

DOI:10.13350/j.cjpb.230125

• 综述 •

防御素在抗结核分枝杆菌感染中的作用机制研究进展*

高雪涵¹, 朱杰华², 刘利萍¹, 蒙祖迪¹, 元凯¹, 卫麟娜¹, 秦欢³, 罗军敏^{1**}

(1. 遵义医科大学基础医学院免疫学教研室, 贵州遵义 563000; 2. 遵义医科大学附属医院医学检验科;
3. 遵义医科大学基础医学院微生物学教研室)

【摘要】 防御素是广泛分布于生物界的一类富含半胱氨酸的内源性阳离子抗菌肽, 在抵抗病原微生物入侵及调节机体免疫功能等方面发挥重要作用。研究发现, 防御素对细菌、真菌或病毒等均具有杀灭作用, 其在抗结核分枝杆菌感染中也展现出突出优势。防御素独特的抗菌机理可以破坏结核分枝杆菌的细胞壁、细胞膜等生物学结构, 从而抑制结核分枝杆菌。本文对防御素的分子结构、生物学作用、抗结核作用及机制予以综述。

【关键词】 防御素; 抗菌肽; 结核分枝杆菌; 机制; 免疫应答; 综述

【中图分类号】 R378.911

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2023)01-0121-05

[Journal of Pathogen Biology. 2023 Jan;18(1):121-124, inside back cover.]

Research progress on the mechanism of defensin against *Mycobacterium tuberculosis* infection

GAO Xue-han¹, ZHU Jie-hua², LIU Li-ping¹, MENG Zu-di¹, QI Kai¹, WEI Lin-na¹, QIN Huan³, LUO Jun-min¹ (1. Department of Immunology, School of Basic Medical Sciences, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou, China; 2. Department of Medical Laboratory, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University; 3. Department of Microbiology, Zunyi Medical College, Zunyi Medical University)

【Abstract】 Defensins are cysteine-rich endogenous cationic antibacterial peptides widely distributed in the biological world, which play an important role in resisting the invasion of pathogenic microorganisms and regulating the immune function of the body. It has been found that defensins have killing effects on bacteria, fungi and viruses, and they also have shown outstanding advantages over the fighting against *M. tuberculosis* infection. The unique antibacterial mechanisms of defensins can destroy the cell wall, cell membrane and other biological structures of *M. tuberculosis*, thereby inhibiting *M. tuberculosis*. In this review, we summarized the molecular structure, biological effects, anti-tuberculosis effects and mechanisms of defensins.

【Key words】 Defensin; antimicrobial peptides; *Mycobacterium tuberculosis*; mechanism; immune response; review

***结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)是引起结核病的病原菌, 据世界卫生组织报道, 2021年全球约有1060万人感染结核分枝杆菌, 其中约有160万人死于结核分枝杆菌感染, 其发病率和死亡率居高不下^[1]。MTB作为一种典型的胞内寄生菌, 在与宿主博弈的过程中通过免疫逃逸机制逃避宿主免疫监视和杀伤, 从而在体内大量繁殖, 侵犯全身多器官。传统抗结核药物的治疗周期长、毒副作用大以及耐药 MTB 的出现为结核病的防治带来严峻的挑战^[2]。因此, 寻找更加安全高效的抗结核药物已成为当务之急。防御素作为一种新型的抗菌肽, 因其抗菌谱广、抗菌活性高、免疫原性低、耐药性小等优势, 突破了传统抗结核药物的不足, 发挥高效的抗菌作用^[3]。近年来, 防御素清除 MTB 的分子机制成为研究的重点, 一方面, 防御素破坏 MTB 高疏水性和难渗透性的细胞壁结构, 对菌体造成直接杀伤; 另一方面, 防御素可以通过细胞表面趋化因子受体(Chemokine receptor, CCR)调节巨噬细胞、树突状细胞、中性粒细胞等多种免疫细胞, 增强机体的防御能力和免疫应答, 参与宿主对抗 MTB 感染^[4]。本文就防御素的分子结构、生物学作用、抗结核作用及机制作一综述。

