

单增李斯特菌感染胎盘相关毒力因子的研究进展

吴梦洁, 董庆利, 鲁新新, 刘阳泰, 王翔, 秦晓杰, 李卓思

上海理工大学 健康科学与工程学院, 上海 200093

吴梦洁, 董庆利, 鲁新新, 刘阳泰, 王翔, 秦晓杰, 李卓思. 单增李斯特菌感染胎盘相关毒力因子的研究进展. 生物工程学报, 2022, 38(6): 2139-2152.

WU MJ, DONG QL, LU XX, LIU YT, WANG X, QIN XJ, LI ZS. Placenta-specific virulence factors involved in *Listeria monocytogenes* infection. Chin J Biotech, 2022, 38(6): 2139-2152.

摘 要: 单核细胞增生李斯特氏菌 (*Listeria monocytogenes*, LM) 是一种可引起李斯特菌病的食源性致病菌。由于妊娠相关免疫缺陷和 LM 对非吞噬细胞独特的细胞内感染能力, 孕妇是 LM 的主要目标人群。LM 可穿过胎盘屏障, 对胎儿造成重大伤害, 包括早产、流产甚至死产。胎盘特异性毒力因子的作用对 LM 感染期间穿过胎盘屏障并感染胎儿尤为重要。文中介绍了国内外近年在孕妇中发生 LM 感染的事件, 详细讨论了 LM 垂直传播以及在胎盘定殖机制方面的研究进展, 着重讨论并分析了 LM 与感染胎盘相关毒力因子的最新发现, 以期为今后防控 LM 的胎盘感染并保障食品安全提供参考。

关键词: 单增李斯特菌; 胎盘屏障; 垂直传播; 胎盘定殖; 毒力因子

Placenta-specific virulence factors involved in *Listeria monocytogenes* infection

WU Mengjie, DONG Qingli, LU Xinxin, LIU Yangtai, WANG Xiang, QIN Xiaojie,
LI Zhuosi

School of Health Science and Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China

Abstract: *Listeria monocytogenes* (LM) is a food-borne pathogen that can cause listeriosis. Pregnant

Received: November 19, 2021; **Accepted:** January 29, 2022; **Published online:** February 10, 2022

Supported by: National Key Research and Development Program Intergovernmental International Science and Technology Innovation Cooperation Key Special Project (2019YFE0103800)

Corresponding author: LI Zhuosi. E-mail: lizhuosi@usst.edu.cn

基金项目: 国家重点研发计划政府间国际科技创新合作重点专项 (2019YFE0103800)

women are main target population of listeriosis due to pregnancy-associated immune deficiency and unique intracellular infection ability of LM to non-phagocytic cells. LM can cross the placental barrier and cause significant harm to the fetus, including premature birth, miscarriage and even stillbirth. The role of placenta-specific virulence factors is particularly important for researchers to understand how it crosses the placental barrier and infects the fetus during LM infection. This review started by describing the listeriosis in pregnant women, followed by summarizing the advances in understanding the LM vertical transplacental infection and the mechanism of LM colonization in the placenta. Finally, recent advances in identifying placenta-specific virulence factors involved in LM infections were presented, with the aim to facilitate the control of LM transplacental infection and the improvement of food safety.

Keywords: *Listeria monocytogenes*; placenta barrier; vertical propagation; colonization; virulence factor

单核细胞增生李斯特氏菌 (*Listeria monocytogenes*, LM), 以下简称单增李斯特菌, 是一种广泛存在于自然界具有较强抗性的食源性致病菌, 被人体摄入后可引起李斯特菌病^[1]。摄入 LM 污染的食物后 (10^9 CFU/g), 多数正常人群会出现轻度至重度胃肠道反应; 而对于儿童、老年人、免疫缺陷者和孕妇等易感人群, 即使是低水平 (10^2 – 10^4 CFU/g) 的食物污染也会导致细菌败血症、脑膜炎、孕妇流产或早产等^[2]。近年来, 孕妇作为 LM 的易感人群, 受到了较大的关注^[1]。孕妇在妊娠期间, 胎盘能保护胎儿免受外界环境不利物质和潜在病原体的侵入, 以此维持胎儿的正常发育^[3]。但是, 少数病原体仍能成功侵入胎盘屏障感染胎儿, 其中, LM 由于具备较强的适应性、跨越各种宿主屏障的能力及独特的细胞内生活方式, 故能穿过胎盘屏障, 造成胎儿感染, 并导致自然流产、早产、死产和新生儿脑膜炎等不良妊娠后果, 严重影响女性生殖健康^[2]。孕妇的细胞免疫功能低下也导致 LM 的易感性急剧增加^[4]。

目前国内外尽管有不少研究探究了 LM 经胎盘感染的途径、机制、机理, 但仍存在很多不足。因此, 本文对近年来 LM 垂直传播、胎盘定殖以及传播到胎儿的相关机制进行综述,

并着重讨论 LM 侵袭胎盘屏障过程中相关毒力因子的作用以及相关炎症方面的最新生物学进展, 为预防和控制食品中 LM 经胎盘感染提供理论参考。

1 LM 感染孕妇调研

LM 导致人罹患李斯特菌病, 李斯特菌病虽不常见, 但致死率相比其他食源性致病菌较高, 且七分之一的李斯特菌病会出现在妊娠期^[4]。由世界卫生组织 (world health organization, WHO) 2015 年报告指出, 感染李斯特菌的病例占总病例数的近 43%, 其中 14% 发生在围产期。在 1999–2011 年间, 法国报告了 3 413 例李斯特菌病, 606 例 (18%) 与妊娠相关^[5]; 在 2004–2014 年间, 英国报告了 21 例新生儿李斯特菌病, 新生儿病死率为 21% (含疑似病例为 24%)^[6]; 在 2009–2011 年间, 美国疾病预防控制中心 (centers for disease control and prevention, CDC) 报告了 1 651 例侵袭性李斯特菌病, 14% 与妊娠相关^[7]; 在 2010–2019 年间, 德国报告了 5 576 例李斯特菌病, 486 例 (9%) 与妊娠相关, 在妊娠相关病例中, 死亡率为 19%^[8]; 在 2008–2017 年间, 中国 22 个省 (市、自治区) 共报告了 759 例李斯特菌病例, 总病死率为

18%，514 例 (68%) 与妊娠相关，新生儿死亡率较高为 73%^[9]；2020 年香港大学深圳医院产科分析报告了中国 102 例妊娠期李斯特菌感染病例，新生儿死亡率为 23%^[10]。此外，2015 年北京协和医院报告了 16 例妊娠相关李斯特菌病例^[11]，2021 年解放军总医院第六医学中心妇产科报告了 4 例妊娠晚期李斯特菌病例^[12]。经统计发现孕妇患李斯特菌病的风险很高，约是其他人群的 12–20 倍^[13]，且中国围产期病例要高于其他国家^[9]。

以上数据均说明，妊娠期患者是李斯特菌病的重点罹患人群，因此有必要深入了解妊娠期人群感染 LM 的机制，包括 LM 传播途径以及如何侵袭胎盘乃至感染胎儿的机制等。以期为建立一套针对孕妇人群较为完善的李斯特菌病预防和控制体系提供合理的理论依据，降低孕妇、胎儿以及新生儿感染 LM 的风险。

2 LM 垂直传播的生物学过程

妊娠期 LM 感染母体后垂直传播到胎儿，导致严重的妊娠并发症以及胎儿和新生儿感染^[14–15]。垂直传播是指亲代通过胎盘、哺乳或产道 3 种方式将病原体传给子代，其中经胎盘的垂直传播是 LM 感染孕妇及胎儿的主要方式^[16]。胎盘是由复杂的母体和胎儿组织构成的动态器官^[3]，其中，胎盘屏障是垂直传播的物理屏障，是胎儿血与母血进行物质交换的主要通信来源^[16]。如图 1 所示，孕妇摄入污染 LM 的食物后，LM 首先穿过肠道上皮屏障并转移到肠系膜淋巴结，之后到达肝和脾并建立病灶，并在血管中扩散，在子宫和胎盘内定殖；由于胎盘免疫耐受机制的存在，为 LM 的增殖提供了一个允许位点；来自胎盘中的细菌释放到血液中可能再次感染受孕母亲的脾脏和肝脏，从而使得感染持续性扩大^[2]。LM 入侵胎

