

# 鹦鹉热衣原体巨噬细胞感染增强因子对宿主细胞产生前炎症细胞因子和凋亡的影响

曾心骢<sup>1</sup>, 张婉琪<sup>2</sup>, 符玺宗<sup>1</sup>, 周鹏<sup>1</sup>, 周朴帆<sup>1</sup>, 唐婷<sup>1</sup>,  
陈曦<sup>1</sup>, 胡春生<sup>3</sup>, 陈丽丽<sup>1</sup>

1. 南华大学公共卫生学院, 湖南 衡阳 421001; 2. 南华大学船山学院, 湖南 衡阳 421001;  
3. 湖南省疾病预防控制中心, 湖南 长沙 410005

**摘要:** **目的** 研究鹦鹉热衣原体(*Chlamydia psittaci*, Cps)巨噬细胞感染增强因子(microphage infectivity potentiator, Mip)在诱导人单核细胞 THP-1 产生前炎症细胞因子和对 HeLa 细胞凋亡的作用。**方法** 用不同浓度的 Cps Mip 重组蛋白作用 THP-1 细胞, ELISA 检测前炎症细胞因子 IL-8 和 TNF- $\alpha$  的表达量; 用荧光染色法和流式细胞术分析重组 Cps Mip 对 HeLa 细胞凋亡的作用。**结果** 重组 Cps Mip 能以时间、剂量依赖方式诱导 THP-1 细胞分泌前炎症细胞因子 IL-8 和 TNF- $\alpha$ ; 不同 Cps Mip 蛋白浓度实验组刺激 THP-1 细胞产生的前炎症细胞因子 IL-8 和 TNF- $\alpha$  水平显著高于 PBS 对照组( $P < 0.05$ ), 当 Cps Mip 为 16  $\mu\text{g/ml}$  时, 所产生的前炎症细胞因子 IL-8 和 TNF- $\alpha$  的量最高, 分别为 105.01  $\text{pg/ml}$  和 50.52  $\text{pg/ml}$ 。荧光染色法和流式细胞术检测细胞凋亡率, 发现 Cps Mip 对星形孢菌素(staurosporine, STS)处理的 HeLa 细胞有一定的抑凋亡作用, 在 20  $\mu\text{g/ml}$  Cps Mip 刺激后的细胞凋亡率比未刺激组下降了 4.48%( $P < 0.01$ )。**结论** Cps Mip 蛋白能诱导 THP-1 细胞表达并分泌前炎症细胞因子 IL-8 和 TNF- $\alpha$ ; Cps Mip 具有一定抑制 HeLa 细胞凋亡的作用。

**关键词:** 鹦鹉热衣原体; Cps Mip; IL-8; TNF- $\alpha$ ; 凋亡

中图分类号: R374<sup>+</sup>.2 文献标识码: A 文章编号: 1006-3110(2019)02-0129-05 DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2019.02.001

## Effect of microphage infectivity potentiator of *Chlamydia psittaci* on the production of proinflammatory cytokines and apoptosis in host cells

ZENG Xin-dian<sup>1</sup>, ZHANG Wan-qi<sup>2</sup>, FU Xi-zong<sup>1</sup>, ZHOU Peng<sup>1</sup>, ZHOU Pu-fan<sup>1</sup>, TANG Ting<sup>1</sup>, CHEN Xi<sup>1</sup>, HU Chun-sheng<sup>3</sup>, CHEN Li-li<sup>1</sup>

1. School of Public Health, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China

2. Chuanshan College, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China

3. Hunan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Changsha, Hunan 410005, China

Corresponding authors: CHEN Li-li, E-mail: chlili720612@163.com; HU Chun-sheng, E-mail: 534729896@qq.com

