

# 病原细菌调控丝裂原激活蛋白激酶信号介导先天免疫的机制研究进展

张念琦, 何展, 程昌勇\*, 宋厚辉\*

浙江农林大学动物科技学院动物医学院 浙江省畜禽绿色生态健康养殖应用技术研究重点实验室 动物健康互联网检测技术浙江省工程研究中心 浙江省动物医学与健康国际科技合作基地 中澳动物健康大数据分析联合实验室, 浙江 杭州 311300

张念琦, 何展, 程昌勇, 宋厚辉. 病原细菌调控丝裂原激活蛋白激酶信号介导先天免疫的机制研究进展[J]. 微生物学通报, 2022, 49(12): 5298-5310

Zhang Nianqi, He Zhan, Cheng Changyong, Song Houhui. Innate immune mechanism mediated by MAPK signaling pathway during bacterial infection[J]. Microbiology China, 2022, 49(12): 5298-5310

**摘要:** 信号传导途径使细胞能够对复杂的外界环境刺激及时做出反应, 从而针对不同病原菌感染产生生物学效应。丝裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)及其下游靶标作为将环境输入转化为大量细胞程序的最重要信号模块之一, 在哺乳动物细胞中最为常见, 几乎参与绝大多数细胞的生理和病理反应。MAPK 响应各种环境压力刺激, 包括细菌感染和炎症, 以此调节宿主的免疫反应。近期研究表明, 病原菌在感染期间会释放特定效应物或毒素来劫持 MAPK 通路, 劫持方式分为两种, 一种是通过降解关键蛋白影响信号传导, 更主要的一种是影响宿主细胞翻译后修饰, 如磷酸化、泛素化等来调节诸多细胞进程。本文讨论了 MAPK 在先天免疫中的调节激活过程, 并研究病原细菌如何进化出复杂机制来操纵 MAPK 激活以增强自身感染, 以及作为新型抗病原感染和肿瘤免疫治疗靶点的潜在作用。

**关键词:** 丝裂原激活蛋白激酶; 先天免疫; 病原感染; 药物靶点

基金项目: 浙江省自然科学基金重点项目(LZ19C180001); 国家自然科学基金面上项目(31972648, 31872620)

**Supported by:** Natural Science Foundation of Zhejiang Province (LZ19C180001); National Natural Science Foundation of China (31972648, 31872620)

\*Corresponding authors: E-mail: CHENG Changyong: lamge@zafu.edu.cn; SONG Houhui: songhh@zafu.edu.cn

Received: 2022-09-22; Accepted: 2022-11-13; Published online: 2022-11-28

## Innate immune mechanism mediated by MAPK signaling pathway during bacterial infection

ZHANG Nianqi, HE Zhan, CHENG Changyong\*, SONG Houhui\*

China-Australia Joint Laboratory for Animal Health Big Data Analytics, Key Laboratory of Applied Technology on Green-Eco-Healthy Animal Husbandry of Zhejiang Province, Zhejiang International Science and Technology Cooperation Base for Veterinary Medicine and Health Management, Zhejiang Provincial Engineering Research Center for Animal Health Diagnostics & Advanced Technology, College of Animal Science and Technology, College of Veterinary Medicine, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China

**Abstract:** Signal transduction pathways enable cells to respond to different complex external environmental stimulation in time, thus producing biological effects in response to infection by various pathogens. Mitogen-activated protein kinase (MAPK) and its downstream targets are among the most critical signaling modules that can transform environmental stress into many cellular processes. They are most common in mammalian cells and are almost involved in the physiological and pathological responses of all cells. MAPK regulates the host's immune response to various environmental stress, including bacterial infection and inflammasomes. Recent studies have shown that pathogens may release specific effectors or toxins to hijack the MAPK signaling pathway during infection in two ways. One is to degrade essential proteins to affect signal transduction, and the other is to influence host cell post-translational modifications, such as phosphorylation and ubiquitination, to regulate many cellular processes. This review discussed the regulation and activation of MAPK in innate immunity and explored the complex mechanism of pathogens in manipulating MAPK activation to enhance infection and the potential role of MAPK regulated by pathogens as a novel target against pathogen infection.

**Keywords:** mitogen-activated protein kinase; innate immunity; pathogen infection; drug target

宿主产生的先天免疫反应依靠数量有限的模式识别受体(pattern recognition receptor, PRRs)识别微生物固定成分的病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs),是宿主被感染后的首道抵抗防线<sup>[1-2]</sup>。PRRs接受刺激后在细胞内诱导多种靶向病原蛋白(如抗菌肽)或其他促炎因子(如细胞因子、趋化因子)的转录表达。巨噬细胞和树突状细胞(dendritic cells, DCs)是炎症反应的关键介质,这两类细胞能够表达多种类型的PRRs,包括Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)、RIG-I样受体(RIG-I-like receptors, RLRs)、NOD样受体(NOD-like receptors, NLRs)和C型凝集素

受体(C-type lectin receptors, CLRs)<sup>[3-4]</sup>。这些PRRs接受不同刺激但都能够激活丝裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)和核因子 $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)通路<sup>[5-6]</sup>;而MAPK途径的激酶是炎症反应的关键参与者,对于保护宿主平衡起到重要作用<sup>[7-8]</sup>。这也使得细菌和病毒会选择MAPK信号通路为靶点来确保在宿主固有和适应性免疫系统下存活。通过研究免疫反应启动、调节过程中宿主-微生物相互作用机制有助于揭示微生物病原体引起感染性疾病的方法,而且为细胞调控信号传导机制提供了有价值的工具。

MAPK途径的功能和结构从单细胞生物

(如酵母)到复杂生物(包括哺乳动物)进化过程中一直是保守的,主要是将上游信号传递至其下游效应子,调节许多细胞关键的生理过程,如细胞增殖、先天免疫反应、细胞迁移、凋亡和自噬等,其中,TLRs在介导MAPK信号激活中发挥重要作用<sup>[9-10]</sup>。

鉴于MAPK信号通路在调节免疫反应中的重要性,许多细菌病原体已经发展出直接或间接调节MAPK激活或抑制机制<sup>[11-13]</sup>。这些病原体通常使用效应蛋白来操纵MAPK途径,并允许细菌在宿主内建立感染。本实验室前期研究表明,单增李斯特菌感染会触发ERK1/2和p38信号传导的激活,并且这种细胞反应是单增李斯特菌感染所必需的;单增李斯特菌感染上皮细胞可以通过李斯特菌溶血素O(listeriolysin O, LLO)的作用激活MAPK激酶的磷酸化;同时,LLO还有助于李斯特菌感染滋养层细胞,通过MAPK家族蛋白去磷酸化来抑制MAPK信号通路激活<sup>[14]</sup>。与其他胆固醇结合细胞溶素(cholesterol dependent cytolysin, CDC)家族成员不同,LLO显示出限制其细胞毒性的特征<sup>[15-16]</sup>。然而,LLO的孔形成活性与操纵MAPK通路的能力之间的相关性尚不清楚,LLO在MAPK通路信号传导中的详细机制需要进一步研究。

## 1 TLRs 概述

哺乳动物的抗原呈递细胞如树突状细胞和巨噬细胞表达的TLRs是关键的模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR),在诱导先天免疫应答及适应性免疫应答中起着核心作用<sup>[17-18]</sup>。该识别机制依赖不同的TLRs识别细菌PAMPs。例如,TLR2、TLR4和TLR5是位于细胞表面的TLR,分别识别细菌脂蛋白、脂多糖和鞭毛蛋白,而胞内TLR如TLR8识别病毒和细菌RNA,并优先被富含AU的ssRNA激活(图1)<sup>[17,19-20]</sup>。

