



专论与综述

## 布鲁氏菌毒力因子研究进展

文志<sup>1</sup> 韩艳秋<sup>\*1</sup> 王俊瑞<sup>2</sup>

1 内蒙古医科大学附属医院血液科 内蒙古 呼和浩特 010050

2 内蒙古医科大学附属医院检验科 内蒙古 呼和浩特 010050

**摘要:** 布鲁氏菌是一种革兰氏阴性、兼性胞内寄生菌,可引起人畜共患病布鲁氏菌病。布鲁氏菌致病机制复杂,可通过表达多种毒力因子等方式躲避或抑制宿主免疫系统的攻击并发挥其对机体的致病效应,实现其在宿主体内的长期存活。因此,布鲁氏菌病易转化为慢性感染。本文对目前已发现的多种布鲁氏菌毒力因子相关研究进展进行综述,以期进一步认识布鲁氏菌病的致病机理,为布鲁氏菌病防治提供参考。

**关键词:** 布鲁氏菌病, 毒力因子, 免疫逃避

## Virulence factors of *Brucella*: a review

WEN Zhi<sup>1</sup> HAN Yanqiu<sup>\*1</sup> WANG Junrui<sup>2</sup>

1 Department of Hematology, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia 010050, China

2 Department of Laboratory, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia 010050, China

**Abstract:** *Brucella* is a Gram-negative, intracellular parasitic bacterium that can cause zoonosis-brucellosis. The pathogenic mechanism of *Brucella* is complex. *Brucella* can evade or inhibit the attack of host immune system and exert its pathogenic effect on the body by expressing a variety of virulence factors, so as to achieve its long-term survival in the host. Therefore, brucellosis is easy to transform into chronic infection. This paper reviews the research progress of a variety of virulence factors of brucellosis, in order to further understand the pathogenic mechanism of brucellosis and provide reference for the prevention and treatment of brucellosis.

**Keywords:** brucellosis, virulence factors, immune evasion

**Foundation items:** Natural Science Foundation of Inner Mongolia Autonomous Region (2015MS08119); Science and Technology Plan of Inner Mongolia Autonomous Region in 2016 (201602093); Scientific Research Project of Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University (NYFYB2014010)

**\*Corresponding author:** E-mail: qyh101@sina.com

**Received:** 27-05-2020; **Accepted:** 09-07-2020; **Published online:** 15-10-2020

**基金项目:** 内蒙古自治区自然科学基金(2015MS08119); 2016 年内蒙古自治区科技计划(201602093); 内蒙古医科大学附属医院科研项目(NYFYB2014010)

**\*通信作者:** E-mail: qyh101@sina.com

**收稿日期:** 2020-05-27; **接受日期:** 2020-07-09; **网络首发日期:** 2020-10-15

布鲁氏菌病(Brucellosis, 简称布病)是由布鲁氏菌(*Brucella*)感染所致的全球性人畜共患传染性疾病。1886年, David Bruce 从马耳他地区死亡士兵体内分离获取了布鲁氏菌<sup>[1]</sup>。布鲁氏菌病缺乏特异的临床表现, 常见临床表现包括发热、寒战、乏力、关节、肌肉、腰背部游走性疼痛等, 可伴有肝、脾、淋巴结肿大。布鲁氏菌可侵犯宿主多个系统; 由于临床表现各异, 该病易由急性感染转为慢性感染<sup>[2]</sup>。目前全球 170 多个国家报道了布鲁氏菌病。对于人布鲁氏菌病暂无非常有效的疫苗, 动物布鲁氏菌病疫苗的安全性和有效性仍存在不足之处, 需要进一步改良或优化。我们的实验研究结果显示, 呼和浩特地区分离的人源布鲁氏菌主要为羊种 1 型和 3 型, 毒力基因分布特征相近, 部分克隆株存在流行趋势, 流行机制值得进一步探究<sup>[3]</sup>。

## 1 病原学特征

布鲁氏菌为革兰氏阴性杆菌, 无荚膜、鞭毛, 不释放外毒素, 为兼性胞内寄生菌。从 20 世纪 60 年代至今已发现布鲁氏菌属分为 12 个种 25 个生物型, 人类对各种属普遍易感, 其中羊布鲁氏菌(3 个生物型)致病性最强, 猪布鲁氏菌(5 个生物型)感染后有化脓倾向, 牛布鲁氏菌(8 个生物型)致病性较弱<sup>[4]</sup>。布鲁氏菌有特殊的细胞膜结构, 主要包括脂多糖、外膜蛋白和脂质蛋白等<sup>[5]</sup>。

## 2 主要毒力因子

布鲁氏菌的毒力因子主要包括脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)、IV 型分泌系统(Type Four Secretion Systems, T4SS)、外膜蛋白(Outer Membrane Proteins, OMP)、双组分调控系统(Two-Component System, TCS)和超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)等<sup>[6]</sup>。