盘后，会通过细胞间扩散作用进入到胎儿血液中，导致胎儿流产、死产或新生儿败血症等^[14]。Huang 等^[15]基于随机扩增多态性 DNA (randomly amplified polymorphic DNA, RAPD) 分子检测技术，发现一名妊娠期感染 LM 的妇女 (患有绒毛膜羊膜炎和微脓肿)，在其胎盘和新生儿血液中也存在相同菌株，为垂直传播提供了有力证据。Luo 等^[17]调查了一例产妇-新生儿李斯特菌病，通过全基因组测序 (whole genome sequencing, WGS) 发现新生儿血液中分离物与母体宫腔内分离物的基因组类型相同，表明 LM 通过垂直传播感染子代。Lamond 等^[14]采用小鼠、豚鼠、沙鼠和非人类灵长动物模型探究 LM 垂直传播途径，发现 LM 感染豚鼠子宫中的羊水后，经母体传播给胎儿，很少通过阴道定殖和水平感染传播。

非人类灵长类动物模型，如猕猴、食蟹猴等具有与人类相似的绒毛状血绒毛膜胎盘和侵入性绒毛外胎儿滋养层，有助于了解 LM 垂直传播的相关机制。Smith 等^[18]对妊娠期 30 d 内的 33 只猕猴，单次经口投与 10^2 – 10^{10} CFU/g 的 LM，其中 10 只猕猴出现死产，且从母亲粪便、胎盘、胎儿组织中分离出了相同的 LM 菌株。Wolfe 等^[19]研究处于妊娠晚期 4 只猕猴感染 LM 情况，发现两例在接种 LM (10^7 CFU/g) 后，出现自然流产，组织学证据显示母体和胎儿组织有明显的炎症反应。综上所述，LM 通过胎盘垂直传播到胎儿，且胎盘感染总是先于胎儿感染。此外，人类胎盘类器官的研究可能有助于理解 LM 垂直传播途径。Turco 等^[20]基于体外培养的方法，从人胎盘组织中衍生出滋养层类器官。同样，Haider 等^[21]基于纯化的孕早期滋养层细胞建立了人类滋养层类器官，这些类器官在一定的培养条件下能够自我更新和扩展。这些体外培养的滋养层类器官未来可能成为研究

单增李斯特菌经胎盘感染的新工具，为未来的人类胎盘病原体疾病建模以及深入研究 LM 感染胎盘的垂直传播机制提供了新的解决办法。

目前，已有许多动物模型被用于研究 LM 的垂直传播，包括豚鼠、小鼠、非人类灵长类动物和沙鼠等，这些模型虽各具优势，但仍无法全面了解 LM 对人类胎盘和胎儿的入侵。因此，深入探究 LM 垂直传播机制和途径对预防 LM 母婴传播十分重要。

3 LM 在胎盘中定殖及传播到胎儿相关机制

胎盘的生理结构影响 LM 入侵胎盘屏障感染胎儿^[22]。胎盘屏障由合体滋养细胞、滋养细胞基底膜、绒毛间质、毛细血管基底膜、毛细血管内皮细胞 5 部分组成。人体绒毛状胎盘，

母体血液从蜕膜（妊娠期子宫内膜）的螺旋动脉流入绒毛间隙，围绕着浮动绒毛（图 2A）。整个绒毛表面被一层连续的多核合体滋养层细胞（syncytiotrophoblast, STB）覆盖（图 2B），这些细胞是没有侧膜的多核合体，相比单细胞可以更好地阻碍有害微生物、化学物质等进入胎盘，是胎盘起到屏障作用的最主要细胞层；STB 下层是不连续的细胞滋养层细胞它们不断分裂，通过分化和融合产生 STB^[2]。除此之外，绒毛外滋养层细胞（extravillous trophoblast, EVT）是迁移性和侵袭性滋养层细胞，它们从绒毛末端逐渐侵入至母体蜕膜或母体螺旋血管内部（图 2B）^[23]。STB 和 EVT 都是 LM 定殖的主要目标，表现为：一是 LM 与母体血液接触，基于 LM 毒力因子的相互作用，其快速侵袭 STB，并通过胎盘干细胞最后穿过

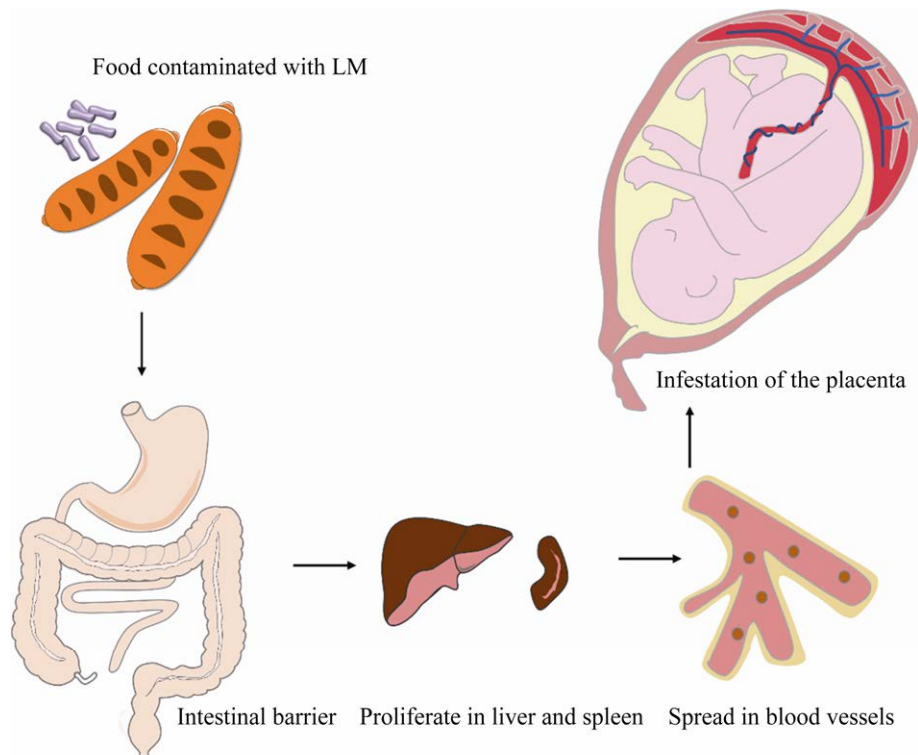


图 1 LM 经胎盘垂直传播路径

Figure 1 Vertical transmission of LM.

