微生物学通报
Microbiology China
tongbao@im.ac.cn
http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn

Feb. 20, 2026, 53(2): 561-569
CSTR: 32113.14.j.MC.250553
DOI: 10.13344/j.microbiol.china.250553
Copyright ©2026 Microbiology China All Rights Reserved

专论与综述

结核分枝杆菌 ESX-4 分泌系统研究进展

郑禄云，李静，陈春华，余坤，周培富*

贵州民族大学 民族医药学院 贵州省少数民族医药资源开发与利用重点实验室，贵州 贵阳 550025

郑禄云, 李静, 陈春华, 余坤, 周培富. 结核分枝杆菌 ESX-4 分泌系统研究进展[J]. 微生物学通报, 2026, 53(2): 561-569.
ZHENG Luyun, LI Jing, CHEN Chunhua, YU Kun, ZHOU Peifu. Progress in the ESX-4 secretion system of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Microbiology China, 2026, 53(2): 561-569.

摘　要：结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)是引发结核病的主要病原菌，其复杂的分泌系统在致病过程中发挥关键作用。近年，ESX-4 分泌系统备受关注。本文首先阐述了其编码基因结构组成与进化、蛋白组成与功能、底物识别与转运机制、转录调控等，重点分析了 ESX-4 分泌系统如何主导其他 ESX 分泌系统的分泌功能，以及该系统在调控宿主细胞死亡、参与铁利用等方面的生理功能。在此基础上，通过对现有研究的分析，揭示了 ESX-4 分泌系统可能涉及结核分枝杆菌重要毒力因子蛋白酪氨酸磷酸酶(protein tyrosine phosphatase A, PtpA)的分泌。最后，针对该分泌系统未来研究方向进行了展望，旨在为深入研究该分泌系统的功能，并靶向该分泌系统进行药物设计及疫苗开发提供参考。

关键词：结核分枝杆菌；ESX-4 分泌系统；致病机制；分泌系统相互作用

Progress in the ESX-4 secretion system of *Mycobacterium tuberculosis*

ZHENG Luyun, LI Jing, CHEN Chunhua, YU Kun, ZHOU Peifu*

Key Laboratory of Ethnic Medicine Resource Development and Utilization in Guizhou Province, School of Ethnic-Minority Medicine, Guizhou Minzu University, Guiyang 550025, Guizhou, China

Abstract: *Mycobacterium tuberculosis* is the main pathogen causing tuberculosis, and its complex secretion system plays a key role in the pathogenic process. In recent years, the ESX-4 secretion system has attracted much attention. This paper introduces the ESX-4 secretion system from the

资助项目：国家自然科学基金(82260404)
This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (82260404).
*Corresponding author. E-mail: zhoupeifu@sina.com
Received: 2025-06-06; Accepted: 2025-10-29; Published online: 2025-11-28

structures and evolution of its coding genes, protein composition and functions, substrate recognition and transport mechanisms, and transcriptional regulation. It focuses on how the ESX-4 secretion system guides the secretion functions of other ESX secretion systems, and its physiological functions in regulating the death of host cells and participating in iron utilization. On this basis, the analysis of existing studies reveals that ESX-4 secretion system may be involved in the secretion of protein tyrosine phosphatase A (PtpA), a key virulence protein of *Mycobacterium tuberculosis*. Finally, this paper makes an outlook on the future research directions of the secretory system, aiming to provide some reference for in-depth study of the function of the secretory system and for drug design and vaccine development targeting the secretory system.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*; ESX-4 secretion system; pathogenic mechanism; interaction of secretion systems

结核病(tuberculosis, TB)仍是全球范围内严重威胁人类健康的公共卫生问题，结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)简称结核菌，是引起结核病的主要病原菌。世界卫生组织2024年发布的《全球结核病报告》[1]显示，2023年全球约有1 080万结核病新发病例，125万人死于结核病，耐多药或耐利福平结核病发病人数约40万，凸显了结核菌感染的高发性和严重性。结核菌感染人体后，能分泌一系列效应分子如蛋白质及脂质[2-3]等进入巨噬细胞，干扰和调控巨噬细胞功能，逃逸巨噬细胞的杀伤[2-3]，从而存活并繁殖[2,4]。这很大程度上依赖其拥有的特异性蛋白分泌系统。

分枝杆菌ESX分泌系统(6-kDa early secretory antigenic target (ESAT-6) protein family secretion systems)，也称为VII型分泌系统(type VII secretion systems, T7SSs)，是结核菌中除Sec分泌系统(Sec secretion system，包括SecA1和SecA2分泌系统)和双精氨酸分泌系统(twin-arginine translocation, TAT)外，功能特异的一类蛋白质分泌系统，在结核菌的生存、致病以及与宿主的相互作用中发挥着关键作用。目前已知结核菌基因组编码5个ESX分泌系统，分别为ESX-1–ESX-5[5]。ESX分泌系统结构复杂，由多个保守的结构组件和相关蛋白构成，能够将一系列效应蛋白分泌到细菌细胞外或宿主细胞内，从而影响细菌与宿主细胞之间的相互作用。结核菌中，ESX-1与致病性密切相关，能够分泌如ESAT-6和10-kDa culture filtrate protein (CFP-10)等重要的毒力因子，这些因子参与结核菌从吞噬体逃逸到细胞质的过程，对其在宿主细胞内的生存和繁殖至关重要[6-9]。ESX-2研究相对较少[10]，但该分泌系统与ESX-1和ESX-4共同调控吞噬膜的通透性，影响CpnT/TNT的转运与分泌[11]。ESX-3则主要参与铁和锌等营养物质的摄取，对于细菌的生长和存活必不可少[12]。ESX-4作为最古老的ESX分泌系统，其功能在过去知之甚少，但近年来的研究逐渐揭示了其在结核菌致病过程中的重要作用，如参与毒素蛋白分泌[13]、调节细菌在吞噬细胞内的生存[14]等。ESX-5在结核菌的营养吸收、膜通透性调节，以及宿主免疫调节和免疫逃逸等方面发挥着重要作用[15]。ESX分泌系统在结核菌的致病过程中发挥着关键作用，其中ESX-4分泌系统近年来受到越来越多的关注。深入研究ESX-4分泌系统，有助于揭示结核菌的致病机制，为开发新的药物和疫苗提供参考。

