



专论与综述

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

周培富¹ 赵宇中¹ 谢建平^{*2}

1 贵州民族大学化学工程学院 民族医药学院 贵州省少数民族医药资源开发与利用国家民委重点实验室 民族医药研究院 贵州 贵阳 550025

2 西南大学生命科学学院 现代生物医药研究所 重庆 400715

摘要: 结核分枝杆菌感染引起的结核病疫情依然严峻。感染的结核菌可分泌一系列效应分子调控、干扰和逃逸宿主免疫。本文综述蛋白酪氨酸磷酸酶 PtpA 在结核菌感染中发挥的重要作用: 经多条途径抑制宿主天然免疫、细胞凋亡及吞噬体-溶酶体融合、调控宿主能量代谢等逃逸免疫杀伤。作为候选药物靶标, 靶向 PtpA 的抑制剂设计、筛选及药物研发较为迟缓, 因为 PtpA 与宿主蛋白酪氨酸磷酸酶 hLMW-PTP 具有较高一致性。为了进一步探索靶向该分子的更佳途径, 分析了 *ptpA* 基因转录及 PtpA 蛋白分泌方面的研究进展及存在问题, 为靶向 PtpA 的其他途径提供参考。

关键词: 结核分枝杆菌, 蛋白酪氨酸磷酸酶, PtpA, 转录调控, 分泌机制

Transcriptional and secretion of *Mycobacterium tuberculosis* virulence factor protein tyrosine phosphatase A (PtpA)

ZHOU Pei-Fu¹ ZHAO Yu-Zhong¹ XIE Jian-Ping^{*2}

1 Key Laboratory of Guizhou Ethnic Medicine Resource Development and Utilization in Guizhou Minzu University, State Ethnic Affairs Commission, Institute of Ethnic-Minority Medicine, School of Chemical Engineering, School of Ethnic-Minority Medicine, Guizhou Minzu University, Guiyang, Guizhou 550025, China

2 Institute of Modern Biopharmaceuticals, School of Life Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: The global epidemic of tuberculosis caused by *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) is still grim. During host infection, *Mtb* secretes a series of effector molecules into human macrophage to regulate, modulate host immunization pathway and finally escape from the immune killing. Here, we summarized the critical roles of protein tyrosine phosphatase A (PtpA) during *Mtb* infection, such as inhibit the innate immunity, apoptosis, phagosome-lysosome fusion by interfering multiple pathways and modulate

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (81660331); Science and Technology Foundation for Returnees (Qianren2014-17); Science and Technology Foundation of Guizhou Province (J[2013]2147, J[2013]2145); Scientific Research Foundation of Guizhou Minzu University ([2013]008)

***Corresponding author:** Tel: 86-23-68367108; E-mail: georgex@swu.edu.cn

Received: 04-04-2019; **Accepted:** 04-09-2019; **Published online:** 29-09-2019

基金项目: 国家自然科学基金(81660331); 留学人员科技活动项目择优资助经费(黔人项目资助合同[2014]17 号); 贵州省科学技术基金项目(黔科合 J 字[2013]2147 号, 黔科合 J 字[2013]2145 号); 贵州民族大学引进人才科研基金资助项目(校引才科研[2013]008 号)

***通信作者:** Tel: 023-68367108; E-mail: georgex@swu.edu.cn

收稿日期: 2019-04-04; **接受日期:** 2019-09-04; **网络首发日期:** 2019-09-29

macrophage bioenergetics state. PtpA has been assumed as an important drug target for a long time. However, it is beset with the high similarity with human protein tyrosine phosphatase hLMW-PTP in inhibitor design and screening. At last, the research status and problems need to be revealed in *Mtb* PtpA transcriptional regulation and secretion pathway was analyzed and discussed, which will provide us a new way to block PtpA's function.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, Protein tyrosine phosphatase, PtpA, Transcriptional regulation, Secretion mechanism

结核病是由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, 简称结核菌)感染引起的慢性传染病。据世界卫生组织(World health organization, WHO) 2018年发布的全球结核病疫情报告: 2017年全球共有约1 000万结核病患者(其中9%为HIV阳性), 死亡160万病例(其中含HIV阳性患者30万)。因此, 结核病仍然是全球最致命的传染病之一, 近年来超越艾滋病成为全球由单一病原微生物感染导致死亡的头号杀手(2017年全球因HIV导致的死亡人数为94万, 其中30万为结核病阳性)^[1]。世界各地出现越来越多的耐多药结核菌(Multidrug-resistant TB, MDR-TB)和广泛耐药结核菌(Extensively drug-resistant TB, XDR-TB)^[1]及与人类免疫缺陷病毒(Human immunodeficiency virus, HIV)共感染等多种因素使全球结核病疫情的控制仍然面临严峻考验。因此, 对结核菌致病机理研究、药物靶标鉴定及药物研发等迫在眉睫。

