

论著·基础研究

c-Jun 氨基末端激酶在单增李斯特菌感染形成炎症复合体中的作用*

刘倩倩¹, 申艳娜²

(1. 郑州大学附属儿童医院检验科/郑州市儿童感染与免疫重点实验室, 河南郑州 450012;

2. 天津医科大学医学检验学院, 天津 300203)

摘要:目的 探讨 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)在单增李斯特菌(LM)感染小鼠腹腔巨噬细胞过程中,对于炎症复合体活化与装配的作用,及其与毒力因子李斯特菌溶血素(LLO)的关系。方法 将小鼠腹腔巨噬细胞随机分为 SP 处理组、未处理组及阴性对照组(NI),每组 3 个复孔。SP 处理组用 JNK 抑制剂 SP600125 预处理小鼠腹腔巨噬细胞 1 h,除 NI 外,其余各组巨噬细胞感染野生型 LM(WT-LM) 24 h,酶联免疫吸附实验(ELISA)检测上清液中白细胞介素(IL)-18 的表达;免疫荧光观察细胞内炎症复合体的关键蛋白组分 ASC 斑点(ASC-speck)的形成情况;Western blot 检测 WT-LM 感染小鼠腹腔巨噬细胞不同时相点 JNK 的磷酸化水平。同时使用 LM 的 Δhly 和 $\Delta hly::hly$ 突变株感染小鼠腹腔巨噬细胞,观察胞内 ASC-speck 的形成情况及不同时相点 JNK 蛋白的磷酸化水平。**结果** SP 处理组 IL-18 的表达水平与未处理组相比明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),免疫荧光法发现 SP 处理组 ASC-speck 阳性的细胞百分比明显低于未处理组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。Western blot 结果显示 p-JNK 在 WT-LM 感染 10 min 时即明显升高,40 min 时达到峰值,持续至少 120 min。LM 的突变株感染实验中,免疫荧光结果显示 Δhly 感染组 ASC-speck 阳性细胞的百分比比较 WT-LM 感染组明显降低,差异有统计学意义($P < 0.01$),而 LLO 重新表达的 $\Delta hly::hly$ 感染组,ASC-speck 阳性细胞数得到明显恢复,与野生型 LM 组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。Western blot 结果看到 p-JNK 在 Δhly 突变株感染后 40 min 有显著表达,而在 80 min 和 120 min 后出现骤然减弱甚至消失。**结论** JNK 信号通路参与调控 LM 感染过程中炎症复合体的活化,并且在 JNK 参与活化过程中,与 LLO 密切相关。

关键词: c-Jun 氨基末端激酶; 李斯特菌溶血素; 炎症复合体; 李斯特菌,单核细胞增生; 白细胞介素-18

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.20.005

中图法分类号:Q789,R378

文章编号:1673-4130(2019)20-2454-06

文献标识码:A

The role of c-Jun N-terminal kinase in inflammasome formed by listeria monocytogenes infection*

LIU Qianqian¹, SHEN Yanna²

(1. Department of Clinical Laboratory, Children's Hospital Affiliated to Zhengzhou University/Zhengzhou Key Laboratory of Children's Infection and Immunity, Zhengzhou, Henan 450012, China;

2. Tianjin Medical University School of Medical Laboratory, Tianjin 300203, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of c-Jun N-terminal kinase (JNK) on the activation and assembly of inflammasomes in mice with peritoneal macrophages infected with *Listeria monocytogenes* (LM), and its relationship with virulence factor LLO. **Methods** Mouse peritoneal macrophages were randomly divided into SP treatment group, untreated group and negative control group (NI), with 3 duplicate wells in each group. In the SP treatment group, the mouse peritoneal macrophages were pretreated with JNK inhibitor SP600125 for 1 h. Except for NI, the other macrophages were infected with wild-type LM (WT-LM) for 24 h, the expression of interleukin (IL)-18 in supernatant was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The formation of ASC-speck, a key protein component of intracellular inflammasome was observed by immunofluorescence; The phosphorylation of JNK in peritoneal macrophages of WT-LM infected mice at different time points was detected by Western blot. At the same time, Δhly and $\Delta hly::hly$ mutants of LM were used to infect mouse peritoneal macrophages, and the formation of intracellular ASC-speck and the phosphorylation level of JNK protein at different time points were observed. **Results** The expression level of IL-18 in the SP treatment group was significantly lower than that in the untreated group ($P < 0.05$). Immunofluo-

