

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20245001

· 综述 ·

## 结核分枝杆菌细胞外囊泡的研究进展

马枫茜<sup>1</sup>, 邱章华<sup>2</sup>, 杜文雅<sup>1</sup>, 代禹美<sup>1</sup>, 吴利先<sup>1</sup>, 王国富<sup>1</sup>

(1. 大理大学基础医学院微生物学与免疫学教研室, 云南 大理 671000; 2. 昆明理工大学医学院, 云南 昆明 651000)

**[摘要]** 结核病仍然是一个严重威胁全球公共卫生的问题, 每年造成数百万人感染。结核分枝杆菌(MTB)是引起结核病的主要病原菌。近年来, MTB 细胞外囊泡(MEVs)作为 MTB 分泌分枝杆菌抗原的重要载体已引起研究者关注。MEVs 能够使 MTB 以集中保护的方式分泌磷脂、核酸、脂多糖和周质成分, 并与宿主相互作用。对 MEVs 部分内容物的研究已取得了一些进展, 但对其在宿主感染 MTB 过程中的生物发生机制、功能以及对机体免疫应答作用的认识仍处于初级阶段。本文综述目前 MEVs 生物发生机制的进展, 在宿主感染 MTB 过程中, 以及在调节免疫应答中的作用, 并讨论其在疫苗开发和诊断技术方面的应用。

**[关键词]** 结核分枝杆菌; 细胞外囊泡; 免疫调节

**[中图分类号]** R521

### Research progress on extracellular vesicles of *Mycobacterium tuberculosis*

MA Feng-qian<sup>1</sup>, QIU Zhang-hua<sup>2</sup>, DU Wen-ya<sup>1</sup>, DAI Yu-mei<sup>1</sup>, WU Li-xian<sup>1</sup>, WANG Guo-fu<sup>1</sup>

(1. Department of Microbiology and Immunology, School of Basic Medical Science, Dali University, Dali 671000, China; 2. Medical School, Kunming University of Science and Technology, Kunming 651000, China)

**[Abstract]** Tuberculosis (TB) is still a serious threat to global public health, causing millions of people infected every year. *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) is the main pathogen causing TB. In recent years, MTB extracellular vesicles (MEVs) as important carriers for MTB-secreted *Mycobacterium* antigens have attracted the attention of researchers. MEVs enable MTB to secrete phospholipid, nucleic acid, lipopolysaccharide, and periplasmic component in a centralized protective mode, and interact with the host. Some progress has been made on the study of partial contents of MEVs, but the understanding of their biological mechanisms, functions, and roles in the immune responses during MTB infection is still at its early stages. This article reviews the current progress in the biogenesis of MEVs, their roles in MTB infection and immune responses regulation, and discusses their applications in vaccine development and diagnostic techniques.

**[Key words]** *Mycobacterium tuberculosis*; extracellular vesicles; immune regulation

结核病(tuberculosis, TB)仍然是严重威胁全球公共卫生的流行病之一。世界卫生组织(WHO)2021年报道, TB是目前仅次于新型冠状病毒感染(COVID-19)全球第二大传染性疾病死亡的原因<sup>[1]</sup>。TB是由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)通过空气传播引起。TB自古以来就是人类

致命的疾病, 如今虽然已有诊断、监测方法以及治疗手段, 甚至疫苗, 但其一直对公众健康造成威胁, 甚至导致发病和死亡<sup>[1]</sup>。WHO在《2022年全球结核病报告》<sup>[2]</sup>中指出, COVID-19大流行对TB的诊断、治疗以及TB的负担产生了破坏性影响, 全球TB死亡人数从2019年的140万例升高至2020年

[收稿日期] 2024-05-15

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81760357); 云南省地方本科高校基础研究重点项目(202101A0070196)