**Abstract:** **Objective** To study the role of microphage infectivity potentiator (Mip) of *Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*) on the production of proinflammatory cytokines in human acute monocytic leukemia cell line (THP-1) cells and apoptosis inhibition in HeLa cells. **Methods** Different concentration of recombinant Mip protein was used to stimulate THP-1 cells, and the expression of interleukin-8 (IL-8) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The number of apoptosis cells was tested by fluorescence staining and flow cytometry after HeLa cells were stimulated with recombinant Mip protein. **Results** *C. psittaci* Mip could stimulate THP-1 cells to produce IL-8 and TNF- $\alpha$  in a dose- and time-dependent manner. The levels of IL-8 and TNF- $\alpha$  in THP-1 cells treated with different concentration of recombinant Mip protein were significantly higher than those in phosphate buffer saline treated groups (both  $P < 0.05$ ). The production of IL-8 (105.01  $\text{pg/ml}$ ) and TNF- $\alpha$  (50.52  $\text{pg/ml}$ ) reached the highest levels when the concentration of recombinant Mip protein was 16  $\mu\text{g/ml}$ . The fluorescent Hoechst 32258 staining and flow cytometric assay showed that *C. psittaci* Mip protein could inhibit the apoptosis of staurosporine-treated HeLa cells to some extent, and the rate of apoptosis cells reduced 4.48% when the concentration of recombinant Mip protein was 20  $\mu\text{g/ml}$ . **Conclusions** *C. psittaci* Mip protein can stimulate THP-1 cells to produce IL-8 and TNF- $\alpha$  and inhibit HeLa cell apoptosis.

**Key words:** *Chlamydia psittaci*; microphage infectivity potentiator; interleukin-8; tumor necrosis factor- $\alpha$ ; apoptosis

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(81572011, 81001318); 湖南省大学生研究性学习和创新性实验计划项目(1038)

**作者简介:** 曾心骢(1993-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 衣原体致病机制研究。

**通信作者:** 陈丽丽, E-mail: chlili720612@163.com; 胡春生, E-mail: 534729896@qq.com。

衣原体是一种专性胞内寄生且具有独特发育周期的革兰氏阴性菌,其中鸚鵡热衣原体(*Chlamydia psittaci*, Cps)不仅可以感染鸟类及多种哺乳动物,还能感染人,导致上呼吸道疾病及脑炎、心肌炎、肺炎等疾病,严重的可出现肾损伤、肝炎及某些神经系统症状,还可能并发多脏器功能衰竭,甚至死亡<sup>[1]</sup>。截至目前为止,Cps 致病物质及其致病机制仍不完全清楚。

巨噬细胞感染增强因子(microphage infectivity potentiator, Mip)是定位于衣原体 EB 上的一种脂蛋白,最初发现于嗜肺军团菌,属于 FKBP(FK506 binding protein)蛋白家族,具有肽基脯氨酰顺反异构酶(PPIase)活性,能催化寡肽中脯氨酰肽键的缓慢顺式异构化,与细胞增殖和转化密切相关,有利于病原体在细胞内的存活<sup>[2-5]</sup>。Mip 在衣原体发育的两个阶段均有表达,在各种属衣原体中高度保守<sup>[6-7]</sup>。有研究表明,缺乏脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)的伯氏疏螺旋体和梅毒螺旋体中,脂蛋白与其致病性密切相关<sup>[8]</sup>。衣原体的脂蛋白可能与伯氏疏螺旋体和梅毒螺旋体一样,在衣原体感染过程中发挥重要的作用。Norville 等<sup>[9-10]</sup>研究发现,沙眼衣原体(*Chlamydia trachomatis*, Ct) Mip 能够与 TLR2、TLR1、TLR6 及 CD14 结合,刺激细胞产生大量的前炎症细胞因子,与衣原体的 LPS 和 OMP2、Pgp3、HSP10、HSP60、HSP70 等多种蛋白相比,Ct Mip 刺激细胞产生前炎症细胞因子的能力更强。

衣原体感染细胞后可通过抑制宿主细胞凋亡以取得在机体内繁殖的养分和能量<sup>[11]</sup>。已被证实,幽门螺杆菌具有 PPIase 活性的 slyD 蛋白能通过上调 TLR4 的表达,活化 P38/p-ERK-IKB-NF- $\kappa$ B 信号通路,促进胃癌细胞的增殖、迁移、转化,抑制胃癌细胞凋亡<sup>[12-14]</sup>。因此,推测同属 FKBP 家族且具有 PPIase 活性的 Cps Mip 蛋白也具有调控宿主细胞凋亡的能力。