### 2.1 脂多糖

LPS 是革兰氏阴性菌细胞膜的主要成分之一, 也是其内毒素的主要成分。由于布鲁氏菌 LPS 免

疫原性较弱, 激活补体途径和 B 细胞的能力较弱, 从而使布鲁氏菌激活宿主产生较弱的免疫反应, 使其能顺利侵入靶细胞并存活、繁殖<sup>[7]</sup>。LPS 突变布鲁氏菌株对补体杀伤和多粘菌素 B 敏感性明显增加<sup>[8]</sup>。LPS 的结构包括核心多糖、O 多糖和类脂 A。与常见肠道菌群的典型 LPS 比较, 布鲁氏菌 LPS 表现出较低的活性和毒性<sup>[7]</sup>。布鲁氏菌没有典型 LPS, 如流产布鲁氏菌类脂 A 具有二氨基葡萄糖主链(而不是氨基葡萄糖), 酰基长(C18-C19 而不是 C12-C14), 仅通过酰胺键而不是酯酰胺键与核心多糖相连<sup>[9]</sup>, 由于非典型的结构使布鲁氏菌 LPS 成为一种特殊的毒力因子。由于布鲁氏菌病原相关分子模式缺乏特异性, 使布鲁氏菌病原相关分子模式无法被模式识别受体识别, 进而使宿主的免疫应答减弱<sup>[10]</sup>。布鲁氏菌的 LPS 有 2 种形式: 光滑型(Smooth, S 型)和粗糙型(Rough, R 型), R 型没有 O 侧链或者 O 侧链含量少; 布鲁氏菌的 R 型比 S 型毒力弱, 逃避机体免疫系统的能力较弱<sup>[11]</sup>。布鲁氏菌侵入宿主细胞的早期阶段, S 型 LPS 发挥关键作用。据推测, S 型 LPS 与巨噬细胞表面脂筏相互作用, 通过一种特殊途径侵入宿主细胞, 并能躲避溶酶体融合<sup>[7]</sup>。在布鲁氏菌侵入宿主细胞和早期生存中, S 型 LPS 及其 O 侧链起重要作用<sup>[12]</sup>, 布鲁氏菌侵入宿主后, 布鲁氏菌在前期酸性环境中形成囊泡, 称为布氏小体(Brucella-Containing Vacuole, BCV), 成为布鲁氏菌相对安全的生存环境; 布鲁氏菌 O 多糖与肿瘤坏死因子相互作用影响宿主细胞凋亡, 因此, 坏死细胞不会释放特殊因子来激活宿主免疫系统, 使布鲁氏菌逃避免疫系统监测<sup>[13]</sup>。

### 2.2 IV 型分泌系统

T4SS 是布鲁氏菌重要的毒力因子, 并在毒力因子分泌过程中发挥重要作用。T4SS 是由 VirB 操纵子编码的一种多蛋白复合物家族<sup>[14]</sup>。VirB1-VirB12 蛋白参与布鲁氏菌囊泡的发育, 布鲁氏菌侵入和寄生宿主细胞内往往利用 T4SS<sup>[15]</sup>;

T4SS 的核心部分由 VirB7、VirB8 和 VirB10 相互作用构成, T4SS 作为横跨细菌外膜和内膜的通道; VirB 蛋白通过分泌毒力效应蛋白至宿主细胞内, 干扰正常细胞内信号传导, 进而使病原体逃避免疫监测<sup>[16]</sup>。VirB 操纵子会依据环境的变化激活 T4SS 的转录; 宿主胞内酸化是诱导 VirB 操纵子的重要信号, 表明 T4SS 是布鲁氏菌感染早期酸性环境下所激活的; T4SS 在胞内转运中起重要作用, 参与调节布鲁氏菌从吞噬体到内质网的转运, VirB 缺失突变体不能与内质网相互作用, 进而被溶酶体消灭<sup>[17]</sup>。可见 VirB 参与阻止吞噬体和溶酶体相互融合, 有利于布鲁氏菌在宿主胞内存活。BCV 与内质网(Endoplasmic Reticulum, ER)互相融合, 形成一种与内质网相关的特殊细胞器<sup>[18]</sup>, 有利于布鲁氏菌在宿主细胞内繁殖; VirB 突变体不能获得与 ER 融合的标志物, 所以在吞噬体被溶解<sup>[19]</sup>。T4SS 和一种宿主细胞因子 Sar1 有利于布鲁氏菌获取 ER 膜, 具体机理不详。T4SS 除了参与 BCV 的胞内转运, 还参与宿主的免疫应答, 并且影响细菌的外膜特性<sup>[20]</sup>。