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81101222)。

作者简介:刘倩倩,女,主管技师,主要从事儿童感染与免疫方面的研究。

本文引用格式:刘倩倩,申艳娜. c-Jun 氨基末端激酶在单增李斯特菌感染形成炎症复合体中的作用[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(20):

rescence showed that the percentage of ASC-speck positive cells in the SP treatment group was significantly lower than that in the untreated group ($P < 0.01$). Western blot results showed that p-JNK increased significantly at 10 min after WT-LM infection and peaked at 40 min for at least 120 min. In the LM mutant infection experiment, the immunofluorescence results showed that the percentage of ASC-speck positive cells in the Δhly infected group was significantly lower than that in the WT-LM infected group, the difference was statistically significant ($P < 0.01$), and the LLO re-expressed Δhly in the hly-infected group ($\Delta hly::hly$ group), the number of ASC-speck positive cells was significantly restored, and there was no significant difference compared with the wild-type LM group ($P > 0.05$). Western blot results showed that p-JNK was significantly expressed 40 min after infection of Δhly mutant, but suddenly decreased or even disappeared at 80 min and 120 min. **Conclusion** JNK signaling pathway is involved in the regulation of the activation of inflammasomes during LM infection and is closely related to LLO during JNK involvement in activation.

Key words: c-Jun N-terminal kinase; listeriolysin; inflammasome; listeria, monocyte proliferation; interleukin-18

单核细胞增生李斯特菌(LM)是一种主要威胁免疫力低下个体的条件致病菌,可引起败血症,脑膜炎,以及导致感染后孕妇的胎儿感染甚至流产等^[1]。其致病性在于 LM 可通过其毒力因子入侵机体多种细胞,固有免疫的吞噬细胞和巨噬细胞是其首要靶细胞,李斯特菌进入胞吞体后可通过李斯特菌溶血素(LLO)逃至胞浆内生存并增殖^[2-3]。

固有免疫应答作为机体抵御病原生物入侵的第一道防线,在对病原体入侵、清除异物以及介导机体产生获得性免疫应答过程中发挥至关重要的作用。其中炎症复合体(inflammasome)作为固有免疫系统中的一个重要信号蛋白分子复合物(由识别受体,接头蛋白 ASC 以及半胱氨酸蛋白酶水解酶 caspase-1 的前体组成),可被胞内多种病原微生物代谢产物及危险信号所激活,招募并活化 caspase-1,进而调节细胞质内炎症细胞因子白细胞介素(IL)-18 及 IL-1 β 的成熟与分泌^[4-5]。研究表明,LM 可激活 NLRP3, NLR4, AIM2 3 种炎症复合体^[6-8],不过对于其活化的具体分子机制尚不清楚,以及 LLO 作为 LM 最重要的致病毒力因子,在此过程中是否发挥作用。本实验组已明确 syk 在 LM 活化形成炎症复合体过程中发挥着至关重要的作用^[12],本文旨在探究细胞内另一种常见信号蛋白分子 JNK 在 LM 激活炎症复合体的过程中是否发挥作用以及作用特点,并分析此活化过程与 LLO 的关系。

1 材料与方法

1.1 材料 (1)实验动物:选取 7~12 周龄雌性 C57BL/6 小鼠 30 只。(2)菌种:LM 野生株 EGD,突变株 Δhly 及 $\Delta hly::hly$ (由日本京都大学医学研究科赠)。

1.2 仪器与试剂 (1)主要仪器:Biotech 酶标仪(ELx-800),Nikon 免疫荧光显微镜(Ni-U),小型垂直蛋白电泳仪和小型 Trans-Blot 转印槽(美国 Bio-Rad)。(2)主要试剂:JNK 抑制剂 SP600125 (SP) (Calbiochem),IL-18 酶联免疫吸附试剂盒(MBL),兔抗磷酸化 JNK(p-JNK)单克隆抗体,兔抗 JNK 多克隆抗体和抗兔 HRP 标记 IgG 二抗(均购自 Cell Sig-

naling Technology),多克隆兔抗鼠 ASC 抗体(Sigma-Aldrich),DAPI 染液(Roche),荧光二抗 Alexa Fluoro 594 驴抗兔 IgG (invivogen),胎牛血清 FBS (Hyclone),脱脂牛奶(Difco),庆大霉素(GM)(和研纯化学株式会社)。

1.3 方法

1.3.1 细胞的收集与接种 小鼠腹腔注射 3 mL 浓度为 3% 的巯基乙酸盐肉汤,4 d 后用 RPMI1640 培养液 5 mL 收集小鼠腹腔渗出细胞。4 °C 低温离心机 1 000 r/min,离心 3 min,洗涤两次,使用 RPMI1640 培养基(含 10% FBS)将细胞调整至所需浓度,接种于细胞培养板后 2 h 去除悬浮细胞,贴壁细胞即为巨噬细胞。