1 防御素及其生物学作用

1.1 防御素的发现 防御素(defensins)最初是 Zeya 等^[5]在哺

乳动物老鼠和豚鼠的多形核嗜中性粒细胞中发现一类具有抗菌活性的多肽, 并将其称为“溶酶体阳离子蛋白”; 1985年 Ganz^[6]将其命名为防御素。故防御素是一种富含阳离子的抗菌肽, 由 29-42 个氨基酸残基组成, 相对分子质量为 $2 \sim 6 \times 10^3$, 其分子结构中含有 6 个保守的半胱氨酸残基, 根据其二硫键的位置不同分为 α -防御素、 β -防御素、 θ -防御素^[7], 其中 α -防御素的分子内二硫键连接方式为 Cys1-Cys6、Cys2-Cys4、Cys3-Cys5; β -防御素为 Cys1-Cys5、Cys2-Cys4、Cys3-Cys6; θ -防御素为 Cys1-Cys4、Cys2-Cys5、Cys3-Cys6。分子内二硫键是防御素发挥生物学活性的结构基础, 对维持防御素结构的稳定性和抗菌活性具有极为重要的作用^[8]。防御素的来源广泛, α -防御素主要由嗜中性粒细胞分泌, 现已知的 α -防御素有两类, 主要包括存在于人中性粒细胞嗜苯胺蓝颗粒中的髓源性防御素(Human neutrophil antimicrobial peptide, HNP1-4)^[9]及分布在

* **【基金项目】** 国家自然科学基金项目(No. 81860291)。

** **【通讯作者】** 罗军敏, E-mail: luojm16128@163.com

【作者简介】 高雪涵(1998-), 女, 山东泰安人, 在读研究生, 主要从事感染免疫(结核分枝杆菌感染)研究。
E-mail: gxh980312@163.com

小肠帕内特细胞中的肠源性防御素 (Human β defensin, hBD5 和 hBD6)^[10]; β -防御素由粘膜上皮细胞分泌, 主要包括 hBD1、hBD2、hBD3 三类, 大多分布在皮肤、肺、呼吸道和口腔粘膜等上皮组织中, 构成机体抵御病原微生物入侵的第一道保护屏障; θ -防御素仅分布在恒河猴中性粒细胞和单核细胞中, 目前对其分类相关鲜有报道^[11]。随着对防御素结构和生物学功能研究的深入, 新的防御素在不同部位和组织中不断被发现, 迄今为止, 在哺乳动物、植物、昆虫等各类生物体内分离出 400 余种防御素, 不同类型的防御素发挥着多样的生物学作用。

1.2 防御素的生物学作用 防御素广泛分布在生物种群中, 作为机体防御体系的重要组成部分, 在抗菌、抗病毒、抗肿瘤、调节机体免疫功能等方面发挥着重要作用^[12]。防御素对革兰阳性菌、革兰阴性菌等多种病原菌均具有杀伤作用, 防御素的电荷特性以及其破膜能力是发挥抗菌作用的前提^[13]。防御素通过静电吸附, 与革兰阳性菌肽聚糖中的磷壁酸、革兰阴性菌外膜脂多糖相互结合吸附到细菌细胞膜上, 打孔后形成跨膜离子通道, 造成菌体内外渗透压的改变, 最终导致了细菌的死亡。防御素可以杀灭艾滋病病毒、疱疹病毒、流感病毒、新冠病毒等, 其作用机制为: 防御素吸附到病毒的包膜糖蛋白上, 启动 G 蛋白偶联受体的级联放大反应, 激活磷脂酶 C, 阻止病毒的转录及其细胞内的信号转导^[14]。此外, 随着防御素在临床领域应用的逐渐扩大, 在肝癌、胃癌、口腔癌等肿瘤中发现了防御素基因, 防御素可以调控细胞周期进而抑制肿瘤细胞的生长和增殖, 对肿瘤细胞的毒性作用是非肿瘤细胞的 2-50 倍^[15]。防御素除对病原微生物、病毒、肿瘤细胞等具有直接杀伤作用外, 还可以通过细胞表面趋化因子受体趋化中性粒细胞、巨噬细胞、肥大细胞、树突状细胞、T 细胞等细胞至感染部位, 并刺激 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等促炎因子的分泌, 作为机体固有免疫和适应性免疫应答的桥梁分子, 发挥致炎和免疫调节作用充分联络和调动机体的免疫系统^[16-18]。