胎儿毛细血管内皮细胞进入胎儿血液；二是 LM 侵袭位于胎盘绒毛尖端 EVT 后快速扩散，到达胎盘绒毛核心感染胎儿^[2]。Johnson 等^[1]将 LM 通过腹腔注射接种于怀孕的小鼠体内，发现 LM 侵入胎盘并穿越胎盘屏障，随后在胎儿中增殖。Vigliani 和 Bakardjiev^[24]研究发现，在宿主细胞内存活的 LM 通过血液循环定殖于胎盘和胎儿。Wolf 等^[25]在猕猴妊娠早期 3 个月内单次注射 LM (10^7 CFU/g) 最终导致母体和胎儿感染，在感染后 7-13 d 内导致胎儿死亡，对采集的组织进行微生物分析后，发现基底蜕膜以及胎盘具有显著的细菌负荷 (1×10^8 CFU/g)，表明 LM 可在这些组织部位定殖。Robbins 等^[16]通过豚鼠模型，证明了只要 LM 定殖于胎盘，它即

可以作为感染源，反复感染母体。掌握 LM 在胎盘中的定殖规律，对预防 LM 感染十分重要。

大多数研究者使用 LM 感染孕期动物模型，发现 LM 可定殖于子宫、胎盘，但定殖的具体机制仍不明确。在此方面，笔者之一李卓思等^[26-27]也证实，构成胎盘屏障的 STB 和 EVT 细胞在功能、位置、毒力因子的受体蛋白种类都有显著差异。由于 EVT 和 STB 都是 LM 的定殖位点，未来可基于这些不同种类的胎盘细胞模型，探讨 LM 定殖周期、感染量、增殖效率的差异，并深入分析对不同胎盘细胞 LM 感染的分子机制，以及调查 LM 毒性及接种量对胎盘定殖的影响等。因此，LM 经胎盘定殖机制仍是未来重点研究方向之一。

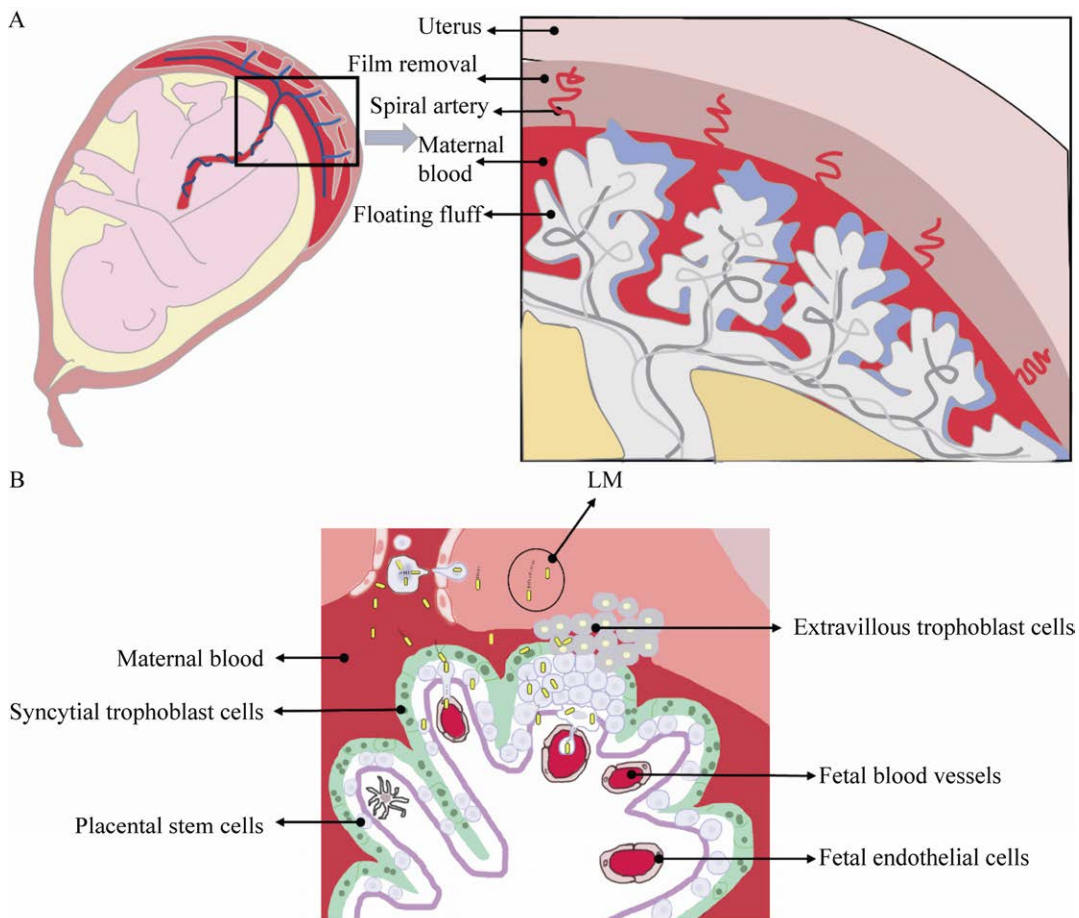


图 2 LM 感染胎盘示意图 根据文献[2]改绘

Figure 2 LM infection of the placenta. Redrawn according to the reference [2].

4 侵袭胎盘过程中 LM 毒力因子的作用

LM 感染胎盘的每一步均由特定的毒力因子负责，其中包括抵抗宿主体内环境、黏附并入侵宿主细胞、细胞内增殖以及细胞间扩散等相关毒力因子^[28]。LM 进入宿主细胞的过程中，会产生多种毒力因子^[29]，如图 3 所示，首先，LM 在其自身产生的蛋白内化素 A (internalin A, InlA) 和蛋白内化素 B (internalin B, InlB) 的作用下被宿主细胞摄入，并被限制

在液泡或吞噬体中；其次，液泡或吞噬体被 LM 分泌的李斯特菌溶血素 O (listeriolysin O, LLO) 破坏，LM 释放到宿主细胞质基质中；最后，通过肌动蛋白聚合蛋白 A (actin polymerizing protein, ActA) 形成肌动蛋白彗尾，诱导肌动蛋白单向聚合，产生细胞内运动所需的推动力并通过形成质膜突起将感染传播到邻近细胞，从而推动 LM 进入细胞质并使其在细胞间传播^[25]。LM 感染宿主细胞的主要毒力基因：溶血素基因 (hemolysin, *hly*)、白血病病毒增生致癌基因 (myeloproliferative leukemia virus oncogene, *mpl*)、