1 ESX-4分泌系统的结构组成、分泌机制及调控

1.1 基因组成与进化

ESX-4分泌系统的编码基因在不同分枝杆

菌中具有一定的保守性。研究认为，结核菌的5个ESX分泌系统中，ESX-4系统是含有蛋白组分最少的系统，可能也是最古老的ESX系统，其他ESX系统可能由其通过基因复制和多样化演化而来[16]。结合质粒介导的ESX分泌系统的进化分析，发现ESX基因簇的复制顺序依次为ESX-4、ESX-3、ESX-1、ESX-2、ESX-5[17]。作为最古老的ESX系统，ESX-4起源于革兰氏阳性菌原始的WXG-FtsK基因簇，仅含FtsK/SpoIIIE蛋白EccC和2个WXG蛋白EsxU和EsxT，通过整合*eccB*、*eccD*、*mycP*基因，形成原始ESX-4基因簇。ESX-4基因簇被复制到一些质粒中，并进一步整合*eccA*、*eccE*、*espI*、*espG*、*pe*和*ppe*等基因，形成ESX-4_{EVOL}基因簇，是ESX-4与其他ESX基因簇之间的进化中间体，其被整合到不同分枝杆菌的基因组中后，经过漫长的差异进化，分别逐渐形成了ESX-3、ESX-1、ESX-2和ESX-5分泌系统[17]。总之，ESX-4在ESX分泌系统的进化过程中起到了重要作用，对结核菌的进化和致病性产生影响。

1.2 蛋白组成与功能

结核菌ESX-4分泌系统编码基因簇位于*rv3444c−rv3450c*区域，共7个基因，编码的蛋白包含一系列保守的结构成分，如EccE、EccB、EccC、EccD和MycP等(图1A)。EccE包含多个跨膜片段，以特定模式穿过细胞膜，形成了特定的跨膜拓扑结构[18]。EccB的周质结构域与噬菌体溶菌素PlyCB具有同源性，可能参与肽聚糖结合[19]；EccC负责驱动底物跨膜分泌，其ATPase结构域和连接区被认为是底物受体[20]；EccD在分泌系统中起支架蛋白作用，其2个亚基可形成围绕中心腔的二聚体[21]；MycP是一种类似枯草芽孢杆菌蛋白酶的膜锚定蛋白酶，其催化结构域具有高度底物特异性，目前仅发现ESX分泌相关蛋白B (EspB)是MycP1的底物，但该蛋白酶在其他ESX系统中的作用仍不清楚[22]。这些蛋白相互协作，共同构成了ESX-4分泌系统的结构基础，确保底物的识别、转运和分泌。

在底物分泌过程中，EccC的ATPase活性发挥着关键作用。ATP的水解为底物跨膜转运提供能量，驱动底物通过由EccB、EccC、EccD等蛋白形成的膜通道。然而，目前对于底物在跨膜转运过程中的具体细节，如底物如何通过膜通道、是否存在其他辅助因子等仍有待进一步研究。

1.3 ESX-4分泌系统的底物分泌机制

ESX-4的底物蛋白是其发挥生物学功能的最终执行者，它们通过ESX-4分泌系统被转运到细菌细胞外，与宿主细胞相互作用，从而影响细菌的致病过程。ESX-4的底物包括EsxT和EsxU等蛋白，这些底物通常具有特定的分泌信号，如C末端的YxxxD/E基序，该基序对于底物与分泌系统的识别和结合至关重要。它们属于Esx蛋白家族，与结核菌ESX-1系统分泌的EsxA (ESAT-6)和EsxB (CFP-10)等蛋白具有一定的相似性，均含有特定的结构域和保守序列[23]。研究表明，EsxU和EsxT的分泌依赖于ESX-4系统的完整性，当系统中的关键蛋白EccB4缺失时，底物的分泌会受到显著影响[24]。ESX-4还可能与某些毒力相关蛋白的分泌或定位有关，暗示其底物可能包含参与致病过程的关键蛋白。

1.4 转录调控

WhiB5是结核菌中WhiB超家族的转录调控因子。通过基因芯片分析发现，WhiB5可调控包括编码ESX-4分泌系统的基因在内的58个基因的表达。在诱导WhiB5表达后，ESX-4相关基因表达上调，这表明WhiB5对ESX-4系统的表达具有重要的调控作用，二者在基因表达层面存在紧密联系，可能共同参与结核菌的某些生理过程或致病机制[25]。Naeem[26]利用CRISPRi技术对结核菌H37Ra菌株中的*esx-4*基因敲降后感染THP1细胞，RNA测序结果显示有6条通路发生变化，其中37个基因上调，