2 防御素抗结核分枝杆菌感染的作用及机制

2.1 防御素干扰 MTB 细胞壁 MTB 独特的疏水性细胞壁结构主要由脂类、阿拉伯半乳糖以及分枝菌酸组成, 故其细胞壁坚韧复杂, 使得 MTB 免遭免疫细胞的攻击且抗结核药物难以渗透, 对细菌起到天然保护作用^[19-20]。防御素可以与细胞壁表面蛋白相互作用干扰离子交换, 打破菌体内外平衡状态, 抑制 MTB 的生长。研究发现^[21-22], 防御素可与脂质受体直接特异性结合, 靶向相互作用后干扰细胞壁的合成, 对菌体造成不可逆的物理损伤实现其抗菌效果。HNP-1 和 hBD3 可以与脂质 II 靶向结合, 抑制 MTB 细胞壁的生物合成, 并在一定程度上影响细胞膜的通透性、增加细胞质外漏^[23]。防御素和脂质 II 之间的相互作用表明, 抑制细胞壁生物合成是宿主防御肽一种新的抗菌机制, 但目前对于防御素干扰 MTB 细胞壁生物合成的研究还不够系统、深入, 在药物疗效方面的应用还需进一步临床验证^[24]。

2.2 防御素破坏 MTB 细胞膜 MTB 的细胞膜是由内外两层磷脂分子组成的双层蛋白脂膜, 参与细胞壁各组分的生物合成以及菌体的产能代谢。防御素的高度嗜膜性破坏了 MTB 的细胞膜结构, 由此说明 MTB 的细胞壁、细胞膜是防御素作用的主要靶点^[25]。防御素作为一种带有正电荷的抗菌肽, 可以与带

负电荷的 MTB 静电结合^[26], 其分子中的疏水结构域(N 端)与 MTB 的磷脂双分子层结合后插入到 MTB 的胞膜中, 通过经典型通道-“穿孔模型”“地毯模型”“聚集通道模型”“桶板模型”等破膜方式在细胞膜上打孔^[27-28], 形成多个稳定的离子通道, 引起 MTB 细胞膜通透性增加, 防御素由胞外流入胞内并与 MTB 基因组 DNA 结合, 干扰核酸的复制、转录等生物合成等过程, 导致菌体内外物质交换紊乱, 从而达到抑菌效果^[29]。防御素静电吸附杀菌作用仅针对于带负电荷的病原微生物, 细菌的细胞膜含有大量带有负电荷的酸性磷脂类成分, 通过静电吸附作用吸引带正电荷的防御素附着在细菌细胞膜上, 在细胞膜上瞬态裂孔进而破坏细胞膜脂质层-干扰或改变细菌细胞膜的渗透性, 发挥抑菌作用。因此, 防御素的选择性杀伤机制在抗结核分枝杆菌中具有靶向性。