在感染过程中, 结核菌可分泌一系列效应分子对宿主巨噬细胞进行调控, 干扰和逃逸宿主免疫。结核菌作为致病菌的“成功”之处在于它能够在宿主巨噬细胞中存活并繁殖^[2-3]。通常, 人体受到感染时, 巨噬细胞吞噬外源微生物形成吞噬体, 吞噬体逐渐成熟并与溶酶体融合, 从而对外源微生物进行蛋白水解消化, 将抗原呈递到巨噬细胞表面, 进一步诱导机体免疫反应^[4-5]。然而, 结核菌能够抑制吞噬体的成熟及其与溶酶体的融合过程, 进而逃避巨噬细胞的杀伤^[3,6]。由于结核菌干扰了吞噬体成熟, 巨噬细胞不能将抗原呈递到细胞表面^[7-8], 因此在其感染人体后, 导致巨噬细胞IFN γ 响应^[9-10]、细胞因子水平、活性氧及活性氮中间产物降低^[11]

并抑制宿主细胞凋亡^[12]。结核菌对宿主巨噬细胞的这些生物功能的影响主要归功于其分泌到宿主中的一系列效应分子, 主要包括一些蛋白质及脂质^[3,6]。蛋白酪氨酸磷酸酶(Protein tyrosine phosphatase A, PtpA)就是其中之一。

1 蛋白酪氨酸磷酸酶 PtpA 协助结核菌逃避宿主免疫

结核菌 PtpA 由 *rv2234* 基因编码, 分子量约为 17.5 kD, 属于低分子量蛋白酪氨酸磷酸酶, 能催化磷酸对硝基苯酯(p-Nitrophenylphosphate, pNPP)、髓鞘碱性蛋白(Myelin basic protein, MBP)及其它含磷酸化酪氨酸多肽中的酪氨酸去磷酸化, 且活性受到磷酸酶抑制剂正钒酸钠的抑制^[13-14]。

结核菌感染巨噬细胞以后将 PtpA 分泌进入巨噬细胞^[13-14]。早期研究发现异源表达结核菌 PtpA 的鼠巨噬细胞 Raw 264.7 对结核菌、耻垢分枝杆菌(*Mycobacterium smegmatis*)及酵母聚糖的吞噬能力降低^[15]。进一步的研究证实, PtpA 进入宿主巨噬细胞后, 能够竞争性地结合 Host adapter TAB3 蛋白的泛素相互作用结构域(Ubiquitin-interacting domain), 干扰其对泛素链的感应, 中断 NF- κ B 信号途径, 最终抑制由 TAB3 介导的宿主天然免疫^[16](图 1)。PtpA 还通过竞争性结合宿主泛素连接酶 TRIM27 的 RING 结构域, 抑制其酶活性, 阻断由 TRIM27 介导激活的 JNK/p38 MAPK 信号通路, 抑制由该通路介导的宿主天然免疫和细胞凋亡^[17]; 不仅如此, PtpA 还同时利用其 C-末端的位于 α -螺旋 5 中的泛素相互作用基序样区域(Ubiquitin-interacting motif-like region, UIML)与宿主细胞中

的泛素发生非共价结合, 使得其自身酸酶活性增强, 进而促进对宿主蛋白激酶 Jnk、p38 和 VPS33B 的去磷酸化活性^[16]。对 Jnk、p38 两个激酶的去磷酸化进一步抑制了它们介导的天然免疫^[16]。再者, PtpA 还能结合巨噬细胞空泡膜上 H^+ -ATPase 复合体中的 H 亚基, 借此靠近同型液泡融合和液泡蛋白分选复合体(Homotypic vacuole fusion and vacuole protein sorting complex, HOPS), 并对其组成亚基(Human class C vacuolar protein sorting VPS33B,

VPS33B)去磷酸化, 阻断由这 2 个复合体介导的吞噬体与溶酶体的融合及后续的酸化^[18-20](图 1)。进一步的研究还发现 PtpA 能对宿主糖原合酶激酶(Glycogen synthase kinase 3 α , GSK3 α)的 Tyr²⁷⁹ 去磷酸化, 降低 GSK3 α 诱导细胞凋亡的能力, 促进结核菌在早期感染过程中的存活^[21](图 1)。最新的研究还发现 PtpA 能够与宿主细胞质中的 6-磷酸果糖激酶及 3 个线粒体蛋白(三功能酶、ATP 合成酶、硫醌氧化还原酶)相互作用, 这些酶均涉及宿主能量