先天免疫细胞中MAPK激活过程几乎都是以TLRs充当激动剂为前提进行。TLRs主要通过2种衔接蛋白发出信号,即 $\beta$ 干扰素TIR结构域接头蛋白(TIR domain-containing adaptor protein inducing interferon  $\beta$ , TRIF)和髓样分化初级反应蛋白88(myeloid differentiation primary-response protein 88, MyD88)<sup>[21-22]</sup>。两种衔接蛋白存在特异性和偏好性差异,MyD88主要激活NF- $\kappa$ B和MAPK,倾向于产生促炎症细胞因子如IL-6和IL-12来诱导促炎反应,而TRIF主要激活干扰素调节因子(interferon regulator factor, IRF)家族成员,并倾向于诱导干扰素来刺激抗病毒反应;在配体与TLRs结合后,白介素-1受体相关激酶4(interleukin-1 receptor-associated kinase 4, IRAK4)才被募集到MyD88;随后,IRAK4与IRAK1、IRAK2、E3泛素连接酶肿瘤坏死因子受体相关因子6[tumor necrosis factor (TNF) receptor associated factor 6, TRAF6]和E2泛素结合酶E2N(ubiquitin-conjugating enzyme E2N, UBE2N)形成复合体<sup>[23-24]</sup>。然而,TRAF6和UBE2N催化TRAF6和IRAK1上K63多泛素链的形成,也进一步激活MAPK和NF- $\kappa$ B通路<sup>[25]</sup>。除了TLR,其他3个PRR家族包括CLRs、RLRs和NLRs,虽然受体近端激活机制及其定位存在差异,但同样能够激活MAPK和NF- $\kappa$ B信号通路<sup>[26-27]</sup>。

## 2 MAPK 途径概述

MAPK信号级联主要由保守的三级结构组成,分别是MAP3K、MAP2K和MAPK(图2)。其中,MAP2K通过Thr-X-Tyr激活基序的双磷酸化激活MAPK(其中X代表任意氨基酸)<sup>[28]</sup>。哺乳动物细胞表达14种MAPKs,根据序列同源性,可将这些MAPKs细分成若干组<sup>[29-30]</sup>。

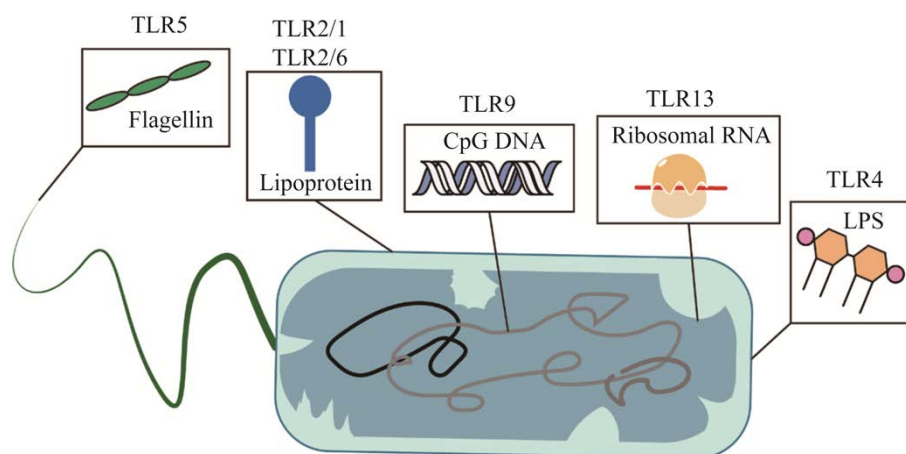


图1 Toll样受体(TLRs)可特异性识别病原体相关分子模式(PAMPs)

Figure 1 TLRs specifically recognize PAMPs.

经典的 MAPKs 是细胞外信号调节激酶 1/2 (extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK1/2), 由 MKK1 或 MKK2 激活<sup>[31]</sup>。在生长因子和抗原受体刺激后, 快速加速的纤维肉瘤 (rapidly accelerated fibrosarcoma, RAF) 蛋白在这一级联反应中起 MAP3K 作用, 但在先天免疫应答中, 肿瘤进展位点 2 (tumour progression locus 2, TPL2) 则作为 MAP3K 起主导作用, 同时能够被 TLRs、肿瘤坏死因子受体 1 (tumor necrosis factor receptor 1, TNFR1) 和白细胞介素 1 受体 (interleukin-1 receptor, IL-1R) 所用<sup>[30]</sup>。

p38 MAPK 家族包括 4 种亚型 (p38 $\alpha$ 、p38 $\beta$ 、p38 $\gamma$  和 p38 $\delta$ ), 由 MAP2Ks 的 MKK3 和 MKK6 激活<sup>[30]</sup>。Jun N 末端激酶 (jun N-terminal kinase, JNK) 家族有 3 种亚型 (JNK1、JNK2 和 JNK3), 由 MKK4 和 MKK7 激活<sup>[32]</sup>。许多 MAP3Ks, 包括 MAP3K/ERK 激酶激酶 (MAPK/ERK kinase kinases, MEKKs)、TAO1、TAO2、凋亡信号调节激酶 1 (apoptosis signal-regulating kinase 1, ASK1) 等都能够激活 p38 和 JNK 级联, 而所需的特定 MAP3K 取决于刺激和细胞类型<sup>[29]</sup>。

ERK5 级联包括 MEKK2 或 MEKK3-MKK5-

ERK5 这三部分。p21 活化激酶 1 (p21-activated kinase 1, PAK1) 在 ERK3 和 ERK4 上游起作用, 而 ERK7 在寡聚后发生自我激活<sup>[33-34]</sup>。NEMO 样激酶 (NEMO-like kinase, NLK) 的激活机制尚不清楚, 但同源结构域相互作用蛋白激酶 2 (homeodomain-interacting protein kinase 2, HIPK2) 被认为是 TAK1 下游潜在的激活因子, 并能与之相互作用<sup>[33]</sup>。一些激酶在 MAPKs 下游被激活, 包括有丝分裂原和应激激活激酶 (ribosomal protein S6 kinases, MKs), MAPK 信号整合激酶 1 (MAPK signal-integrating kinase 1, MNK1) 和核糖体蛋白 S6 激酶 (ribosomal protein S6 kinases, RSKs) 等<sup>[35]</sup>。