3 防御素对免疫系统的调节作用

3.1 防御素对巨噬细胞的免疫调节作用 结核分枝杆菌通常经飞沫传播, 经呼吸系统进入肺部, 肺泡巨噬细胞作为第一道防线首先接触到 MTB, 发挥吞噬 MTB 并通过分泌趋化因子调配各类免疫细胞在肺部形成结核肉芽肿控制感染的作用^[30]。肺泡巨噬细胞高表达 NOD 样受体家族 (NOD like receptors, NLRs) 家族的核苷酸结合寡聚化结构域蛋白 2 (Nucleotide-binding Oligomerization domain 2, NOD2), NOD2 与 MTB 胞壁酰二肽 (Muramyl Dipeptide, MDP) 结合后可以诱导巨噬细胞、树突状细胞自噬结构形成^[31], 上调自噬酶 IRGM、自噬相关基因 LC3、自噬相关 16 样蛋白 1 (ATG16L1)、Beclin-1、抗菌肽 LL-37、防御素、TNF- α 、IL-1 β 的表达水平, 对 MTB 的生长发挥抑制作用^[32-33]。研究发现^[34], hBD2 可以促进 CCR2 介导的 NOD2 信号转导, 趋化巨噬细胞至感染部位, 从而启动巨噬细胞固有免疫应答, 同时刺激 IFN- γ 的分泌, 诱导巨噬细胞高表达 iNOS 和 NO, 增强巨噬细胞的吞噬能力。巨噬细胞激活后可高表达 MHCII 类分子和共刺激分子 CD80、CD86 进而增强其抗原提呈能力, 以此响应细菌的入侵^[35]。研究证实, CCR2 及其配体 CCL2 在结核肉芽肿的形成中是必不可少的, 但目前关于 hBD2 在结核肉芽肿的形成过程中发挥何种作用目前尚未见报道^[36]。随着对各型防御素进一步的深入研究, 发现其可以和巨噬细胞相互作用后抑制 MTB 的生长。据最新研究报告, Liang 等^[37]将牛 hBD5 负载 PLGA 纳米颗粒诱导巨噬细胞后发现可以上调巨噬细胞分泌的 TNF- α 、IL-1 β 促炎因子的表达水平, 促进结核分枝杆菌的清除; Sharma 等^[38]也做过类似研究, 将 HNP-1 短肽基序与纳米技术相结合制成抗菌肽纳米制剂递送至靶点, 在体外建立人单核巨噬细胞模型, 结果显示, 纳米制剂给药组杀菌率高达 90%, 相较于利福平、异烟肼组而言其杀菌效果更好, 这表明 HNP-1 在人单核巨噬细胞模型中有着显著抗结核作用。防御素抗结核效应与纳米技术二者相结合, 打破了常规治疗的局限性, 成为当前的研究热点问题。Kisich 等^[39]将 hBD2 的基因转入巨噬细胞中, 用 MTB 菌株感染后发现转染了 hBD2 基因的巨噬细胞能明显抑制 MTB 的繁殖。 β -防御素可以激活巨噬细胞并协同其表面的 Toll 样受体启动 MAPK 和 NF- κ B 级联反应激活所介导的信号通路, 这些信号通路的开放使巨噬细胞进入抗感染状态, 分泌大量炎症因子和趋化因子影响免疫细胞的功能来有效控制 MTB 的扩

散^[40]。体内研究发现^[41],在生理情况下防御素在体内合成率较低,上述细胞因子及炎症刺激信号可以诱导防御素的表达,这种诱导表达与防御素基因启动子区 NF- κ B 结合位点密切相关,防御素基因上游 218bp 序列上含有多个 NF- κ B 的结合点,在 IL-1 相关蛋白激酶(interleukin receptor associated kinase, IRAK)和肿瘤坏死因子受体 6(TNF receptor associated factor 6, TRAF6)^[42]等信号分子的协同作用下介导 Beclin-1 泛素化诱导巨噬细胞中的 TLR4 触发自体吞噬,而 NF- κ B 作为 TNF 的作用元件,可以整合损伤及病原菌入侵时机体所获得的“免疫信号”,控制炎症因子的基因表达,与 TNF 受体相互作用调节宿主细胞功能^[43]。

3.2 防御素对树突状细胞的免疫调节 当巨噬细胞无法依靠自身力量消灭入侵的 MTB 时,它会通过分泌趋化因子募集树突状细胞、中性粒细胞、T 细胞等“免疫军团”细胞聚集至感染部位^[44]。树突状细胞(Dendritic cell, DC)作为功能最强、唯一能够激活初始 T 细胞的专职抗原提呈细胞作用尤为重要,MTB 感染机体时,大量未成熟 DC(imature Dendritic cells, iDC)捕获 MTB 抗原后,迁移至淋巴结,这一过程伴随着 DC 的成熟,而防御素在 DC 成熟的过程中发挥着举足轻重的作用^[45]。研究发现^[46], β 防御素和 CCR6 的配体 MIP-3 α (macrophage inflammatory protein 3 α)具有相似的三级结构,防御素可以与 MIP-3 α 竞争结合 CCR6,趋化 iDC 和 CD4⁺ T 细胞至感染部位,CD4⁺ T 细胞进一步分为 Th1 和 Th2 两种亚群,Th1 主要介导细胞免疫应答^[47],分泌 IL-2、IFN- γ 等细胞因子,协同巨噬细胞杀死胞内的 MTB,促进炎症的发展和结核肉芽肿的形成;Th2 主要介导体液免疫应答,分泌 IL-4 和 IL-10 等细胞因子,Th1/Th2 之间的协调平衡,在抗结核免疫应答中占据主要地位。与此同时,研究发现^[48],TLR4 在 iDC 表面广泛表达,防御素作为 TLR4 的内源性配体与之结合后,介导共刺激分子 B7、CD40、CD80 的表达上调,活化 DC,触发强有力的 Th1 细胞免疫应答,刺激 IL-1 β 、IL-2、TNF- α 、IL-6 等炎症因子的表达,发挥抗结核效应。Judge 等^[49]研究发现,hBD3 可以通过 TLR2/1 激活髓样树突状细胞(myeloid dendritic cells, mDC)及 NK 细胞,刺激 IFN- γ 的分泌和 mDC 依赖的细胞溶解作用,mDC 激活 CD8⁺ T 淋巴细胞,NK 细胞和 CD8⁺ T 淋巴细胞有效激活后,与 FasL-Fas 途径相互作用,释放穿孔素、颗粒酶等物质杀灭细胞内的 MTB。