[作者简介] 马枫茜(1998-), 女(汉族), 贵州省毕节市人, 硕士研究生在读, 主要从事感染与免疫研究。

[通信作者] 王国富 E-mail: dlguofuw@163.com

的 150 万例,进而增加到 2021 年的 160 万例。

起源于内吞途径的微小囊泡几乎由人体所有细胞分泌,微小囊泡不仅具有许多母细胞的显著特征,同时具有自身独特的特征,含有蛋白质、脂质、核酸和代谢产物等生物活性大分子<sup>[3]</sup>。分枝杆菌与其他细菌、古细菌和真核细胞一样,自然释放细胞外囊泡(EVs),与周围环境相互作用<sup>[4]</sup>。MTB 细胞外囊泡(MEVs)大小不一,直径为 60~300 nm,与革兰阴性菌产生的 EVs 大小相似<sup>[5]</sup>。除含有分枝杆菌质膜特征的脂质和脂蛋白外,还含有磷脂、核酸、脂多糖和周质成分。MEVs 参与细胞毒性、微生物入侵、生物膜形成、膜融合和重要物质转运等,并能使其包含的 MTB 毒力因子运输到宿主细胞其他区域或进入细胞外环境,从而干扰邻近未感染细胞。在面临 MTB 广泛耐药,缺乏治疗药物的情况下,MEVs 的发现无疑是一种机遇,MEVs 可以用于 TB 的诊断,鉴别耐药株与非耐药株,从而提供更好的治疗方案,尤其是在面对人类免疫缺陷病毒(HIV)与 MTB 双重感染的患者时。此外,MEVs 作为传递具有免疫活性的分枝杆菌毒力因子的途径之一,可在无佐剂的情况下诱导免疫应答,用于疫苗的研制<sup>[6]</sup>。

## 1 MEVs

MEVs 是革兰阴性菌特异 EVs 的一个子集,一直是倍受关注的研究领域。早在 2007 年就有研究<sup>[7]</sup>报道溃疡分枝杆菌生物被膜的形成及其在传播中的作用,采用扫描电子显微镜观察发现,囊泡嵌在溃疡分枝杆菌生物膜的细胞外基质中,并能够从感染 MTB 且已病变的小鼠尾部组织活检中观察到,且该研究还发现从细胞外基质中提取纯化的囊泡具有较高的细胞毒性。之后有研究人员发现包括牛分枝杆菌、减毒疫苗株和强毒株 MTB 均存在 EVs, EVs 通过运输脂质和蛋白质参与破坏宿主免疫反应,并引起炎症反应,能够促进 MTB 感染的毒性和 TB 进展<sup>[8]</sup>。2019 年研究<sup>[9]</sup>发现,鸟结核分枝杆菌亚种和致病性副结核分枝杆菌等非结核分枝杆菌也能够产生 EVs。至此之后,对 MEVs 的研究进一步深入。

## 2 MEVs 的生物发生与组成

对 MTB 和牛型结核分枝杆菌进行研究<sup>[7]</sup>发现,MEVs 起源于细胞膜。不同细菌之间的 EVs 生

物发生机制不同,参与囊泡释放的因子也有所不同。MEVs 的生物发生是一个由铁等金属营养素、利福平、VirR、磷酸盐特异性转运(Pst)系统、SenX3-RegX3 系统、动力样蛋白(DLPs)、IniA 等调节的过程。

遗传因素在一定程度上影响 MEVs 的产生。其中,VirR 是一种与内膜相关的胞质蛋白,被称为囊泡生成和免疫反应调节剂,能够调控 EVs 的产生<sup>[10]</sup>。MEVs 生物发生机制与 MTB 的一个转座子突变有关,即 *rv0431*(VirR)过表达促使表面囊泡产生增加<sup>[11]</sup>。另一个似乎参与 MEVs 生物发生的基因是 *rv3371*,其在耻垢分枝杆菌中的表达增加甘油三酯的水平,使干燥粗糙的表面变得光滑湿润,增加表面芽状结构的存在,有利于 EVs 的产生<sup>[12]</sup>。

此外,与富含铁的环境相比,在铁限制条件下,MEVs 更多。Prados-Rosales 等<sup>[13]</sup>研究发现,当 MTB 在缺铁条件下培养时,能够检测到囊泡产生增加,并且发现囊泡内含有的分枝杆菌素与细胞膜相互作用可以直接或间接地刺激囊泡的生成。不仅如此,可用性铁的降低也可能是其他细菌产生 EVs 的诱发因素。如大肠埃希菌和布鲁氏菌均在对数期结束时大量的产生囊泡,可能与此时间段培养基中可用铁的减少相关。但是分泌的这些囊泡还需进一步观察,并进行包括囊泡定量和纳米颗粒跟踪分析等表征系统分析。