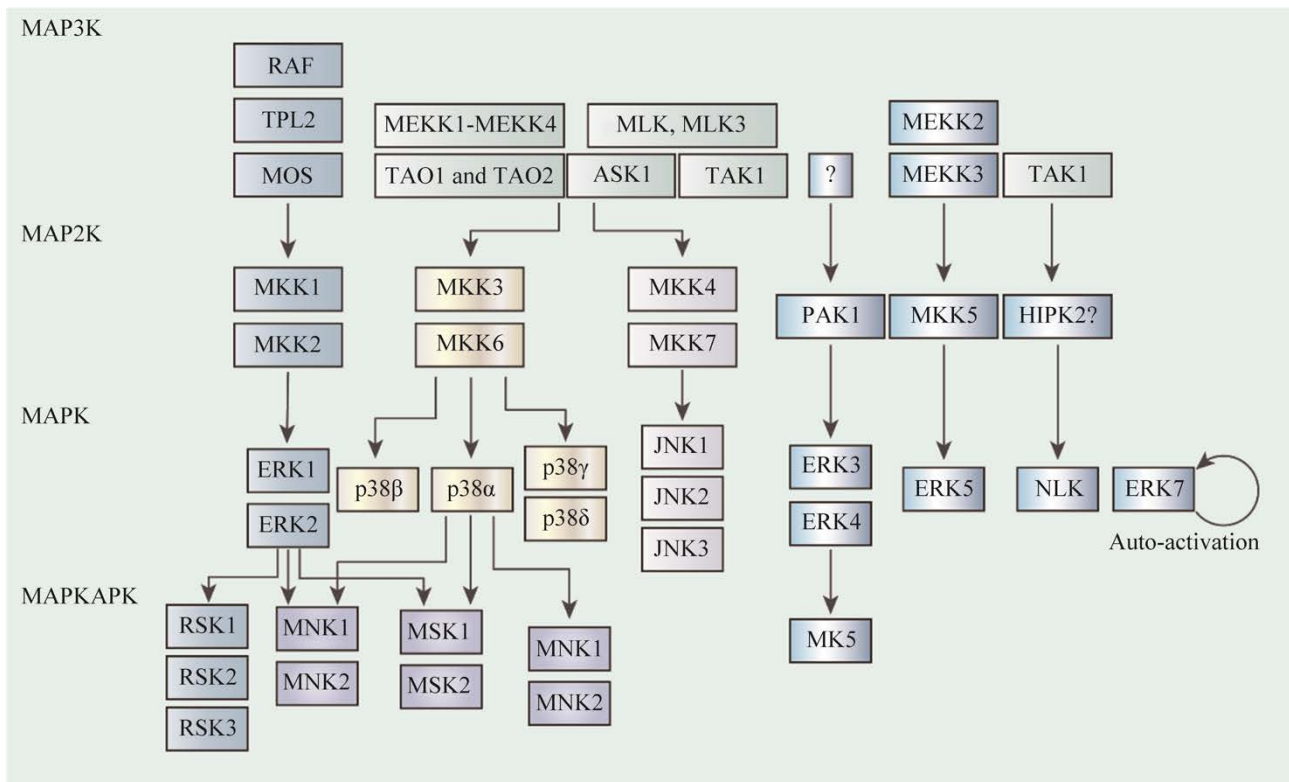
### 3 MAPK 级联激活

MAPK 信号通路级联是由 3 个激酶组成的核心层, 其中上游激酶负责磷酸化和下游激酶的激活 (图 3)。典型的 MAPK 激活是通过双特异性 MAPK 激酶 (MAP2K) 对激活环中的 Thr-X-Tyr 基序的双磷酸化介导的<sup>[29,31]</sup>。体外研究和过表达研究表明, MKK4 和 MKK7 优先磷酸化 Jun N 末端激酶 (JNKs) Thr-X-Tyr 基序中的酪氨酸和

苏氨酸残基<sup>[29]</sup>。然而,内源性 MKK4 和 MKK7 对 JNK 激活表现更为复杂。使用 MKK4 缺陷和 MKK7 缺陷小鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryo fibroblasts, MEF)分析不同的支架蛋白通过募集不同的下游分子在各种信号通路中发挥不同的作用;支架蛋白 Axin 主要依赖于 MKK7 来激活 JNK,而支架蛋白 Dvl 几乎同样依赖于 MKK4 和 MKK7 来激活 JNK,相比之下, LMP-1 诱导的 JNK 激活主要依赖于 MKK4<sup>[36]</sup>。

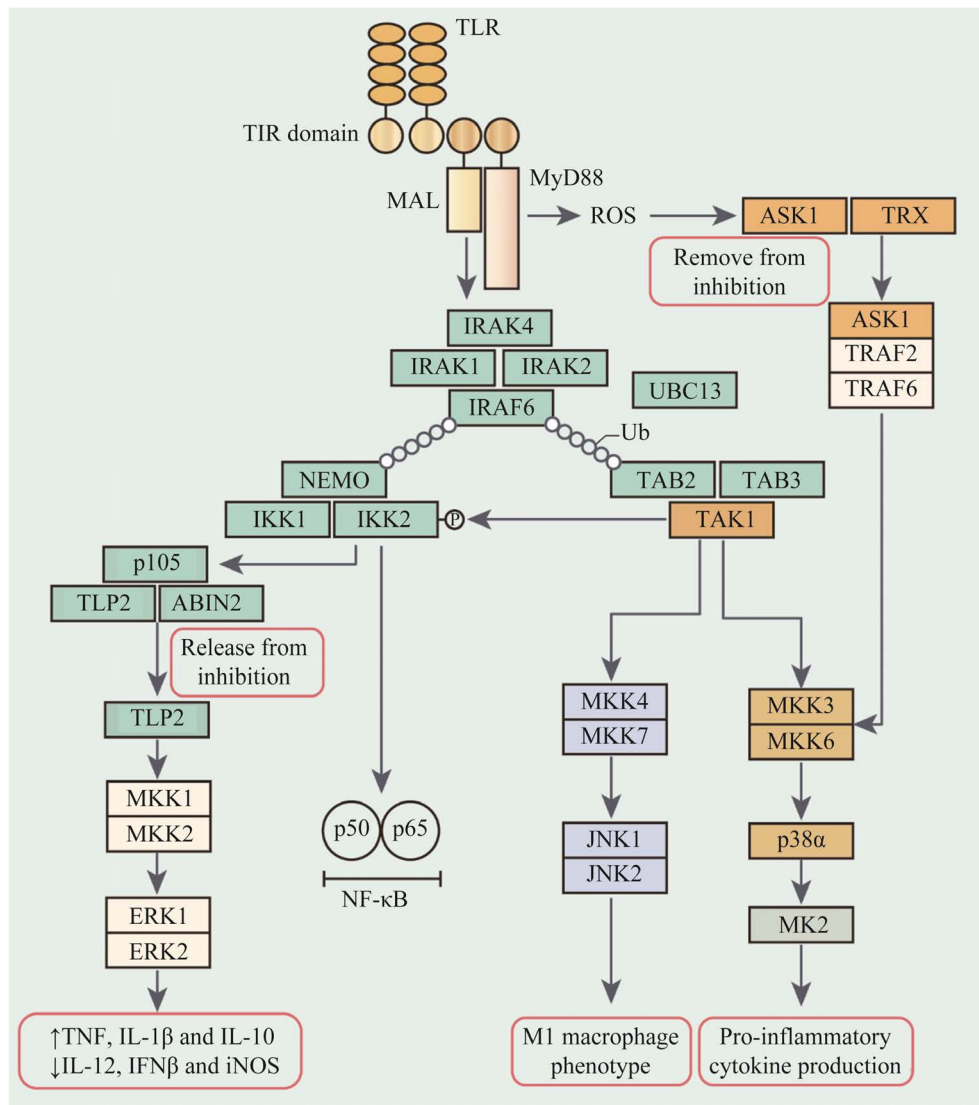
MAP2K 中 MAPK 对接域的存在确保 MAP2Ks 对 MAPK 磷酸化的特异性,而 MAPK