1.3.2 酶联免疫吸附实验(ELISA)检测 将小鼠腹腔渗出细胞分为阴性对照组(NI)、未处理组、SP 处理组,每组 3 个复孔,SP 处理组使用抑制剂 SP600125 预处理 1 h,除 NI 组外,其余组按感染复数 MOI=1 的 LM 细菌量刺激巨噬细胞 30 min 后加入 10 μ g/mL(终浓度)的 GM,培养 24 h 后,ELISA 检测上清液中 IL-18 水平。

1.3.3 免疫荧光检测 12 孔细胞培养板在接种细胞前预先放置细胞爬片 (1)野生型 LM 感染实验:分 NI 组、未处理组、SP 处理组,除 NI 组外,其余组按感染复数 MOI=1 的细菌量刺激细胞 30 min。之后加入 10 μ g/mL(终浓度)的 GM 培养 24 h。接下来,按以下步骤操作:

培养孔中的细胞 $\xrightarrow[\text{清洗 2 次}]{\text{PBS}}$ 4% 多聚甲醛室温固定
15 min $\rightarrow$ 抗 ASC 抗体室温孵育 2 h $\xrightarrow[\text{清洗 4 次}]{\text{PBS}}$ 荧光二
抗室温孵育 2 h $\xrightarrow[\text{清洗 4 次}]{\text{PBS}}$ DAPI 染核避光 5 min
 $\xrightarrow[\text{清洗 4 次}]{\text{PBS}}$ 爬片封埋 $\rightarrow$ 荧光镜下观察 200 个细胞 $\rightarrow$ 计数 ASC-speck 并统计阳性细胞百分比

(2)LM 突变株感染实验:将细胞分为 NI 组,WT-LM 感染组, Δhly 感染组, $\Delta hly::hly$ 感染组。除 NI 组外,其余组加入感染复数 MOI=1 相对应的

LM 感染细胞 30 min。再加入 10 $\mu\text{g/mL}$ (终浓度)的 GM 培养 24 h。之后处理方法同野生型 LM 感染实验。

1.3.4 Western blot 检测 按感染复数 $\text{MOI}=5$ 的菌量加入野生型 LM 感染细胞 10、20、40、80、120 min,或加入野生型和突变型 LM 分别感染细胞 40、80、120 min。步骤为:裂解细胞提取蛋白 $\rightarrow$ SDS-PAGE 150V,40 min $\rightarrow$ 蛋白电转至 PVDF 膜 $\rightarrow$ 5%脱脂牛奶室温封闭 2 h $\rightarrow$ p-JNK 或 t-JNK 抗体 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜 $\rightarrow$ TBST 清洗 3 次 $\times$ 10 min $\rightarrow$ 标记 HRP 二抗室温孵育 1 h $\rightarrow$ TBST 清洗 3 次 $\times$ 10 min $\rightarrow$ 暗室曝光

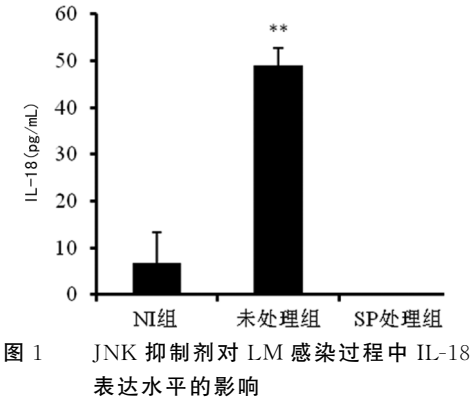
需要注意的是为确保实验的可信性及准确性,以上试验方法均进行重复实验 3 次及以上。论著内选用多次实验中较理想实验结果。

1.4 统计学处理 使用 SPSS17.0 软件进行统计分析,两组间比较采用 t 检验,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,计数资料以率(%)表示,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 SP 对野生型 LM 感染小鼠腹腔巨噬细胞产生 IL-18 的影响 未处理组小鼠腹腔巨噬细胞在 LM 感

染后,IL-18 水平与 NI 组相比显著升高,而 JNK 抑制剂使用后,SP 处理组 IL-18 的表达量则明显受到抑制($t=18.74, P<0.01$),SP 处理组与 NI 组相比,IL-18 表达水平差异无统计学意义($t=1.004, P>0.05$)。见图 1。



2.2 SP 对野生型 LM 感染小鼠腹腔巨噬细胞胞浆内 ASC-speck 形成的影响 免疫荧光结果显示,SP 处理组含 ASC-speck(红色荧光高亮点)的阳性细胞的百分比(2.23 ± 0.44)%与未处理组(45.81 ± 6.03)%相比明显降低,差异有统计学意义($t=10.99, P<0.01$)。见图 2。