另一种参与 MEVs 生物发生的机制与 Pst 系统有关。研究<sup>[14]</sup>证明, $\Delta$ pstA1 突变体以 RegX3 依赖的方式高分泌包含脂蛋白 LpqH 和 PstS1 的 MEVs。Pst 系统是一种高亲和力的 ABC 型转运系统,通过与 SenX3-RegX3 双组分信号转导系统相互作用而引起 ESX-5 蛋白分泌增加,编码 Pst 系统跨膜组件 pstA1 的缺失能够激活 SenX3-RegX3<sup>[14]</sup>。SenX3-RegX3 系统由膜结合传感器组氨酸激酶(SenX3)和 DNA 结合反应调控因子(RegX3)组成<sup>[15]</sup>。RegX3 调控 ESX-5 基因转录,PPE41 和 EsxN 是 MEVs 分泌相关 ESX-5 的两种底物,而  $\Delta$ pstA1 突变体则依赖于 ESX-5 转录的增加及 PPE41、EsxN 的高度分泌<sup>[14-15]</sup>。即编码 Pst 系统跨膜组件的  $\Delta$ pstA1 突变体通过激活 SenX3-RegX3 系统,使得 RegX3 调控 ESX-5 基因转录,引起 ESX-5 蛋白分泌增加,从而导致 PPE41 和 EsxN 的高度分泌,进而使得包含脂蛋白 LpqH 和 PstS1 的 MEVs 分泌增加。此外,Pst/SenX3-RegX3 系统可以不依赖 ESX-5 的活性来调控 EVs 产生<sup>[16]</sup>。VirR 是 MEVs 产生的调控因子,但与野生型菌株 VirR 表达相比,

$\Delta$ pstA1 突变体菌株 VirR 表达的变化不大,两者比较差异无统计学意义<sup>[11]</sup>。此外,在  $\Delta$ pstA1 存在下,剔除 VirR 会导致 MEVs 产生率增高;而过表达 VirR 也能够导致 MEVs 的产量略有增加,这表明驱动 MEVs 产生的机制是协同的<sup>[16]</sup>。

DLPs 也参与 MEVs 的生物发生机制<sup>[17]</sup>。DLPs 是鸟苷三磷酸水解酶,介导原核生物和真核生物的膜重塑。研究<sup>[18]</sup>显示,一种可溶性 DLPs,可使膜变形,促进膜裂变、膜重塑、质膜完整性的维持,并显著促进耻垢分枝杆菌对异烟肼(INH)的耐药性。在 MTB 中细菌 DLPs IniA、IniC 的失活导致囊泡的产生减少。IniBAC 操纵子能够在缺铁和缺 VirR 的分枝杆菌中被诱导,此至少在一定程度上表明,铁和 VirR 通过控制 IniBAC 的表达调节 MEVs 的产生<sup>[19]</sup>。与野生型 MTB 相比,IniA 的缺失会导致囊泡的减少,而这种影响不能单独被 IniA 或 IniC 所消除,但可以被带有整个野生型 MTB 的 IniBAC 操纵子质粒所消除,研究<sup>[19]</sup>还表明抗结核药物 INH,其亚抑制浓度可诱导 IniBAC 促进 MEVs 的释放。

这些研究证实了细胞膜改变和 MEVs 释放之间的联系,证明了影响 MEVs 释放的几个因素趋同,并提供了一种潜在的机制,靶向 DLPs 介导的囊泡生成可能会有效地抑制对 MTB 的免疫调节能力,减弱对 MTB 感染的控制。