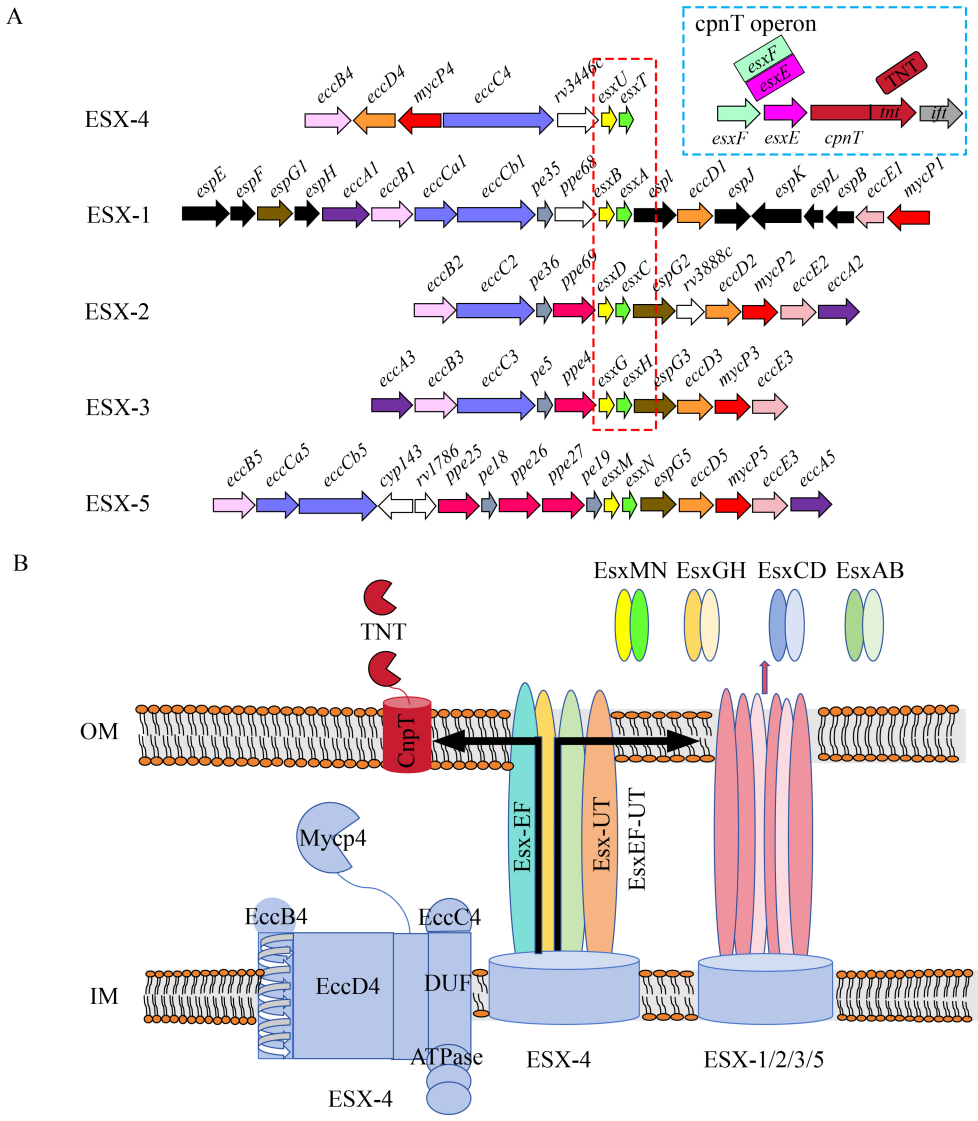

图1 结核分枝杆菌ESX分泌系统基因座及ESX-4分泌系统的模型示意图 A：结核分枝杆菌ESX分泌系统基因座。红色虚线框表示Esx蛋白家族，蓝色虚线框为结核菌的cpnT位点。B：ESX-4分泌系统的结构和分泌蛋白。ESX-4核心复合物在内膜(IM)中组装，将EsxEF-EsxUT复合物输出到结核菌细胞表面。EsxUT与EsxEF形成非规范复合体，将CpnT和EsxAB、EsxCD、EsxGH和EsxMN等小Esx蛋白输出到外膜(OM)。这些Esx蛋白可能作为外膜通道，促进每个Esx系统底物蛋白的分泌。

Figure 1 Schematic diagram of the ESX secretion system gene locus and ESX-4 secretion system model of *Mtb*. A: The gene locus of the *Mtb* ESX secretion system. The red dashed box represents the Esx protein family, and the blue dashed box represents the cpnT site of tuberculosis bacteria. B: The structure and secreted proteins of the ESX-4 secretion system. The ESX-4 core complex is assembled in the inner membrane (IM), and the EsxEF-EsxUT complex is exported to the surface of tuberculosis cells. EsxUT forms a non-standard complex with EsxEF, exporting CpnT and small Esx proteins such as EsxAB, EsxCD, EsxGH, and EsxMN to the outer membrane (OM). These Esx proteins may act as outer membrane channels, promoting the secretion of substrate proteins in each Esx system.