### 2.3 外膜蛋白

OMP 是布鲁氏菌重要的毒力因子, 同时在免疫性和保护性抗原方面发挥作用<sup>[21]</sup>。20 世纪 80 年代发现了布鲁氏菌 OMP, 根据大小分为 3 组<sup>[22]</sup>: (1) 外膜蛋白与布鲁氏菌细胞膜的构成有关, 在结构稳定性方面具有重要作用, 包括 OMP10、OMP19 蛋白; (2) 外膜蛋白与布鲁氏菌的膜孔有关, 参与营养物质运输, 主要是指 OMP2 蛋白; (3) 外膜蛋白主要参与构成布鲁氏菌外膜结构, 主要是指 OMP25、OMP31。OMP25 和 OMP31 有利于维持布鲁氏菌抗原和细胞结构完整性<sup>[23]</sup>, 有一定的免疫原性和抗原保护作用; OMP31 与布鲁氏菌摄取铁密切相关<sup>[24]</sup>。OMP25 在布鲁氏菌结构、感染和致病过程中发挥重要作用; 同时, OMP25 参与布鲁氏菌激活人绒毛膜滋养层细胞(Mitogen-Activated Protein Kinase, MAPK)信号通路, 利于其在宿主细胞中的存活<sup>[25]</sup>。研究表明,

OMP10 或 OMP19 基因缺失突变使布鲁氏菌毒力减弱, 外膜结构发生改变; 在布鲁氏菌的不同物种、生物型中 OMP25 基因高度保守, 可见 OMP25 与布鲁氏菌在宿主细胞内存活、复制中扮演重要角色; OMP25 基因缺失突变体感染小鼠的毒力明显减弱, 证明 OMP25 与布鲁氏菌的毒力密切相关; 此外, OMP25 蛋白还能够抑制宿主机体对 TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ )的分泌, 有利于布鲁氏菌的胞内存活<sup>[26]</sup>。

### 2.4 双组分调控系统

TCS 主要参与调控布鲁氏菌感知和处理环境信号, 是重要的毒力调控系统, 在稳定细胞内环境中必不可少<sup>[27]</sup>。其组成包括组氨酸激酶传感器(BvrS)和细胞质反应调节因子(BvrR), BvrR 主要参与调控布鲁氏菌外膜稳态; 该系统由组氨酸蛋白激酶(Histidine Protein Kinase, HK)和反应调控蛋白(Response Regulatory Protein, RR)组成<sup>[28]</sup>。布鲁氏菌在酸性和营养限制条件下会激活 TCS, 通过 BvrR 的磷酸化, 使 BvrR 激活<sup>[29]</sup>。HK 蛋白的组氨酸残基发生磷酸化, 然后将磷酸基团传递给 RR 蛋白的天冬氨酸残基, 进而激活 RR 蛋白, 激活的 RR 蛋白具有调控靶基因表达的功能; RR 蛋白调控的靶基因在细菌的代谢、分裂、运输等过程中发挥重要作用; TCS 调控了细菌生存繁殖相关的多个过程, 有利于细菌的生存; BvrR/BvrS 可影响 OMP25 和 OMP22 等蛋白质的表达, 并影响 LPS 的结构(特别是类脂 A 的脂肪酸)<sup>[30]</sup>。实验证实 BvrR/BvrS 系统在多种布鲁氏菌中是高度保守的, 与其毒力密切相关; 布鲁氏菌 BvrR/BvrS 突变株感染靶细胞的能力减弱, 使吞噬体与溶酶体融合的能力增强<sup>[31]</sup>。此外, BvrR/BvrS 还影响 VirB 操纵子及其转录因子 VjbR 的表达水平, BvrR/BvrS 在与宿主细胞相互作用的前期被激活; 实验证明 BvrR-P/VjbR/VirB 毒力通路在体外激活, 使布鲁氏菌摆脱了巴伐洛霉素的抑制作用, 证明 BvrR-P/VjbR/VirB 毒力通路与布鲁氏菌在宿主细胞内存活和繁殖密切相关<sup>[32]</sup>。总之, 布鲁

氏菌通过 BvrR/BvrS 感知并调节从细胞外到细胞内的环境变化, 从而使布鲁氏菌顺利到达复制位。

## 2.5 环 $\beta$ -1,2 葡聚糖(Cyclic $\beta$ -1,2-Glucans, C $\beta$ G)

胞质渗透调节葡聚糖(Osmoregulated Periplasmic Glucans, OPGs)是革兰氏阴性菌外膜的主要组成成分, 共有 4 个家族。OPGs 缺乏突变株会使病原体的趋化性、运动能力发生变化, 使细胞膜的稳定性降低; 然而布鲁氏菌的 C $\beta$ G 属于 OPG 第 2 家族, 缺失 C $\beta$ G 突变布鲁氏菌株在早期吞噬体中被溶酶体消灭<sup>[33]</sup>。布鲁氏菌 C $\beta$ G 通过脂筏与宿主细胞膜相互作用, 可防止 BCV 被溶酶体融合, 利用一种新的胞内转运途径进一步与内质网相互作用, 营造细菌繁殖的特殊环境<sup>[34]</sup>。表明布鲁氏菌的 C $\beta$ G 与毒力因子相关。