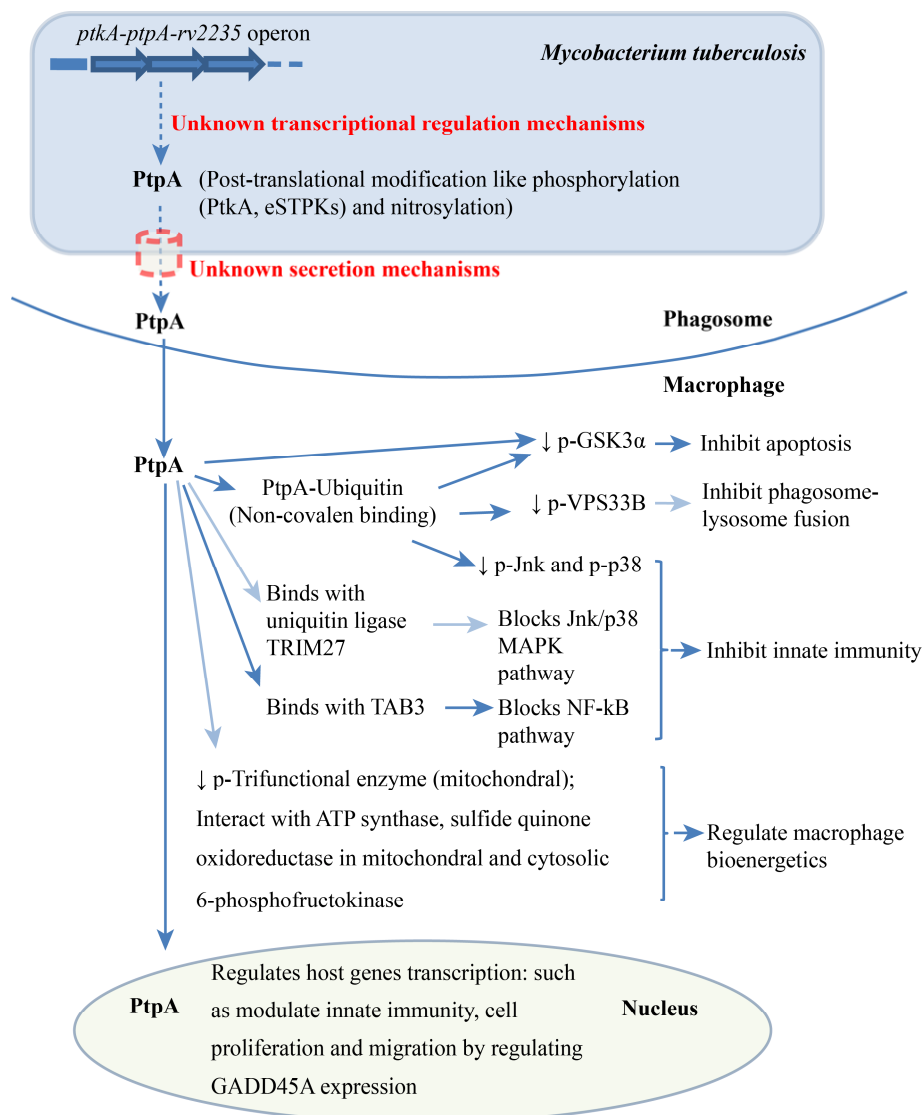


图 1 结核分枝杆菌蛋白酪氨酸磷酸酶 PtpA 调控宿主功能概况

Figure 1 Regulation of host by *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine phosphatase PtpA

代谢,且体外证实 PtpA 能够对三功能酶去磷酸化,暗示其对宿主能量代谢及能量状态的调控^[22](图 1)。此外, PtpA 还能进入宿主细胞的细胞核,以转录调控因子的方式结合宿主特异 DNA 区域并调控相关基因表达,通过调控部分重要的基因如 GADD45A 的表达来调节宿主细胞的固有免疫、细胞增殖和迁移等^[23]。综上,结核菌 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及与溶酶体融合等方式逃逸宿主免疫,为结核菌进一步建立持留性感染奠定基础^[16,18,21,24]。