### 3 MEVs 的功能

**3.1 营养物质获取** MEVs 在营养物质的获取中发挥重要作用,尤其是在铁摄取中。铁是细胞生长代谢所必需的。在铁限制的培养基中,MTB 分泌 MEVs,分枝杆菌素是一种有效的铁载体。在低铁条件下分泌的 MEVs 可以挽救无法产生像分枝杆菌素这样铁载体的 MTB 突变体,此外这些 MEVs 还可以依赖分枝杆菌素传递铁给野生型 MTB,为其提供铁营养<sup>[13]</sup>。如在肉芽肿中严重缺铁的情况下,MEVs 介导的铁捕获对感染期间 MTB 生存至关重要<sup>[20]</sup>。HupB 是一种与 MTB 铁获取相关的多功能分枝杆菌蛋白,其在铁限制的条件下上调,作为分枝杆菌素生物合成的转录激活因子,是病原体在巨噬细胞内生存所必需的<sup>[21]</sup>。这进一步证实了 MEVs 参与 MTB 营养获取中的不可或缺作用。

**3.2 致病机制** MEVs 除了含有质膜特征的脂质和脂蛋白外,还含有包括磷脂、核酸、脂多糖和许多

胞外成分<sup>[22]</sup>。分枝杆菌产生的囊泡通常从母体细菌运输到宿主远端,实现细菌间的交流和毒力效应因子的转移。蛋白质组学和生物化学研究<sup>[8, 22-24]</sup>显示,MEVs 包含许多专属分子,包括脂蛋白(LpqH, LprG)、脂聚糖和糖脂[脂阿拉伯甘露聚糖(LAM)、脂聚糖(LM)和磷脂酰肌醇甘露糖苷(PIM)]和抗原(AG85B)等,而 LpqH、LprG、LprA、PhoS1 和 LAM 等免疫活性脂蛋白、脂聚糖和糖脂被认为是 TLR-2 的配体和激动剂。MEVs 是 MTB 细胞内输出免疫活性脂质和脂蛋白的主要途径。TLR 识别病原体相关的分子模式(PAMPs),并启动信号转导途径,调节细胞因子、趋化因子和 I 型干扰素(IFN)的表达,以实现先天和适应性免疫激活<sup>[25]</sup>。MEVs 可激活 TLR-2 并诱导未感染的巨噬细胞产生细胞因子,并被证明能延长 TLR-2 信号转导,但研究<sup>[26]</sup>显示,TLR-2 激活延长会导致免疫抑制,导致白细胞介素-10(IL-10)等免疫抑制细胞因子的产生,并最终抑制 MHC-II 向 CD4<sup>+</sup> T 细胞的提呈。给小鼠注射 MEVs 能诱导 TLR-2 依赖性的促炎反应<sup>[8]</sup>。脂多糖如 LAM 和 LA 等从 MEVs 内释放到细胞外环境,也为脂多糖到达和抑制 T 细胞提供了一种机制,可能促进免疫逃避<sup>[27]</sup>。

**3.3 免疫调节** MTB 产生的 EVs 参与细胞间通讯、免疫调节、毒力和细胞存活等多种活动。虽然 MEVs 近几年才被发现,但相关研究已经表明 MEVs 在宿主病原体相互作用中发挥重要作用。(1)免疫激活作用:MTB 感染的细胞(主要是巨噬细胞、树突状细胞和中性粒细胞)释放含有 MTB 成分的囊泡,可通过促进或抑制免疫细胞的招募调节免疫反应。致病性副结核分枝杆菌感染的巨噬细胞源性 EVs 携带分枝杆菌蛋白 ESAT-6、Mpt63、SodA、Mpt51 和 Ag85,作用于 naïve 巨噬细胞时,会增加细胞的吞噬率,增强如 CD40、CD80、CD81、CD86、HLA-DR 和 CD195 等信号分子的表达,以及促炎细胞因子的分泌<sup>[28]</sup>。Bhatnagar 等<sup>[29]</sup>将卡介苗或 MTB 感染的巨噬细胞源性 EVs 注射入小鼠鼻内,发现可以诱导促炎细胞因子的产生,还可招募中性粒细胞和巨噬细胞到肺部,起到免疫监视作用。此外,来自 MTB 感染的巨噬细胞 EVs 也被证明可以激活内皮细胞,导致细胞释放更多的趋化因子受体和细胞黏附分子<sup>[30]</sup>。研究者用来自 MTB 感染的中性粒细胞 EVs 作用于 MTB 感染的巨噬细胞会增加巨噬细胞中超氧阴离子的产生和自噬,从而增加对细菌的清除能力<sup>[31]</sup>。此外,研究<sup>[32]</sup>发现,感染