## 2.6 应激反应蛋白

吞噬细胞内环境不利于大部分病原体的存活, 它们为了适应巨噬细胞内恶劣环境而选择性诱导了很多应激反应蛋白。目前发现, 在布鲁氏菌中重要的应激反应蛋白包括胞质蛋白分子伴侣、周质蛋白酶、超氧化物歧化酶、重组调节蛋白等。其中, SOD 与布鲁氏菌毒力密切相关<sup>[35]</sup>。目前已发现有 3 种 SOD, 即铜、锌、铁超氧化物歧化酶(Cu, Zn, Fe, Superoxide Dismutases, Cu-SOD、Zn-SOD 和 Fe-SOD), 在细菌中 Cu-SOD、Fe-SOD 多见, 但 Zn-SOD 少见, 而布鲁氏菌具有 Zn-SOD<sup>[36]</sup>。实验证明, 宿主细胞限制布鲁氏菌胞内复制的机制中活性氧中间体(Reactive Oxygen Intermediate, ROIs)起关键作用<sup>[37]</sup>。很多病原体在抵御 ROIs 的伤害方面都有特殊机制, 如利用过氧化氢酶、过氧化物酶和超氧化物歧化酶等直接解毒的酶。SOD 可催化超氧化物( $O_2^-$ )分解为过氧化氢( $H_2O_2$ )和氧气( $O_2$ ); 在羊和猪布鲁氏菌中发现了 2 个编码 SOD 的基因, Fe-Gu 协同 SOD 可在氧代谢中发挥解毒作用, 而 Gu-Zn 协同的 SOD 在巨噬细胞呼吸暴发中具有保护作用; 布鲁氏菌 Gu-Zn 超氧化物歧化酶突变株

对小鼠具有减毒作用<sup>[38]</sup>。

## 2.7 密度感应系统(Quorum Sensing System, QSs)

QSs 通过依赖细胞密度来进行细胞间信号传递, 通过该系统细菌可以产生毒力因子、适应环境等。QSs 作为总体调控系统, 参与很多基因的表达, 例如 GntR、VjbR 等转录调控子的表达<sup>[39-40]</sup>。布鲁氏菌中也有 QSs。研究表明, QSs 参与调控 VirB 的表达, 是布鲁氏菌重要的毒力基因调控子。TCS 调控细菌个体与环境的关系, 而 QSs 可从整体水平调控细菌。目前发现的 VjbR 和 BlxR 这 2 个转录调控子与 QSs 相关, 并且与布鲁氏菌毒力密切相关。

## 3 逃避宿主免疫反应

布鲁氏菌以“隐形”模式感染宿主机体, 即: 可以干扰免疫系统, 然后逃避宿主细胞免疫监测, 最终导致长期感染<sup>[41]</sup>。布鲁氏菌利用特殊策略可抵抗和逃避吞噬细胞的杀伤作用, 并能调节宿主免疫应答。布鲁氏菌的致病机制关键在于能够在专职吞噬细胞中存活、复制和持续性感染<sup>[42]</sup>。侵入宿主细胞后布鲁氏菌能够驻留在 BCV 中, 成为布鲁氏菌安全的复制环境, 从而避免吞噬体与溶酶体融合; 后期 BCV 通过多种策略转运到达内质网后, 布鲁氏菌在内质网的保护下可以逃避宿主免疫系统的监测和吞噬细胞的有效杀灭, 从而在内质网提供的安全复制环境中长期存活; 当病原体感染宿主时, 机体能够迅速发现入侵的病原体, 并诱导初始炎症反应来控制疾病; 宿主先天免疫系统通过不同病原体的病原相关分子模式进行识别, 在宿主细胞上有不同的受体, 包括细胞膜样受体(TLRs)或胞浆样受体(NLRs), 这些受体具有检测细菌特有产物的能力, 例如 LPS、OMP 等; 布鲁氏菌利用特殊机制逃避 TLRs 和 NLRs 的检测, 在胞内持续感染<sup>[10]</sup>。此外, LPS 的非典型结构也限制了 TLR4 的识别。布鲁氏菌 LPS 具有抵抗补体 C3 聚集作用, 从而阻止 C3a 和 C5a 的产生; 研究表明, 布鲁氏菌鞭毛素缺乏受体识别过

