoplasma gondii*

LIU Xue-lei¹, WANG Yun-jie¹, YANG Ning-ai¹, AN Tong-tong¹,
KANG Yu-ting¹, JIA Wei^{2,3}, SU Ya-jing³, ZHAO Zhi-jun^{2,3}

(1. College of Clinical Medical, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China;

2. Laboratory Medicine Center, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China;

3. Ningxia Key Laboratory of Clinical and Pathogenic Microbiology, Yinchuan 750004, China)

Abstract: To explore the effect of the polarization of the macrophage differentiated from THP-1 which infected with *Toxoplasma gondii*, monocytes (THP-1) suspended in the culture medium were induced by phorbol ester (PMA) for 48 h to differentiate into adherent macrophages. *In vitro* experiment at different *T. gondii* infection time course and the protozoan proliferation rate was studied by using Diff staining. Western blot and Q-PCR were used to detect the expression level of polarization-related proteins and mRNA. The protein expression level of iNOS in M1 macrophage was significantly lower than that in the control group, and the expression of M2 protein Arg-1 was the highest expressed with the highest level at 36 h. Results of Q-PCR showed that the mRNA expression of IL-1, IL-12, iNOS and TNF- α in different treatment groups gradually decreased, but IL-10 and Arg-1 gradually increased and peaked at 36 h ($t=9.587, P<0.05$). *T. gondii* can proliferate in the macrophages differentiated from THP-1 cells. After *T. gondii* infection, it will polarize towards M2 macrophages.

Keywords: human acute monocytic leukemia cell line; *Toxoplasma gondii* infection; macrophage polarization

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81560333)

Corresponding author: Zhao Zhi-jun, Email: z15815z@163.com

弓形虫是一种专性的胞内寄生虫, 能导致严重弓形虫病, 在世界的不同地理区域有大量的人口感

国家自然科学基金(No.81560333)资助

通讯作者:赵志军, Email: z15815z@163.com

作者单位:1.宁夏医科大学临床医学院, 银川 750004;

2.宁夏医科大学总医院医学实验中心, 银川 750004;

3.宁夏临床病原微生物重点实验室, 银川 750004

染弓形虫, 在免疫抑制或者怀孕的妇女会产生严重的后果, 例如: 流产、产后的畸形以及新生儿的死亡^[1-2]。巨噬细胞是研究细胞吞噬、细胞免疫和分子免疫学的重要细胞模型, 当受到外界环境诸多病原体刺激时表型和功能会发生变化, 这种现象称为巨噬细胞极化^[3]。巨噬细胞极化主要分为 M1 型和

M2型, M1型主要分泌促炎因子, M2型主要分泌抑制炎症的因子^[4-5]。弓形虫作为一种严格的细胞内寄生虫, 可侵入所有的哺乳动物的有核细胞。巨噬细胞是人体内重要的免疫细胞, RH株弓形虫感染后会引起巨噬细胞的免疫应答。巨噬细胞作为一种免疫细胞应起到控制弓形虫感染与增殖的作用, 但是有文献已经报道弓形虫可感染大鼠的巨噬细胞并且在内部增殖^[6-7]。弓形虫是否利用巨噬细胞极化而实现感染与增殖很值得我们探究。

本研究拟使用人单核细胞系 THP-1 经佛波酯(PMA)诱导后分化为 M0型巨噬细胞, M0型巨噬细胞表达的蛋白偏向 M1型巨噬细胞, 这种巨噬细胞模型在国内外已经应用普遍, 因此运用 THP-1 的细胞模型来研究弓形虫对巨噬细胞的极化是可行的^[8-9]。通过 Diff 染色、Western blot、Q-PCR 等方法研究弓形虫感染 THP-1 细胞后极化相关蛋白和基因的表达情况。探究弓形虫 RH 株感染对 THP-1 巨噬细胞极化的影响。