本实验通过前期制备好的 Cps Mip 重组蛋白去内毒素处理后,体外刺激人单核细胞(human acute monocytic leukemia cell line, THP-1)后,检测 THP-1 细胞产生 TNF- $\alpha$ 、IL-8 的能力;同时用 Mip 蛋白刺激 HeLa 细胞,流式细胞术和 Hoechst 染色检测细胞凋亡情况,本实验结果可进一步阐明 Mip 蛋白在衣原体感染过程中的作用。

## 1 材料与方法

1.1 材料 Cps 6BC、THP-1 细胞、HeLa-229 细胞,均由南华大学公共卫生学院传代保存。细胞因子检测试剂盒购自 ebioscience 公司,细胞凋亡检测试剂盒购自凯基生物科技发展有限公司。酶标仪购自美国 BIO

-TEK 公司,凝胶成像分析系统购自美国 Bio-Rad 公司,荧光倒置显微系统购自美国 Leica 公司,高速冷冻离心机购自美国 Beckman 公司,超声细胞破碎仪购自日本 SANYO 公司,FACS Calibur 流式细胞仪购自美国 BD 公司。

### 1.2 方法

1.2.1 重组蛋白 Cps Mip 诱导 THP-1 细胞产生细胞因子能力的测定 在 24 孔板中,于 5% CO<sub>2</sub>, 37 °C 培养箱中培养 THP-1 细胞,细胞丰度到 80%后,用不同浓度(0、4、8、16、32、64、128  $\mu$ g/ml)的重组 Cps Mip 蛋白作用细胞 24 h 后,ELISA 法检测细胞培养上清中 IL-8、TNF- $\alpha$  的表达量,获得 Cps Mip 蛋白最适浓度;再用最适浓度的 Cps Mip 蛋白刺激细胞,测定不同作用时间点 IL-8 和 TNF- $\alpha$  的表达水平,每次实验均重复三次。

1.2.2 重组蛋白 Cps Mip 诱导 HeLa 细胞凋亡能力的测定

1.2.2.1 细胞准备 在 24 孔板中,于 5% CO<sub>2</sub>, 37 °C 培养箱中培养 HeLa 细胞,细胞丰度到 80%后,分别用 10、20、40  $\mu$ g/ml 的 Cps Mip 蛋白作用细胞 24 h,并在作用 20 h 后加入凋亡诱导剂星形孢菌素(Staurosporine, STS),以不加 Cps Mip 蛋白刺激孔为阴性对照。

1.2.2.2 Hoechst 33258 染色 Mip 蛋白作用细胞 24 h 后,弃去各孔中培养基,用 PBS 洗涤 3 次;用 4%多聚甲醛 500  $\mu$ l/孔,室温固定 30 min;PBS 洗涤 3 次,每次浸泡 3 min;弃 PBS 后,加入 Hoechst 33258 染色工作液,37 °C 下放置 30 min,弃去染液,PBS 洗涤 2 次,避光风干后,用荧光倒置显微镜下拍照。各孔随机取 5 个视野(20 $\times$ ),计算视野中凋亡细胞和总细胞的数量,根据下列公式计算细胞凋亡率:细胞凋亡率=凋亡细胞数/总细胞数 $\times$ 100%,每次实验均重复三次。