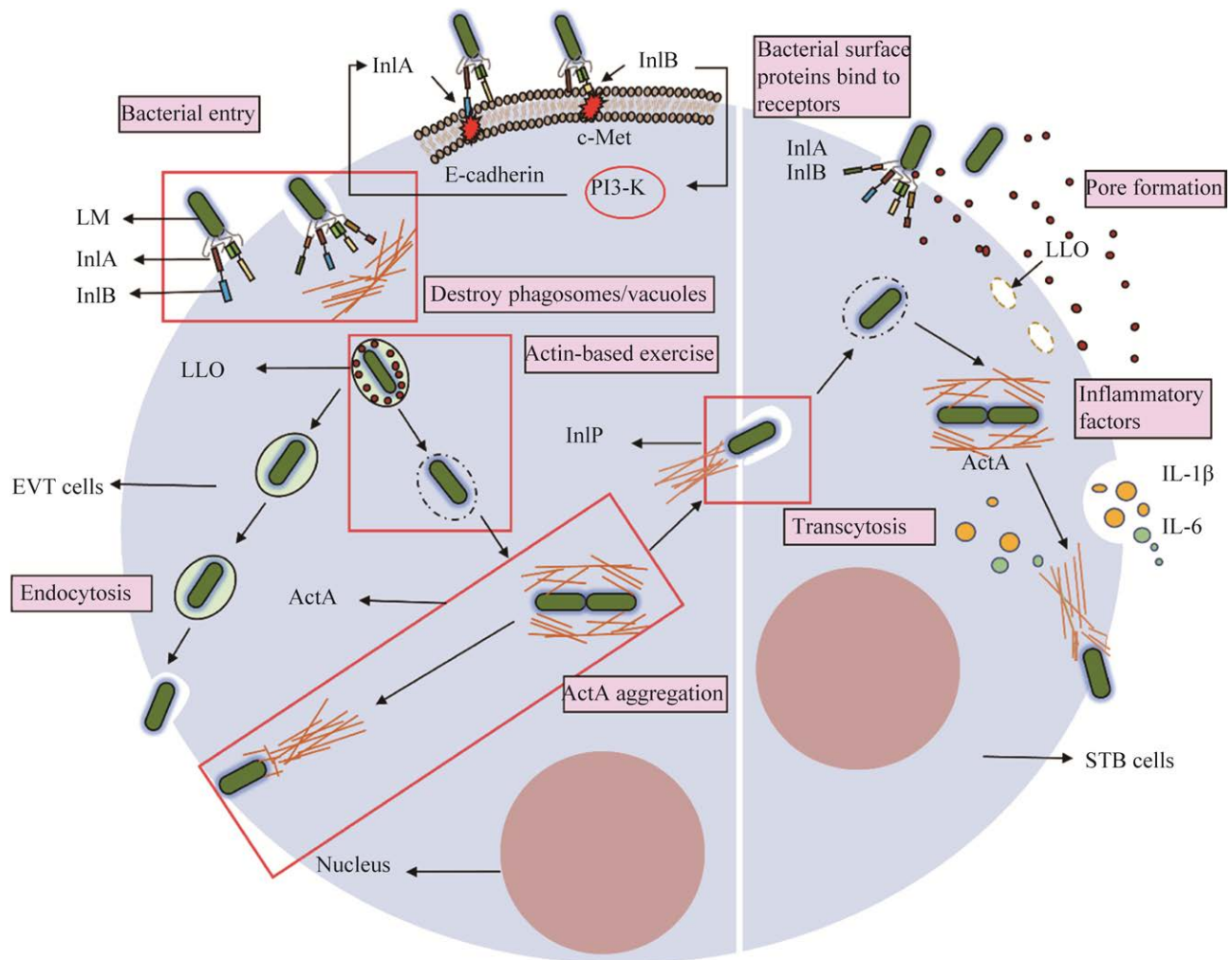


图 3 LM 毒力因子示意图 根据文献[33]改绘

Figure 3 LM virulence factors. Redrawn according to the reference [33].

ActA、InlA、和 InlB 等聚集在 LM 染色体上的两个不同基因座中与李斯特溶血素阳性调节因子 (positive regulatory factor A, *prfA*) 共同形成一个 9 kb 长的基因簇, 并由 *prfA* 特异性识别并与靶 DNA 结合控制毒力基因转录表达^[30]。Le Monnier 等^[31]采用高剂量的英诺克李斯特菌 (10^5 CFU/g、无毒、无溶血、不显示 *prfA* 的毒力基因) 通过静脉注射感染怀孕小鼠, 1 h 后, 胎盘被英诺克李斯特菌感染, 但是胎儿并未被感染; 而在野生型中, 当 LM 感染胎盘剂量达到 10^3 个细菌/孔时, 就会发生胎儿感染。Morrison 等^[32]用高毒力 LM (10^8 CFU/g) 静脉注射感染怀孕豚鼠后, 豚鼠胎盘中菌株丰度的变化比脾脏丰度更显著, 并发现高毒力菌株不仅可以感染胎盘, 且在胎盘内具有更高的丰度 (RA>1)。这些数据表明, 无毒力 LM 可感染胎盘, 却不能感染胎儿; 而有毒力 LM 之所以能经胎盘感染胎儿, 与其毒力因子的作用密不可分, 因此有必要探究 LM 与胎盘感染相关毒力因子的作用机制。目前研究显示与 LM 感染胎盘屏障相关的毒力因子主要是 LLO、InlA、InlB、InlP 和 ActA^[22]。

4.1 InlA 和 InlB

InlA 和 InlB 在 LM 黏附侵袭进入宿主细胞过程中起着重要作用^[29]。LM 内化素共有 25 个家族成员, 其家族是一组富含亮氨酸重复区域 (leucine-rich repeat, LRR), N 端含有信号肽的蛋白质^[34]。由于 InlA 和 InlB 具有受体特异性而成为了该家族最重要的家庭成员^[35]。InlA 可通过 C 端 LPXTG 基序共价锚定于 LM 细胞壁肽聚糖上, 并与 InlA 的唯一受体宿主细胞表面的 E-钙粘蛋白 (E-cadherin) 结合, 促进细菌锚定以及细菌内化 (细菌转化为含有病原体的液泡, 破坏宿主细胞)^[34]。研究显示, E-cadherin 和肌动蛋白细胞骨架之间的联系也很重要^[36]。

Lecuit 等^[37]基于体外实验使用一系列表达 E-cadherin 变体的稳定转染细胞系: 人绒毛膜肿瘤细胞 (BeWo) 和人原代滋养细胞培养物 (primary cultures of trophoblasts, PHTs) 探究 E-cadherin 的外显子结构域与肌动蛋白相互作用是否促进 InlA 介导的 LM 粘附以及侵入, 结果表明 E-cadherin-catenin 复合物能与肌动蛋白细胞骨架产生关联促使 InlA 介导 LM 进入宿主细胞。在表达 E-钙粘蛋白突变体的细胞中, 由于缺乏完整的细胞内结构域或 β -连环蛋白结合结构域, InlA 介导 LM 感染上皮细胞速率下降^[36]。InlB 在 LM 感染中也发挥着重要作用^[38]。InlA 介导的内化作用需磷酸化肌醇 3-激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3-K) 活化, 但 PI3-K 不能自主激活; 而 InlB 能激活 PI3-K 促进 InlA 发挥作用使 LM 跨越胎盘屏障^[39]。Gessain 等^[39]比较了 LM 对 BeWo 细胞、人肠道 LS174T 细胞以及小鼠胎盘中的感染, 发现肠道屏障表现出 PI3-K 活性, 则 InlB 缺失不影响 InlA 介导 LM 穿越肠道屏障; 相反, 胎盘屏障没有表现出 PI3-K 活性, InlA 需要依赖 InlB 激活 PI3-K 协助 LM 侵袭胎盘, 这为 InlA 和 InlB 对 LM 宿主屏障入侵提供了分子解释, 并揭示了 InlB 对 InlA 介导 LM 入侵中的关键作用。InlB 的受体不唯一, 包括宿主表面糖胺聚糖 (glycosaminoglycan, GAG)、干细胞生长因子受体 (hepatocyte growth factor, HGF)、酪氨酸激酶受体 c-Met 以及补体成分 C1q 受体 (gC1qR) 等^[40]。InlB 的 N 端 LRR 结合并激活 c-Met, 而 InlB 的 C 端 3 种甘氨酸 (glycine, G) 和色氨酸 (tryptophan, T) 重复区与细菌细胞壁的脂磷酸发生静电作用而非共价地滞留在 LM 细胞表面, 即 C 端可介导 InlB 与 LM 表面连接^[29]。InlB 可作为一种多功能的侵入素, InlB 与 c-Met 相互作用激活 STB 细胞中的 PI3-K 使 LM

进入 STB 细胞中, 并导致细胞中肌动蛋白骨架重排^[39]。LM 进入 STB 需要 InlB 激活 PI3-K, 而 EVT 能表达与 InlA 和 InlB 受体相关的 E-cadherin 和 c-Met^[4]。故 InlA 和 InlB 对 LM 定殖 STB 和 EVT, 跨过胎盘屏障发挥重要作用。

大量研究证实, InlA 与 InlB 是 LM 感染胎盘过程中介导细菌粘附并进入宿主细胞的重要毒力因子^[32,38,41]。Lecuit 等^[37]利用正常妊娠后从胎盘中获得的 PHTs 检测野生型 LM 以及 InlA 缺陷型的 LM 对 PHTs 的附着和内化能力, 发现表达 InlA 野生型菌株的附着和内化能力明显较高; 此外, 研究者将胎盘绒毛外植体暴露于野生型 LM 菌株及 InlA 缺陷型的 LM 等基因突变体中, 结果表明, 野生型 LM 对胎盘绒毛外植体附着及侵袭作用显著, 而感染突变体的外植体中未发现胎盘产生病变。以上结果表明, InlA 是 LM 跨越人类胎盘屏障重要的毒力因子。Bakardjiev 等^[42]证实了 InlA 在 LM 感染 PHTs 和 BeWo 细胞中的重要性, 然而, 在动物模型中 InlA 在胎盘中黏附和侵袭的作用还存在争议, 怀孕小鼠和能正常表达 E-cadherin 转基因小鼠中 InlA 介导 LM 侵入胎盘作用不显著。Phelps 等^[29]用野生型、LLO 缺陷、InlA 缺陷或 InlB 缺陷的 LM (10^6 CFU/g) 在 37 °C 条件下感染 BeWo 细胞 30 min, 发现 InlA 和 LLO 的联合作用提高了 LM 对宿主细胞的侵袭效率, 但未观察到 InlB 介导的 LM 对 BeWo 细胞的侵袭, 由此实验菌株可能没有产生足够量的 InlB 促进 LM 侵入, InlB 的表达水平决定了 InlB 介导的 LM 内化作用, 即 InlB 表达量越高 LM 侵袭能力越强。相关研究表明^[22,29], InlA 和 InlB 的互作将会促进 LM 突破母胎屏障, 但是对于 InlA 和 InlB 协作能力尚不明确, 推测可能由于 InlA 和 InlB 处于相同的操纵子中, 故它们蛋白的表达处于协同调控中, 这种调控作用促进了