对接域同样对下游 MAPK 具有特异性。MAP2K 本身由 MAPK 激酶(MAP3Ks)对其激活环的丝氨酸和/或苏氨酸磷酸化激活<sup>[31]</sup>。MAP3Ks 通过细胞自主或非细胞自主机制激活 ERK 通路,有助于发现 RAS-RAF 驱动的肿瘤信号传导通路以外的癌症进展<sup>[30]</sup>。有文献报道,MAP3K 在不同癌症中发挥不同作用,MAP3K1 的表达在胰腺导管腺癌中具有促肿瘤作用,MAP3K3 则显示抗肿瘤作用,而 MAP3K2 显示无相关性,这些研究进一步突出 MAP3Ks 在疾病进展中的重要性<sup>[37]</sup>。



**图 2 MAPK 信号通路示意图** MAPK 途径由一系列激酶组成,至少包含 3 种激酶 MAP3K、MAP2K 和 MAPK; MAP2K 能通过 Thr-X-Tyr 活化基序的双重磷酸化激活 MAPK (其中 X 代表任意氨基酸); 哺乳动物细胞能表达 14 种 MAPK, 这些 MAPK 依据序列同源性分成不同组别

Figure 2 MAPK signaling pathways. MAPK pathways consist of at least three kinases: MAP3K, MAP2K and MAPK. MAPK kinase (MAP2K) activates the MAPK by dual phosphorylation of the Thr-X-Tyr activation motif (where X represents any amino acid). Mammalian cells express 14 MAPKs, and these can be subdivided into groups based on sequence homology.



**图 3 MAPK 途径的激活与 MyD88 和 TRIF 有关** 在 TLR 或 IL-1R 连接之后, MyD88 结合到受体的 Toll 和 TIR 结构域。对于 TLR2 和 TLR4, MyD88 的结合需要衔接蛋白样蛋白(MAL 也称为 TIRAP), MyD88 和丝氨酸/苏氨酸激酶 IRAK4 通过死亡结构域发生相互作用; IRAK4 与 IRAK1、IRAK2、E3 泛素连接酶 TRAF6 结合形成多聚复合物进而发挥活性作用; UBC13 与 TRAF6 或其他 E3 连接酶结合可催化 K63 连接的多聚泛素链上的 TRAF6 与 IRAK1 的结合; TAK1 结合蛋白 2 (TAB2)、TAB3 使 TAK1 与 K63 连接的多聚泛素链上的 TRAF6 结合, 触发 p38 $\alpha$  和 JNK 的 MAPK 途径中 TAK1 的激活

Figure 3 Activation of MAPK is associated with TRIF and MyD88. Following TLR or IL-1R ligation, MyD88 is recruited to the TIR domain of the receptor. For TLR2 and TLR4, this recruitment requires MyD88 adaptor-like protein (MAL, also known as TIRAP). MyD88 and the serine/threonine kinase IL-1 receptor-associated kinase 4 (IRAK4) interact via their death domains. IRAK4 catalytic activity subsequently induces a complex with IRAK1 and IRAK2 and the E3 ubiquitin ligase TRAF6. UBC13, together with either TRAF6 or an unidentified E3 ligase, catalyzes the formation of K63-linked polyubiquitin chains on TRAF6 and IRAK1. TAK1-binding protein 2 (TAB2) and TAB3 recruit TGF $\beta$ -activated kinase 1 (TAK1) to K63-linked polyubiquitylated TRAF6, which triggers TAK1 activation of the p38 $\alpha$  and JNK MAPK pathways.



MAP3Ks 激活过程相当复杂,不同 MAP3Ks 能以多种形式激活,包括上游激酶的磷酸化或与信号转接器和小 GTP 酶的相互作用。转化生长因子  $\beta$  活化激酶 1 (transforming growth factor- $\beta$  activated kinase 1) 作为 p38 和 JNK 通路的直接激活 MAP3K, 也间接促进 TPL2 激活<sup>[30]</sup>。TPL2 则通过 I $\kappa$ B 激酶(inhibitor of kappa B kinase, IKK)诱导 NF- $\kappa$ B 亚基前体蛋白 p105 的水解激活 ERK1/2<sup>[38]</sup>。支架蛋白可以将 MAPK 级联的不同层连接成多酶复合物,这保证了信号的特异性,也调节了信号的振幅和持续时间<sup>[36]</sup>。这类适配蛋白也可能对先天免疫反应中的 MAPK 激活起重要作用,但这是一个相对未开发的领域<sup>[30-31]</sup>。

## 4 MAPK 抗菌作用

巨噬细胞产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)、一氧化氮(nitric oxide, NO)和吞噬作用直接杀死病原体。此外,它们产生细胞因子和趋化因子能够促进其他免疫细胞的招募和激活,从而诱导炎症和适应性免疫反应。MAPK 信号通路对一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)的调控一直存在争议<sup>[39]</sup>。一些研究显示,ERK1/2 通路抑制剂对 iNOS 表达无影响,而 iNOS 使用精氨酸作为底物,ERK1/2 和 p38 $\alpha$  又被证实可以调节脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的巨噬细胞对精氨酸的摄取<sup>[40]</sup>。

ROS 由多亚基 NADPH 氧化酶复合体产生,该复合体组装过程依赖 p47phox 亚基的磷酸化。在巨噬细胞中,p38 介导 p47phox 磷酸化依赖于大肠杆菌或肿瘤坏死因子刺激,ERK1/2 则在粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子的下游发挥作用<sup>[41]</sup>。

吞噬作用同样受到 MAPK 信号通路调节。抑制 ERK1/2 激活可以减弱对弗朗西斯菌的吞

噬作用,而阻断 p38 $\alpha$  则可以减弱对大肠杆菌的吞噬作用并影响自身吞噬体的成熟<sup>[42]</sup>。

## 5 病原操纵 MAPK 途径促进自身感染机制

许多病原体已经进化出抑制免疫反应的机制,这往往与其毒性增加有关。一种常见的抑制策略是针对宿主细胞内的信号网络,包括那些调节 NF- $\kappa$ B 和 IRF 转录因子的信号网络<sup>[43-44]</sup>。考虑到 MAPK 信号通路在调节免疫反应中的重要性,一些病原体能够进化出直接调节 MAPK 激活的机制也不足为奇。

MAPKs 抗菌功能主要表现在不同级联激酶磷酸化过程,除 Thr-X-Tyr 基序外,MAP3Ks 序列中还存在其他基序,能够选择性赋予下游对不同刺激的活性。在长期进化过程中,病原也逐渐进化出精确调节这些基序的能力。病原调控 MAPK 途径方式主要分成 3 类。

### 5.1 表达降解 MAPK 级联特定成分蛋白酶

GP63 被称为主要表面蛋白酶(major surface protease, MSP)或利什曼溶血素(leishmanolysin),是覆盖在利什曼原虫(*Leishmania*, *L. major*)前鞭毛体上含量最丰富的蛋白<sup>[45]</sup>。一方面,不同寄生虫模型研究表明,利什曼原虫在周围环境中释放 GP63 能促进自身繁殖;另一方面,经 GP63 处理的纤维连接蛋白片段通过减少活性氧中间体的产生起到保护巨噬细胞内的寄生虫的作用<sup>[45-46]</sup>。在利什曼原虫感染对成纤维细胞信号传导的研究中发现,*L. major* 以 GP63 依赖方式下调 p38,这种下调方式与 GP63 介导的转化生长因子激活激酶结合蛋白 1 (TAK-1-binding protein-1, TAB1)水解保持一致<sup>[46-47]</sup>。