3.3 防御素对中性粒细胞的免疫调节 MTB 感染的 1-3 小时内,中性粒细胞从外周血迅速迁移至感染部位,中性粒细胞的嗜天青颗粒中含有防御素、乳铁蛋白、髓过氧化物酶、溶菌酶等抗菌物质。于中性粒细胞而言,防御素下调促凋亡蛋白,上调抗凋亡蛋白从而抑制中性粒细胞的凋亡,同时增补感染部位的中性粒细胞,中性粒细胞又可以源源不断的产生新的抗菌物质——防御素,如此周而复始的“正反馈”在机体抗 MTB 感染中发挥重要作用^[50]。值得注意的是,在这一过程中巨噬细胞可以协同中性粒细胞共同发挥作用,吞噬了中性粒细胞防御素颗粒的巨噬细胞其抗 MTB 的能力更强,巨噬细胞吞噬中性粒细胞抗结核分枝杆菌的颗粒分子 HNP-1 后被运送到含有 MTB 的囊泡中,引起 TNF- α 和 IL-1 β mRNA 表达量增加,增强巨噬细胞的吞噬能力并且募集更多的免疫细胞至结核分枝杆菌感染部位,促进结核肉芽肿的形成,限制 MTB 的扩散并杀

灭病灶中的 MTB。防御素的作用机制见图 1。

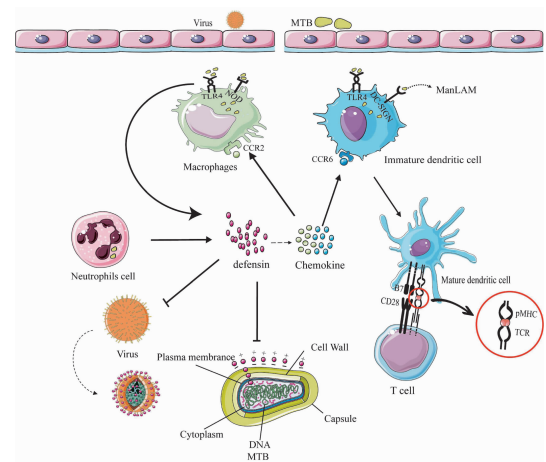


图 1 防御素作用机制示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the mechanism of action of the defensin

4 总结与展望

结核病是一种致死率极高的慢性传染病,严重威胁人类健康。从古至今,结核病治疗手段发生了几次重大改变,从最初的盲目治疗到 1882 年发现结核病“元凶”——结核分枝杆菌,随着链霉素、异烟肼、利福平等抗结核药物的相继研发,结核病的整体死亡率有所下降,尽管目前有相对成熟的治疗方案,但多重耐药菌的出现,使结核病的治疗“难上加难”。防御素的发现被称为抗生素的又一个“里程碑”,作为一种新型高效的抗菌多肽,不仅能抵御外界病原微生物的入侵,而且还能调节机体的炎症反应和免疫应答。作为机体抵御微生物感染的第一道防线,防御素“吸附→插入→穿孔→破膜”的独特抗菌机理破坏结核分枝杆菌的细胞壁、细胞膜等生物学结构以及其对免疫细胞格局的调节是控制结核分枝杆菌感染的核心环节,但其在肺结核发病机制中的作用尚未完全阐明。因此,对防御素作用机制的进一步研究,探讨防御素在抗结核免疫中的作用及机制,将有助于更好地寻找治疗和预防结核病的新策略。