278 个基因下调，并且高度下调的基因 *TEF3* 和上调的基因(H2A 型 2-C)均编码核酸结合蛋白。这证明了 ESX-4 对宿主细胞核酸结合蛋白相关基因的调控作用，同时也表明其缺失会引起宿主细胞基因表达的广泛改变，可能影响结核菌在宿主细胞内的生存环境和致病能力。此外，研究发现 ESX-4 基因簇相关蛋白的编码受到胞外功能 σ 因子 SigM 的调节，SigM 调控的 4 个 *esat-6* 同源物(*esxT*, *esxU*, *esxE*, *esxF*)可能也具有 ESAT-6 类似功能，影响结核菌与宿主细胞的相互作用[27]。SigM 是 ESX-4 表达的细胞接触依赖性激活因子，SigM 调控包括 *esx4* 基因座外的一些基因，这些基因也参与接合过程，并且部分 SigM 诱导的蛋白质可能通过 ESX-4 发挥作用[28]。Nair 等[13]发现 SigM 过表达能使 *esxFE* 和 *esxT* 基因转录提升 60−90 倍，*esxU* 基因转录提升 1 800 倍，这使得 EsxU、EsxT、EsxE 和 EsxF 等蛋白得以大量合成，这些蛋白进而组装形成内膜 ESX-4 分泌机器以及外膜 EsxEF-EsxUT 超复合物，而且 ESX-4 分泌系统在 SigM 的调控下，输出 CpnT 通道蛋白及其 C 末端毒素结构域 TNT。这种调控关系，确保了结核菌在感染过程中能够根据环境变化精准地调节毒力因子的分泌，以适应宿主环境并实现持续感染。

2 ESX-4 分泌系统在结核菌致病中的作用

2.1 ESX-4 分泌系统主导其他 ESX 分泌系统的分泌功能

ESX-4 系统与其他 ESX 分泌系统存在紧密联系，在整个分泌系统中占据核心地位。所有与 ESX 分泌系统相关的 Esx 蛋白在结核菌中的表面暴露和分泌在很大程度上依赖于 ESX-4 系统及其外膜的 EsxEF-EsxUT 超复合物(图 1B)。研究发现，当敲除 *cpnT* 或 *esxUT* 操纵子时，ESX-1、ESX-2、ESX-3 和 ESX-5 系统相关的 Esx 蛋白，如 EsxA、EsxC、EsxH 和 EsxN 等，在细胞表面的可及性会大幅降低，几乎降至野生型菌株的背景水平[13]。由此可见，ESX-4 系统在调控其他 ESX 系统效应蛋白的分泌过程中起着核心作用，可能是通过其外膜的超复合物来实现对其他 Esx 蛋白分泌的控制。

Mendum 等[29]研究发现，在结核菌感染树突状细胞的过程中，ESX-4 系统对于细菌的细胞内适应性至关重要，并且 ESX-4 与 ESX-1、ESX-5 等系统共同参与了结核菌在树突状细胞内的复杂致病过程，它们之间存在着紧密的协同关系，可能通过相互协作来调节细菌与宿主细胞的相互作用，促进结核菌在细胞内的生存和增殖。在结核菌毒素 CpnT 的分泌过程中，主要依赖 ESX-4 系统。而 TNT 从细菌表面进入巨噬细胞胞质溶胶需要破坏吞噬体膜，这一过程由 ESX-1、ESX-2 和 ESX-4 系统共同完成[11]。外膜蛋白 CpnT 的输出和吞噬体破裂是 ESX-4 系统中一个已知的分子功能，突出了 ESX-4 在 CpnT 功能和结核菌细胞毒性中的核心作用。ESX-4 核心蛋白 EccB4、EccC4、EccD4 和 MycP4 提供了 CpnT 易位系统的内膜成分，EsxEF 复合物构成了外膜孔[11]。这表明不同的分泌系统在某些生理过程中可能形成一个相互协作的网络，共同完成特定的生物学功能。

2.2 调控宿主细胞死亡

结核菌中，ESX-4 还介导毒素蛋白 CpnT (*rv3903c*)的分泌从而调控宿主死亡。ESX-4 对 CpnT 的转运和 TNT 的细胞表面可及性至关重要，是首个被发现依赖该系统的外膜蛋白[30]。CpnT、EsxE-EsxF 复合体及 CpnT-IFT 复合体经 ESX-4 分泌系统分泌穿越结核菌内膜后，EsxE-EsxF 复合体进行组装形成管道穿越外膜，并分泌 CpnT-IFT 复合体穿越外膜。而后 CpnT-IFT 复合体解聚，CpnT 进一步被水解为 N-末端孔道结构域(N-terminal channel domain, CpnT NTD)和 C-末端毒性结构域(toxic C-terminal domain tuberculosis necrotizing toxin, TNT)。CpnT NTD 在外膜上形成孔道并负责甘油及葡萄糖等营养

物质转运，而 TNT 则在 ESX-1、ESX-2 分泌系统相关功能的协助下，穿越吞噬溶酶体膜进入宿主细胞，通过水解宿主 NAD^+而引发细胞坏死。这种坏死方式可避免凋亡引发的免疫清除，同时释放的细胞内容物促进细菌扩散。ESX-4 分泌系统通过调控 TNT-IFT 的毒性-免疫平衡，成为结核菌操控宿主细胞死亡方式的重要致病机制[31]。