### 5.2 抑制 MAPK 级联激活

病原抑制 MAPK 级联激活机制大致划分为

两类, 一类是靶向 MAP2K 破坏其激酶蛋白活性实现; 另一类病原利用蛋白翻译后修饰影响 MAPK 磷酸化抑制级联激活<sup>[48]</sup>。

炭疽杆菌能够分泌 2 种重要毒力因子: 致死因子(lethal factor, LF)和水肿因子(edema factor, EF)<sup>[49]</sup>。这 2 种毒素经保护性抗原(protective antigen, PA)转运至细胞, 其中  $Zn^{2+}$  依赖性金属蛋白酶 LF 切割 MKKs 的 N 端, 从而削弱其功能<sup>[50]</sup>。MAPK 通路在所有细胞类型中起着增殖、生存和炎症等重要作用, 而 MAPK 通路的破坏会导致宿主的多系统功能障碍。巨噬细胞和树突状细胞中 MAPK 通路失活导致促炎细胞因子分泌受到抑制, 共刺激分子如 CD<sub>80</sub> 和 CD<sub>86</sub> 下调, 并导致 T 细胞启动无效, 最终结果是先天和适应性免疫反应受损<sup>[51]</sup>。血管系统的内皮细胞在 LT 暴露后发生凋亡, 也可能与 MAPK 通路失活有关; 而 EF 是一种腺苷酸环化酶, 由钙调素通过非常规方式激活, 与 LF 一样, EF 主要作用是通过削弱吞噬细胞功能破坏宿主防御<sup>[49]</sup>。中性粒细胞趋化、吞噬、超氧化物产生和杀菌活性, 这些效应一般归因于蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 的激活, 正常生理中 PKA 活动受到严格调控, 当炭疽杆菌感染后, EF 抑制 TNF- $\alpha$  产生同时诱导 IL-6 水平升高, 这个过程中 cAMP 的升高能够阻断由于 LPS 引起的 ERK、JNK 通路的活化<sup>[52]</sup>。

与炭疽杆菌不同, 耶尔森氏菌(*Yersinia* spp.)、沙门氏菌(*Salmonella*)、副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)等病原菌通过介导 MAPK 乙酰化从而实现信号阻断<sup>[53]</sup>。III 型分泌系统(type III secretion systems, TTSSs)作为革兰氏阴性菌中特异性蛋白输出途径, 能够协助病原感染动物和植物, 并且 TTSSs 往宿主细胞注入效应蛋白耶尔森菌外蛋白(*Yersinia* outer proteins, Yops)能够抵消刺激带来的先天和适应性免疫反应,

其中耶尔森菌外蛋白 J (*Yersinia* outer protein J, YopJ)和耶尔森菌外蛋白 P (*Yersinia* outer protein P, YopP)作为研究的热点, 更是与多条信号通路相关联<sup>[54-55]</sup>。

目前, 已经证实 YopJ 诱导细胞凋亡和抑制细胞因子产生是其失活或抑制 MAPK 和 NF- $\kappa$ B 信号通路的结果<sup>[56]</sup>。有文献报道证实, YopJ 与 MKKs 家族成员结合, 并阻断其被磷酸化激活<sup>[57]</sup>。根据预测, YopJ 与 CE 家族的半胱氨酸蛋白酶具有相似二级结构, 其中包括泛素样蛋白酶家族(ubiquitin-like protease, UBLs)。这些酶含有催化所需的 3 种残基(His、Asp/Glu 和 Cys), YopJ 生物学功能同样需要这些残基。YopJ 活性与 Ub 样蛋白小 Ub 相关修饰蛋白(small Ub-related modifier, SUMO)整体修饰水平相关。由此提出, YopJ 从信号蛋白中去除 Ub 样修饰, 从而抑制 MAPK 和 NF- $\kappa$ B 反应途径; 后续研究发现, YopJ 通过蛋白互作方式与 MKKs 或 IKK 结合, 并使用乙酰辅酶 A 作为辅助因子, 使激活环中的丝氨酸和苏氨酸残基乙酰化, 从而阻止上游 TAK1 的激活信号<sup>[58]</sup>。类似的乙酰化过程在鼠伤寒沙门氏菌中则是由 AvrA 效应蛋白靶向 JNK MAPK 调节哺乳动物肠道免疫和生存反应。

### 5.3 增强 MAPK 级联激活

除上述 2 种调节方式外, 病原体编码的蛋白也可能通过激活而不是抑制 MAPK 活性的方式促进自身感染。

细胞内细菌的生长速率被促进复制和抑制复制的毒力蛋白严密控制。肠道链球菌进入宿主细胞后会在膜结合区室中复制, 这一过程被周围纤维状肌动蛋白网的形成所抑制, 纤维状肌动蛋白网的形成是由肠道链球菌效应分子 SteC 触发的<sup>[59]</sup>。SteC 作为一种丝氨酸/苏氨酸激酶, 与 C-Raf 激酶结构域具有相似性, 推测



能够模仿 C-Raf 功能直接磷酸化 MEK；此外，SteC 刺激 MAPK 过程检测到 S200 介导的 MEK1 自磷酸化，S200 磷酸化会取代已知 MEK 活化残基 S218 和 S222 上引起自磷酸化的负调节螺旋<sup>[60]</sup>。

有文献报道，肠道链球菌效应蛋白 SpvC 通过自身磷酸苏氨酸裂解酶活性灭活 ERK1/2，这也反映了病原会根据感染周期的不同阶段、不同程度选择性调节 MAPK 活性的能力<sup>[59]</sup>。在感染前期，链球菌依赖 SteC 激活 ERK1/2 使得 IL-10 增加、促炎反应减弱，有助于细菌感染巨噬细胞并建立稳定的感染；感染建立后，SpvC 水平升高使得 ERK1/2 失活，便于细菌进行下一步感染<sup>[61]</sup>。

这类现象在病毒中也有所报道，如丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染过程中触发 TAB1 和 p38 相互作用，诱导 p38 自磷酸化，活化的 p38 反过来催化 HCV 核心蛋白磷酸化，实现核心齐聚和病毒组装<sup>[62]</sup>。这种前馈循环使得 HCV 感染变成恶性循环<sup>[63]</sup>。从理论上来说，打破这种恶性循环对于抵抗病原感染是有效的，因此，开发靶向 MAPK 途径的药物对于疾病的治疗具有积极意义，另一方面也反映了揭示病原感染 MAPK 途径具体机制对于新型药物开发的极大参考价值。

## 6 总结与展望

回顾以前关于细菌病原体调节 MAPK 信号传导的研究，发现大多数病原体已经发展出直接抑制 MAPK 激活以满足自身感染的机制。然而，一个例外是病原体鼠伤寒沙门氏菌血清型(鼠伤寒沙门氏菌)，它使用 III 型分泌效应器 SteC 通过激活 MEK 和 ERK 的信号通路来促进肌动蛋白细胞骨架重组，从而有助于控制该病原体的细胞内复制<sup>[13,60]</sup>。沙门氏菌的细胞内生长速