MTB 的中性粒细胞释放的 EVs 作用于未成熟单核细胞来源的树突状细胞,增加共刺激分子 CD80 和共抑制分子 PD-L1 的表达,用其处理未成熟和成熟的树突状细胞均能够诱导自体 MTB 抗原特异性 CD4<sup>+</sup> T 细胞产生干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ ),表明这些 EVs 充当抗原载体并将分枝杆菌蛋白转移到抗原呈递细胞。此外,用卡介苗感染的巨噬细胞 EVs 治疗的小鼠,在小鼠的脾、肺和纵隔淋巴结均产生 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞<sup>[33]</sup>。Smith 等<sup>[34]</sup> 研究通过利用小鼠 Rab27a 缺陷,在其感染 MTB 后通过外泌体转运的分枝杆菌抗原减少,肺和脾 T 细胞的活化降低,这种有限的免疫反应与细菌负荷量增加有关,表明 T 细胞反应增强与 MTB 感染期间释放的外泌体具有相关性<sup>[34]</sup>。来自 MTB 感染细胞产生的 EVs 在体内进一步激活先天免疫反应与适应性免疫反应,发挥免疫调节作用。(2)免疫抑制作用:MTB 感染细胞产生的 EVs 除了免疫激活作用外,免疫抑制作用也有被报道。MTB 感染的巨噬细胞 EVs,以依赖 TLR-2 的方式抑制 MHC-II 和 CD64 的表达,从而部分抑制 IFN- $\gamma$  介导的巨噬细胞激活<sup>[35]</sup>。此外,来自 MTB 感染的巨噬细胞 EVs 也会抑制 T 细胞激活,导致白细胞介素-2(IL-2)的产生和 T 细胞增殖均减少,其作用与 LAM 单独作用时相似但其作用更强<sup>[27]</sup>。有关 EVs 的分离、纯化和表征早有报道,但关于其发生机制,是否携带更多的分枝杆菌成分输出细胞从而感染邻近细胞,以造成 MTB 的免疫逃逸等仍有待解决。

## 4 MEVs 的应用

4.1 疫苗设计 MTB 感染宿主细胞释放的 EVs,体积小,在大部分体液中分布,含有 MTB 相关蛋白和核酸,能被免疫细胞吸收,具有天然免疫原性,并且能够作为传递具有免疫活性的分枝杆菌毒力因子的工具,可在无佐剂的情况下诱导免疫应答,这使 MEVs 成为设计新型无细胞疫苗的良好选择<sup>[6, 36]</sup>。如前所述,MEVs 通过多种途径调控先天和适应性免疫反应抗 MTB。携带分枝杆菌抗原的 EVs 可以显著保护小鼠免受 MTB 感染,这表明 EVs 有可能成为一种针对 MTB 感染的新型无细胞疫苗<sup>[37]</sup>。MTB 感染的细胞 EVs 可以传递分枝杆菌抗原,调节先天免疫与适应性免疫应答。利用 MTB 感染抗原提呈细胞来源的 EVs 作为疫苗,不仅可以实现抗原提呈,还可以增强抗结核免疫的共刺激分子表达。

2014 年 Prados-Rosales 等<sup>[36]</sup> 在 MTB 感染小鼠的模型中全身注射 MEVs,结果显示与标准卡介苗接种相比,全身注射 MEVs 可以适度控制肺和脾脏中细菌复制,为小鼠提供保护。另外,一种针对奈瑟菌 EVs 研发的疫苗已经获得批准<sup>[38]</sup>。然而,为证明其具有保护作用,还需要进一步的研究确定 EVs 成分的特征,以及更多的体内外试验研究。