2.3 参与铁利用

在结核菌获取铁的过程中，ESX-4 发挥着不可或缺的作用。研究发现，ESX-4 影响细胞外血红素摄取进入结核菌细胞的效率，通过调控相关基因表达，促进铁的获取，以满足细菌在宿主体内生长和代谢的需求[32]。ESX-4 可能通过将血红素运输到细胞质中参与血红素摄取，也可能通过将血红素输出到细胞质中维持血红素稳态参与血红素外排。缺乏摄取会导致细胞缺乏铁的营养物质，缺乏外排可能导致细胞内血红素积累和毒性。当 ESX-4 系统中的关键基因 *eccC4* 缺失时，结核菌在以血红素为铁源的培养基中生长明显延迟，表明 ESX-4 对结核菌利用血红素铁的能力具有重要影响[32]。

2.4 结核分枝杆菌 ESX-4 分泌系统可能介导 PtpA 分泌

蛋白酪氨酸磷酸酶(protein tyrosine phosphatase A, PtpA)是结核菌分泌的效应分子，由 *rv2234* 基因编码，属于低分子量蛋白酪氨酸磷酸酶，其蛋白磷酸酶活性在一定程度上受到蛋白酪氨酸激酶 A (protein tyrosine kinase A, PtkA)的磷酸化调控[33-36]。PtpA 通过抑制宿主巨噬细胞天然免疫、细胞凋亡和阻断吞噬体成熟，以及与溶酶体融合等方式协助结核菌逃逸宿主免疫[37-40]。然而，结核菌具体通过哪一个分泌系统将 PtpA 分泌到胞外，依然是一个备受关注的未知问题。为此，我们通过对已有研究的调研分析，发现 Sec1 分泌系统为持家型分泌系统，分泌底物具有典型 Sec 分泌蛋白信号肽，而 PtpA 蛋白缺乏典型的信号肽[41-42]。在结核菌 SecA2 缺失突变菌株中，PtpA 的分泌无明显差异[43]。双精氨酸分泌系统分泌底物蛋白 N-末端含有双精氨酸信号肽，而 PtpA 蛋白缺乏该信号肽[42]。对于 ESX 分泌系统，卡介苗(*Bacillus* Calmette-Guerin vaccine, BCG) 和鸟分枝杆菌(*Mycobacterium avium*)缺失 ESX-1 分泌系统，但均能够分泌 PtpA[17,44-46]。耻垢分枝杆菌(*Mycolicibacterium smegmatis*) 缺失 ESX-2 和 ESX-5，但能分泌 PtpA[47-48]。ESX-3 分泌系统主要涉及锌离子及铁离子的平衡调控，其分泌底物 EsxG-EsxH 通过结合宿主细胞内涵体分类转运复合体 ESCRT 而抑制吞噬溶酶体融合及组织相容性复合体 II 介导的抗原呈递，与 PtpA 具有类似的宿主调控作用[36,49-52]。ESX-4 分泌系统涉及结核菌毒性蛋白 TNT 的分泌[11]。基于上述分析，我们认为 ESX-3 分泌系统介导 PtpA 分泌可能性最高，但 ESX-4 分泌系统也可能介导 PtpA 分泌。

3 研究展望

目前，虽然对结核菌 ESX-4 分泌系统的研究取得了一定进展，但仍有许多科学问题有待深入研究，如：深入解析 ESX-4 系统的精细组装形式，明确各组分的三维结构及相互作用方式，以更清晰地理解其分泌机制，为靶向关键组分进行药物设计提供参考；探究 ESX-4 分泌系统其他分泌底物，并研究分泌底物与宿主细胞相互作用的分子机制，包括与宿主细胞分子的结合、生理功能调控等，以深入揭示该分泌系统的生物学功能；进一步研究 ESX-4 与其他分泌系统功能互补关系，以全面揭示结核菌 ESX 分泌系统在生理功能方面的协同机制。基于结核菌 ESX-4 分泌系统的重要作用及其生物学特征，可尝试针对该系统进行靶向药物设计以及减毒活疫苗开发。首先，尽管 ESX-4 分泌系统中关键基因的缺失并不会导致结核菌死亡，但因其发挥了非常重要的生理功能，比如血红

素铁的摄取和利用、蛋白毒素 CpnT 的分泌、与其他 ESX-4 分泌功能相互关联等，其缺失极有可能影响结核菌在胞内或体内的生存。尽管抑制 ESX-4 分泌的功能可能不能在体内单独杀灭结核菌，但部分抑制结核菌的生理功能，将有助于宿主免疫清除结核菌，或者增强现有药物对结核菌杀伤作用。因此，ESX-4 分泌系统依然可以作为重要的药物靶标。其次，ESX-4 分泌系统生理功能的重要性及关键基因敲除的非致死性，为靶向敲除该分泌系统而开发减毒活疫苗提供可能。从当前研究来看，ESX-4 系统及其相关的 EsxEF-EsxUT 超复合物对结核菌的多种毒力因子分泌至关重要。由于该系统在蛋白分泌中的关键作用，若构建 ESX-4 敲除株，可能会使结核菌无法正常分泌毒力因子，从而降低其致病性，成为潜在的减毒疫苗候选株。综上所述，结核菌 ESX-4 分泌系统的研究已取得一定进展，深入研究和揭示 ESX-4 分泌系统的生物学功能，有望为结核病的防治提供新的策略和方法。

作者贡献声明

郑禄云：构思综述主题，论文撰写及修改，绘制文章图表；李静：撰写总结与展望部分，论文审阅及修订；陈春华、余坤：论文审阅及修订；周培富：构思综述主题，设计文章结构，审阅稿件并提出修改意见。

作者利益冲突公开声明

作者声明绝无任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

REFERENCES

[1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2024[R]. Geneva: World Health Organization, 2024.