率是一个严格控制的过程，涉及复制促进和复制抑制毒力蛋白活性之间的平衡，因此，在感染期间抑制细菌增殖对于沙门氏菌非常重要。

另外，单增李斯特菌在感染不同宿主和细胞时可以选择性激活或抑制 MAPK 途径信号调控自身感染，由此猜测单增李斯特菌已经进化出复杂的机制，可以在各种感染条件下灵活地调节宿主细胞的信号传导实现感染<sup>[64]</sup>。有研究发现，Caco-2 细胞中的 MAPK ERK1/2 磷酸化是由单核细胞增生李斯特菌感染强烈触发的，此过程高度依赖于李斯特菌溶血素 O 的膜透化活性；LLO 对 ERK1/2 磷酸化的激活作用是浓度依赖性的，并且 5 nmol/L 浓度足以触发这种细胞反应；胆固醇可以完全抑制该过程，从而阻断 LLO 的膜穿孔能力<sup>[14]</sup>。先前的研究也表明，炎症小体在感染过程中被李斯特菌激活，一些研究人员认为 caspase-1 激活是 LLO 依赖性的，炎症小体的这种激活是由 LLO 在质膜上的孔形成活性介导的<sup>[65-66]</sup>。尽管 LLO 在单增李斯特菌感染期间调节 MAPK 信号传导的机制仍然难以捉摸，但基于这些研究，推测 LLO 的成孔活性在连接 LLO 介导的 MAPK 信号传导和宿主免疫调节中起主要作用，并且这可能与 MAPK 磷酸化有密切关联。

信号通路磷酸化途径改变会导致严重疾病，许多信号传导途径级联反应磷酸化-去磷酸化失调被公认为是癌症发生的前提。然而应激激活的 MAPK 途径，如 JNK 和 p38 对于细胞周期过程、酪氨酸激酶的激活过程起着重要的调节作用，可以改变癌细胞对靶向治疗和化疗的反应<sup>[67]</sup>。

为治疗 MAPK 途径异常导致的疾病，一方面可以通过对应通路抑制剂实现<sup>[68]</sup>。有研究表明，靶向 MAPK 途径是治疗某些先天免疫疾病的可行目标，而且最突出的临床应用靶点是 ERK 途径<sup>[69]</sup>。选择 ERK 抑制剂与上游抑制的

联合使用可能会产生更理想的治疗效果, 根据肿瘤类型和状态, 同一靶点的不同抑制剂或同一途径中不同靶点的药物组合, 与单一抑制剂相比可导致显著的疗效差异, 因此, 靶向磷酸化途径的药物研发成为癌症治疗的聚焦研究领域, 从而使得围绕 MAPK 途径开展的研究显得尤为重要<sup>[70]</sup>。另一方面, 病原调控 MAPK 途径也为减毒活疫苗开发与应用提供借鉴。例如, 单增李斯特菌作为一种优质疫苗载体得到了广泛的应用。目前, 已经有关于李斯特菌狗骨肉瘤疫苗在临床上的应用, 启示我们可以在某些疫苗载体基础上开发针对特定疾病的新式药物<sup>[71-72]</sup>。通过对病原激活 MAPK 途径具体机制的深入了解, 开发出能够靶向 MAPK 关键激酶蛋白的减毒活疫苗, 从而实现疾病治疗的方案也将作为后续研究的重点。

## REFERENCES

- [1] Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation[J]. *Cell*, 2010, 140(6): 805-820
- [2] Rumpret M, Von Richthofen HJ, Peperzak V, Meyaard L. Inhibitory pattern recognition receptors[J]. *The Journal of Experimental Medicine*, 2022, 219(1): e20211463
- [3] Zepeda-Cervantes J, Ramírez-Jarquín JO, Vaca L. Interaction between virus-like particles (VLPs) and pattern recognition receptors (PRRs) from dendritic cells (DCs): toward better engineering of VLPs[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 1100
- [4] Liu CH, Liu HY, Ge BX. Innate immunity in tuberculosis: host defense vs. pathogen evasion[J]. *Cellular & Molecular Immunology*, 2017, 14(12): 963-975
- [5] Ohto U. Activation and regulation mechanisms of NOD-like receptors based on structural biology[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 953530
- [6] Liu J, Zhang H, Su YH, Zhang BJ. Application and prospect of targeting innate immune sensors in the treatment of autoimmune diseases[J]. *Cell & Bioscience*, 2022, 12(1): 68
- [7] Grave N, Scheffel TB, Cruz FF, Rockenbach L, Goettert MI, Laufer S, Morrone FB. The functional role of p38 MAPK pathway in malignant brain tumors[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 13: 975197
- [8] Farkhondeh T, Mehrpour O, Buhrmann C, Pourbagher-Shahri AM, Shakibaei M, Samarghandian S. Organophosphorus compounds and MAPK signaling pathways[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(12): E4258
- [9] Fiil BK, Petersen K, Petersen M, Mundy J. Gene regulation by MAP kinase cascades[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2009, 12(5): 615-621
- [10] Zhao HK, Wu L, Yan GF, Chen Y, Zhou MY, Wu YZ, Li YS. Inflammation and tumor progression: signaling pathways and targeted intervention[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2021, 6: 263
- [11] Chen Y, Yang J, Huang Z, Yin B, Umar T, Yang C, Zhang X, Jing H, Guo S, Guo M, et al. Vitexin mitigates *Staphylococcus aureus*-induced mastitis via regulation of ROS/ER stress/NF- $\kappa$ B/MAPK pathway[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022: 7977433. DOI: 10.1155/2022/7977433
- [12] Cui L, Shao X, Sun W, Zheng F, Dong J, Li J, Wang H, Li J. Anti-inflammatory effects of progesterone through NF- $\kappa$ B and MAPK pathway in lipopolysaccharide- or *Escherichia coli*-stimulated bovine endometrial stromal cells[J]. *PLoS One*, 2022, 17(4): e0266144
- [13] Zhang L, Sun Y, Xu W, Geng Y, Su YH, Wang QN, Wang JL. Baicalin inhibits *Salmonella typhimurium*-induced inflammation and mediates autophagy through TLR4/MAPK/NF- $\kappa$ B signalling pathway[J]. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2021, 128(2): 241-255
- [14] Cheng CY, Sun J, Yu HF, Ma TT, Guan CY, Zeng H, Zhang X, Chen ZW, Song HH. Listeriolysin O pore-forming activity is required for ERK1/2 phosphorylation during *Listeria monocytogenes* infection[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 1146
- [15] Nguyen BN, Peterson BN, Portnoy DA. Listeriolysin O: a phagosome-specific cytolysin revisited[J]. *Cellular Microbiology*, 2019, 21(3): e12988
- [16] Osborne SE, Brumell JH. Listeriolysin O: from bazooka to Swiss army knife[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2017, 372(1726): 20160222
- [17] Hamerman JA, Pottle J, Ni MJ, He YT, Zhang ZY, Buckner JH. Negative regulation of TLR signaling in myeloid cells—implications for autoimmune diseases[J]. *Immunological Reviews*, 2016, 269(1): 212-227
- [18] Simpson DS, Pang JY, Weir A, Kong IY, Fritsch M,