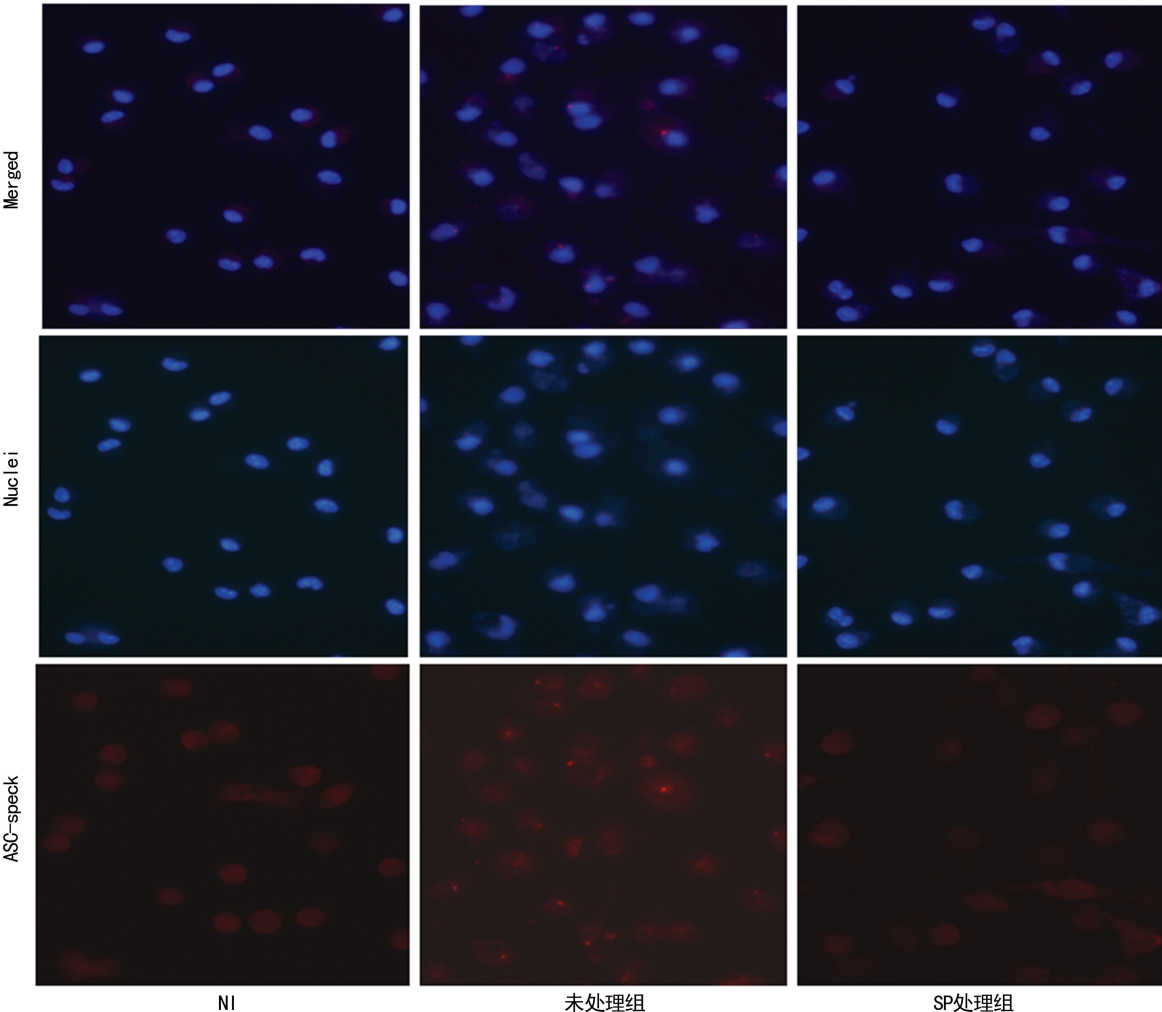


图 2 SP 处理前后 LM 感染巨噬细胞胞浆内 ASC-speck 的形成个数比较

2.3 野生型 LM 感染巨噬细胞不同时间 JNK 的磷酸化表达水平 从图中可以看出,野生型 LM 感染小鼠腹腔巨噬细胞后,t-JNK 的蛋白表达水平无明显差别,然而,p-JNK 水平在感染后 10 min 即有明显表达,随感染时间的延长,p-JNK 的表达量逐渐增多,在 20 min 和 40 min 时达到最高峰,之后开始缓慢减少,但持续 120 min 时仍有明显表达。见图 3。