程中重要的结构域,所以能够逃避 TLR5 的检测;TLR4、TLR2和TLR9均参与了布鲁氏菌的感染<sup>[43]</sup>。布鲁氏菌基因组编码了一种含有 Toll-白介素-1 受体(TIR)的蛋白,即 Btp1/BtpA 和 TcpB;TLR2 和 TLR4 需要 BtpA/TcpB 降解 MyD88 适配器;BtpA/TcpB 能够抑制树突状细胞的成熟和促炎细胞因子的产生,从而使布鲁氏菌持续感染;布鲁氏菌效应蛋白 BtpB 比 BtpA 具有更强的 TLR 信号拮抗剂活性,同时干扰 MyD88 依赖的信号转导;同时,布鲁氏菌 T4SS、C $\beta$ G 和主要外膜蛋白影响树突状细胞成熟及抗原递呈<sup>[44]</sup>。

#### 4 毒力因子在布鲁菌检测及治疗药物研发中的应用

在布鲁氏菌病的检测和治疗中,诊断方法和疫苗发挥着重要作用。布鲁氏菌的外膜蛋白即是毒力因子,也可作为布病血清学诊断中重要工具。由于布鲁氏菌缺乏经典毒力因子,相关免疫蛋白、细胞成分可能成为检测布鲁氏菌和相关疫苗研发的重要物质。布鲁氏菌 VirB12 蛋白是一种细胞表面蛋白,能在动物感染过程中诱导产生抗体,可作为血清学诊断的潜在靶点。研究表明重组 VirB12 蛋白与布鲁氏菌患者血清有较强的免疫反应,与目前临床使用的 ELISA 试剂盒相关, VirB12 蛋白参与的 ELISA 检测的准确性、特异性、敏感性、阴性预测值和阳性预测值分别为 90.0%、94.0%、87.8%、80.0% 和 96.6%,表明 VirB12 蛋白具有抗原性,可用于人布病诊断的候选靶点<sup>[45]</sup>。通过研究具有诊断意义的膜蛋白,有望为布鲁氏菌病提供敏感、特异的诊断方法。其中,重组牛种布鲁氏菌 544 苹果酸脱氢酶蛋白在牛种布鲁氏菌病血清学诊断中具有潜在的应用价值<sup>[46]</sup>。用重组外膜蛋白 2b (OMP2b)和铜锌超氧化物歧化酶(Cu, Zn Superoxide Dismutases, Cu-Zn SOD)分别作用小鼠后,小鼠的 IgG、IFN- $\gamma$  和 IL-4 水平明显增加,而 OMP2b 免疫小鼠产生的 IgG 和 IgM 明显高于 SODC<sup>[47]</sup>。这 2 种蛋白可能具有潜在的无脂

多糖蛋白的诊断价值。OMP25 是布鲁菌重要毒力因子,在激活丝裂原活化蛋白激酶信号通路过程中起重要作用<sup>[28]</sup>。实验结果显示,布鲁氏菌分离株对 WHO 推荐的治疗布鲁氏菌病的抗菌药物体外实验普遍敏感;定期评估布鲁氏菌对抗菌药物的敏感性有助于进行流行病学调查及抗菌药物耐药性监测<sup>[48]</sup>。敏感性和特异性高的诊断方法将有助于布鲁氏菌病的早期诊断及治疗。

#### 5 总结与展望

布鲁氏菌主要利用其毒力因子在宿主细胞内生存和繁殖。布鲁氏菌具有特殊的策略,能在宿主细胞内持续感染。感染宿主早期,布鲁氏菌通过逃避机体的免疫应答,进入宿主靶向细胞,在胞内改变自身膜结构来适应恶劣环境、避免被溶酶体融合,存活的布鲁氏菌在胞内运输到内质网进行繁殖。宿主细胞内酸性环境、营养限制等环境可以刺激布鲁氏菌毒力相关基因,使其在胞内顺利运输,并使宿主细胞失去抗原提呈能力,抵抗宿主细胞凋亡。布鲁氏菌毒力因子在感染机体过程中相互协同,但目前对毒力因子如何使机体致病机制的研究尚有不足,随着分子学、基因组学的不断发展,有望发现新的毒力因子、毒力基因,可为布鲁氏菌病的早期诊断和新型疫苗的研发提供新的思路。

#### REFERENCES

- [1] Seleem MN, Boyle SM, Sriranganathan N. *Brucella*: a pathogen without classic virulence genes[J]. Veterinary Microbiology, 2008, 129(1/2): 1-14
- [2] Shang DQ. Recent advances in epidemiological studies of brucellosis[J]. Chinese Journal of Epidemiology, 1998, 19(2): 107-110 (in Chinese)  
尚德秋. 布鲁氏菌病流行病学研究现状[J]. 中华流行病学杂志, 1998, 19(2): 107-110
- [3] Wang YY, Zhou LL, Liu ZG, Han YQ, Cui BY, Guo SF, Wang JR. Molecular epidemiological characteristics of human derived *Brucella* isolated in Hohhot[J]. Chinese Journal of Endemiology, 2017, 36(11): 806-811 (in Chinese)  
王艳艳, 周鹿蕾, 刘志国, 韩艳秋, 崔步云, 郭素芳, 王俊瑞. 呼和浩特地区分离人源布鲁菌的分子流行病学特征分析[J]. 中华地方病学杂志, 2017, 36(11): 806-811