- Rashidi M, Cooney JP, Davidson KC, Speir M, Djajawi TM, et al. Interferon- $\gamma$  primes macrophages for pathogen ligand-induced killing via a caspase-8 and mitochondrial cell death pathway[J]. *Immunity*, 2022, 55(3): 423-441.e9
- [19] Luchner M, Reinke S, Milicic A. TLR agonists as vaccine adjuvants targeting cancer and infectious diseases[J]. *Pharmaceutics*, 2021, 13(2): 142
- [20] Kirtland ME, Tsitoura DC, Durham SR, Shamji MH. Toll-like receptor agonists as adjuvants for allergen immunotherapy[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 599083
- [21] Peng J, Yuan Q, Lin B, Panneerselvam P, Wang X, Luan XL, Lim SK, Leung BP, Ho B, Ding JL. SARM inhibits both TRIF- and MyD88-mediated AP-1 activation[J]. *European Journal of Immunology*, 2010, 40(6): 1738-1747
- [22] Qian J, Xu HD, Lv DQ, Liu W, Chen EG, Zhou Y, Wang Y, Ying KJ, Fan XH. Babaodan controls excessive immune responses and may represent a cytokine-targeted agent suitable for COVID-19 treatment[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2021, 139: 111586
- [23] Lin SC, Lo YC, Wu H. Helical assembly in the MyD88-IRAK4-IRAK2 complex in TLR/IL-1R signalling[J]. *Nature*, 2010, 465(7300): 885-890
- [24] Hu YH, Wang Y, Wang F, Dong YM, Jiang WL, Wang YP, Zhong X, Ma LX. SPOP negatively regulates toll-like receptor-induced inflammation by disrupting MyD88 self-association[J]. *Cellular & Molecular Immunology*, 2021, 18(7): 1708-1717
- [25] Mulas F, Wang X, Song SS, Nishanth G, Yi WJ, Brunn A, Larsen PK, Isermann B, Kalinke U, Barragan A, et al. The deubiquitinase OTUB1 augments NF- $\kappa$ B-dependent immune responses in dendritic cells in infection and inflammation by stabilizing UBC13[J]. *Cellular & Molecular Immunology*, 2021, 18(6): 1512-1527
- [26] Zhao W, Ma L, Cai C, Gong X. Caffeine inhibits NLRP3 inflammasome activation by suppressing MAPK/NF- $\kappa$ B and A2aR signaling in LPS-induced THP-1 macrophages[J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2019, 15(8): 1571-1581
- [27] An YN, Zhang HF, Wang C, Jiao FT, Xu HY, Wang XF, Luan WJ, Ma FX, Ni LH, Tang XD, et al. Activation of ROS/MAPK s/NF- $\kappa$ B/NLRP3 and inhibition of efferocytosis in osteoclast-mediated diabetic osteoporosis[J]. *The FASEB Journal*, 2019, 33(11): 12515-12527
- [28] Qu C, Park JY, Yun MW, He QT, Yang F, Kim K, Ham D, Li RR, Iverson TM, Gurevich VV, et al. Scaffolding mechanism of arrestin-2 in the cRaf/MEK1/ERK signaling cascade[J]. *PNAS*, 2021, 118(37): e2026491118
- [29] Aikin TJ, Peterson AF, Pokrass MJ, Clark HR, Regot S. MAPK activity dynamics regulate non-cell autonomous effects of oncogene expression[J]. *eLife*, 2020, 9: e60541
- [30] Yue JC, López JM. Understanding MAPK signaling pathways in apoptosis[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(7): 2346
- [31] Hutton SR, Otis JM, Kim EM, Lamsal Y, Stuber GD, Snider WD. ERK/MAPK signaling is required for pathway-specific striatal motor functions[J]. *The Journal of Neuroscience*, 2017, 37(34): 8102-8115
- [32] Bengal E, Aviram S, Hayek T. p38 MAPK in glucose metabolism of skeletal muscle: beneficial or harmful?[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(18): 6480
- [33] Cai JY, Gao L, Wang YX, Li Y, Ye Z, Tong S, Yan TF, sun Q, Xu Y, Jiang HX, et al. TMBIM1 promotes proliferation and attenuates apoptosis in glioblastoma cells by targeting the p38 MAPK signalling pathway[J]. *Translational Oncology*, 2022, 19: 101391
- [34] Xu Y, Sun Q, Yuan FE, Dong HM, Zhang HK, Geng RX, Qi YZ, Xiong XX, Chen QX, Liu BH. RND2 attenuates apoptosis and autophagy in glioblastoma cells by targeting the p38 MAPK signalling pathway[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research: CR*, 2020, 39(1): 174
- [35] Knight JRP, Alexandrou C, Skalka GL, Vlahov N, Pennel K, Officer L, Teodosio A, Kanellos G, Gay DM, May-Wilson S, et al. MNK inhibition sensitizes KRAS-mutant colorectal cancer to mTORC1 inhibition by reducing eIF4E phosphorylation and c-MYC expression[J]. *Cancer Discovery*, 2021, 11(5): 1228-1247
- [36] Chen J, Wang LH, Yuan M. Update on the roles of rice MAPK cascades[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(4): 1679
- [37] Nguyen K, Tran MN, Rivera A, Cheng T, Windsor GO, Chabot AB, Cavanaugh JE, Collins-Burow BM, Lee SB, Drewry DH, et al. MAP3K family review and correlations with patient survival outcomes in various cancer types[J]. *Frontiers in Bioscience: Landmark Edition*, 2022, 27(5): 167
- [38] Nakano R, Kitanaka T, Namba S, Kitanaka N, Suwabe Y, Konno T, Yamazaki J, Nakayama T, Sugiya H. Non-transcriptional and translational function of canonical NF- $\kappa$ B signaling in activating ERK1/2 in