2.4 LM 突变株感染小鼠腹腔巨噬细胞后胞浆内形成 ASC-speck 的变化 结果显示, Δhly -LM 感染组 ASC-speck 阳性细胞的百分比(2.09 ± 0.33)%与野生型 LM 感染组百分比(45.81 ± 6.03)%相比显著降低,差异有统计学意义($t=11.26, P<0.01$),而在 LLO 重新表达

的 $\Delta hly::hly$ -LM 感染组中,ASC-speck 阳性细胞的百分比(42.18 ± 2.50)%得到明显的恢复,与野生型 LM 组相比差异无统计学意义($t=1.097, P>0.05$)。见图 4。

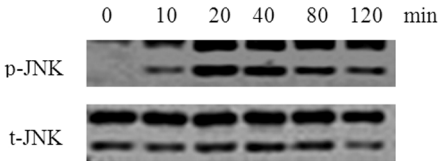


图 3 野生型 LM 感染巨噬细胞后不同时间 t-JNK 和 p-JNK 的表达水平

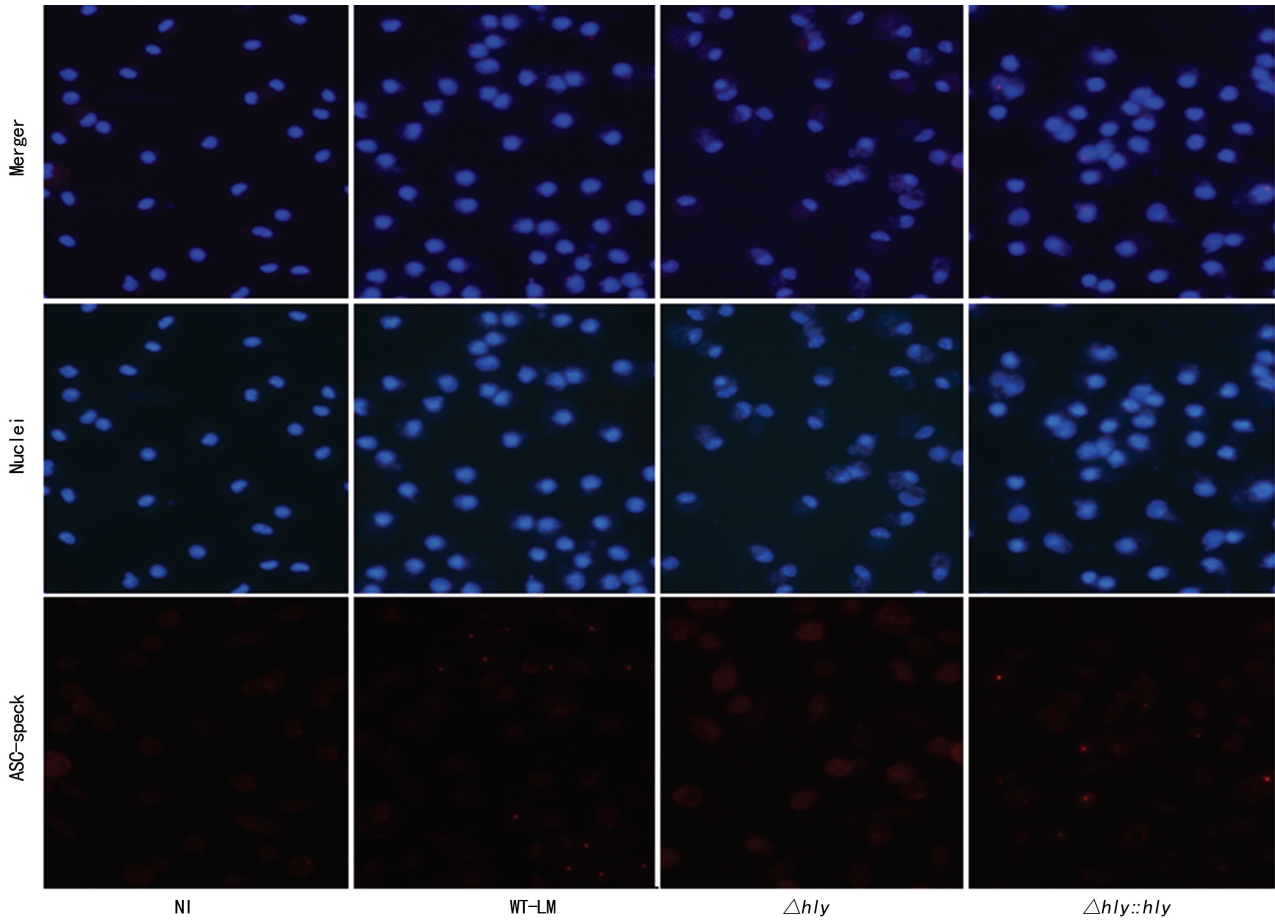


图 4 LM 突变菌株感染巨噬细胞后胞浆内 ASC-speck 的形成个数比较

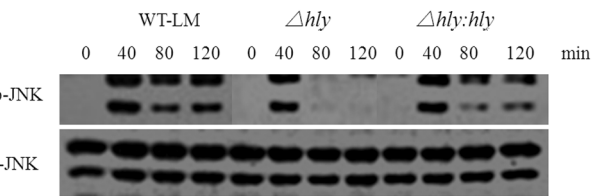


图 5 野生型和突变型 LM 感染小鼠腹腔巨噬细胞后 JNK 蛋白表达水平随时间的变化情况

2.5 LLO 对 LM 感染后 JNK 蛋白磷酸化水平的影响 从图 5 中可以看出,无论野生型 LM,还是突变菌株 LM 感染细胞后,p-JNK 蛋白水平在感染 40 min 时均有高表达,随感染时间的延长,野生型 LM 和

$\Delta hly::hly$ -LM 感染组 p-JNK 的表达量略有下降,但仍有明显表达,但 Δhly -LM 感染组 p-JNK 表达量在 80 min 时发生骤然消失,在感染 120 min 时仍未恢复。

3 讨 论

单核细胞增生李斯特菌是具有高致死率的食源性病原微生物之一,研究表明在 LM 感染过程中,LLO 对于 LM 发挥毒力作用至关重要,它是李斯特菌入侵宿主细胞的强力分子武器,也是引起李斯特菌病的首要步骤^[9]。LM 在 LLO 的帮助下进入胞浆后,宿主细胞可通过模式识别受体识别胞浆内的病原菌及其代谢产物,激活一种多蛋白复合物-炎症复合体,