InlA 和 InlB 的侵袭能力。

如上所述, 这些研究强调了 InlA 和 InlB 作为毒力因子的重要性以及 InlA 和 InlB 存在的协同作用, 但有关 InlA 和 InlB 相互作用的机理尚不清楚。同时, 由于 InlA 和 InlB 针对不同宿主细胞, 结合不同的受体蛋白, 也需要探索 InlA 和 InlB 与胎盘感染相关宿主细胞受体结合作用以及结合效率等。由上述文献可知, InlA 能与其他毒性因子如 LLO 有联合作用, 但未来仍需要更为系统地解析 InlA、InlB 与其他毒性因子之间的协同作用。

4.2 LLO

LLO 是 LM 跨越胎盘屏障并感染胎儿过程中不可或缺的毒力因子之一^[29]。LLO 由 529 个残基组成, 它的 N 端有 25 个残基长信号序列^[43]。LLO 由 *hly* 基因编码, 受 *prfA* 基因调控, 是胆固醇依赖型细胞溶解素 (cholesterol-dependent cytolysins, CDCs) 家族中的一员, 其家族是细菌成孔毒素 (pore-forming toxin, PFT) 里最大的组成家族^[43]。LLO 是其家族中独特的一员, 这是因为它是由细胞内病原体分泌, 而其他 CDC 成员都由细胞外病原体产生^[44]。Schnupf 等^[41]通过替换由 *hly* 基因编码的核苷酸序列使 LLO 包含的 3 个核苷酸替换, 发现编码 LLO 的核苷酸序列小变化和同义变化都会改变蛋白质序列, 导致 LLO 的细胞毒性、毒力丧失和过度产生。Le Monnier 等^[31]使用 LLO 缺陷型 LM 突变体感染怀孕豚鼠, 发现 LLO 缺陷型突变体不能逃脱被感染细胞的吞噬体区域, 并且不能在滋养层细胞组织中生长并侵入胎儿。Phelps 等^[29]也得到相似的结果, 使用 LLO 缺陷型 LM 感染小鼠胎盘滋养层细胞, 发现 LM 无法跨越胎盘屏障感染胎儿。上述结果表明 LLO 是 LM 经胎盘传播到胎儿的重要毒力因子。

LLO 的作用机制与其他 PFT 成员相似, 由

细菌分泌出的水溶性毒素单体被巯基活化后,能与宿主细胞膜结构的胆固醇结合,通过低聚化在宿主细胞膜表面形成直径为 25–40 nm 的膜穿孔^[43]。Czuczman 等^[45]发现在感染的早期阶段,细胞外 LM 分泌的 LLO 会穿透宿主细胞质膜。Myers 等^[46]采用活细胞成像技术发现,在感染过程中 LLO 在吞噬体膜的诱导下形成许多小的膜穿孔。LM 的感染进程还受到 LLO 活性的影响,缺乏 LLO 活性时,李斯特菌病小鼠模型中细菌的毒力衰减了 5 个对数值^[43]。LLO 活性,受到细胞内环境以及多种信号肽支配。如 LLO 需要信号肽 (signal sequence, Sec) 分泌系统分泌蛋白 SecD、SecF 以及经过翻译后产生的分泌产物 PrsA2S 的维持和调节,它们对 LLO 介导的 LM 穿越宿主细胞膜结构有促进作用^[43]。LLO 活性也受到相关信号肽酶 (signal peptidase Z, SipZ) 的影响, SipZ 的缺失影响 LLO 的分泌,使 LM 穿越宿主细胞膜结构的速率降低^[44]。另外, LLO 活性受到吞噬细胞酸化的影响,在 pH 值为 5.5 时, LLO 活性最强,这可能意味着吞噬细胞的酸化是 LLO 活化的必要条件^[43]。Köster 等^[47]发现 LLO 活性在中性 pH 下受到抑制,吞噬体逃逸也被减弱。LLO 的活性也被其氧化性限制, Myers 等^[46]采用活性氧基团 (reactive oxygen species, ROS) 和活性氮基团 (reactive nitrogen species, RNS) 处理 LLO,发现 LLO 的氧化失活限制了其在吞噬体中的活性影响了 LM 从吞噬体逃逸。

LLO 是 LM 感染过程中最关键的侵袭因子,缺乏 LLO 的细菌突变体在液泡逃逸和细菌复制方面会产生缺陷,另外, LLO 活动还受到 LM 的调节以及宿主细胞的影响^[45]。LLO 表达量和稳定性对 LM 逃逸存在影响, LLO 表达量被抑制时, LM 感染宿主细胞的能力也随之降低,低表达量 LLO 的 LM 突变菌株不能逃逸吞

噬体; LLO 缺失或 LLO 特异性中和抗体处理下, LM 从吞噬体中的逃逸受到抑制,无法进行复制和扩增^[29]。LLO 的稳定性受到宿主蛋白酶的影响,从而影响 LM 的感染能力^[43]。Schnupf 等^[41]发现在野生型 LM 感染期间,通过阻断宿主蛋白酶功能,使得 LM 侵染宿主细胞能力降低。在 LM 感染的过程中, LLO 在胞外及胞内都大量表达,因此 LLO 从很多部位影响宿主细胞,在细胞外介质、吞噬体内和细胞质等环境中, LLO 都可以发挥一些重要功能,促使 LM 感染宿主细胞^[29]。Li 等^[44]发现 LLO 的缺失可明显抑制 LM 的逃逸,降低细菌的致病性。LLO 可作为一种凋亡分子,对小鼠皮下注射纯化的 LLO, LLO 引起的细胞应激反应可能会导致脾脏淋巴细胞凋亡^[47]。LLO 是一种有效的信号分子,当细胞受到表达 LLO 的细菌攻击或外源性添加 LLO 时,哺乳动物细胞会引发多种细胞免疫反应,例如:脾脏淋巴细胞、T 细胞和树突状细胞凋亡以及炎性细胞因子上调等^[43,47]。

目前对 LLO 在宿主细胞中的毒力作用和分子机制,已经研究得较为深入,基于对 LLO 的研究模式,也可探讨其他毒力因子表达量、稳定性、活性、宿主蛋白酶以及细胞内环境对 LM 感染的影响。目前有关 LLO 的研究多数集中于探讨 LLO 如何使 LM 破坏吞噬体并从吞噬体逃逸的作用机制,但是基于胎盘细胞或组织,未来仍需深入系统地研究 LLO 在 LM 侵袭胎盘中的作用,以及 LLO 与其他毒力因子的相互协同作用。

4.3 ActA

ActA 是 LM 最关键和表征最清楚的毒力因子之一^[47]。ActA 是一种含有 640 个氨基酸的跨膜蛋白,是 LM 表面暴露的蛋白质,它能诱导细胞中肌动蛋白骨架重排和聚合^[31]。ActA 通