2 PtpA 及其操纵子成员在结核菌胞内生存中发挥重要作用

在结核菌中, *ptkA-ptpA-rv2235* 组成一个操纵子。在基因转录层面, Srivastava 等曾利用体内表达技术将包含有结核菌 *ptkA* 基因启动子片段的质粒转入卡介苗(*Bacillus calmette-guerin*, BCG)中,在感染 J774A.1 鼠巨噬细胞后,该启动子介导报告基因上调表达,经实时定量 PCR 证实 *ptkA* 基因在结核菌和 BCG 感染巨噬细胞后上调表达,在 36 h 时达到最高,之后逐渐下降但始终高于未感染的对照组^[25]。此外, *ptkA* 还在结核菌感染免疫活性小鼠后上调表达^[26]。由于 *ptpA* 与 *ptkA* 处于同一操纵子,因此 *ptpA* 也在上述情况中表达上调。基因敲除的研究也很好印证了 PtpA 的上述功能:结核菌 H37Rv Δ *ptpA* 缺失突变菌株和野生型菌株相比,在感染人巨噬细胞 THP-1 后存活能力严重受损,且其抑制吞噬体和溶酶体融合的能力也大幅降低^[24]。然而,也有证据显示 H37Rv Δ *ptpA* 缺失突变菌株在小鼠感染模型中并没有表现出生长缺陷,这可能是由于小鼠模型并不适用于研究 PtpA 的宿主调控功能^[27]。综上, PtpA 对宿主多条途径的干扰在很大程度上帮助了结核菌逃逸宿主免疫并建立持留性感染。

在结核菌 *ptkA-ptpA-rv2235* 操纵子中, *ptkA* 基因的缺失也使得结核菌在 THP-1 巨噬细胞中的生存能力下降,抑制吞噬体酸化的能力降低^[28];而

对于 *rv2235* 基因,异源表达了结核菌 *rv2235* 基因的耻垢分枝杆菌与野生型相比,能更有效地抵抗人巨噬细胞 THP-1 的杀伤^[29],说明结核菌 *ptkA-ptpA-rv2235* 操纵子在结核菌感染宿主后发挥了重要的作用。

3 结核菌 PtpA 受多种翻译后修饰调控

功能越重要,受到的调控就越严密。结核菌 PtpA 发挥如此重要的功能,因此也受到了多层面的调控。在蛋白磷酸化修饰方面,一方面是 PtpA 受蛋白酪氨酸磷酸激酶(Protein tyrosine kinase, PtkA)磷酸化调控^[19]。PtkA 由 *rv2232* 基因编码,分子量约 30.5 kD,是结核菌中第一个被鉴定的蛋白酪氨酸激酶^[19],也是目前已知的结核菌中唯一一个专一性磷酸化酪氨酸的蛋白激酶[部分真核样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(eSTPK)为双特异性蛋白激酶,具有蛋白酪氨酸激酶活性^[30]]。PtkA 通过磷酸化 Tyr¹²⁸ 和 Tyr¹²⁹ 两个相邻酪氨酸残基位点来增强其酪氨酸磷酸酶活性^[31]。另一方面,几个 eSTPKs (PknA、PknB、PknD、PknH、PknE 和 PknL)能够对 PtpA 磷酸化,其中 PknA 通过对 PtpA 蛋白 Thr⁴⁵ 位点的磷酸化来增强其蛋白酪氨酸磷酸酶活性^[31],而其它 eSTPKs 对 PtpA 的磷酸化则对其蛋白磷酸酶活性没有影响,但是否调控了其它如底物特性、底物亲和性等还有待进一步研究。

最新的研究还发现 PtpA 的半胱氨酸残基 Cys⁵³ 能够被巯基亚硝基化(S-亚硝基化)修饰,修饰后蛋白的稳定性、最大催化速率降低,但不改变其底物亲和性^[32]。亚硝基化主要是由于 NO 与蛋白半胱氨酸残基上的巯基形成共价键,在宿主巨噬细胞中,NO 是一种重要的杀菌物质,这也暗示宿主可能利用 NO 来对 PtpA 进行巯基亚硝基化修饰,尽可能抵消 PtpA 对宿主巨噬细胞的干扰。