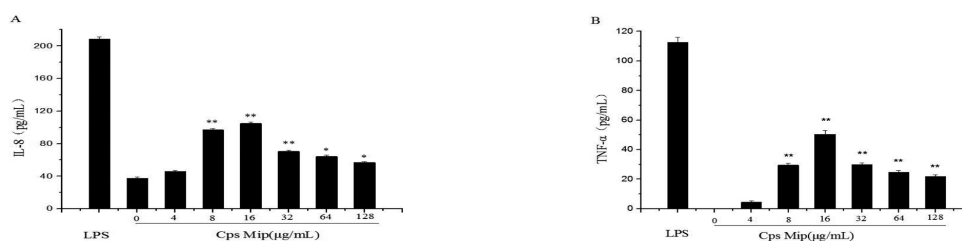
1.2.2.3 流式细胞术检测细胞凋亡 按照 1.2.2.1 培养细胞,用胰酶(不含 EDTA)消化并收集细胞,用 PBS 洗涤细胞 3 次,弃去 PBS 之后,按细胞凋亡检测试剂盒说明进行染色;各细胞收集管中加入 500  $\mu$ l Binding Buffer,轻柔吹打使细胞重悬后转至塑料试管内,再加入 5  $\mu$ l Annexin V-FITC,轻轻抖动试管混匀,再加入 5  $\mu$ l Propidium Iodide,混匀后,室温下避光反应 5~15 min,用流式细胞仪检测凋亡率,每次实验均重复三次。

1.2.3 统计学处理 所有重复实验数据均以均数 $\pm$ 标准误( $\bar{x}\pm s$ )表示,用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,各实验组与对照组比较进行单向方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## -2 结果

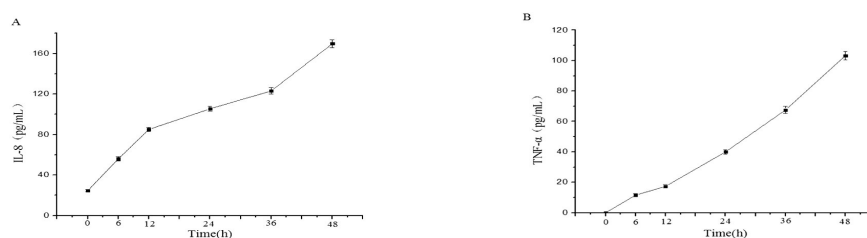
2.1 Cps Mip 重组蛋白诱导 IL-8 和 TNF- $\alpha$  的能力  
用不同浓度的重组 Cps Mip 刺激 THP-1 细胞,24 h 后收集上清,ELISA 检测前炎症细胞因子 IL-8 和 TNF- $\alpha$  的水平。结果显示,随着 Cps Mip 浓度的增加,产生 IL-8 和 TNF- $\alpha$  的量逐渐增大,当浓度增加到 16  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,所产生的前炎症细胞因子 IL-8 和 TNF- $\alpha$  的量达

到最大,分别为 105.01  $\text{pg}/\text{mL}$  和 50.52  $\text{pg}/\text{mL}$ ,均显著高于不加蛋白刺激组的 IL-8 (37.7  $\text{pg}/\text{mL}$ ) 和 TNF- $\alpha$  (0  $\text{pg}/\text{mL}$ )。但当 Cps Mip 超过 16  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,前炎症细胞因子产生的量逐渐减少,见图 1。用 16  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Cps Mip 分别刺激 THP-1 细胞 0、6、12、24、36、48 h,发现 Cps Mip 刺激 THP-1 产生 IL-8 和 TNF- $\alpha$  的量随着时间的延长而增加,见图 2。



注:A:不同浓度的重组 Cps Mip 对 THP-1 细胞产生 IL-8 量的影响;B:不同浓度的重组 Cps Mip 对 THP-1 细胞产生 TNF- $\alpha$  量的影响。与阴性对照组相比较, \*  $P < 0.01$ , \*  $P < 0.05$ 。