过模仿宿主综合征蛋白 (Wiscott-Aldrich syndrome protein, WASP) 招募 Arp2/3 肌动蛋白成核复合物粘附细菌表面, 刺激肌动蛋白聚合, 导致 LM 肌动蛋白彗尾的形成^[48]。除了肌动蛋白外, 管蛋白也被 ActA 招募到与 LM 相关的彗星尾上, 为细胞间的有效传播作出贡献^[49]。ActA 在感染宿主细胞过程中, 形成肌动蛋白彗尾推动 LM 细胞内移动并形成突起, 被邻近的细胞吞噬同时解析成双膜空泡, 能使 LM 摆脱自噬并招募肌动蛋白聚合复合物, 促进 LM 基于肌动蛋白的运动、在细胞间扩散和宿主组织内传播^[50]。在豚鼠和小鼠模型中, LM 感染 STB 后依赖 ActA 在细胞间扩散并促进 LM 跨越胎盘屏障^[31]。Le Monnier 等^[31]使用 *ActA* 基因缺失的 LM 菌株感染怀孕小鼠, 该菌株是一种毒性减弱的突变株不能聚合肌动蛋白并在细胞间传播, 结果显示胎儿的感染被限制和延迟。在小鼠模型中, ActA 使 LM 穿过 EVT 和 STB, 并在 STB 诱发感染性病灶, 表明 ActA 介导的细胞间扩散对 LM 向胎儿垂直传播起重要作用^[31]。Bakardjiev 等^[42]通过建立妊娠豚鼠感染模型, 比较了不表达 ActA 的 LM 突变体与野生型 LM, 发现不表达 ActA 的 LM 菌株毒力比野生型 LM 菌株低 1 000 倍, 在感染过程中, 野生型 LM 在妊娠期豚鼠宿主细胞间传播效率更快, 证明 ActA 促进了 LM 在宿主细胞间传播。Köster 等^[47]发现删除 *ActA* 基因的 LM 对其他 4 种上皮细胞系: 人结肠腺癌细胞系 (human colon adenocarcinoma cell line, Caco-2)、宫颈癌细胞系 (Henrietta Lacks, HeLa)、犬肾上皮连续细胞系 (Mdck cell lines, Mdck) 和非洲绿猴肾细胞 (vero) 的侵袭力显著降低 (达 174 倍)。此外, 近期研究表明, LM 通过 ActA 干扰细胞周期进程, 延缓有丝分裂从而延长有丝分裂的持续时间, 推测这可能是与 ActA 驱动宿主细胞

染色体的错位有关^[49]。

目前相关研究表明, ActA 在 LM 经胎盘垂直传播的过程中起到不可或缺的作用。但针对 ActA 介导 LM 感染胎盘分子机制方面还有待完善, 如: ActA 介导细胞扩散的作用位点、ActA 与其他毒力因子的协同性以及 ActA 细胞外功能等。虽然, ActA 已被证明可以协助 LM 干扰宿主细胞周期, 但是干扰有丝分裂进展是否有利于 LM 侵入宿主细胞、延长有丝分裂对宿主细胞的长期影响仍未确定、ActA 活动是否会为 LM 带来副作用尚不明确, ActA 未来还需要基于人体胎盘模型进一步探究其生物学属性。

4.4 InlP

InlP 是一种新型的 LM 毒力因子, 是促使 LM 对胎盘具有较强倾向性的重要蛋白质^[51]。InlP 是内化素蛋白家族中的分泌蛋白, 具有独特的晶体结构, 包括独特 Ca^{2+} 结合位点扩展的 LRR 结构域和一个分泌 N 端的信号序列, 与肝、脾、非妊娠子宫、小肠和肠系膜淋巴结感染相比, InlP 在胎盘感染中尤为重要, InlP 的缺失会损害 LM 在宿主细胞内的生长和繁殖, 影响 LM 侵袭胎盘的效率^[38]。Faralla 等^[51]通过在怀孕的豚鼠和小鼠中使用转座子插入 InlP, 发现 InlP 赋予 LM 对豚鼠和小鼠强烈的胎盘侵袭倾向, 而对其他器官影响力很小; 并且使用不表达 InlP 的 LM 感染小鼠后, 发现 LM 侵袭胎儿的能力减弱。InlP 的主要合作伙伴是宿主细胞胞质蛋白 (afadin), InlP-afadin 相互作用可以促进 LM 的转胞吞作用, 顺利地完细胞间的传播^[52]。在 InlP 缺失的突变体菌株中, 由于其不能与丝状肌动蛋白相互作用形成蛋白抗体, 无法完成转胞吞作用影响 LM 侵袭胎盘^[52]。

因此, 这些研究表明, InlP 在破坏滋养层和进入胎儿基质方面可能发挥重要作用, 但相比其他毒力因子, InlP 的稳定性、表达量、活

性、InlP-afadin 复合体的作用机制等相关研究仍比较匮乏, 还需要进一步广泛而深入的研究。

通过上述对 LM 毒性因子的调查研究发现, 由于人体胎盘模型的缺乏, 导致深入研究 LM 毒性因子的作用机制仍存在着一定的局限。目前, 已有很多动物模型可用于研究 LM 对胎盘的侵袭作用, 除了动物模型, 不少研究基于体外人体胎盘癌细胞系, 如最常用的 BeWo 细胞系, 试图得到一些有用的结论。但是笔者之一李卓思等^[53]通过比较胎盘绒毛膜癌来源的 BeWo 细胞和人体原代胎盘干细胞发现, 尽管 BeWo 细胞操作简单且易增殖, 但由于这些癌细胞的恶性迁移和转化作用, 与人体正常的胎盘干细胞相比, 在滋养层合体细胞 STB 细胞的形态和功能、E-cadherin 的表达以及建立胎盘屏障后药物透过率等方面都存在诸多差异。除此之外, 基于单一细胞系也很难得到适用于人体胎盘整体的结论, 肠道屏障、体内环境以及胎盘屏障自身的复杂细胞构成都影响了 LM 毒力因子作用的发挥。李卓思等^[54]也建立了体外胎盘芯片模型, 在这些体外模型中使用了胎盘细胞作为母体侧、胎儿脐带血管内皮细胞作为胎儿侧, 基质细胞作为中间隔断, 相比单一细胞系能更精准地反映胎盘屏障整体的功能。类似地, 也有不少研究者使用胎盘细胞、血管内皮细胞、在模拟基质上构建的体外胎盘芯片模型被报道^[55]。未来应用诸如此类模型深入探讨 LM 毒力因子的作用, 可能有助于得到更接近人体的结论。

4.5 LM 相关的炎症反应

LM 感染孕妇, 可导致宿主产生炎症反应。LM 可激活 AIM2 (absent in melanoma 2)、NLRC4 (NLR family, CARD domain containing 4) 和 NLRP3 (nucleotide-binding domain leucine-rich Repeat 3) 等炎症小体的组装, 并诱导激活促炎性半胱氨酸蛋白酶 caspase-1, 以及重要

促炎性细胞因子如多功能细胞因子 (interleukin-1 β , IL-1 β) 和白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6) 等的成熟和分泌^[56]。对于孕妇, 这些过度的炎症反应对身体造成很大伤害。在 LM 感染胎盘过程中, 它导致胎盘屏障大面积受损、STB 退化, 并产生相关炎症反应, 诱导流产发生。STB 在炎性体活性的影响下释放 IL-1 β , 增强 LM 的感染, Cérulo-Vázquez 等^[57]将处于妊娠中期人类胎盘中绒毛膜绒毛分离, 并用 LM 感染绒毛 24 h, 通过细胞因子谱分析确定了 9 种细胞因子, 发现诱导最多的细胞因子是 IL-1 β , IL-1 β 比对照组平均上调 20 倍, IL-1 β 的释放能够促进 LM 的感染。LM 感染胎盘绒毛激活趋化因子 CXCL9 产生炎症反应, Chaturvedi 等^[58]发现 LM 感染胎盘产生炎症反应是由巨噬细胞和炎症中性粒细胞产生的趋化因子 CXCL9 引起的, 趋化因子 CXCL9 产生的炎症反应提升产前感染概率, 且这些巨噬细胞和炎症中性粒细胞使特异性 T 细胞浸润到蜕膜中对胎儿产生不良影响。

这些数据表明, LM 在感染胎盘的过程中会刺激宿主产生炎症反应, 进一步研究炎症有关的细胞因子分泌是否促进或抑制 LM 感染胎盘, 有助于理解与围产期相关的炎症反应。