4 结核菌 PtpA 是重要药靶,但其抑制剂的开发备受困扰

由于 PtpA 对结核菌逃逸宿主免疫及建立持留性感染非常重要,而且 PtpA 被分泌进入宿主细胞,

靶向 PtpA 的药物可以不用穿透结核菌厚而疏水的细胞壁, 避免了药物穿透性差的问题; 同时, 药物在结核菌细胞外抑制 PtpA 的功能, 避免药物对结核菌的直接作用而快速筛选产生耐药, 因此 PtpA 早已成为抗结核新药开发的重要靶点^[20,33]。利用天然或合成小分子化合物库筛选、蛋白结构解析和靶向药物设计筛选及结构改造等, 已经找到了一些有效的抑制剂, 其中部分抑制剂对结核菌 PtpA 的半抑制浓度低至每升几微摩尔到几十微摩尔^[20,34]。然而, 靶向结核菌 PtpA 最大的障碍在于抑制剂的“专一性”: 结核菌 PtpA 蛋白与人的同源蛋白酪氨酸磷酸酶 hLMW-PTP 具有 37% 的一致性, 且很多涉及酶活性的关键残基均较保守, 特别是催化活性中心的 C(X)5R(S/T)^[20], 所以很多 PtpA 的有效抑制剂都对宿主细胞具有不同程度的毒性, 这就要求抑制剂必须具有很高的特异性; 另一方面, PtpA 很多抑制剂的结构在某种程度上都模拟了蛋白酪氨酸磷酸酶的底物, 通常是高度带负电性的, 这又很大程度上限制了抑制剂的细胞通透性^[20]。

5 揭示结核菌 PtpA 转录调控机制及分泌机制将为阻断其功能提供新思路

5.1 研究结核菌 PtpA 转录调控机制具有重要意义

结核菌 *ptkA-ptpA-rv2235* 基因操纵子片段排列在分枝杆菌属乃至放线菌目中高度保守。结核菌 *ptpA* (*rv2234*) 基因与 *ptkA* (*rv2232*) 和 *rv2235* (保守膜蛋白) 基因在基因组中紧密顺序排列, 3 个基因之间存在首位重叠(图 2)。在已测序的分枝杆菌中分析发现, 结核菌 H37Rv 中 *ptkA-ptpA-rv2235* 基因片段及其上游 550 bp 的序列在分枝杆菌中同样具有高度的保守性, 即便是一些序列相似度较低的菌(海分枝杆菌、耻垢分枝杆菌等)中, 3 个基因的首位重叠关系也非常一致(图 2)。这样的基因排布在放线菌目中的红球菌属(*Rhodococcus*)、棒状杆菌属(*Corynebacterium*)、戈登氏菌属(*Gordonia*)、*Amycolicicoccus* 和分枝杆菌属(*Mycobacterium*)等属中都很保守^[35]。

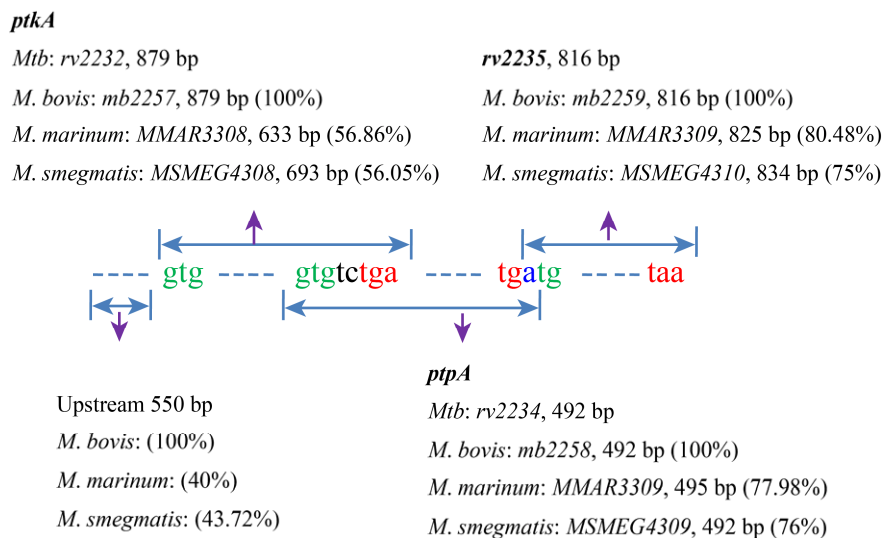


图 2 结核菌 *ptkA-ptpA-rv2235* 操纵子序列分析

Figure 2 Sequence of *Mtb ptkA-ptpA-rv2235* operon

注: 括号中数值表示各菌中对应基因与结核菌中基因的相似度; 绿色碱基代表起始密码, 红色碱基代表终止密码, 蓝色碱基代表起始密码子与终止密码子共用的碱基; 这 3 个基因均出现重叠。

Note: The values in brackets denote the sequence similarity with the genes in *Mtb*; The green and red bases represents the start code and stop code respectively, while the blue base is shared by start code and stop code. Gene overlap was shown between these genes.