1 材料与方法

1.1 材料 弓形虫 RH 株为本实验室保存的; THP-1 单核细胞系购自中国科学院上海细胞生物研究所; 佛波酯(PMA)购自索莱宝公司; 胎牛血清购自 BI 公司; 培养基 1640 购自 GIBCO 公司; Trizol 购自 ambion 公司; 反转录试剂盒购自 Thermo 公司; 荧光定量 PCR 试剂购自 Roche 公司; 兔抗人诱导型一氧化氮合酶(iNOS)抗体、兔抗人精氨酸酶-1(Arginase-1)抗体、HPR 标记山羊抗兔 IgG (IgG-HRP)购自 Proteintech 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 THP-1 细胞复苏以后, 37 ℃、5%CO₂ 的培养箱培养, 使用含有 10% 胎牛血清的 1640 培养基培养细胞, 1:3 进行传代。

1.2.2 THP-1 细胞的诱导 THP-1 细胞接种于 10 cm 培养皿内, 每皿细胞约 4×10⁶ 个。PMA 的浓度保持在 100 ng/mL。37℃、5%CO₂ 培养箱培养 48 h 诱导 THP-1 细胞为贴壁的巨噬细胞。

1.2.3 弓形虫传代 弓形虫从液氮取出后于 37 ℃水浴快速融化, 取 250 μL 注入小鼠腹腔内。当小鼠出现蜷缩、背部毛发炸起、腹部膨胀后无痛断颈处死小鼠。用酒精擦拭腹部皮肤, 剪开长约 1 cm 的腹部皮肤, 吸取 PBS 注入小鼠腹腔内轻柔腹部使 PBS 混

匀, 然后从中吸取 100 μL 注入健康小鼠腹腔内完成第一次弓形虫的传代。传代 3 次后弓形虫毒力稳定可用于后续实验。

1.2.4 THP-1 细胞感染 弓形虫传到 3 代以后从第四代开始可用于感染。无痛断颈处死发病小鼠, 75% 酒精擦拭腹部皮肤, 眼科剪剪开长约 1 cm 的腹部皮肤, 注射 PBS 5mL, 轻柔腹部, 混匀后抽出含有弓形虫的 PBS。1 000 r/min, 离心 5 min, 弃上清, 加 1640 冲悬混匀, 计数。THP-1 细胞与弓形虫 1:1 感染。未加弓形虫的作为对照组, 感染弓形虫的设 1 h、12 h、18 h、24 h、36 h 组, 用于后续实验。

1.2.5 细胞爬片与 Diff 染色 收集含有 THP-1 细胞悬液, 800 r/min, 离心 5 min; 弃上清, 加 2 mL 1640 冲悬混匀, 计数。细胞数为 1×10⁶/孔接种于 6 孔板内。每孔加 10 μg/mL 的 PMA 20 μL, 使浓度保持在 100 ng/mL。诱导 48 h 后感染弓形虫。然后根据设的不同时间取出爬片, 晾干, 固定, Diff 染液 A 液染 30 s 后 PBS 冲洗晾干, B 液染 15 s 后去离子水冲洗晾干。

1.2.6 LPS 刺激 THP-1 细胞 THP-1 细胞接种于 10 cm 细胞培养皿内, 每皿细胞约 4×10⁶ 个, THP-1 经 PMA 刺激 48 h 分化为巨噬细胞, LPS 浓度分别为 10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL、1 000 ng/mL 刺激巨噬细胞 24 h, 收集细胞, 提取蛋白。Western blot 法检测 iNOS 和 Arg-1 表达情况。

1.2.7 蛋白免疫印迹 Western blot 法检测 THP-1 细胞感染弓形虫后 iNOS 和 Arg-1 蛋白的表达情况 收集长在 10 cm 皿内的对照组、1 h、12 h、18 h、24 h、36 h 的细胞(种植、诱导, 感染的方法同前), 提取总蛋白。采用 BCA 法检测蛋白的浓度。进行 10%SDS-PAGE 电泳、转膜、以及封闭, 分别用兔抗人 iNOS 和 Arg-1(1:2 000)以及兔抗人 β-actin 抗体(1:2 000)在 4 ℃孵育过夜, 二抗孵育(山羊抗兔多克隆 IgG 抗体, 工作液 1:5 000)2 h, 发光液显色后, 凝胶成像系统观察结果。