- IL-1 $\beta$ -induced COX-2 expression in synovial fibroblasts[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 579266
- [39] Ahmad N, Ansari MY, Bano S, Haqqi TM. Imperatorin suppresses IL-1 $\beta$ -induced iNOS expression via inhibiting ERK-MAPK/AP1 signaling in primary human OA chondrocytes[J]. *International Immunopharmacology*, 2020, 85: 106612
- [40] Yang ZJ, Wang SC, Liu HG, Xu SW. MAPK/iNOS pathway is involved in swine kidney necrosis caused by cadmium exposure[J]. *Environmental Pollution*, 2021, 274: 116497
- [41] Kumar RR, Arora K, Goswami S, Sakhare A, Singh B, Chinnusamy V, Praveen S. MAPK enzymes: a ROS activated signaling sensors involved in modulating heat stress response, tolerance and grain stability of wheat under heat stress[J]. *3 Biotech*, 2020, 10(9): 380
- [42] Tóthová Z, Šemeláková M, Solárová Z, Tomc J, Debeljak N, Solár P. The role of PI3K/AKT and MAPK signaling pathways in erythropoietin signalization[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(14): 7682
- [43] Ivashkiv LB. Inflammatory signaling in macrophages: transitions from acute to tolerant and alternative activation states[J]. *European Journal of Immunology*, 2011, 41(9): 2477-2481
- [44] Heinz LX, Lee J, Kapoor U, Kartnig F, Sedlyarov V, Papakostas K, César-Razquin A, Essletzbichler P, Goldmann U, Stefanovic A, et al. TASL is the SLC15A4-associated adaptor for IRF<sub>5</sub> activation by TLR7-9[J]. *Nature*, 2020, 581(7808): 316-322
- [45] Martinez PA, Petersen CA. Chronic infection by *Leishmania amazonensis* mediated through MAPK ERK mechanisms[J]. *Immunologic Research*, 2014, 59(1/2/3): 153-165
- [46] Hallé M, Gomez MA, Stuiblé M, Shimizu H, McMaster WR, Olivier M, Tremblay ML. The *Leishmania* surface protease GP63 cleaves multiple intracellular proteins and actively participates in p38 mitogen-activated protein kinase inactivation[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(11): 6893-6908
- [47] Valentim-Silva JR, Macedo SRA, De Barros NB, Dos Santos Ferreira A, Da Silva JHM, De Figueiredo Nicolette LD, Nicolette R. Antileishmanial drugs activate inflammatory signaling pathways via toll-like receptors (docking approach) from *Leishmania amazonensis*-infected macrophages[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 85: 106640
- [48] Braicu C, Buse M, Busuioc C, Drula R, Gulei DA, Raduly L, Rusu A, Irimie A, Atanasov AG, Slaby O, et al. A comprehensive review on MAPK: a promising therapeutic target in cancer[J]. *Cancers*, 2019, 11(10): 1618
- [49] Yang NJ, Isensee J, Neel DV, Quadros AU, Zhang HXB, Lauzadis J, Liu SM, Shiers S, Belu A, Palan S, et al. *Anthrax* toxins regulate pain signaling and can deliver molecular cargoes into ANTXR2<sup>+</sup> DRG sensory neurons[J]. *Nature Neuroscience*, 2022, 25(2): 168-179
- [50] Xie T, Auth RD, Frucht DM. The effects of anthrax lethal toxin on host barrier function[J]. *Toxins*, 2011, 3(6): 591-607
- [51] Zhang X, Feng T, Zhou X, Sullivan PM, Hu F, Lou Y, Yu J, Feng J, Liu H, Chen Y. Inactivation of TMEM106A promotes lipopolysaccharide-induced inflammation via the MAPK and NF- $\kappa$ B signaling pathways in macrophages[J]. *Clinical and Experimental Immunology*, 2020, 203(1): 125-136
- [52] Raymond B, Ravaux L, Mémet S, Wu YZ, Sturny-Leclère A, Leduc D, Denoyelle C, Goossens PL, Payá M, Raymondjean M, et al. *Anthrax* lethal toxin down-regulates type-IIA secreted phospholipase A2 expression through MAPK/NF- $\kappa$ B inactivation[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2010, 79(8): 1149-1155
- [53] Haase R, Richter K, Pfaffinger G, Courtois G, Ruckdeschel K. *Yersinia* outer protein P suppresses TGF-beta-activated kinase-1 activity to impair innate immune signaling in *Yersinia enterocolitica*-infected cells[J]. *Journal of Immunology: Baltimore, Md: 1950*, 2005, 175(12): 8209-8217
- [54] Sawa T, Katoh H, Yasumoto H. V-antigen homologs in pathogenic gram-negative bacteria[J]. *Microbiology and Immunology*, 2014, 58(5): 267-285
- [55] Harmon DE, Davis AJ, Castillo C, Meccas J. Identification and characterization of small-molecule inhibitors of yop translocation in *Yersinia pseudotuberculosis*[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2010, 54(8): 3241-3254
- [56] Zhang Y, Ting AT, Marcu KB, Bliska JB. Inhibition of MAPK and NF-kappa B pathways is necessary for rapid apoptosis in macrophages infected with *Yersinia*[J]. *Journal of Immunology: Baltimore, Md: 1950*, 2005, 174(12): 7939-7949
- [57] Sheppe AEF, Santelices J, Czyz DM, Edelmann MJ. *Yersinia pseudotuberculosis* YopJ limits macrophage response by downregulating COX-2-mediated biosynthesis of PGE2 in a MAPK/ERK-dependent

- manner[J]. *Microbiology Spectrum*, 2021, 9(1): e0049621
- [58] Wiley DJ, Shrestha N, Yang J, Atis N, Dayton K, Schesser K. The activities of the *Yersinia* protein kinase A (YpkA) and outer protein J (YopJ) virulence factors converge on an eIF2 $\alpha$  kinase[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(37): 24744-24753
- [59] Wang Q, Zhou H, Fan H, Wang X. Coinfection with porcine circovirus type 2 (PCV2) and *Streptococcus suis* serotype 2 (SS2) enhances the survival of SS2 in swine tracheal epithelial cells by decreasing reactive oxygen species production[J]. *Infection and Immunity*, 2020, 88(11): e00537-e00520
- [60] Odendall C, Rohlion N, Förster A, Poh J, Lamont DJ, Liu M, Freemont PS, Catling AD, Holden DW. The *Salmonella* kinase SteC targets the MAP kinase MEK to regulate the host actin cytoskeleton[J]. *Cell Host & Microbe*, 2012, 12(5): 657-668
- [61] Mazurkiewicz P, Thomas J, Thompson JA, Liu M, Arbibe L, Sansonetti P, Holden DW. SpvC is a *Salmonella* effector with phosphothreonine lyase activity on host mitogen-activated protein kinases[J]. *Molecular Microbiology*, 2008, 67(6): 1371-1383
- [62] Cheng YT, Sun F, Wang LY, Gao MJ, Xie YL, Sun Y, Liu H, Yuan YF, Yi W, Huang Z, et al. Virus-induced p38 MAPK activation facilitates viral infection[J]. *Theranostics*, 2020, 10(26): 12223-12240
- [63] Song X, Gao X, Wang Y, Raja R, Zhang Y, Yang S, Li M, Yao Z, Wei L. HCV core protein induces chemokine CCL2 and CXCL10 expression through NF- $\kappa$ B signaling pathway in macrophages[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 654998
- [64] Hashino M, Tachibana M, Nishida T, Hara H, Tsuchiya K, Mitsuyama M, Watanabe K, Shimizu T, Watarai M. Inactivation of the MAPK signaling pathway by *Listeria monocytogenes* infection promotes trophoblast giant cell death[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 1145
- [65] Hara H, Tsuchiya K, Nomura T, Kawamura I, Shoma S, Mitsuyama M. Dependency of caspase-1 activation induced in macrophages by *Listeria monocytogenes* on cytolysin, listeriolysin O, after evasion from phagosome into the cytoplasm[J]. *Journal of Immunology: Baltimore, Md*: 1950, 2008, 180(12): 7859-7868
- [66] Megli C, Morosky S, Rajasundaram D, Coyne CB. Inflammasome signaling in human placental trophoblasts regulates immune defense against *Listeria monocytogenes* infection[J]. *The Journal of Experimental Medicine*, 2021, 218(1): e20200649
- [67] Arafa ESA, Refaey MS, Abd El-Ghafar OAM, Hassanein EHM, Sayed AM. The promising therapeutic potentials of ginsenosides mediated through p38 MAPK signaling inhibition[J]. *Heliyon*, 2021, 7(11): e08354
- [68] Czarnecka AM, Bartnik E, Fiedorowicz M, Rutkowski P. Targeted therapy in melanoma and mechanisms of resistance[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(13): 4576
- [69] Morris EJ, Jha S, Restaino CR, Dayanath P, Zhu H, Cooper A, Carr D, Deng Y, Jin W, Black S, et al. Discovery of a novel ERK inhibitor with activity in models of acquired resistance to BRAF and MEK inhibitors[J]. *Cancer Discovery*, 2013, 3(7): 742-750
- [70] Ullah R, Yin Q, Snell AH, Wan LX. RAF-MEK-ERK pathway in cancer evolution and treatment[J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2022, 85: 123-154
- [71] Cheng CY, Jiang L, Ma TT, Wang H, Han X, Sun J, Yang YC, Chen ZW, Yu HF, Hang Y, et al. Carboxyl-terminal residues N478 and V479 required for the cytolytic activity of listeriolysin O play a critical role in *Listeria monocytogenes* pathogenicity[J]. *Frontiers in Immunology*, 2017, 8: 1439
- [72] Mason NJ, Gnanandarajah JS, Engiles JB, Gray F, Laughlin D, Gaurnier-Hausser A, Wallecha A, Huebner M, Paterson Y. Immunotherapy with a HER2-targeting *Listeria* induces HER2-specific immunity and demonstrates potential therapeutic effects in a phase I trial in canine osteosarcoma[J]. *Clinical Cancer Research*, 2016, 22(17): 4380-4390