【参考文献】

- [1] Global tuberculosis report 2022. Geneva; World Health Organization;2022. Licence;CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- [2] Roelens M, Battista MG, Rozanova L, et al. Evidence-based definition for extensively drug-resistant tuberculosis[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2021, 204(6): 713-722.
- [3] Ramos-Espinosa O, Mata-Espinosa D, Francisco-Cruz A, et al. Immunotherapeutic effect of adenovirus encoding antimicrobial peptides in experimental pulmonary tuberculosis[J]. J Leukoc Biol, 2021, 110(5): 951-963.
- [4] Hao X, Chi H, Tang X, et al. The functions of beta-defensin in flounder (Paralichthys olivaceus): Antibiosis, chemotaxis and modulation of phagocytosis[J]. Biology (Basel), 2021, 10(12): 1247.
- [5] Zeya HI, Spitznagel JK. Cationic proteins of polymorphonuclear leukocyte lysosomes. I. Resolution of antibacterial and enzymatic activities[J]. J Bacteriol, 1966, 91(2): 750-754.
- [6] Ganz T, Lehrer RI. Defensins[J]. Curr Opin Immunol, 1994, 6(4): 584-589.

- [7] Bulet P, Stocklin R, Menin L. Anti-microbial peptides; from invertebrates to vertebrates[J]. Immunol Rev, 2004, 198: 169-184.
- [8] Nehls C, Bohling A, Podschun R, et al. Influence of disulfide bonds in human beta defensin-3 on its strain specific activity against Gram-negative bacteria [J]. Biochim Biophys Acta Biomembr, 2020, 1862(8): 183273.
- [9] Glenthøj A, Nickles K, Cowland J, et al. Processing of neutrophil alpha-defensins does not rely on serine proteases *in vivo* [J]. PLoS One, 2015, 10(5): e125483.
- [10] Foerster EG, Girardin SE. Carving a Niche for Antibacterial alpha-Defensins when Craving [J]. Cell Host Microbe, 2019, 25(5): 632-634.
- [11] Bharucha JP, Sun L, Lu W, et al. Human Beta-Defensin 2 and 3 Inhibit HIV-1 replication in macrophages [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021(11): 535352.
- [12] Jiang L, Fang M, Tao R, et al. Recombinant human interleukin 17A enhances the anti-Candida effect of human oral mucosal epithelial cells by inhibiting *Candida albicans* growth and inducing antimicrobial peptides secretion [J]. J Oral Pathol Med, 2020, 49(4): 320-327.
- [13] Chen R B, Zhang K, Zhang H, et al. Analysis of the antimicrobial mechanism of porcine beta defensin 2 against *E. coli* by electron microscopy and differentially expressed genes [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 14711.
- [14] 张科, 林勇平, 刘兴德, 等. 小鼠 β 防御素 4 体外对人呼吸道合胞病毒抑制作用研究 [J]. 中国病原生物学杂志, 2018, 13(7): 694-698, 703.
- [15] Qiao Q, Bai R, Song W, et al. Human alpha-defensin 5 suppressed colon cancer growth by targeting PI3K pathway [J]. Exp Cell Res, 2021, 407(2): 112809.
- [16] Dhingra H, Kaur K, Singh B. Engineering and characterization of human beta-defensin-3 and its analogues and microcin J25 peptides against *Mannheimia haemolytica* and bovine neutrophils [J]. Vet Res, 2021, 52(1): 83.
- [17] Jiang H, Hu Y, Wei X, et al. Chemotactic effect of beta-defensin 1 on macrophages in *Megalobrama amblycephala* [J]. Fish Shellfish Immunol, 2018(74): 35-42.
- [18] Yuan X, Wang J, Cheng M, et al. Mouse beta-defensin-14 for inducing the maturation of dendritic cells [J]. Int Immunopharmacol, 2018(55): 133-141.
- [19] Layre E. Trafficking of *Mycobacterium tuberculosis* envelope components and release within extracellular vesicles: Host-pathogen interactions beyond the wall [J]. Front Immunol, 2020(11): 1230.
- [20] Holzheimer M, Buter J, Minnaard AJ. Chemical synthesis of cell wall constituents of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Chem Rev, 2021, 121(15): 9554-9643.