结核菌 *ptkA-ptpA-rv2235* 操纵子的启动子隐藏在其上游约 550 bp 序列中。Cowley 等在将结核菌 *ptpA* 基因的启动子转入牛分枝杆菌 BCG 中检测转录情况时,引入的序列包括几乎全部 *ptpA* 基因(缺少 3'端 3 个密码子序列)及其上游 1 514 bp 序列,因此也包括了整个 *ptkA* 基因序列及其上游 547 bp 序列(图 2)。这段序列能够在牛分枝杆菌 BCG 中启动转录,说明该操纵子的启动子序列和涉及转录因子结合的序列均包括在其上游 547 bp 序列中,而该段序列在快生型的耻垢分枝杆菌中却不能被启动^[14]则说明结核菌中涉及 *ptpA* 基因转录调控因子或负责识别启动子序列的 σ 因子与耻垢分枝杆菌存在差异,但与牛分枝杆菌相同。然而,结核菌编码 13 个 σ 因子,我们对该操纵子上游的序列进行分析,并未发现目前基于实验和生物信息学分析得出的部分 σ 因子(如 SigC、SigD、SigE、SigF、SigH 和 SigL)的启动子识别序列^[36]。这可能是由于参与该基因启动子识别的是另外的 σ 因子,或者是目前报道的关于上述几种 σ 因子的识别序列还有限。针对 *ptkA-ptpA-rv2235* 操纵子转录调控,还有如下科学问题需要解答:(1) 结核菌编码 13 个 σ 因子,是哪一个或哪几个负责该操纵子启动子的识别? 识别序列是什么?(2) 结核菌还编码约 140 个转录调控因子,有哪些会参与该操纵子的转录调控呢? 调控机制是怎样的?(3) σ 因子和转录调控因子通常缺乏信号感应能力,因此需要接受“上游蛋白”的信号指令,是哪一个或哪一些“上游蛋白”感应胞外或胞内信号,并指导和调控转录调控因子及 σ 因子对该操纵子的转录调控? 揭示这些问题将有助于揭示结核菌在感染宿主后是如何启动该操纵子基因,特别是 *ptpA* 基因的转录,以适应和对抗宿主免疫杀伤这一重要过程,对了解结核菌的致病机理具有重要意义;同时,理清该操纵子转录调控通路,为进一步探索将其中重要的蛋白作为新的药物靶标,从源头上抑制 PtpA 奠定基础,以绕开直接靶向抑制 PtpA 蛋白本身面临的各种困难;再者,结核菌 *ptkA-ptpA-rv2235* 操纵子在分枝杆菌属及放线

菌目中相对保守,其转录调控机制将为揭示其它细菌中该操纵子的转录调控提供参考。

5.2 研究结核菌 PtpA 分泌机制具有重要意义

2002 年,研究者就已经证实结核菌 PtpA 被结核菌分泌到胞外^[14]。随后,鸟分枝杆菌亚种 (*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*) 的 PtpA 同源蛋白 Map-PtpA 也被证实具有相同的蛋白酪氨酸磷酸酶活性,并在感染过程中分泌进入宿主^[37]。但该蛋白在分枝杆菌及具有该保守蛋白的其它物种中,其分泌机制依然不清楚(图 3)。

结核菌拥有 3 种蛋白分泌系统,除在细菌中保守存在的 Sec 分泌系统(Sec1 和 Sec2)和双精氨酸分泌系统外,还具有独特的 ESX 分泌系统(ESX-1、ESX-2、ESX-3、ESX-4 和 ESX-5)^[38]。在上述分泌系统中,具体是哪一个分泌系统介导了 PtpA 的分泌及其分泌机制仍不清楚。此外,结核菌除具有细菌典型的细胞质膜外,外面还依次包裹着具有分枝菌酸的外膜层及荚膜层(含阿拉伯甘露聚糖、 α -葡聚糖、糖脂和蛋白等)^[39]。PtpA 经某一分泌系统转运跨过结核菌的内膜后是如何穿过结核菌外膜的(图 3)? 是否还需要蛋白协助其穿越结核菌荚膜层? 理清 PtpA 的分泌机制,将为进一步探索将其中重要的蛋白作为新的药物靶标,从源头上抑制 PtpA 奠定基础,以绕开直接靶向抑制 PtpA 蛋白本身面临的各种困难。同时,结核菌 PtpA 在分枝杆