[2] POIRIER V, AV-GAY Y. *Mycobacterium tuberculosis* modulators of the macrophage's cellular events[J]. Microbes and Infection, 2012, 14(13): 1211-1219.

[3] ARMSTRONG JA, HART PD. Response of cultured macrophages to *Mycobacterium tuberculosis*, with observations on fusion of lysosomes with phagosomes[J]. The Journal of Experimental Medicine, 1971, 134(3): 713-740.

[4] STURGILL-KOSZYCKI S, SCHLESINGER PH, CHAKRABORTY P, HADDIX PL, COLLINS HL, FOK AK, ALLEN RD, GLUCK SL, HEUSER J, RUSSELL DG. Lack of acidification in *Mycobacterium* phagosomes produced by exclusion of the vesicular proton-ATPase[J]. Science, 1994, 263(5147): 678-681.

[5] 于俊媛, 姜北, 张骁鹏, 黎庶, 胡晓梅. 细菌VII型分泌系统的研究进展[J]. 微生物与感染, 2015, 10(2): 127-132.
YU JY, JIANG B, ZHANG XP, LI S, HU XM. Bacterial type VII secretion system[J]. Journal of Microbes and Infections, 2015, 10(2): 127-132 (in Chinese).

[6] GAO LY, GUO S, McLAUGHLIN B, MORISAKI H, ENGEL JN, BROWN EJ. A mycobacterial virulence gene cluster extending RD1 is required for cytolysis, bacterial spreading and ESAT-6 secretion[J]. Molecular Microbiology, 2004, 53(6): 1677-1693.

[7] GUINN KM, HICKEY MJ, MATHUR SK, ZAKEL KL, GROTZKE JE, LEWINSOHN DM, SMITH S, SHERMAN DR. Individual RD1-region genes are required for export of ESAT-6/CFP-10 and for virulence of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Molecular Microbiology, 2004, 51(2): 359-370.

[8] PYM AS, BRODIN P, MAJLESSI L, BROSCH R, DEMANGEL C, WILLIAMS A, GRIFFITHS KE, MARCHAL G, LECLERC C, COLE ST. Recombinant BCG exporting ESAT-6 confers enhanced protection against tuberculosis[J]. Nature Medicine, 2003, 9(5): 533-539.

[9] BRODIN P, ROSENKRANDS I, ANDERSEN P, COLE ST, BROSCH R. ESAT-6 proteins: protective antigens and virulence factors?[J]. Trends in Microbiology, 2004, 12(11): 500-508.

[10] GRÖSCHEL MI, SAYES F, SIMEONE R, MAJLESSI L, BROSCH R. ESX secretion systems: mycobacterial evolution to counter host immunity[J]. Nature Reviews Microbiology, 2016, 14(11): 677-691.

[11] PAJUELO D, TAK U, ZHANG L, DANILCHANKA O, TISCHLER AD, NIEDERWEIS M. Toxin secretion and trafficking by *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Nature Communications, 2021, 12(1): 6592.

[12] BYTHROW GV, FARHAT MF, LEVENDOSKY K, MOHANDAS P, GERMAIN GA, YOO B, QUADRI LEN. *Mycobacterium abscessus* mutants with a compromised functional link between the type VII ESX-3 system and an iron uptake mechanism reliant on an unusual mycobactin siderophore[J]. Pathogens, 2022, 11(9): 953.

[13] NAIR RR, MEIKLE V, DUBEY SD, PAVLENOK M, TISCHLER AD, NIEDERWEIS M. Control of *Mycobacterium tuberculosis* protein secretion by ESX-4 and the outer membrane EsxUT-EsxEF complex[J]. Nature Communications, 2025, 16(1): 10228.

[14] LAENCINA L, DUBOIS V, Le MOIGNE V, VILJOEN A, MAJLESSI L, PRITCHARD J, BERNUT A, PIEL L, ROUX AL, GAILLARD JL, LOMBARD B, LOEW D, RUBIN EJ, BROSCH R, KREMER L, HERRMANN JL,

GIRARD-MISGUICH F. Identification of genes required for *Mycobacterium abscessus* growth *in vivo* with a prominent role of the ESX-4 locus[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, 115(5): E1002-E1011.

[15] SHAH S, BRIKEN V. Modular organization of the ESX-5 secretion system in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2016, 6: 49.

[16] SIMEONE R, BOTTAI D, FRIGUI W, MAJLESSI L, BROSCH R. ESX/type VII secretion systems of mycobacteria: insights into evolution, pathogenicity and protection[J]. Tuberculosis, 2015, 95(Suppl 1): S150-S154.

[17] NEWTON-FOOT M, WARREN RM, SAMPSON SL, van HELDEN PD, van PITTIUS NCG. The plasmid-mediated evolution of the mycobacterial ESX (Type VII) secretion systems[J]. BMC Evolutionary Biology, 2016, 16: 62.

[18] YU L, FANG W, HE Y, CAI WG, WEI W, TIAN CL. Secondary structure and transmembrane topology analysis of the N-terminal domain of the inner membrane protein $EccE_1$ from *M. smegmatis* using site-directed spin labeling EPR[J]. Biochimica et Biophysica Acta Biomembranes, 2021, 1863(2): 183515.