4.2 作为 MTB 感染的生物标志物 痰培养仍然是诊断 TB 的金标准,另外还有分子诊断检测 MTB 特异性核酸。痰培养中,不能获取痰标本成为了该方法最大的阻碍。因此,寻找新的诊断方法与标志物显得更为重要。分枝杆菌感染的细胞能够产生含有分枝杆菌成分的 EVs,并在细胞培养物或体液中释放这些 EVs。蛋白质组学和生物化学研究显示,MEVs 包含许多专属分子,包括蛋白和核酸等,这些专属分子可能成为疾病的生物标志物,但还有待进一步研究。一项对痰涂片阳性和阴性的非 HIV 感染者、结核病患者和接种卡介苗的潜伏感染和非潜伏感染患者血清的研究,被用来调查 MTB 和卡介苗 EVs 作为生物标记物的潜力,以区分疾病状态,研究者检测了三个 MEVs 相关的抗原,以区分 TB 和非 TB 患者的血清<sup>[39]</sup>,这将鼓励更多研究者对 MEVs 作为诊断工具的进一步研究。Carranza 等<sup>[40]</sup> 从 26 例耐药结核病(DR-TB)患者和 16 例健康人血清中分离到 EVs,在治疗期间的不同时间点,对未治疗和治疗患者的混合外泌体中 miRNAs 的差异表达进行了评估和单独验证,结果显示在耐多药 TB 患者中,miR-let7E-3P 的表达下调,而 miR-223-3P 的表达增加。miR-let-7E-5P 在任何 MTB 株引起的 TB 活动期均被抑制,而在 MTB 感染潜伏期或耐多药 TB 患者药物治疗一年后其表达增加,提示其可能作为肺结核的生物标志物<sup>[40]</sup>。另外,进行 MEVs 的非编码 RNA(ncRNA)分析,确定了 miRNA-185-5p 是 TB 的新型生物标志物<sup>[41]</sup>。

## 5 结语与展望

MTB 在体内体外均产生 EVs,这些 EVs 起源于细胞膜,含有分枝杆菌质膜特征的脂质和脂蛋白,还含有磷脂、核酸、脂多糖和周质成分,参与免疫应答调节,影响 MTB 生存。其产生是由铁等营养成分、药物、突变基因和 Pst 系统以及 DLPs 单独或共同调节的。MEVs 能够通过 TLR-2 依赖的方式与外界相互作用,诱导产生细胞因子等,引起促炎反

应,调节分枝杆菌的生存。另外,可通过促进或抑制免疫细胞的招募,从而激活或抑制先天免疫反应与适应性免疫反应,使感染 MTB 的宿主进入杀菌状态或者引起 MTB 免疫逃逸。这些研究表明,MEVs 可以用于疫苗的研发,提供新的药物靶点,对潜伏性 TB 和 TB 进行诊断,并且有助于 MTB 耐药与非耐药菌株的鉴别。尽管对 MEVs 的研究愈来愈多,但其生物发生机制以及这些过程是如何调控的仍知之甚少。MEVs 如何对机体免疫应答进行调控,以及具体的调控作用与机制都还需更深入的研究。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