1.2.8 极化相关因子 mRNA 表达水平的检测 通过 Trizol 法提取细胞的总 RNA, TaKaRa 反转录试剂盒合成 cDNA, 通过 SYBR Green 荧光定量 PCR 测定不同时间点细胞中 iNOS、Arginase-1 等 mRNA 水平表达情况。以 β-actin 作为内参基因, 相对定量使用的方法是 2^{-ΔΔCt}。所用引物见表 1。

表 1 本研究中所用到的引物序列

Tab.1 Primer sequences used in this study

引物	序列(5'-3')	长度/bp
Arginase-1 F	CTGTGGGAAAGCAAGCGAG	120
Arginase-1 R	CATGCCAGAGATGCTTCCA	
iNOS F	AGCCCTTACTTGACCTCCTAA	136
iNOS R	CAAGTTCCATCTTCACCCAC	
IL-1 F	CGAATCTCGACCACCACTA	192
IL-1 R	CACATAAGCCTCGTTATCCC	
IL-12 F	ACACCGTAAGTGTCTGGAAGG	165
IL-12 R	CATGCTAATGAGAAAGGGATT	
IL-10 F	GCCAAGCCTGTCTGAGATGATCC	148
IL-10 R	AATCGATGACAGCGCCGTAGC	
TGF-β F	AGCAACAATTCTGGCGATACCTC	103
TGF-β R	TCAACCACTGCCGCACAACCTC	
TNF-α F	CCAATGGCGTGGAGCTGAGAG	143
TNF-α R	GACGGCGATGCCGCTGATG	
MIP-1 F	TGACCAGTGATGACACGGGA	134
MIP-1 R	GCCCTGAGTCTCACCATTC	
β-actin F	TGACGTGGACATCCGCAAAG	205
β-actin R	CTGGAAAGGACAGCGAGG	