图 1 不同浓度的重组 Cps Mip 对 THP-1 细胞产生 IL-8 和 TNF- $\alpha$  量的影响

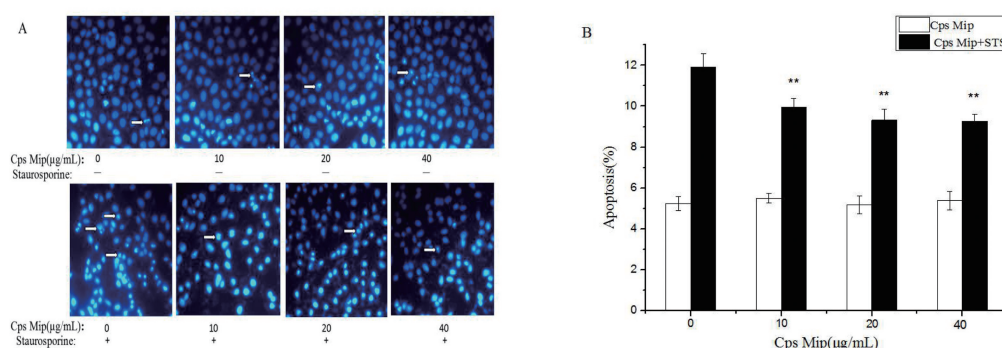


注:A:重组 Cps Mip 处理 THP-1 细胞后不同时间对产生 IL-8 量的影响;B:重组 Cps Mip 处理 THP-1 细胞后不同时间对产生 TNF- $\alpha$  量的影响。

图 2 重组 Cps Mip 处理 THP-1 细胞后不同时间对产生 IL-8 和 TNF- $\alpha$  量的影响

2.2 Cps Mip 对 HeLa 细胞凋亡的影响 处理后各组 HeLa 细胞经 Hoechst 33258 染色后,荧光显微镜下发现,正常的 HeLa 细胞组,细胞呈现较为规则的椭圆形,且边缘整齐,而 Cps Mip 处理后的 HeLa 细胞形态和数量接近于 HeLa 细胞组;在 STS 诱导组中,均出现了一定数量的凋亡小体,且细胞形状不规则,边缘毛躁,细胞数量明显减少,计数各组凋亡小体数后发现,

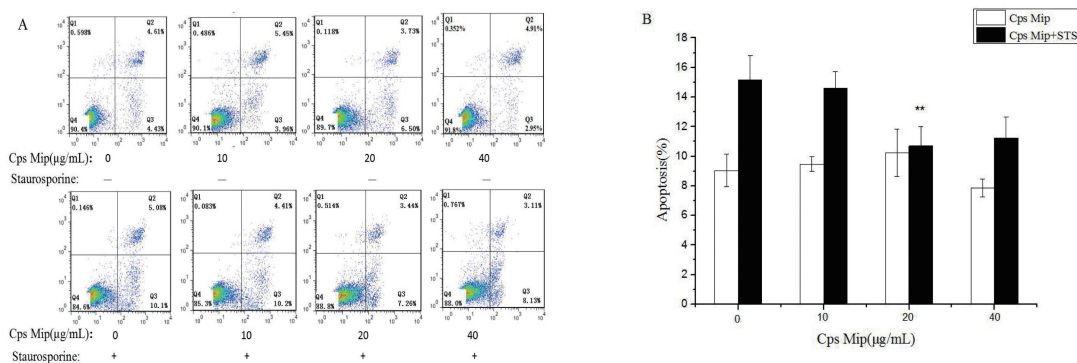
蛋白刺激过的 HeLa 细胞,凋亡小体明显减少,呈现一定的抑凋亡作用,见图 3。不同浓度 Cps Mip 处理 HeLa 细胞 24 h 后,经 Annexin V-FITC 凋亡试剂盒检测,细胞凋亡率无明显变化;但是,在 STS 细胞凋亡诱导组中发现,在 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Cps Mip 刺激后的细胞,细胞凋亡率比未刺激组下降了 4.48% ( $P < 0.01$ ),说明 Cps Mip 有一定的抑制 HeLa 细胞凋亡的作用,见图 4。



注:A:Hoechst 33258 检测细胞凋亡结果,其中白色箭头处可见凋亡小体;B:细胞凋亡小体计数结果。与 0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Cps Mip+STS 组相比较, \*  $P < 0.01$ , \*  $P < 0.05$ 。

图 3 Hoechst 染色分析重组 Cps Mip 对 HeLa 细胞凋亡的影响





注:A:流式细胞仪检测结果;B:细胞凋亡率。与 0 µg/ml Cps Mip+STS 组相比较, \*  $P < 0.01$ , \*\*  $P < 0.05$ 。