可调控炎症细胞因子 IL-18 和 IL-1 β 等的成熟与分泌,进而诱导细胞免疫应答,达到杀灭 LM 的作用。目前发现 NLRP3、AIM2、NLRC4 这 3 种炎症复合体可在 LM 感染过程中被激活^[6-8]。但是对于 LM 如何活化炎症复合体,以及 LLO 与炎症复合体活化间作用关系的具体机制尚不明确。

本实验组已证实非受体型酪氨酸蛋白激酶 syk 在单增李斯特菌感染小鼠腹腔巨噬细胞形成炎症复合体的过程中发挥至关重要的调控作用,本研究在此基础上发现细胞内另一种常见信号蛋白激酶 c-Jun 氨基末端激酶(JNK),在 LM 感染 JNK 抑制剂(SP)预处理的小鼠腹腔巨噬细胞时发现,上清液中 IL-18 的表达水平同样受到明显抑制,表明 JNK 信号通路参与调控 LM 感染过程中 IL-18 的加工与活化。见图 1。

有文献报道,炎症复合体活化后可在胞浆内形成 ASC-speck 点状聚集^[10-11],因此,本实验组利用免疫荧光法观察,在单增李斯特菌感染 SP 预处理的小鼠腹腔巨噬细胞后,胞浆内 ASC-speck 的形成情况。研究结果显示,SP 处理组小鼠腹腔巨噬细胞质内 ASC-speck 阳性的细胞百分比同未处理组相比明显降低,见图 2。表明 JNK 是通过调控 ASC-依赖的炎症复合体的活化来调节 IL-18 生成的。

为了明确 JNK 在 LM 感染过程中的作用阶段及活化程度,实验中使用 Western blot 法检测小鼠腹腔巨噬细胞内 p-JNK 的表达水平,实验结果表明,在 LM 感染细胞的早期 JNK 的磷酸化蛋白水平即有明显升高,随感染时间的延长,p-JNK 的表达量逐渐增多,在 20 min 和 40 min 时达到最高峰,之后开始缓慢减少,但在感染 120 min 时仍有明显表达量。通过与之前本实验组对 syk 蛋白激酶磷酸化水平随感染时间变化的 western 结果进行比较分析^[12],本文推断它们在 LM 感染活化炎症复合体过程中发挥作用的阶段不同。syk 作为一种细胞质内的非受体型酪氨酸激酶,它发生磷酸化需要一种跨膜蛋白 ITAMs 的酪氨酸残基磷酸化后对其招募和激活^[13],在 LM 感染后不同时间点,p-syk 水平表现出升高后降低,再升高的变化趋势,推测这一表现与 LM 是否进入和逃离胞吞体相关,对于其明确机制尚需进一步探究。而且 syk 和 JNK 在炎症复合体活化过程中的作用关系待进一步确定。总之,western 结果进一步证实 JNK 确实在 LM 感染过程中发挥作用。