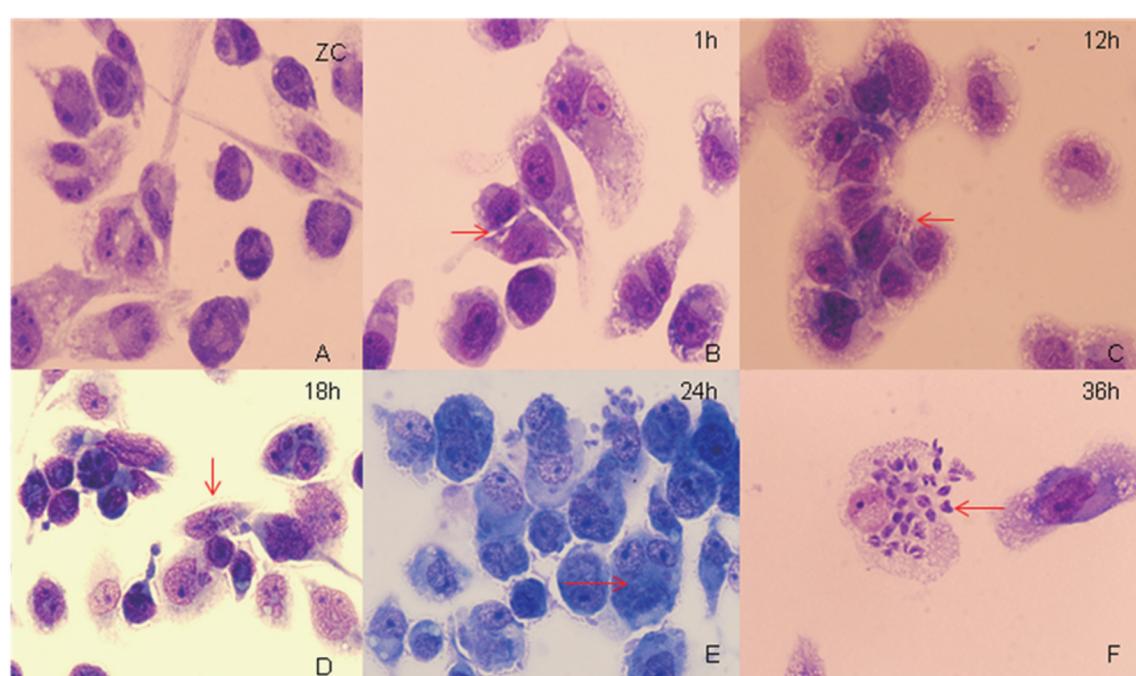
1.2.9 统计学分析 q-PCR 数据采用均数±标准差

差($\bar{x} \pm s$)表示,试验重复3次。用SPSS 22.0统计软件进行统计学分析,两组数据均数比较采用t检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 弓形虫体外感染 THP-1 巨噬细胞 采用Diff染色并在显微镜下观察弓形虫在细胞内的增殖情况。THP-1 细胞感染弓形虫以后,1 h 弓形虫已经进入到细胞内,到 18 h 细胞内的弓形虫明显增值且感染细胞的数量也增多。24 h 感染细胞明显增多且有少部分虫体已破细胞而出,36 h 细胞基本被破坏且虫体都破细胞而出,仅有少数有细胞形态的细胞残存(图 1)。

2.2 极化相关因子蛋白表达水平的检测 PMA 诱导后感染弓形虫以并收集 1 h、12 h、18 h、24 h、36 h 蛋白。Western blot 检测蛋白的 iNOS 和 Arg-1 蛋白的表达情况,发现与对照组比较,随着时间的增加 iNOS 逐渐减少,36 h 表达量最低。Arg-1 在对照组、1 h、12 h 无表达,18 h 有少量表达,36 h Arg-1 表达量明显高于其他组,同时检测了不同浓度的 LPS 对巨噬细胞 iNOS 和 Arg-1 表达量的影响。结果显示 Arg-1 无表达,LPS 浓度为 100 ng/mL 时 iNOS 的表达量最高(图 2、图 3)。



(A 为经 PMA 诱导后正常的巨噬细胞;B、C、D、E、F 分别为感染弓形虫 1 h、12 h、16 h、24 h、36 h 后的巨噬细胞。红色箭头指示弓形虫)

图 1 PMA 诱导后在不同时间点感染弓形虫的情况(Diff 染色 $\times 1000$)

Fig.1 *Toxoplasma gondii* infection at different time points following PMA induction (Diff staining $\times 1000$)

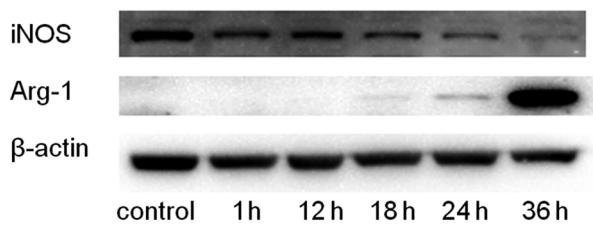


图2 PMA诱导组在不同感染时间点下蛋白的表达水平

Fig.2 Protein expression level in PMA-induced group at different time points of infection