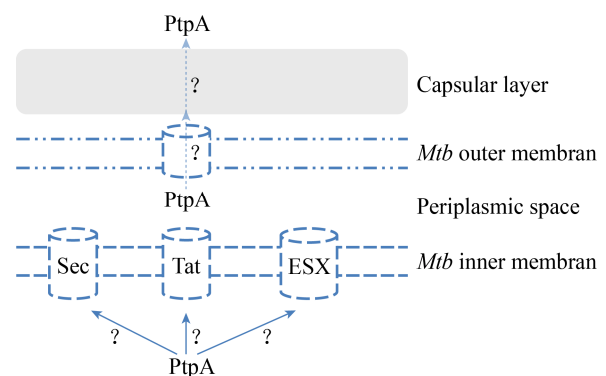


图 3 结核菌 PtpA 未知分泌机制

Figure 3 Unknown secretion mechanism of *Mycobacterium tuberculosis* PtpA

菌属及部分致病菌中相对保守,其分泌机制将为揭示其它细菌中该毒力因子的分泌机制提供参考。

6 展望

综上所述,结核菌 PtpA 在介导结核菌调控和逃逸宿主免疫、帮助结核菌在宿主中存活并建立持续性感染等过程中发挥重要作用。对结核菌 PtpA 的研究长期以来多集中在其宿主相互作用蛋白的鉴定及调控通路的研究、药物设计及筛选评价等方面。然而,结核菌 PtpA 在分枝杆菌及其它很多非致病细菌中保守存在,这也暗示了 PtpA 对细菌本身可能也发挥了某些重要的生理功能,尽管目前在结核菌中对 *ptpA* 基因进行缺失突变后其体外生长并未受到影响,但可能还有很多生理表型没有被发掘。因此,对结核菌 PtpA 的研究,除上文中论述的对其转录调节机制及分泌机制进行研究之外,还有必要进一步研究 PtpA 是否对结核菌细胞自身发挥什么功能,这可以从进一步鉴定 PtpA 在结核菌中的去磷酸化底物蛋白着手,揭示其细胞生理功能,为揭示 PtpA 在其它微生物中的生理作用提供参考。

REFERENCES

- [1] WHO. Global tuberculosis report 2018[R]. Geneva: WHO, 2018.
- [2] Sturgill-Koszycki S, Schlesinger PH, Chakraborty P, et al. Lack of acidification in *Mycobacterium* phagosomes produced by exclusion of the vesicular proton-ATPase[J]. *Science*, 1994, 263(5147): 678-681
- [3] Poirier V, Av-Gay Y. *Mycobacterium tuberculosis* modulators of the macrophage's cellular events[J]. *Microbes and Infection*, 2012, 14(13): 1211-1219
- [4] Korb VC, Chuturgoon AA, Moodley D. *Mycobacterium tuberculosis*: manipulator of protective immunity[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17(3): 131
- [5] Russell DG. *Mycobacterium tuberculosis* and the intimate discourse of a chronic infection[J]. *Immunological Reviews*, 2011, 240(1): 252-268
- [6] Armstrong JA, Hart PD. Response of cultured macrophages to *Mycobacterium tuberculosis*, with observations on fusion of lysosomes with phagosomes[J]. *Journal of Experimental Medicine*, 1971, 134(3): 713-740
- [7] Moreno C, Mehlert A, Lamb J. The inhibitory effects of mycobacterial lipoarabinomannan and polysaccharides upon polyclonal and monoclonal human T cell proliferation[J]. *Clinical and Experimental Immunology*, 1988, 74(2): 206-210
- [8] Saini NK, Baena A, Ng TW, et al. Suppression of autophagy and antigen presentation by *Mycobacterium tuberculosis* PE_PGERS47[J]. *Nature Microbiology*, 2016, 1(9): 16133
- [9] Sibley LD, Hunter SW, Brennan PJ, et al. Mycobacterial lipoarabinomannan inhibits gamma interferon-mediated activation of macrophages[J]. *Infection and Immunity*, 1988, 56(5): 1232-1236
- [10] Feng JY, Pan SW, Huang SF, et al. Depressed gamma interferon responses and treatment outcomes in tuberculosis patients: a prospective cohort study[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2018, 56(10): e00664-18
- [11] Chan J, Fan XD, Hunter SW, et al. Lipoarabinomannan, a possible virulence factor involved in persistence of *Mycobacterium tuberculosis* within macrophages[J]. *Infection and Immunity*, 1991, 59(5): 1755-1761
- [12] Zhai WJ, Wu FJ, Zhang YY, et al. The immune escape mechanisms of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(2): 340
- [13] Koul A, Choidas A, Treder M, et al. Cloning and characterization of secretory tyrosine phosphatases of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182(19): 5425-5432
- [14] 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
- [15] Castandet J, Prost JF, Peyron P, et al. Tyrosine phosphatase MtpA of *Mycobacterium tuberculosis* inhibits phagocytosis and increases actin polymerization in macrophages[J]. *Research in Microbiology*, 2005, 156(10): 1005-1013
- [16] Wang J, Li BX, Ge PP, et al. *Mycobacterium tuberculosis* suppresses innate immunity by coopting the host ubiquitin system[J]. *Nature Immunology*, 2015, 16(3): 237-245
- [17] Wang J, Teng JLL, Zhao DD, et al. The ubiquitin ligase TRIM27 functions as a host restriction factor antagonized by *Mycobacterium tuberculosis* PtpA during mycobacterial infection[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 34827
- [18] Wong D, Bach H, Sun J, et al. *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
- [19] Bach H, Wong D, Av-Gay Y. *Mycobacterium tuberculosis* PtkA is a novel protein tyrosine kinase whose substrate is PtpA[J]. *Biochemical Journal*, 2009, 420(2): 155-160
- [20] 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
- [21] Poirier V, Bach H, Av-Gay Y. *Mycobacterium tuberculosis* promotes anti-apoptotic activity of the macrophage by PtpA protein-dependent dephosphorylation of host GSK3 α [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289(42): 29376-29385
- [22] Margenat M, Labandera AM, Gil M, et al. New potential eukaryotic substrates of the mycobacterial protein tyrosine phosphatase PtpA: hints of a bacterial modulation of macrophage bioenergetics state[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 8819
- [23] Wang J, Ge PP, Qiang LH, et al. The mycobacterial phosphatase PtpA regulates the expression of host genes and promotes cell proliferation[J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 244