图 4 流式细胞术分析 Cps Mip 对 HeLa 细胞凋亡的影响

### 3 讨论

鹦鹉热衣原体属于人畜共患病病原体,通过呼吸道感染宿主,在局部单核巨噬细胞中繁殖,通过血行扩散到其他器官,严重影响畜牧业生产及人类健康<sup>[15]</sup>。目前为止,鹦鹉热衣原体的致病物质及其致病机制仍不完全清楚。Mip 是衣原体含量最丰富的脂蛋白,可能在衣原体的致病过程中发挥重要作用。

本研究前期获得了高纯度的可溶性 Cps Mip 蛋白,从而为下一步 Cps Mip 蛋白生物学功能的研究奠定很好的基础<sup>[16]</sup>。衣原体感染细胞后产生的细胞因子和炎症反应是导致机体组织器官病理损伤和疾病的一个重要因素<sup>[17]</sup>。因此,炎症细胞因子的失控性释放引起机体炎症反应是导致衣原体疾病的病理学基础。IL-8 和 TNF- $\alpha$  是重要的炎症细胞因子,对炎症反应的发生发展具有非常重要的作用,并且在衣原体所致的炎症反应已经得到证实<sup>[18]</sup>。IL-8 是嗜中性粒细胞特异的 CXC 家族的趋化因子成员之一,具有趋化和激活嗜中性粒细胞的作用,也可使中性粒细胞产生呼吸爆发,释放各种蛋白水解酶和产生大量的氧自由基,参与局部炎症反应<sup>[19]</sup>。TNF- $\alpha$  是肿瘤坏死因子家族的成员,在炎症反应与细胞凋亡中发挥重要作用。TNF- $\alpha$  能诱导 IL-4、IL-6 和 IL-8 等其它炎症因子的表达,刺激成纤维细胞增生,促进胶原酶释放,从而参与机体的组织器官损伤过程<sup>[20]</sup>。本研究中发现,Cps Mip 能以时间、剂量依赖方式刺激细胞分泌前炎症细胞因子 IL-8 和 TNF- $\alpha$ ,当 Cps Mip 的浓度为 16 µg/ml 时产生的 IL-8 和 TNF- $\alpha$  量最多,而增加到大于 16 µg/ml 时,IL-8 和 TNF- $\alpha$  的量反而减少,这可能是由于高浓度的 Cps Mip 对 THP-1 细胞产生毒性作用,从而减少了前炎症细胞因子的产生。48 h 内,Cps Mip 刺激

THP-1 细胞随着时间的增加,产生 IL-8 和 TNF- $\alpha$  的量不断增加。

抑制宿主细胞凋亡是导致衣原体持续感染的重要机制之一,衣原体可通过多种机制抑制宿主细胞凋亡,从而逃避机体的免疫清除造成持续性感染<sup>[21]</sup>。本研究用 Cps Mip 蛋白刺激 HeLa 细胞,通过 Hoechst 染色和流式细胞术检测细胞凋亡情况。Hoechst 染色发现经 Cps Mip 刺激的 HeLa 细胞,荧光显微镜下可见细胞皱缩、细胞核碎裂、产生凋亡小体等形态学变化;而流式细胞术检测发现细胞凋亡率无明显变化。但在 STS 细胞凋亡诱导组中发现,20 µg/ml Cps MIP 刺激后的细胞,细胞凋亡率明显减少。这可能是因为当细胞处于病理状态时,或者细胞的凋亡水平被诱导达到一定程度时,Cps Mip 蛋白抑制凋亡作用才体现,从而说明 Cps Mip 可在一定程度上抑制 HeLa 细胞凋亡,与幽门螺杆菌中同属 FKBP 家族且具有 PPIase 活性的 slyD 具有抑制细胞凋亡能力的报道相符<sup>[14]</sup>。