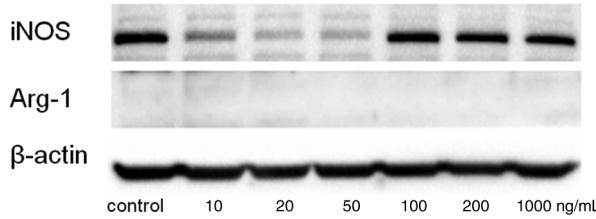


图3 不同浓度LPS对蛋白表达水平的影响

Fig.3 Effect of different concentrations of LPS on protein expression

2.3 极化相关因子 mRNA 表达水平的检测 检测不同时间点 M1 极化标志因子 IL-1、IL-12、TNF- α 和 iNOS mRNA 以及 M2 极化标志因子 IL-10、TGF- β 、MIP-1 和 Arg-1 mRNA 的相对表达量。PMA 诱导并感染后 M1 极化相关因子随着时间的与对照组相比逐渐降低, 36 h 表达量与对照组比较降低最明显($t=3.313, P<0.05$)。M2 极化相关因子 IL-10 和 Arg-1 的表达量逐渐增加, 到 36 h 表达量明显高于其他组($t=9.587, P<0.05$)。q-PCR 和 Western Blot 的趋势一致(图 4)。

3 讨 论

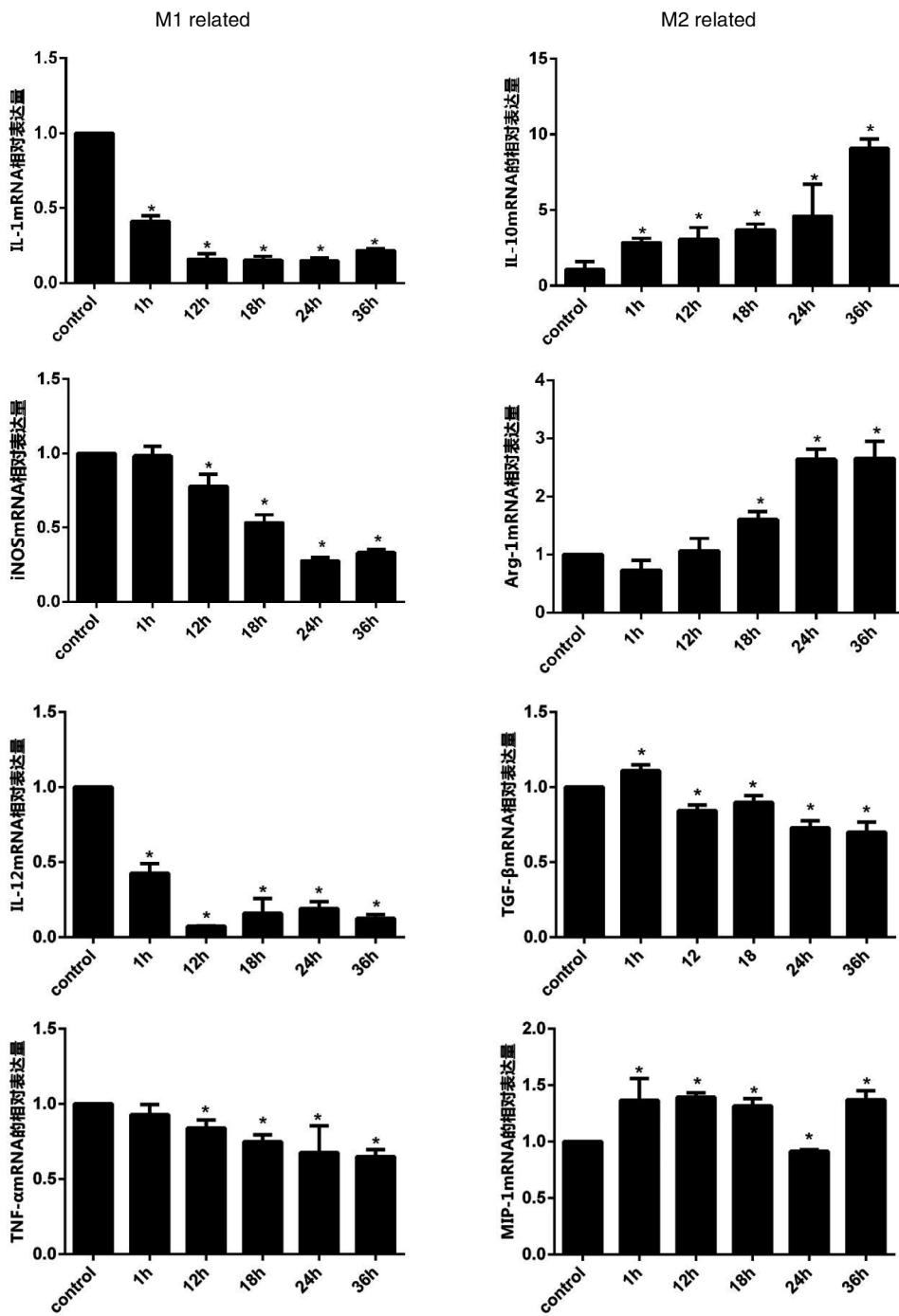
根据弓形虫对小鼠的致病力, 将其分为高致病力(如 I 型)和低致病力(II 型和 III 型)虫株^[10], 不同虫株感染宿主后引起的免疫反应也会不同。研究表明弓形虫巨噬细胞系, I(RH 株、SH 株等)和 III 型主要通过释放棒状体激酶 ROP16 激活 STAT6 信号通路, 巨噬细胞向 M2 方向极化, II(ME49、QH 株等)型主要通过释放致密颗粒抗原 GRA15 激活 NF- κB 通路使巨噬细胞向 M1 方向极化^[1, 11]。M1 型巨噬细胞会释放 iNOS(一氧化氮合成酶), M2 型巨噬细胞则释放 Arg-1(精氨酸酶 I)。iNOS 和 Arg-1 都可以利用精氨酸分别产生 NO 和尿素。NO 对弓形虫的生长具有杀伤抑制作用, 而弓形虫可以利用尿素产生多胺类物质为自身的增殖提供营养。iNOS 和 Arg-1 分别作为 M1 和 M2 型巨噬细