LLO 作为 LM 的最重要毒力因子,不仅能够帮助 LM 逃离吞噬体至细胞质内发挥毒力作用,而且在诱导宿主细胞产生相应的免疫反应方面也发挥着至关重要的作用。有研究报道,在 LM 感染过程中,caspase-1 的活化以及 IL-1 β 和 IL-18 的生成依赖 LLO 和 NLRP3^[14],因此本实验组在观察 LLO 缺失菌株感染小鼠巨噬细胞后胞内 ASC-speck 的形成情况以及 JNK 蛋白磷酸化水平变化时,发现毒力因子李斯特菌溶血素基因(*hly*)缺失的 LM 突变菌株不能

有效促使 ASC 蛋白在细胞质内聚集,即不能有效活化 ASC-依赖的炎症复合体,此外,从图 5 可看到 JNK 的磷酸化水平在使用 LLO 缺失型的菌株刺激后 80 min 时出现消失现象。本文推断由于 Δhly -LM 缺失 LLO 毒力因子,使细菌被吞噬入胞吞体后不能有效地逃逸至细胞质,更不能使 LM 在细胞间进行扩散,因此使得感染伊始的胞膜黏附,受体配体识别,信号传导等不能继续,从而影响 ASC-speck 的形成和 p-JNK 的表达量。但是对于 LLO 是通过何种方式和途径影响 JNK 在 LM 激活炎症复合体过程中作用的,尚需进一步的实验研究。

4 结 论

研究证明,在 LM 感染过程中,JNK 信号通路通过参与调控炎症复合体的活化,进而促进 IL-18 的表达,而在此调节过程中,JNK 的蛋白磷酸化变化及 ASC-点状聚集物的形成均与其毒力因子 LLO 密切相关,说明 LLO 在 JNK 调控 LM 感染形成炎症复合体过程中发挥着关键作用。此外,本实验组已证实 syk 在 LM 感染形成炎症复合体过程中的作用,联合本实验结果,可知 syk 与 JNK 均参与 LM 感染过程中炎症复合体的活化,但作用阶段不尽相同,其作用方式也应不同,JNK 是否像 syk 一样同时参与细菌及真菌类的感染过程仍待进一步明确。同时,越来越多的学者发现,炎症复合体的作用在多种疾病中至关重要,包括动脉粥样硬化,肺部疾病,癌症等^[15-17],然而对于其分子机制仍不明了,此次实验研究将为这些疾病的发病机制,以及临床免疫治疗新途径提供科学理论依据。

参考文献

- [1] RADOSHEVICH L, COSSART P. *Listeria monocytogenes*: towards a complete picture of its physiology and pathogenesis[J]. Nat Rev Microbiol, 2018, 16(1): 32-46.
- [2] MCDUGAL C E, SAUER J D. *Listeria monocytogenes*: The Impact of Cell Death on Infection and Immunity[J]. Pathogens, 2018, 7(1): 8.
- [3] WALLECHA A, LAURENCE W, PAN Z K, et al. *Listeria monocytogenes*-derived Listeriolysin O has pathogen-associated molecular pattern-like properties independent of its hemolytic ability[J]. Clin Vaccine Immunol, 2013, 20(1): 77-84.
- [4] BROZ P, DIXIT V M. Inflammasomes: mechanism of assembly, regulation and signalling[J]. Nat Rev Immunol, 2016, 16(7): 407-420.
- [5] MAN S M, KANNEGANTI T D. Regulation of inflammasome activation[J]. Immunol Rev, 2015, 265(1): 6-21.
- [6] WU J, FERNANDES-ALNEMRI T, ALNEMRI E S. Involvement of the AIM2, NLRC4, and NLRP3 Inflammasomes in Caspase-1 Activation by *Listeria monocytogenes* [J]. J Clin Immunol, 2010, 30(5): 693-702.
- [7] KIM S, BAUERNFEIND F, ABLASSER A, et al. *Listeria monocytogenes* is sensed by the NLRP3 and AIM2 inflammasome[J]. Eur J Immunol, 2010, 40(6): 1545-1551.
- [8] TSUCHIYA K, HARA H, KAWAMURA I, et al. Involvement of absent in melanoma 2 in(下转第 2463 页)