本研究 Cps Mip 重组蛋白能以剂量和时间依赖方式诱导 THP-1 细胞产生 IL-8 和 TNF- $\alpha$  前炎症细胞因子,且对 HeLa 细胞凋亡具有一定的抑制作用,其在 Cps 感染致病过程中的作用有待于进一步深入探讨。

#### 参考文献

- [1] Wannaratana S, Thontiravong A, Amonsin A. Persistence of *Chlamydia psittaci* in various temperatures and times [J]. Avian Dis, 2017, 61 (1):40-45.
- [2] Tsubaki M, Takeda T, Tomonari Y, et al. The MIP-1 autocrine loop contributes to decreased sensitivity to anticancer drugs [J]. J Cell Physiol, 2018, 233 (5):4258-4271.
- [3] Polley S, Chakravarty D, Chakrabarti G, et al. Determining the roles of a conserved tyrosine residue in a Mip-like peptidyl-prolyl cis-trans isomerase [J]. Int J Biol Macromol, 2016, 87:273-280.
- [4] Unal CM, Steinert M. Microbial peptidyl-prolyl cis/trans isomerases (PPIases): virulence factors and potential alternative drug targets [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2014, 78 (3):544-571.

# 武汉地区儿童急性呼吸道感染的常见病原体检测

吴泽刚<sup>1</sup>, 黎知青<sup>2</sup>, 顾剑<sup>1</sup>, 李艳<sup>1</sup>

1. 武汉大学人民医院, 湖北 武汉 430060; 2. 武汉科技大学附属天佑医院, 湖北 武汉 430064

**摘要:** **目的** 本研究主要是检测 15 岁及以下急性呼吸道感染儿童病毒及非典型细菌, 了解这些病原体在武汉地区的流行情况。 **方法** 收集 2012 年 9 月–2017 年 8 月武汉大学人民医院住院儿科 41 434 例拟诊断为急性呼吸道感染 (acute respiratory infection, ARI) 的患儿血清, 采用间接免疫荧光法检测其中九种常见病原体的 IgM 抗体, 分别为: 腺病毒 (including adenovirus, ADV)、Q 热立克次体 (*Coxiella burnetii*, COX)、肺炎衣原体 (*Chlamydia pneumoniae*, CP)、甲型流感病毒 (influenza A virus, FluA)、乙型流感病毒 (influenza B virus, FluB)、嗜肺军团菌 I 型 (*Legionella pneumophila* 1, LPN1)、肺炎支原体 (*Mycoplasma pneumoniae*, MP)、副流感病毒 (parainfluenza virus, PIV)、呼吸道合胞病毒 (respiratory syncytial virus, RSV)。 **结果** 在检测的 41 434 例样本中, 有 20 373 例检测出阳性 (49.17%), 以 MP 的检出最高 16 435 例 (39.67%), 其次为 FluB 和 PIV, 分别为 7 541 例 (18.20%)、2 297 例 (5.54%)。FluB 在 2013 年和 2014 年秋季有小流行; ADV 在 2013 年和 2014 年春夏流行趋势明显; PIV 在 2013 年冬季、2014 年春季、2016 年夏季和 2017 年春夏流行趋势明显; COX 在 2013 年夏季和 2014 年秋季流行; FluA 和 LPN1 在 2013 年夏季有小流行。九种病原体中 ADV、CP、FluB、LPN1、MP、PIV、RSV 病原体检出率在各年龄组之间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), <1 岁年龄组中的病原体总检出率明显低于其他组 ( $P < 0.05$ )。混合感染方式较复杂, 2 种病原体混合感染中, MP+FluB 混合感染最多 (3 656 例, 检出率为 8.82%)。 **结论** 武汉地区引起儿童 ARI 的病原体主要是 MP、FluB 和 PIV; 各种病原体检出率具有一定季节性且在不同年龄段有一定差异; 混合感染比较普遍, 主要是 MP+FluB 混合感染。

**关键词:** 儿童; 急性呼吸道感染; 病原体

**中图分类号:** R378 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2019)02-0133-05 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2019.02.002