胞的标志性蛋白。Zhao 等人发现大鼠肺泡巨噬细胞在感染弓形虫 RH 株后, 高表达 Arg-1^[12]。弓形虫 RH 株在感染小鼠骨髓源性巨噬细胞后发现蛋白 Arg-1 低表达, iNOS 高表达^[13]。

本实验用弓形虫 RH 株感染经人类 THP-1 巨噬细胞模型后发现, Arg-1 的表达量在对照组和 1 h 和 12 h 时无表达, 36 h 表达量明显高于其他时间点, 而 iNOS 的表达量呈逐渐降低的趋势, 36 h 表达量明显低于其他组。弓形虫 RH 株通过分泌 ROP16 调控宿主与巨噬细胞极化的信号通路基因表达, 使巨噬细胞向 M2 方向极化, 减少 iNOS 的生成, 降低 NO 对自身的抑制和杀伤作用, 增加多胺类物质的生成为弓形虫增殖提供物质条件。THP-1 体外感染弓形虫 RH 株, Diff 染色的结果我们发现弓形虫在 1 h 和 12 h 细胞内的虫体数量较少, 24 h 细胞内的虫体数量明显增多, 36 h 细胞大多数被破坏, 弓形虫破膜而出。

通过对相关 mRNA 表达量检测的结果发现 M1 型巨噬细胞分泌的 IL-1、IL-12、TNF- α 等促炎因子的表达量明显降低, M2 型巨噬细胞分泌的 IL-10、MIP-1 等促炎因子表达量逐渐增加。弓形虫 RH 株感染后可以通过减少巨噬细胞 IL-1、IL-12、TNF- α 等促炎因子的产生, 降低炎症对弓形虫增殖的抑制作用。IL-12 可刺激并且激活 T 细胞, 促使 Th0 细胞向 Th1 细胞分化, Th1 细胞可以增强吞噬细胞介导的抗感染免疫, 特别是胞内病原菌的感染。弓形虫通过调控 IL-12 基因的低表达, 使 IL-12 因子生成减少以此降低宿主细胞对弓形虫的免疫杀伤作用。IL-10 又称细胞因子生成抑制因子(CSIF), 已有研究表明 IL-10 可以抑制 TNF- α 的生成从而在抑制炎症的发生和免疫平衡方面发挥重要作用^[14]。M2 型巨噬细胞分泌的 MIP-1 作为参与组织损伤修复的因子在弓形虫感染后表达量明显高于对照组, 表明弓形虫感染后会是巨噬细胞向 M2 型极化。有研究表明 TGF- β 可以起到抑制胞内杀伤弓形虫速殖子的作用^[15]。TGF- β 作为一种抑制炎症发生和加强组织修复的因子, 巨噬细胞感染弓形虫以后发现 1 h mRNA 的表达量高于对照组, 在感染早期弓形虫会促进 TGF- β 的高表达。Q-PCR 的结果证明了弓形虫 RH 株感染巨噬细胞后会抑制 M1 型相关因子 mRNA 的表达, 促进 M2 型相关因子 mRNA 高表达。Q-PCR 检测 iNOS 和 Arg-1 mRNA 的表达量和 WesternBlot 结果一致。弓形虫 RH 株会导致巨噬细胞向 M2 表型偏移。