5 总结与展望

综上所述, 探究 LM 侵袭胎盘致流产、垂直传播机制以及 LM 的一系列毒力因子对理解胎盘和胎儿感染的潜在机制十分重要。在感染过程中, InlA 和 InlB 分别与表面受体 E-cadherin 和 c-Met 相互作用, 促进 LM 进入宿主细胞。此时 LM 分泌 LLO 破坏吞噬体, 并允许 LM 逃逸到细胞质中。ActA 模仿宿主肌动蛋白聚合机制来促进运动, 允许细胞间的扩散。

InlP 促进 LM 的转胞吞作用。

近年来, 虽然对 LM 毒力因子研究较多, 但是 LM 侵袭胎盘相关毒力因子缺乏系统研究。如垂直传播的分子机制尚不明确, 但该问题有望通过建立更贴近人体的体内动物模型或体外细胞模型以模拟垂直传播过程而解决; 其次, LM 定殖胎盘虽有不少研究表明其相关机制但未能精准定位 LM 传播路径, 这说明 LM 定殖的具体机制、定殖周期以及增殖效率还有待研究; 最后, 几种毒力因子的关系以及功能方面尚存争议, 尤其是 InlA 和 InlB 在黏附与侵袭滋养层细胞方面存在争议、InlB 表达量影响 LM 侵袭 EVT 和 STB 还有待深入研究; LLO 逃逸机制方面虽研究较为深入, 但基于胎盘组织的侵入尚不清楚; ActA 以及 InlP 侵袭胎盘机制研究较少, 应在此基础上进行扩展。另外, 笔者研究团队基于全基因组分析发现, 不同菌株的 LM 拥有的毒力因子也不一致, 因此有必要分析不同来源的包括食品源和临床源的 LM 菌株其毒力因子在 LM 经胎盘感染过程中的作用。目前还需要继续研究与探索的方向, 展望如下: (1) 胎盘是病原体的屏障, 而在怀孕期间胎盘环境发生了复杂变化, 所以应该进一步研究 LM 侵袭胎盘的病理生理学和决定因素; (2) InlA 能够联合 LLO 提高 LM 入侵宿主细胞的效率, 可进一步探究其他毒力因子是否存在联合作用促进 LM 入侵以及是否存在新的毒力因子影响 LM 入侵; (3) 基于临床来源菌株, 分析其相关毒力因子以及进行基因测序探讨其对 EVT 和 STB 的侵袭效率; (4) 从胎盘屏障受损乃至合体滋养层细胞退化来分析引发的相关炎症反应及其机制; (5) 基于更为合适的人类体外胎盘模型, 更为系统地评价 LM 毒力因子的相关作用机制。

REFERENCES

[1] Johnson LJ, Azari S, Webb A, et al. Human placental

trophoblasts infected by *Listeria monocytogenes* undergo a pro-inflammatory switch associated with poor pregnancy outcomes. *Front Immunol*, 2021, 12: 709466.

[2] Vázquez-Boland JA, Kryptou E, Scotti M. *Listeria* placental infection. *mBio*, 2017, 8(3): e00949-e00917.

[3] 易笑, 刘凡, 陈枫, 等. 人脐带和胎盘不同层次间充质干细胞的生物学特性分析. *生物工程学报*, 2022, 38(3): 1183-1196.

Yi X, Liu F, Chen F, et al. Biological characteristics analysis of mesenchymal stem cells at different levels of human umbilical cord and placenta. *Chin J Biotech*, 2022, 38(3): 1183-1196(in Chinese).

[4] Wadhwa Desai R, Smith MA. Pregnancy-related listeriosis. *Birth Defects Res*, 2017, 109(5): 324-335.

[5] Girard D, Leclercq A, Laurent E, et al. Pregnancy-related listeriosis in France, 1984 to 2011, with a focus on 606 cases from 1999 to 2011. *Euro Surveill*, 2014, 19(38): 20909.

[6] Sapuan S, Kortsalioudaki C, Anthony M, et al. Neonatal listeriosis in the UK 2004-2014. *J Infect*, 2017, 74(3): 236-242.

[7] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Vital signs: *Listeria* illnesses, deaths, and outbreaks—United States, 2009-2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2013, 62(22): 448-452.

[8] Wilking H, Lachmann R, Holzer A, et al. Ongoing high incidence and case-fatality rates for invasive listeriosis, Germany, 2010-2019. *Emerg Infect Dis*, 2021, 27(9): 2485-2488.

[9] Chen SS, Meng FZ, Sun XW, et al. Epidemiology of human listeriosis in China during 2008-2017. *Foodborne Pathog Dis*, 2020, 17(2): 119-125.

[10] 吴婷, 颜伟卉, 罗力冰, 等. 国内 102 例妊娠合并李斯特菌感染的临床分析. *临床医药文献电子杂志*, 2020, 7(52): 9-11.

Wu T, Yan WH, Luo LB, et al. Clinical analysis of 102 cases of pregnancy complicated with *Listeria* infection in China. *Electron J Clin Med Lit*, 2020, 7(52): 9-11 (in Chinese).

[11] 王澎, 陈颖茜, 王焕玲, 等. 妊娠期李斯特菌病 16 例临床分析. *中华内科杂志*, 2015, 54(9): 763-767.

Wang P, Chen Y(Q/X), Wang HL, et al. A clinical analysis of 16 patients with maternal listeriosis. *Chin J Intern Med*, 2015, 54(9): 763-767 (in Chinese).

[12] 王晶, 尹善德. 妊娠晚期李斯特菌病 4 例临床分析. *人民军医*, 2021, 64(9): 899-901, 914.

Wang J, Yin SD. Clinical analysis of 4 cases of listeriosis in late pregnancy. *People's Mil Surg*, 2021,