- [4] Olsen SC, Palmer MV. Advancement of knowledge of *Brucella* over the past 50 years[J]. Veterinary Pathology, 2014, 51(6): 1076-1089
- [5] Zhang HX, Sun XM, Wei K, Liu N, Wang YJ, Xu YL, Zhu L. A review on brucellosis[J]. Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science Edition), 2018, 49(3): 402-407 (in Chinese)  
张海霞, 孙晓梅, 魏凯, 刘娜, 王玉建, 徐煜琳, 朱琳. 布鲁氏菌病的研究进展[J]. 山东农业大学学报: 自然科学版, 2018, 49(3): 402-407
- [6] Xiao YR. Research progress on virulence factors of *Brucella*[J]. Graziery Veterinary Sciences, 2019(16): 51-52 (in Chinese)  
肖延仁. 布鲁氏菌毒力因子研究进展[J]. 畜牧兽医科学, 2019(16): 51-52
- [7] Lapaque N, Moriyon I, Moreno E, Gorvel JP. *Brucella* lipopolysaccharide acts as a virulence factor[J]. Current Opinion in Microbiology, 2005, 8(1): 60-66
- [8] Salmon-Divon M, Kornspan D. Transcriptomic analysis of smooth versus rough *Brucella melitensis* Rev.1 vaccine strains reveals insights into virulence attenuation[J]. International Journal of Medical Microbiology, 2020, 310(1): 151363
- [9] Lalsiamthara J, Lee JH. *Brucella* lipopolysaccharide reinforced *Salmonella* delivering *Brucella* immunogens protects mice against virulent challenge[J]. Veterinary Microbiology, 2017, 205: 84-91
- [10] Zhao Y, Hanniffy S, Arce-Gorvel V, Conde-Alvarez R, Oh S, Moriyón I, Mémet S, Gorvel JP. Immunomodulatory properties of *Brucella melitensis* lipopolysaccharide determinants on mouse dendritic cells *in vitro* and *in vivo*[J]. Virulence, 2018, 9(1): 465-479
- [11] Smith JA. *Brucella* lipopolysaccharide and pathogenicity: the core of the matter[J]. Virulence, 2018, 9(1): 379-382
- [12] Mancilla M. Smooth to rough dissociation in *Brucella*: the missing link to virulence[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2016, 5: 98
- [13] Velásquez LN, Milillo MA, Delpino MV, Trotta A, Fernández P, Pozner RG, Lang R, Balboa L, Giambartolomei GH, Barrionuevo P. *Brucella abortus* down-regulates MHC class II by the IL-6-dependent inhibition of CIITA through the downmodulation of IFN regulatory factor-1 (IRF-1)[J]. Journal of Leukocyte Biology, 2017, 101(3): 759-773
- [14] O'Callaghan D, Cazevieuille C, Allardet-Servent A, Boschirolu ML, Bourg G, Foulongne V, Frutos P, Kulakov Y, Ramuz M. A homologue of the *Agrobacterium tumefaciens* VirB and *Bordetella pertussis* Ptl type IV secretion systems is essential for intracellular survival of *Brucella suis*[J]. Molecular Microbiology, 1999, 33(6): 1210-1220
- [15] Lacerda TLS, Salcedo SP, Gorvel JP. *Brucella* T4SS: the VIP pass inside host cells[J]. Current Opinion in Microbiology, 2013, 16(1): 45-51
- [16] Köhler S, Foulongne V, Ouahrani-Bettache S, Bourg G, Teyssier J, Ramuz M, Liautard JP. The analysis of the intramacrophagic virulome of *Brucella suis* deciphers the environment encountered by the pathogen inside the macrophage host cell[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2002, 99(24): 15711-15716