## [参考文献]

- World Health Organization. Global tuberculosis report 2021 [EB/OL]. 2021 - 10 - 14. <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240037021>.
- Bagcchi S. WHO's global tuberculosis report 2022[J]. Lancet Microbe, 2023, 4(1): e20.
- Veerman RE, Güçlüler Akpınar G, Eldh M, et al. Immune cell-derived extracellular vesicles-functions and therapeutic applications[J]. Trends Mol Med, 2019, 25(5): 382 - 394.
- Gupta S, Rodriguez GM. Mycobacterial extracellular vesicles and host pathogen interactions[J]. Pathog Dis, 2018, 76(4): fty031.
- Palacios A, Gupta S, Rodriguez GM, et al. Extracellular vesicles in the context of *Mycobacterium tuberculosis* infection[J]. Mol Immunol, 2021, 133: 175 - 181.
- Pal R, Hameed S, Fatima Z. Iron deprivation affects drug susceptibilities of *Mycobacteria* targeting membrane integrity[J]. J Pathog, 2015, 2015: 938523.
- Marsollier L, Brodin P, Jackson M, et al. Impact of *Mycobacterium ulcerans* biofilm on transmissibility to ecological niches and Buruli ulcer pathogenesis[J]. PLoS Pathog, 2007, 3(5): e62.
- Prados-Rosales R, Baena A, Martinez LR, et al. *Mycobacteria* release active membrane vesicles that modulate immune responses in a TLR2-dependent manner in mice[J]. J Clin Invest, 2011, 121(4): 1471 - 1483.
- Chiplunkar SS, Silva CA, Bermudez LE, et al. Characterization of membrane vesicles released by *Mycobacterium avium* in response to environment mimicking the macrophage phagosome[J]. Future Microbiol, 2019, 14(4): 293 - 313.
- McBroom AJ, Johnson AP, Vemulapalli S, et al. Outer membrane vesicle production by *Escherichia coli* is independent of membrane instability[J]. J Bacteriol, 2006, 188(15): 5385 - 5392.
- Rath P, Huang CD, Wang T, et al. Genetic regulation of vesiculogenesis and immunomodulation in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(49): E4790 - E4797.
- Rastogi S, Singh AK, Chandra G, et al. The diacylglycerol acyltransferase Rv3371 of *Mycobacterium tuberculosis* is required for growth arrest and involved in stress-induced cell wall alterations[J]. Tuberculosis (Edinb), 2017, 104: 8 - 19.
- Prados-Rosales R, Weinrick BC, Piqué DG, et al. Role for *Mycobacterium tuberculosis* membrane vesicles in iron acquisition[J]. J Bacteriol, 2014, 196(6): 1250 - 1256.
- Elliott SR, Tischler AD. Phosphate starvation: a novel signal that triggers ESX-5 secretion in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Mol Microbiol, 2016, 100(3): 510 - 526.
- Tischler AD, Leistikow RL, Kirksey MA, et al. *Mycobacterium tuberculosis* requires phosphate-responsive gene regulation to resist host immunity[J]. Infect Immun, 2013, 81(1): 317 - 328.
- White DW, Elliott SR, Odean E, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Pst/SenX3-RegX3 regulates membrane vesicle production independently of ESX-5 activity[J]. mBio, 2018, 9(3): e00778 - 18.
- Gupta S, Bhagavathula M, Sharma V, et al. Dynamin-like proteins mediate extracellular vesicle secretion in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. EMBO Rep, 2023, 24(6): e55593.
- Wang MF, Guo XY, Yang XN, et al. Mycobacterial dynamin-like protein IniA mediates membrane fission [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 3906.
- Gupta S, Palacios A, Khataokar A, et al. Dynamin-like proteins mediate extracellular vesicle secretion in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. EMBO Rep, 2023, 24(6): e55593.
- Kurthkoti K, Amin H, Marakalala MJ, et al. The capacity of *Mycobacterium tuberculosis* to survive iron starvation might enable it to persist in iron-deprived microenvironments of human granulomas [J]. mBio, 2017, 8(4): e01092 - 17.
- Choudhury M, Koduru TN, Kumar N, et al. Iron uptake and transport by the carboxymycobactin-mycobactin siderophore machinery of *Mycobacterium tuberculosis* is dependent on the iron-regulated protein HupB [J]. Biometals, 2021, 34(3): 511 - 528.
- Lee J, Kim SH, Choi DS, et al. Proteomic analysis of extracellular vesicles derived from *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Proteomics, 2015, 15(19): 3331 - 3337.
- Ramachandra L, Qu Y, Wang Y, et al. *Mycobacterium tuberculosis* synergizes with ATP to induce release of microvesicles and exosomes containing major histocompatibility complex class II molecules capable of antigen presentation [J]. Infect Immun, 2010, 78(12): 5116 - 5125.
- Mehaffy C, Dobos KM, Nahid P, et al. Second generation multiple reaction monitoring assays for enhanced detection of ultra-low abundance *Mycobacterium tuberculosis* peptides in human serum [J]. Clin Proteomics, 2017, 14: 21.
- Oliveira-Nascimento L, Massari P, Wetzler LM. The role of