- [21] Sciolla F, Truzzolillo D, Chauveau E, et al. Influence of drug/lipid interaction on the entrapment efficiency of isoniazid in liposomes for antitubercular therapy: a multi-faced investigation [J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2021(208): 112054.
- [22] Rani L, Arora A, Majhi S, et al. Experimental and simulation studies reveal mechanism of action of human defensin derivatives [J]. Biochim Biophys Acta Biomembr, 2022, 1864(2): 183824.
- [23] Grein F, Schneider T, Sahl HG. Docking on lipid II-A widespread mechanism for potent bactericidal activities of antibiotic peptides [J]. J Mol Biol, 2019, 431(18): 3520-3530.
- [24] Bah A, Sanicas M, Nigou J, et al. The lipid virulence factors of *Mycobacterium tuberculosis* exert multilayered control over autophagy-related pathways in infected human macrophages [J]. Cells, 2020, 9(3): 666.
- [25] Schneider T, Kruse T, Wimmer R, et al. Plectasin, a fungal defensin, targets the bacterial cell wall precursor Lipid II [J]. Science, 2010, 328(5982): 1168-1172.
- [26] Khuro A, Aarti C, Agastian P. Anti-tubercular peptides: A quest of future therapeutic weapon to combat tuberculosis [J]. Asian Pac J Trop Med, 2016, 9(11): 1023-1034.
- [27] Kagan BL, Selsted ME, Ganz T, et al. Antimicrobial defensin peptides form voltage-dependent ion-permeable channels in planar lipid bilayer membranes [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1990, 87(1): 210-214.
- [28] Rajabi M, Ericksen B, Wu X, et al. Functional determinants of human enteric alpha-defensin HD5: crucial role for hydrophobicity at dimer interface [J]. J Biol Chem, 2012, 287(26): 21615-21627.
- [29] Jarva M, Phan TK, Lay FT, et al. Human beta-defensin 2 kills *Candida albicans* through phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate-mediated membrane permeabilization [J]. Sci Adv, 2018, 4(7): t979.
- [30] Hall TJ, Mullen MP, McHugo GP, et al. Integrative genomics of the mammalian alveolar macrophage response to intracellular mycobacteria [J]. BMC Genomics, 2021, 22(1): 343.
- [31] Boyle JP, Parkhouse R, Monie TP. Insights into the molecular basis of the NOD2 signalling pathway [J]. Open Biol, 2014, 4(12): 140178.
- [32] Hall TJ, Mullen MP, McHugo GP, et al. Integrative genomics of the mammalian alveolar macrophage response to intracellular mycobacteria [J]. BMC Genomics, 2021, 22(1): 343.
- [33] Voss E, Wehkamp J, Wehkamp K, et al. NOD2/CARD15 mediates induction of the antimicrobial peptide human beta-defensin-2 [J]. J Biol Chem, 2006, 281(4): 2005-2011.
- [34] Kim J, Yang YL, Jang YS. Human beta-defensin 2 is involved in CCR2-mediated Nod2 signal transduction, leading to activation of the innate immune response in macrophages [J]. Immunobiology, 2019, 224(4): 502-510.
- [35] 陶思雨, 姜石松, 申元英, 等. 机体抗结核分枝杆菌的免疫机制研究进展 [J]. 中国病原生物学杂志, 2020, 15(2): 233-237.
- [36] Sharebani H, Hajimiri S, Abbasnia S, et al. Game theory applications in host-microbe interactions toward disease manifestation: *Mycobacterium tuberculosis* infection as an example [J]. Iran J Basic Med Sci, 2021, 24(10): 1324-1335.
- [37] Liang Z, Liu Y, Sun X, et al. Immunoregulatory and antimicrobial activity of bovine neutrophil beta-defensin-5-Loaded PLGA Nanoparticles against *Mycobacterium bovis* [J]. Pharmaceutics, 2020, 12(12): 1172.
- [38] Sharma R, Raghav R, Priyanka K, et al. Exploiting chitosan and gold nanoparticles for antimycobacterial activity of in silico identified antimicrobial motif of human neutrophil peptide-1 [J].