- [17] Band VI, Weiss DS. Mechanisms of antimicrobial peptide resistance in Gram-negative bacteria[J]. Antibiotics (Basel), 2015, 4(1): 18-41
- [18] Hayek I, Berens C, Lührmann A. Modulation of host cell metabolism by T4SS-encoding intracellular pathogens[J]. Current Opinion in Microbiology, 2019, 47: 59-65
- [19] Del Giudice MG, Döhmer PH, Spera JM, Laporte FT, Marchesini MI, Czibener C, Ugalde JE. VirJ is a *Brucella* virulence factor involved in the secretion of type IV secreted substrates[J]. Journal of Biological Chemistry, 2016, 291(23): 12383-12393
- [20] Celli J, Salcedo SP, Gorvel JP. *Brucella* coopts the small GTPase Sar1 for intracellular replication[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102(5): 1673-1678
- [21] Sidhu-Muñoz RS, Sancho P, Vizcaíno N. *Brucella ovis* PA mutants for outer membrane proteins Omp10, Omp19, SP41, and BepC are not altered in their virulence and outer membrane properties[J]. Veterinary Microbiology, 2016, 186: 59-66
- [22] Cloeckaert A, Kerkhofs P, Limet JN. Antibody response to *Brucella* outer membrane proteins in bovine brucellosis: immunoblot analysis and competitive enzyme-linked immunosorbent assay using monoclonal antibodies[J]. Journal of Clinical Microbiology, 1992, 30(12): 3168-3174
- [23] Verdiguél-Fernández L, Oropeza-Navarro R, Basurto-Alcántara FJ, Castañeda-Ramírez A, Verdugo-Rodríguez A. Omp31 plays an important role on outer membrane properties and intracellular survival of *Brucella melitensis* in murine macrophages and HeLa cells[J]. Archives of Microbiology, 2017, 199(7): 971-978
- [24] Delpino MV, Cassataro J, Fossati CA, Goldbaum FA, Baldi PC. *Brucella* outer membrane protein Omp31 is a haemin-binding protein[J]. Microbes and Infection, 2006, 8(5): 1203-1208
- [25] Zhang J, Zhang Y, Li ZQ, Liu J, Shao XH, Wu CX, Wang Y, Wang KS, Li TS, Liu LZ, et al. Outer membrane protein 25 of *Brucella* activates mitogen-activated protein kinase signal pathway in human trophoblast cells[J]. Frontiers in Veterinary Science, 2017, 4: 197
- [26] Luo XM, Zhang XJ, Wu XC, Yang XF, Han C, Wang ZY, Du Q, Zhao XM, Liu SL, Tong DW, et al. *Brucella* downregulates tumor necrosis factor- $\alpha$  to promote intracellular survival via Omp25 regulation of different microRNAs in porcine and murine macrophages[J]. Frontiers in Immunology, 2018, 8: 2013
- [27] López-Goñi I, Guzmán-Verri C, Manterola L, Sola-Landa A, Moriyón I, Moreno E. Regulation of *Brucella* virulence by the two-component system BvrR/BvrS[J]. Veterinary Microbiology, 2002, 90(1/4): 329-339
- [28] Viadas C, Rodríguez MC, Sangari FJ, Gorvel JP,