- TLR2 in infection and immunity[J]. *Front Immunol*, 2012, 3: 79.
- [26] Harding CV, Boom WH. Regulation of antigen presentation by *Mycobacterium tuberculosis*; a role for toll-like receptors [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2010, 8(4): 296–307.
- [27] Athman JJ, Sande OJ, Groft SG, et al. *Mycobacterium tuberculosis* membrane vesicles inhibit T cell activation[J]. *J Immunol*, 2017, 198(5): 2028–2037.
- [28] Wang JJ, Yao YL, Xiong J, et al. Evaluation of the inflammatory response in macrophages stimulated with exosomes secreted by *Mycobacterium avium*-infected macrophages[J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 658421.
- [29] Bhatnagar S, Shinagawa K, Castellino FJ, et al. Exosomes released from macrophages infected with intracellular pathogens stimulate a proinflammatory response in vitro and *in vivo*[J]. *Blood*, 2007, 110(9): 3234–3244.
- [30] Li L, Cheng Y, Emrich S, et al. Activation of endothelial cells by extracellular vesicles derived from *Mycobacterium tuberculosis* infected macrophages or mice[J]. *PLoS One*, 2018, 13(5): e0198337.
- [31] Alvarez-Jiménez VD, Leyva-Paredes K, García-Martínez M, et al. Extracellular vesicles released from *Mycobacterium tuberculosis*-infected neutrophils promote macrophage autophagy and decrease intracellular mycobacterial survival[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 272.
- [32] Vázquez-Flores L, Castañeda-Casimiro J, Vallejo-Castillo L, et al. Extracellular vesicles from *Mycobacterium tuberculosis*-infected neutrophils induce maturation of monocyte-derived dendritic cells and activation of antigen-specific Th1 cells[J]. *J Leukoc Biol*, 2023, 113(6): 588–603.
- [33] Giri PK, Schorey JS. Exosomes derived from *M. bovis* BCG infected macrophages activate antigen-specific CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells in vitro and *in vivo*[J]. *PLoS One*, 2008, 3(6): e2461.
- [34] Smith VL, Cheng Y, Bryant BR, et al. Exosomes function in antigen presentation during an *in vivo* *Mycobacterium tuberculosis* infection[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 43578.
- [35] Singh PP, LeMaire C, Tan JC, et al. Exosomes released from *M. tuberculosis* infected cells can suppress IFN- $\gamma$  mediated activation of naïve macrophages[J]. *PLoS One*, 2011, 6(4): e18564.
- [36] Prados-Rosales R, Carreño LJ, Batista-Gonzalez A, et al. Mycobacterial membrane vesicles administered systemically in mice induce a protective immune response to surface compartments of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *mBio*, 2014, 5(5): e01921–14.
- [37] Cheng Y, Schorey JS. Exosomes carrying mycobacterial antigens can protect mice against *Mycobacterium tuberculosis* infection[J]. *Eur J Immunol*, 2013, 43(12): 3279–3290.
- [38] Acevedo R, Fernández S, Zayas C, et al. Bacterial outer membrane vesicles and vaccine applications[J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 121.
- [39] Ziegenbalg A, Prados-Rosales R, Jenny-Avital ER, et al. Immunogenicity of mycobacterial vesicles in humans; identification of a new tuberculosis antibody biomarker[J]. *Tuberculosis (Edinb)*, 2013, 93(4): 448–455.
- [40] Carranza C, Herrera MT, Guzmán-Beltrán S, et al. A dual marker for monitoring MDR-TB treatment; host-derived miRNAs and *M. tuberculosis*-derived RNA sequences in serum [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 760468.
- [41] Kaushik AC, Wu QQ, Lin L, et al. Exosomal ncRNAs profiling of mycobacterial infection identified miRNA-185-5p as a novel biomarker for tuberculosis[J]. *Brief Bioinform*, 2021, 22(6): bbab210.

(本文编辑:文细毛)

本文引用格式:马枫茜,邱章华,杜文雅,等.结核分枝杆菌细胞外囊泡的研究进展[J].中国感染控制杂志,2024,23(12):1591–1596. DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20245001.

Cite this article as: MA Feng-qian, QIU Zhang-hua, DU Wen-ya, et al. Research progress on extracellular vesicles of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Chin J Infect Control*, 2024, 23(12): 1591–1596. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20245001.