Sci Rep, 2019, 9(1):7866.

- [39] Kisich KO, Heifets L, Higgins M, et al. Antimycobacterial agent based on mRNA encoding human beta-defensin 2 enables primary macrophages to restrict growth of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Infect Immun, 2001, 69(4): 2692-2699.
- [40] Barabas N, Rohrl J, Holler E, et al. Beta-defensins activate macrophages and synergize in pro-inflammatory cytokine expression induced by TLR ligands[J]. Immunobiology, 2013, 218(7): 1005-1011.
- [41] Tsutsumi-Ishii Y, Nagaoka I. Modulation of human beta-defensin-2 transcription in pulmonary epithelial cells by lipopolysaccharide-stimulated mononuclear phagocytes via proinflammatory cytokine production[J]. J Immunol, 2003, 170(8): 4226-4236.
- [42] Shi CS, Kehrl J H. TRAF6 and A20 regulate lysine 63-linked ubiquitination of Beclin-1 to control TLR4-induced autophagy[J]. Sci Signal, 2010, 3(123): a42.
- [43] Shi CS, Kehrl JH. MyD88 and Trif target Beclin 1 to trigger autophagy in macrophages[J]. J Biol Chem, 2008, 283(48): 33175-33182.
- [44] Monin L, Khader SA. Chemokines in tuberculosis; the good, the bad and the ugly[J]. Semin Immunol, 2014, 26(6): 552-558.
- Cells in TB and HIV Infection[J]. J Clin Med, 2020, 9(8): 2661.
- [46] Hu C, Sun L, Hu Y, et al. Functional characterization of the NF-kappaB binding site in the human NOD2 promoter[J]. Cell Mol Immunol, 2010, 7(4): 288-295.
- [47] Rivas-Santiago B, Cervantes-Villagrana A, Sada E, et al. Expression of beta defensin 2 in experimental pulmonary tuberculosis; tentative approach for vaccine development[J]. Arch Med Res, 2012, 43(4): 324-328.
- [48] Cruz-Aguilar M, Castillo-Rodal AI, Schcolnik-Cabrera A, et al. TLR4 and DC-SIGN receptors recognized *Mycobacterium scrofulaceum* promoting semi-activated phenotype on bone marrow dendritic cells[J]. Tuberculosis (Edinb), 2016(99): 31-40.
- [49] Judge CJ, Reyes-Aviles E, Conry SJ, et al. HBD-3 induces NK cell activation, IFN-gamma secretion and mDC dependent cytolytic function[J]. Cell Immunol, 2015, 297(2): 61-68.
- [50] Hilda JN, Das S, Tripathy SP, et al. Role of neutrophils in tuberculosis; A bird's eye view[J]. Innate Immun, 2020, 26(4): 240-247.
- 【收稿日期】 2022-08-18 【修回日期】 2022-11-08

(上接 120 页)

- [43] Arias J I, Parra N, Beato C, et al. Different Trypanosoma cruzi calreticulin domains mediate migration and proliferation of fibroblasts in vitro and skin wound healing *in vivo* [J]. Arch Dermatol Res, 2018, 310(8): 639-650.
- [44] Ellgaard L, Riek R, Herrmann T, et al. NMR structure of the calreticulin P-domain [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98(6): 3133-3138.
- [45] Ellgaard L, Bettendorff P, Braun D, et al. NMR structures of 36 and 73-residue fragments of the calreticulin P-domain [J]. J Mol Biol, 2002, 322(4): 773-784.
- [46] Thielmann Y, Weiergraber OH, Mohrluder J, et al. Structural framework of the GABARAP-calreticulin interface—implications for substrate binding to endoplasmic reticulum chaperones [J]. FEBS J, 2009, 276(4): 1140-1152.
- [47] Shiraishi N, Inai Y, Hirano Y, et al. Calreticulin inhibits prion protein PrP-(23-98) aggregation *in vitro* [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2011, 75(8): 1625-1627.
- [48] Fucikova J, Spisek R, Kroemer G, et al. Calreticulin and cancer [J]. Cell Res, 2021, 31(1): 5-16.
- [49] Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms [J]. N Engl J Med, 2013, 369(25): 2379-2390.
- 【收稿日期】 2022-08-21 【修回日期】 2022-11-05