- García-Lobo JM, López-Goñi I. Transcriptome analysis of the *Brucella abortus* BvrR/BvrS two-component regulatory system[J]. PLoS One, 2010, 5(4): e10216
- [29] Altamirano-Silva P, Meza-Torres J, Castillo-Zeledón A, Ruiz-Villalobos N, Zuñiga-Pereira AM, Chacón-Díaz C, Moreno E, Guzmán-Verri C, Chaves-Olarte E. *Brucella abortus* senses the intracellular environment through the BvrR/BvrS two-component system, which allows *B. abortus* to adapt to its replicative niche[J]. Infection and Immunity, 2018, 86(4): e00713-17
- [30] Guzmán-Verri C, Manterola L, Sola-Landa A, Parra A, Cloeckaert A, Garin J, Gorvel JP, Moriyón I, Moreno E, López-Goñi I. The two-component system BvrR/BvrS essential for *Brucella abortus* virulence regulates the expression of outer membrane proteins with counterparts in members of the *Rhizobiaceae*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2002, 99(19): 12375-12380
- [31] Li Z, Fu Q, Wang Z, Li T, Zhang H, Guo F, Wang Y, Zhang J, Chen C. TceSR two-component regulatory system of *Brucella melitensis* 16M is involved in invasion, intracellular survival and regulated cytotoxicity for macrophages[J]. Letters in Applied Microbiology, 2015, 60(6): 565-571
- [32] Martínez-Núñez C, Altamirano-Silva P, Alvarado-Guillén F, Moreno E, Guzmán-Verri C, Chaves-Olarte E. The two-component system BvrR/BvrS regulates the expression of the type IV secretion system VirB in *Brucella abortus*[J]. Journal of Bacteriology, 2010, 192(21): 5603-5608
- [33] Guidolin LS, Arce-Gorvel V, Ciocchini AE, Comerci DJ, Gorvel JP. Cyclic  $\beta$ -glucans at the bacteria-host cells interphase: one sugar ring to rule them all[J]. Cellular Microbiology, 2018, 20(6): e12850
- [34] Głowacka P, Żakowska D, Naylor K, Niemcewicz M, Bielawska-Drózd A. *Brucella*: virulence factors, pathogenesis and treatment[J]. Polish Journal of Microbiology, 2018, 67(2): 151-161
- [35] Pratt AJ, DiDonato M, Shin DS, Cabelli DE, Bruns CK, Belzer CA, Gorringe AR, Langford PR, Tabatabai LB, Kroll JS, et al. Structural, functional, and immunogenic insights on Cu, Zn superoxide dismutase pathogenic virulence factors from *Neisseria meningitidis* and *Brucella abortus*[J]. Journal of Bacteriology, 2015, 197(24): 3834-3847
- [36] Martin DW, Baumgartner JE, Gee JM, Anderson ES, Roop II RM. SodA is a major metabolic antioxidant in *Brucella abortus* 2308 that plays a significant, but limited, role in the virulence of this strain in the mouse model[J]. Microbiology, 2012, 158(7): 1767-1774
- [37] Gee JM, Valderas MW, Kovach ME, Grippe VK, Robertson GT, Ng WL, Richardson JM, Winkler ME, Roop II RM. The *Brucella abortus* Cu, Zn superoxide dismutase is required for optimal resistance to oxidative killing by murine macrophages and wild-type virulence in experimentally infected mice[J]. Infection and Immunity, 2005, 73(5): 2873-2880
- [38] Das AB, Sadowska-Bartosch I, Königstorfer A, Kettle AJ, Winterbourn CC. Superoxide dismutase protects ribonucleotide reductase from inactivation in yeast[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2018, 116: 114-122
- [39] Liu YF, Sun JL, Peng XW, Dong H, Qin YM, Shen QC, Jiang H, Xu GL, Feng Y, Sun SJ, et al. Deletion of the LuxR-type regulator VjbR in *Brucella canis* affects expression of type IV secretion system and bacterial virulence, and the mutant strain confers protection against *Brucella canis* challenge in mice[J]. Microbial Pathogenesis, 2020, 139: 103865
- [40] Li ZQ, Wang SL, Zhang H, Zhang JL, Xi L, Zhang JB, Chen CF. Transcriptional regulator GntR of *Brucella abortus* regulates cytotoxicity, induces the secretion of inflammatory cytokines and affects expression of the type IV secretion system and quorum sensing system in macrophages[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2017, 33(3): 60
- [41] Amjadi O, Rafiei A, Mardani M, Zafari P, Zarifian A. A review of the immunopathogenesis of brucellosis[J]. Infectious Diseases, 2019, 51(5): 321-333
- [42] Byndloss MX, Tsois RM. *Brucella* spp. virulence factors and immunity[J]. Annual Review of Animal Biosciences, 2016, 4: 111-127
- [43] Wilson RP, Winter SE, Spees AM, Winter MG, Nishimori JH, Sanchez JF, Nuccio SP, Crawford RW, Tükel Ç, Bäumler AJ. The vi capsular polysaccharide prevents complement receptor 3-mediated clearance of *Salmonella enterica* serotype Typhi[J]. Infection and Immunity, 2011, 79(2): 830-837
- [44] Salcedo SP, Marchesini MI, Degos C, Terwagne M, Von Bargen K, Lepidi H, Herrmann CK, Lacerda TLS, Imbert PRC, Pierre P, et al. BtpB, a novel *Brucella* TIR-containing effector protein with immune modulatory functions[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2013, 3: 28
- [45] Mirkalantari S, Zarnani AH, Nazari M, Irajian GR, Amirmozafari N. *Brucella melitensis* VirB12 recombinant protein is a potential marker for serodiagnosis of human brucellosis[J]. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 2017, 16: 8
- [46] Reyes AWB, Simborio HLT, Hop HT, Arayan LT, Kim S. Molecular cloning, purification and immunogenicity of recombinant *Brucella abortus* 544 malate dehydrogenase protein[J]. Journal of Veterinary Science, 2016, 17(1): 119-122
- [47] Sung KY, Jung M, Shin MK, Park HE, Lee JJ, Kim S, Yoo HS. Induction of immune responses by two recombinant proteins of *Brucella abortus*, outer membrane proteins 2b porin and Cu/Zn superoxide dismutase, in mouse model[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2014, 24(6): 854-861
- [48] Guo SF, Wang JR, Wang YY, Cui BY, Han YQ. Identification and *in vitro* antimicrobial susceptibility of *Brucella* species[J]. Chinese Journal of Infectious Diseases, 2018, 36(1): 30-33 (in Chinese)
- 郭素芳, 王俊瑞, 王艳艳, 崔步云, 韩艳秋. 布鲁杆菌鉴定及抗菌药物体外药物敏感性分析[J]. 中华传染病杂志, 2018, 36(1): 30-33