[19] WAGNER JM, CHAN S, EVANS TJ, KAHNG S, KIM J, ARBING MA, EISENBERG D, KOROTKOV KV. Structures of EccB1 and EccD1 from the core complex of the mycobacterial ESX-1 type VII secretion system[J]. BMC Structural Biology, 2016, 16: 5.

[20] ROSENBERG OS, DOVALA D, LI XM, CONNOLLY L, BENDEBURY A, FINER-MOORE J, HOLTON J, CHENG YF, STROUD RM, COX JS. Substrates control multimerization and activation of the multi-domain ATPase motor of type VII secretion[J]. Cell, 2015, 161(3): 501-512.

[21] FAMELIS N, RIVERA-CALZADA A, DEGLIESPOSTI G, WINGENDER M, MIETRACH N, SKEHEL JM, FERNANDEZ-LEIRO R, BÖTTCHER B, SCHLOSSER A, LLORCA O, GEIBEL S. Architecture of the mycobacterial type VII secretion system[J]. Nature, 2019, 576(7786): 321-325.

[22] SOLOMONSON M, SETIAPUTRA D, MAKEPEACE KAT, LAMEIGNERE E, PETROTCHENKO EV, CONRADY DG, BERGERON JR, VUCKOVIC M, DiMAIO F, BORCHERS CH, YIP CK, STRYNADKA NCJ. Structure of EspB from the ESX-1 type VII secretion system and insights into its export mechanism[J]. Structure, 2015, 23(3): 571-583.

[23] PALLEN MJ. The ESAT-6/WXG100 superfamily – and a new Gram-positive secretion system? [J]. Trends in Microbiology, 2002, 10(5): 209-212.

[24] LAGUNE M, le MOIGNE V, JOHANSEN MD, VÁSQUEZ SOTOMAYOR F, DAHER W, PETIT C, COSENTINO G, PAULOWSKI L, GUTSMANN T, WILMANNS M, MAURER FP, HERRMANN JL, GIRARD-MISGUICH F, KREMER L. The ESX-4 substrates, EsxU and EsxT, modulate *Mycobacterium abscessus* fitness[J]. PLoS Pathogens, 2022, 18(8): e1010771.

[25] CASONATO S, CERVANTES SÁNCHEZ A, HARUKI H, GONZÁLEZ MR, PROVVEDI R, DAINESE E, JAOUEN T, GOLA S, BINI E, VICENTE M, JOHNSSON K, GHISOTTI D, PALÙ G, HERNÁNDEZ-PANDO R, MANGANELLI R. WhiB5, a transcriptional regulator that contributes to *Mycobacterium tuberculosis* virulence and reactivation[J]. Infection and Immunity, 2012, 80(9): 3132-3144.

[26] Naeem MA. Transcriptional profiling of *Mycobacterium tuberculosis* Esx-4 secretory pair by its expression and interference in THP1 cell line[Z]. British Journal of Pharmacology, 2023: 784.

[27] AGARWAL N, WOOLWINE SC, TYAGI S, BISHAI WR. Characterization of the *Mycobacterium tuberculosis* sigma factor SigM by assessment of virulence and identification of SigM-dependent genes[J]. Infection and Immunity, 2007, 75(1): 452-461.

[28] CLARK RR, JUDD J, LASEK-NESSELQUIST E, MONTGOMERY SA, HOFFMANN JG, DERBYSHIRE KM, GRAY TA. Direct cell-cell contact activates SigM to express the ESX-4 secretion system in *Mycobacterium smegmatis*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, 115(28): E6595-E6603.

[29] MENDUM TA, WU HH, KIERZEK AM, STEWART GR. Lipid metabolism and Type VII secretion systems dominate the genome scale virulence profile of *Mycobacterium tuberculosis* in human dendritic cells[J]. BMC Genomics, 2015, 16(1): 372.

[30] VAZIRI F, BROSCH R. ESX/type VII secretion systems-an important way out for mycobacterial proteins[J]. Microbiology spectrum, 2019, 7(4): 10.1128.

[31] SUN J, SIROY A, LOKAREDDY RK, SPEER A, DOORNBOS KS, CINGOLANI G, NIEDERWEIS M. The tuberculosis necrotizing toxin kills macrophages by hydrolyzing NAD[J]. Nature Structural & Molecular Biology, 2015, 22(9): 672-678.

[32] SANKEY N, MERRICK H, SINGH P, ROGERS J, REDDI A, HARTSON SD, MITRA A. Role of the *Mycobacterium tuberculosis* ESX-4 secretion system in heme iron utilization and pore formation by PPE proteins[J]. mSphere, 2023, 8(2): e0057322.

[33] 周培富, 赵宇中, 谢建平. 结核分枝杆菌毒力因子蛋白酪氨酸磷酸酶PtpA转录调控和分泌机理[J]. 微生物学通报, 2019, 46(12): 3483-3490.
ZHOU PF, ZHAO YZ, XIE JP. Transcriptional and secretion of *Mycobacterium tuberculosis* virulence factor protein tyrosine phosphatase A (PtpA) [J]. Microbiology China, 2019, 46(12): 3483-3490 (in Chinese).

[34] ZHOU PF, LI W, WONG D, XIE JP, AV-GAY Y. Phosphorylation control of protein tyrosine phosphatase A activity in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. FEBS Letters, 2015, 589(3): 326-331.