- 64(9): 899-901, 914 (in Chinese).
- [13] Mylonakis E, Paliou M, Hohmann EL, et al. Listeriosis during pregnancy: a case series and review of 222 cases. *Medicine*, 2002, 81(4): 260-269.
- [14] Lamond NM, Freitag NE. Vertical transmission of *Listeria monocytogenes*: probing the balance between protection from pathogens and fetal tolerance. *Pathogens*, 2018, 7(2): 52.
- [15] Huang YT, Chen SU, Wu MZ, et al. Molecular evidence for vertical transmission of listeriosis, Taiwan. *J Med Microbiol*, 2006, 55(11): 1601-1603.
- [16] Robbins JR, Skrzypczynska KM, Zeldovich VB, et al. Placental syncytiotrophoblast constitutes a major barrier to vertical transmission of *Listeria monocytogenes*. *PLoS Pathog*, 2010, 6(1): e1000732.
- [17] Luo LJ, Chen X, Payne M, et al. Case report: whole genome sequencing based investigation of maternal-neonatal listeriosis in Sichuan, China. *BMC Infect Dis*, 2019, 19(1): 893.
- [18] Smith MA, Takeuchi K, Anderson G, et al. Dose-response model for *Listeria monocytogenes*-induced stillbirths in nonhuman primates. *Infect Immun*, 2008, 76(2): 726-731.
- [19] Wolfe B, Kerr AR, Mejia A, et al. Sequelae of fetal infection in a non-human primate model of listeriosis. *Front Microbiol*, 2019, 10: 2021.
- [20] Turco MY, Gardner L, Kay RG, et al. Trophoblast organoids as a model for maternal-fetal interactions during human placentation. *Nature*, 2018, 564(7735): 263-267.
- [21] Haider S, Meinhardt G, Saleh L, et al. Self-renewing trophoblast organoids recapitulate the developmental program of the early human placenta. *Stem Cell Reports*, 2018, 11(2): 537-551.
- [22] 李文艳, 陈滢滢, 刘纯甫, 等. 单增李斯特菌感染致妊娠失败的研究进展. *生命科学*, 2020, 32(6): 614-620.
- Li WY, Chen YY, Liu CF, et al. Research progress on pregnancy failure induced by *Listeria monocytogenes* infection. *Chin Bull Life Sci*, 2020, 32(6): 614-620 (in Chinese).
- [23] Okae H, Toh H, Sato T, et al. Derivation of human trophoblast stem cells. *Cell Stem Cell*, 2018, 22(1): 50-63.e6.
- [24] Vigliani MB, Bakardjiev AI. Intracellular organisms as placental invaders. *Fetal Matern Med Rev*, 2014, 25(3/4): 332-338.
- [25] Wolfe B, Wiepz GJ, Schotzko M, et al. Acute fetal demise with first trimester maternal infection resulting from *Listeria monocytogenes* in a nonhuman primate model. *mBio*, 2017, 8(1): e01938-e01916.
- [26] Li ZS, Kurosawa O, Iwata H. Establishment of human trophoblast stem cells from human induced pluripotent stem cell-derived cystic cells under micromesh culture. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 245.
- [27] Li ZS, Kurosawa O, Iwata H. Development of trophoblast cystic structures from human induced pluripotent stem cells in limited-area cell culture. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 505(3): 671-676.
- [28] Lee SM. Bacteriocins of *Listeria monocytogenes* and their potential as a virulence factor. *Toxins*, 2020, 12(2): 103.
- [29] Phelps CC, Vadia S, Arnett E, et al. Relative roles of listeriolysin O, InlA, and InlB in *Listeria monocytogenes* uptake by host cells. *Infect Immun*, 2018, 86(10): e00555-e00518.
- [30] Gaballa A, Guariglia-Oropeza V, Wiedmann M, et al. Cross talk between SigB and PrfA in *Listeria monocytogenes* facilitates transitions between extra- and intracellular environments. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2019, 83(4): e00034-e00019.
- [31] Le Monnier A, Autret N, Join-Lambert OF, et al. ActA is required for crossing of the fetoplacental barrier by *Listeria monocytogenes*. *Infect Immun*, 2007, 75(2): 950-957.
- [32] Morrison HA, Lowe D, Robbins JR, et al. *In vivo* virulence characterization of pregnancy-associated *Listeria monocytogenes* infections. *Infect Immun*, 2018, 86(11): e00397-e00318.
- [33] Radoshevich L, Cossart P. *Listeria monocytogenes*: towards a complete picture of its physiology and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol*, 2018, 16(1): 32-46.
- [34] Nightingale KK, Ivy RA, Ho AJ, et al. inlA premature stop codons are common among *Listeria monocytogenes* isolates from foods and yield virulence-attenuated strains that confer protection against fully virulent strains. *Appl Environ Microbiol*, 2008, 74(21): 6570-6583.
- [35] Charlier C, Disson O, Lecuit M. Maternal-neonatal listeriosis. *Virulence*, 2020, 11(1): 391-397.
- [36] Bonazzi M, Lecuit M, Cossart P. *Listeria monocytogenes* internalin and E-cadherin: from bench to bedside. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2009, 1(4): a003087.
- [37] Lecuit M, Nelson DM, Smith SD, et al. Targeting and

- crossing of the human maternofetal barrier by *Listeria monocytogenes*: role of internalin interaction with trophoblast E-cadherin. PNAS, 2004, 101(16): 6152-6157.
- [38] Ireton K, Mortuza R, Gyanwali GC, et al. Role of internalin proteins in the pathogenesis of *Listeria monocytogenes*. Mol Microbiol, 2021, 116(6): 1407-1419.
- [39] Gessain G, Tsai YH, Travier L, et al. PI₃-kinase activation is critical for host barrier permissiveness to *Listeria monocytogenes*. J Exp Med, 2015, 212(2): 165-183.
- [40] Jonquières R, Pizarro-Cerdá J, Cossart P. Synergy between the N- and C-terminal domains of InlB for efficient invasion of non-phagocytic cells by *Listeria monocytogenes*. Mol Microbiol, 2001, 42(4): 955-965.
- [41] Schnupf P, Hofmann J, Norseen J, et al. Regulated translation of listeriolysin O controls virulence of *Listeria monocytogenes*. Mol Microbiol, 2006, 61(4): 999-1012.
- [42] Bakardjiev AI, Stacy BA, Portnoy DA. Growth of *Listeria monocytogenes* in the Guinea pig placenta and role of cell-to-cell spread in fetal infection. J Infect Dis, 2005, 191(11): 1889-1897.
- [43] 王政, 张闻桐, 吴美娇, 等. 单增李斯特菌溶血素 O 的功能研究进展. 微生物学杂志, 2020, 40(4): 98-104. Wang Z, Zhang WT, Wu MJ, et al. Advances in function of *Listeria monocytogenes* listeriolysin O (LLO). J Microbiol, 2020, 40(4): 98-104 (in Chinese).
- [44] Li G, Wang GZ, Li M, et al. Morin inhibits *Listeria monocytogenes* virulence *in vivo* and *in vitro* by targeting listeriolysin O and inflammation. BMC Microbiol, 2020, 20(1): 112.
- [45] Czuczman MA, Fattouh R, Van Rijn JM, et al. *Listeria monocytogenes* exploits efferocytosis to promote cell-to-cell spread. Nature, 2014, 509(7499): 230-234.
- [46] Myers JT, Tsang AW, Swanson JA. Localized reactive oxygen and nitrogen intermediates inhibit escape of *Listeria monocytogenes* from vacuoles in activated macrophages. J Immunol, 2003, 171(10): 5447-5453.
- [47] Köster S, Pee KV, Hudel M, et al. Crystal structure of listeriolysin O reveals molecular details of oligomerization and pore formation. Nat Commun, 2014, 5: 3690.
- [48] Costa AC, Pinheiro J, Reis SA, et al. *Listeria monocytogenes* interferes with host cell mitosis through its virulence factors InlC and ActA. Toxins, 2020, 12(6): 411.
- [49] Costa AC, Carvalho F, Cabanes D, et al. Stathmin recruits tubulin to *Listeria monocytogenes*-induced actin comets and promotes bacterial dissemination. Cell Mol Life Sci, 2019, 76(5): 961-975.
- [50] Dowd GC, Mortuza R, Ireton K. Molecular mechanisms of intercellular dissemination of bacterial pathogens. Trends Microbiol, 2021, 29(2): 127-141.
- [51] Faralla C, Rizzuto GA, Lowe DE, et al. InlP, a new virulence factor with strong placental tropism. Infect Immun, 2016, 84(12): 3584-3596.
- [52] Faralla C, Bastounis EE, Ortega FE, et al. *Listeria monocytogenes* InlP interacts with afadin and facilitates basement membrane crossing. PLoS Pathog, 2018, 14(5): e1007094.
- [53] Li ZS, Kurosawa O, Iwata H. A comparative study of key physiological stem cell parameters between three human trophoblast cell lines. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 525(4): 1038-1045.
- [54] Li ZS, Kurosawa O, Iwata H. A novel human placental barrier model based on trophoblast stem cells derived from human induced pluripotent stem cells. Tissue Eng Part A, 2020, 26(13/14): 780-791.
- [55] Pemathilaka RL, Reynolds DE, Hashemi NN. Drug transport across the human placenta: review of placenta-on-a-chip and previous approaches. Interface Focus, 2019, 9(5): 20190031.
- [56] Megli C, Morosky S, Rajasundaram D, et al. Inflammasome signaling in human placental trophoblasts regulates immune defense against *Listeria monocytogenes* infection. J Exp Med, 2021, 218(1): e20200649.
- [57] Cébulo-Vázquez A, Figueroa-Damián R, Arriaga-Pizano LA, et al. Pregnant women infected with pandemic H1N1pdm 2009 influenza virus displayed overproduction of peripheral blood CD69⁺ lymphocytes and increased levels of serum cytokines. PLoS One, 2014, 9(9): e107900.
- [58] Chaturvedi V, Ertelt JM, Jiang TT, et al. CXCR3 blockade protects against *Listeria monocytogenes* infection-induced fetal wastage. J Clin Invest, 2015, 125(4): 1713-1725.

(本文责编 郝丽芳)