- 2205-2216.
- [9] SZNAJD J, MUKHTYAR C. How to treat ANCA associated vasculitis: practical messages from 2016 EULAR/ERA-EDTA recommendations[J]. *Pol Arch Med Wewn*, 2016, 126(10): 781-788.
- [10] 中国医师协会风湿免疫科医师分会自身抗体检测专业委员会. 抗中性粒细胞胞浆抗体检测的临床应用专家共识[J]. *中华检验医学杂志*, 2018, 41(9): 644-650.
- [11] 陈楠, 王伟铭, 主编. 肾脏疾病诊断学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2009: 281-290.
- [12] KOTULA J J, MOORE W S, CHOPRA A, et al. Association of procalcitonin value and bacterial coinfections in pediatric patients with viral lower respiratory tract infections admitted to the pediatric intensive care unit[J]. *J Pediatr Pharmacol Ther*, 2018, 23(6): 466-472.
- [13] PAPP M, SIPEKI N, VITALIS Z, et al. High prevalence of IgA class anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) is associated with increased risk of bacterial infection in patients with cirrhosis[J]. *J Hepatol*, 2013, 59(3): 457-466.
- [14] CHUNG S H, LEE H W, KIM S W, et al. Usefulness of measuring serum procalcitonin levels in patients with inflammatory bowel disease[J]. *Gut Liver*, 2016, 10(4): 574-580.
- [15] RODERBURG C, KOCH A, TACKE F A, et al. Serum concentrations of A Proliferation-Inducing Ligand (April) are elevated in sepsis and predict mortality in critically ill patients[J]. *J Crit Care*, 2013, 28(5): e1-11.
- [16] WU J Y, LEE S H, SHEN C J, et al. Use of serum procalcitonin to detect bacterial infection in patients with autoimmune diseases a systematic review and Meta-Analysis[J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(9): 3034-3042.
- [17] BUHAESCU I, YOOD R A, IZZEDINE H. Serum procalcitonin in systemic autoimmune Diseases-Where are we now? [J]. *Semin Arthritis Rheum*, 2010, 40(2): 176-183.
- [18] ARORA R, Sahni N. Can serum procalcitonin aid in the diagnosis of blood stream infection in patients on immunosuppressive medications[J]. *Clin Chim Acta*, 2018, 483: 204-208.
- [19] LIN C H, HSIEH S C, KENG L T, et al. Prospective evaluation of procalcitonin, soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 and C-Reactive protein in febrile patients with autoimmune diseases[J]. *PLoS One*, 2016, 11(4): e0153938.
- [20] LANOIX J P, BOURGEOIS A M, SCHMIDT J, et al. Serum procalcitonin does not differentiate between infection and disease flare in patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2011, 20(2): 125-130.
- [21] ZHENG W Y, LIANG X E, SHUI L Y, et al. Serum procalcitonin correlates with renal function in hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 50(5): 1794-1803.
- [22] CLEMENTI A, BROCCA A, VIRZI G M, et al. Procalcitonin and interleukin-6 levels: are they useful biomarkers in cardiac surgery patients? [J]. *Blood Purif*, 2017, 43(4): 290-297.

(收稿日期: 2019-01-14 修回日期: 2019-04-06)

(上接第 2458 页)

- inflammasome activation in macrophages infected with *Listeria monocytogenes*[J]. *J Immunol*, 2010, 185(2): 1186-95.
- [9] RUAN Y, REZELJ S, BEDINA ZAVEC A, et al. Listeriolysin O Membrane Damaging Activity Involves Arc Formation and Lineation—Implication for *Listeria monocytogenes* Escape from Phagocytic Vacuole [J]. *PLoS Pathog*, 2016, 12(4): e1005597.
- [10] HARA H, TSUCHIYA K, KAWAMURA I, et al. Phosphorylation of the adaptor ASC acts as a molecular switch that controls the formation of speck-like aggregates and inflammasome activity[J]. *Nat Immunol*, 2013, 14(12): 1247-1255.
- [11] PROELL M, GERLIC M, MACE P D, et al. The CARD plays a critical role in ASC foci formation and inflammasome signaling[J]. *Biochem*, 2013, 449(3): 613-621.
- [12] 刘倩倩, 刘运德, 张琼, 等. Syk 调控单增李斯特菌感染中炎症复合体的活化[J]. *天津医药*, 2014, 42(5): 432-435.
- [13] MÓCSAI A, RULAND J, TYBULEWICZ V L. The SYK tyrosine kinase: a crucial player in diverse biological functions[J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(6): 387-402.
- [14] SAKHON O S, VICTOR K A, CHOY A, et al. NSD1 mitigates caspase-1 activation by listeriolysin O in macrophages[J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e75911.
- [15] KARASAWA T, TAKAHASHI M. Role of NLRP3 Inflammasomes in atherosclerosis [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2017, 24(5): 443-451.
- [16] PINKERTON J W, KIM R Y, ROBERTSON AAB, et al. Inflammasomes in the lung[J]. *Mol Immunol*, 2017, 86: 44-55.
- [17] PETRILLI V. The multifaceted roles of inflammasome proteins in cancer[J]. *Curr Opin Oncol*, 2017, 29(1): 35-40.

(收稿日期: 2019-02-18 修回日期: 2019-05-02)