在以往研究弓形虫调控巨噬细胞的极化中多采



(* : $P < 0.05$ 与对照组比较, $n = 3$)。

图 4 PMA 诱导后 M1 型和 M2 型相关因子 mRNA 的表达水平

Fig.4 Expression levels of M1 and M2-related factor mRNAs after PMA induction

用大鼠或者小鼠的巨噬细胞系模型。本研究中采用佛波酯诱导 THP-1 细胞, 并且成功获得了有悬浮细胞分化为贴壁巨噬细胞的模型; 采用 THP-1 诱导成巨噬细胞的模型对研究弓形虫 RH 株对人巨噬细胞的极化调节具有重要意义; 从弓形虫调控巨噬细胞极化的角度为弓形虫病的防治提供一个前期研究基础。

参考文献:

- [1] Zhang AM, Shen Q, Li M, et al. Comparative studies of macrophage-biased responses in mice to infection with *Toxoplasma gondii* ToxoDB # 9 strains of different virulence isolated from China[J]. Parasites & Vectors, 2013, 6(1): 308-320. DOI: 10.1186/1756-3305-6-308
- [2] Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii* from animals to humans[J]. Int J Parasitol, 2000, 30(12/13): 1217-1258. DOI: 10.1371/journal.pone.0200346

- [3] Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, et al. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease[J]. *J. Cell. Physiol.*, 2018, 233(9): 6425-6440. DOI: 10.1002/jcp.26429
- [4] Zhou D, Huang C, Lin Z, et al. Macrophage polarization and function with emphasis on the evolving roles of coordinated regulation of cellular signaling pathways[J]. *Cell Signal.*, 2014, 26(2): 192-197. DOI: 10.1016/j.cellsig.2013.11.004
- [5] Liu YC, Zou XB, Chai YF, et al. Macrophage polarization in inflammatory diseases[J]. *Int J Biol Sci.*, 2014, 10(5): 520-529. DOI: 10.7150/ijbs.8879
- [6] Kong L, Zhang Q, Chao J, et al. Polarization of macrophages induced by *Toxoplasma gondii* and its impact on abnormal pregnancy in rats[J]. *Acta Trop.*, 2015, 143: 1-7. DOI: 10.1016/j.actatropica.2014.12.001
- [7] Li Z, Zhao ZJ, Zhu XQ, et al. Differences in iNOS and arginase expression and activity in the macrophages of rats are responsible for the resistance against *Toxoplasma gondii* infection[J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e35834. DOI: 10.1371/journal.pone.0035834
- [8] Tandon A, Harioudh M, Ishrat N, et al. An MD2-derived peptide promotes LPS aggregation, facilitates its internalization in THP-1 cells, and inhibits LPS-induced pro-inflammatory responses[J]. *Cell Mol Life Sci.*, 2018, 75(13): 2431-2446. DOI: 10.1007/s00018-017-2735-2
- [9] 章述军, 雷青松, 李麟. 两种PMA诱导方案对THP-1巨噬细胞M1和M2亚型相关基因表达的影响[J]. 中国细胞生物学学报, 2017, 39(6): 765-771. DOI: 10.11844/cjcb.2017.06.0372
- [10] Rinder H, Thomschke A, Dardé M, et al. Specific DNA polymorphisms discriminate between virulence and non-virulence to mice in nine *Toxoplasma gondii* strains[J]. *Mol Biochem Parasitol.*, 1995, 69(1): 123-126. DOI: 10.1016/0166-6851(94)00211-5