- [24] Bach H, Papavinasundaram KG, Wong D, et al. *Mycobacterium tuberculosis* virulence is mediated by PtpA dephosphorylation of human vacuolar protein sorting 33B[J]. *Cell Host & Microbe*, 2008, 3(5): 316-322
- [25] Srivastava V, Rouanet C, Srivastava R, et al. Macrophage-specific *Mycobacterium tuberculosis* genes: identification by green fluorescent protein and kanamycin resistance selection[J]. *Microbiology*, 2007, 153(3): 659-666
- [26] Talaat AM, Lyons R, Howard ST, et al. The temporal expression profile of *Mycobacterium tuberculosis* infection in mice[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(13): 4602-4607
- [27] Grundner C, Cox JS, Alber T. Protein tyrosine phosphatase PtpA is not required for *Mycobacterium tuberculosis* growth in mice[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2008, 287(2): 181-184
- [28] Wong D, Li W, Chao JD, et al. Protein tyrosine kinase, PtkA, is required for *Mycobacterium tuberculosis* growth in macrophages[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 155
- [29] Miller BH, Shinnick TM. Identification of two *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv ORFs involved in resistance to killing by human macrophages[J]. *BMC Microbiology*, 2001, 1: 26
- [30] Kusebauch U, Ortega C, Ollodart A, et al. *Mycobacterium tuberculosis* supports protein tyrosine phosphorylation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(25): 9265-9270
- [31] Zhou PF, Li W, Wong D, et al. Phosphorylation control of protein tyrosine phosphatase A activity in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *FEBS Letters*, 2015, 589(3): 326-331
- [32] Matiollo C, Ecco S, Menegatti ACO, et al. S-nitrosylation of *Mycobacterium tuberculosis* tyrosine phosphatase A (PtpA) induces its structural instability[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 2013, 1834(1): 191-196
- [33] Mascarello A, Chiaradia-Delatorre LD, Mori M, et al. *Mycobacterium tuberculosis*-secreted tyrosine phosphatases as targets against tuberculosis: exploring natural sources in searching for new drugs[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2016, 22(12): 1561-1569
- [34] Sens L, de Souza ACA, Pacheco LA, et al. Synthetic thiosemicarbazones as a new class of *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine phosphatase A inhibitors[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2018, 26(21): 5742-5750
- [35] Chao JD, Wong D, Av-Gay Y. Microbial protein-tyrosine kinases[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289(14): 9463-9472
- [36] Rodrigue S, Provvedi R, Jacques PÉ, et al. The σ factors of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2006, 30(6): 926-941
- [37] Bach H, Sun J, Hmama Z, et al. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* PtpA is an endogenous tyrosine phosphatase secreted during infection[J]. *Infection and Immunity*, 2006, 74(12): 6540-6546
- [38] van der Woude AD, Luirink J, Bitter W. Getting across the cell envelope: mycobacterial protein secretion[A]//Pieters J, McKinney JD. *Pathogenesis of Mycobacterium Tuberculosis and its Interaction with the Host Organism*[M]. Berlin, Heidelberg: Springer, 2012: 109-134
- [39] Sani M, Houben ENG, Geurtsen J, et al. Direct visualization by cryo-EM of the mycobacterial capsular layer: a labile structure containing ESX-1-secreted proteins[J]. *PLoS Pathogens*, 2010, 6(3): e1000794