[35] ZHOU PF, WONG D, LI W, XIE JP, AV-GAY Y. Phosphorylation of *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine kinase A PtkA by Ser/Thr protein kinases[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2015, 467(2): 421-426.

[36] WONG D, LI W, CHAO JD, ZHOU PF, NARULA G, TSUI C, KO M, XIE JP, MARTINEZ-FRAILES C, AV-GAY Y. Protein tyrosine kinase, PtkA, is required for *Mycobacterium tuberculosis* growth in macrophages[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 155.

[37] BACH H, PAPAVINASASUNDARAM KG, WONG D, HMAMA Z, AV-GAY Y. *Mycobacterium tuberculosis* virulence is mediated by PtpA dephosphorylation of human vacuolar protein sorting 33B[J]. Cell Host & Microbe, 2008, 3(5): 316-322.

[38] WONG D, BACH H, SUN J, HMAMA Z, AV-GAY Y. *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine phosphatase (PtpA) excludes host vacuolar-H^+-ATPase to inhibit phagosome acidification[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, 108(48): 19371-19376.

[39] POIRIER V, BACH H, AV-GAY Y. *Mycobacterium tuberculosis* promotes anti-apoptotic activity of the macrophage by PtpA protein-dependent dephosphorylation of host GSK3α[J]. Journal of Biological Chemistry, 2014, 289(42): 29376-29385.

[40] WANG J, LI BX, GE PP, LI J, WANG Q, GAO GF, QIU XB, LIU CH. *Mycobacterium tuberculosis* suppresses innate immunity by coopting the host ubiquitin system[J]. Nature Immunology, 2015, 16(3): 237-245.

[41] MILLER BK, ZULAUF KE, BRAUNSTEIN M. The Sec pathways and exportomes of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Microbiology Spectrum, 2017, 5(2).

[42] WONG D, CHAO JD, AV-GAY Y. *Mycobacterium tuberculosis*-secreted phosphatases: from pathogenesis to targets for TB drug development[J]. Trends in Microbiology, 2013, 21(2): 100-109.

[43] BRAUNSTEIN M, ESPINOSA BJ, CHAN J, BELISLE JT, JACOBS WR Jr. SecA2 functions in the secretion of superoxide dismutase A and in the virulence of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Molecular Microbiology, 2003, 48(2): 453-464.

[44] LEWIS KN, LIAO R, GUINN KM, HICKEY MJ, SMITH S, BEHR MA, SHERMAN DR. Deletion of RD1 from *Mycobacterium tuberculosis* mimics bacille Calmette-Guérin attenuation[J]. The Journal of Infectious Diseases, 2003, 187(1): 117-123.

[45] BACH H, SUN J, HMAMA Z, AV-GAY Y. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* PtpA is an endogenous tyrosine phosphatase secreted during infection[J]. Infection and Immunity, 2006, 74(12): 6540-6546.

[46] WANG J, GE PP, QIANG LH, TIAN F, ZHAO DD, CHAI QY, ZHU MZ, ZHOU RB, MENG GX, IWAKURA Y, GAO GF, LIU CH. The mycobacterial phosphatase PtpA regulates the expression of host genes and promotes cell proliferation[J]. Nature Communications, 2017, 8(1): 244.

[47] GEY van PITTIUS NC, GAMIELDIEN J, HIDE W, BROWN GD, SIEZEN RJ, BEYERS AD. The ESAT-6 gene cluster of *Mycobacterium tuberculosis* and other high G+C Gram-positive bacteria[J]. Genome Biology, 2001, 2(10): RESEARCH0044.

[48] COWLEY SC, BABAKAIFF R, AV-GAY Y. Expression and localization of the *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine phosphatase PtpA[J]. Research in Microbiology, 2002, 153(4): 233-241.

[49] RODRIGUEZ GM, VOSKUIL MI, GOLD B, SCHOOLNIK GK, SMITH I. *ideR*, an essential gene in *Mycobacterium tuberculosis*: role of IdeR in iron-dependent gene expression, iron metabolism, and oxidative stress response[J]. Infection and Immunity, 2002, 70(7): 3371-3381.

[50] MACIAG A, DAINESE E, RODRIGUEZ GM, MILANO A, PROVVEDI R, PASCA MR, SMITH I, PALÙ G, RICCARDI G, MANGANELLI R. Global analysis of the *Mycobacterium tuberculosis* Zur (FurB) regulon[J]. Journal of Bacteriology, 2007, 189(3): 730-740.

[51] MEHRA A, ZAHRA A, THOMPSON V, SIRISAENGTAKSIN N, WELLS A, PORTO M, KÖSTER S, PENBERTHY K, KUBOTA Y, DRICOT A, ROGAN D, VIDAL M, HILL DE, BEAN AJ, PHILIPS JA. *Mycobacterium tuberculosis* type VII secreted effector EsxH targets host ESCRT to impair trafficking[J]. PLoS Pathogens, 2013, 9(10): e1003734.

[52] PORTAL-CELHAY C, TUFARIELLO JM, SRIVASTAVA S, ZAHRA A, KLEVORN T, GRACE PS, MEHRA A, PARK HS, ERNST JD, JACOBS WR Jr, PHILIPS JA. *Mycobacterium tuberculosis* EsxH inhibits ESCRT-dependent $CD4^+$ T-cell activation[J]. Nature Microbiology, 2016, 2: 16232.