- [11] Murray PJ. Macrophages as a battleground for toxoplasma pathogenesis[J]. *Cell Host Microbe*, 2011, 9(6): 445-447. DOI: 10.1016/j.chom.2011.05.010
- [12] Zhao ZJ, Zhang J, Wei J, et al. Lower expression of inducible nitric oxide synthase and higher expression of arginase in rat alveolar macrophages are linked to their susceptibility to *Toxoplasma gondii* infection[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e63650. DOI: 10.1371/journal.pone.0063650
- [13] 祝瑶, 胡守萍, 张交儿. 体外弓形虫感染小鼠巨噬细胞对其极化的影响[J]. 中国预防兽医学报, 2016, 38(6): 475-478. DOI: 10.3969/j.issn.1008-0475.2016.06.12
- [14] Maia M, Meira-Strejewitch C, Pereira-Chioccola V, et al. Evaluation of gene expression levels for cytokines in ocular toxoplasmosis[J]. *Parasite Immunol.*, 2017, 39(10): 1. DOI: 10.1111/pim.12462
- [15] Langermans J, Nibbering P, Van Vuren-Van Der Hulst M, et al. Transforming growth factor-beta suppresses interferon-gamma-induced toxoplasmastatic activity in murine macrophages by inhibition of tumour necrosis factor-alpha production[J]. *Parasite Immunol.*, 2001, 23(4): 169-175. DOI: 10.1046/j.1365-3024.2001.00371.x

收稿日期:2018-02-22 编辑:王晓欢

(上接第894页)

- [40] Zhuang ZG, Zhang JA, Luo HL, et al. The circular RNA of peripheral blood mononuclear cells: Hsa_circ_0005836 as a new diagnostic biomarker and therapeutic target of active pulmonary tuberculosis[J]. *Mol Immunol.*, 2017, 90: 264-272.
- [41] Awuh JA, Flo TH. Molecular basis of mycobacterial survival in macrophages[J]. *Cell Mol Life Sci.*, 2017, 74(9): 1625-1648.
- [42] Yang S, Li F, Jia S, et al. Early secreted antigen ESAT-6 of *Mycobacterium tuberculosis* promotes apoptosis of macrophages via targeting the microRNA155-SOCS1 interaction[J]. *Cell Physiol Biochem.*, 2015, 35(4): 1276-1288.
- [43] Zhou ZQ, Wang ZK, Zhang L, et al. Role of ESAT-6 in renal injury by regulating microRNA-155 expression via TLR4/MyD88 signaling pathway in mice with *Mycobacterium tuberculosis* infection[J]. *Biosci Rep.*, 2017, 37(4).
- [44] Zhang R, Xu J, Zhao J, et al. Mir-30d suppresses cell proliferation of colon cancer cells by inhibiting cell autophagy and promoting cell apoptosis [J]. *Tumour Biol.*, 2017, 39 (6): 1010428317703984.
- [45] Deretic V, Singh S, Master S, et al. *Mycobacterium tuberculosis* inhibition of phagolysosome biogenesis and autophagy as a host defence mechanism[J]. *Cell Microbiol.*, 2006, 8(5): 719-727.
- [46] Singh B, Saqib M, Gupta A, et al. Autophagy induction by *Mycobacterium indicus pranii* promotes *Mycobacterium tuberculosis* clearance from RAW 264.7 macrophages[J]. *PLoS One*, 2017, 12(12): e0189606.

收稿日期:2018-03-22 编辑:王晓欢