**基金项目:** 国家自然科学基金 (81572069, 81772265)

**作者简介:** 吴泽刚 (1985–), 男, 硕士, 医师, 研究方向: 感染性疾病的分子诊断。

**通信作者:** 李艳, E-mail: yanlitf1120@163.com。

- [5] Costoya L, Marzoa J, Ferreiros C, et al. Liposomes or traditional adjuvants: induction of bactericidal activity by the macrophage infectivity potentiator protein (Mip) of *Neisseria meningitidis* [J]. *Apmis*, 2017, 125 (8): 725–731.
- [6] 陆春雪, 彭波, 陈超群, 等. 抗沙眼衣原体 MIP 蛋白单克隆抗体的制备及特性鉴定 [J]. *中国免疫学杂志*, 2014, 30 (1): 80–84.
- [7] Lu C, Peng B, Li Z, et al. Induction of protective immunity against *Chlamydia muridarum* intravaginal infection with the chlamydial immunodominant antigen macrophage infectivity potentiator [J]. *Microbes Infect*, 2013, 15 (4): 329–338.
- [8] Starnino S, Leuzzi R, Ghisetti V, et al. Molecular analysis of two novel *Neisseria gonorrhoeae* virulent components: the macrophage infectivity potentiator and the outer membrane protein A [J]. *New Microbiol*, 2010, 33 (2): 167–170.
- [9] Norville IH, Harmer NJ, Harding SV, et al. A *Burkholderia pseudomallei* macrophage infectivity potentiator-like protein has rapamycin-inhibitable peptidylprolyl isomerase activity and pleiotropic effects on virulence [J]. *Infect Immun*, 2011, 79 (11): 4299–4307.
- [10] Seufert F, Kuhn M, Hein M, et al. Development, synthesis and structure-activity-relationships of inhibitors of the macrophage infectivity potentiator (Mip) proteins of *Legionella pneumophila* and *Burkholderia pseudomallei* [J]. *Bioorg Med Chem*, 2016, 24 (24): 5134–5147.
- [11] Wang Y, Liu Q, Chen D, et al. Chlamydial lipoproteins stimulate toll-like receptors 1/2 mediated inflammatory responses through MyD88-dependent pathway [J]. *Front Microbiol*, 2017, 26 (8): 78.
- [12] 陈莫耶. 幽门螺杆菌 slyD 基因突变株的构建及其对 AGS 细胞增殖效应的影响 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2013.
- [13] Kang D, Gong Y, Zhu Y, et al. The biological activity of *H. pylori* SlyD *in vitro* [J]. *Helicobacter*, 2013, 18 (5): 347–355.
- [14] 康丹. 幽门螺杆菌重组蛋白 SlyD 对胃癌细胞生物学行为的影响及其机制 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2014.
- [15] Opota O, Jaton K, Branley J, et al. Improving the molecular diagnosis of *Chlamydia psittaci* and *Chlamydia abortus* infection with a species-specific duplex real-time PCR [J]. *J Med Microbiol*, 2015, 64 (10): 1174–1185.
- [16] 胡春生, 符玺宗, 周鹏, 等. 鹦鹉热衣原体 Mip 基因原核表达载体的构建及多克隆抗体的制备 [J]. *实用预防医学*, 2017, 24 (3): 280–283.
- [17] Armitage CW, O'Meara CP. *Chlamydia pneumoniae* and *Chlamydia trachomatis* infection differentially modulates human dendritic cell line (MUTZ) differentiation and activation [J]. *Scand J Immunol*, 2015, 82 (1): 48–54.
- [18] Dehghan ML, Aflatoonian A, Talebi AR, et al. Semen inflammatory markers and *Chlamydia trachomatis* infection in male partners of infertile couples [J]. *Andrologia*, 2016, 48 (7): 729–736.
- [19] David JM, Dominguez C, Hamilton DH, et al. The IL-8/IL-8R axis: a double agent in tumor immune resistance [J]. *Vaccines*, 2016, 4 (3): 22.
- [20] 朱桂松, 傅元冬, 陈畅泉. 川黄合剂对 TNF- $\alpha$  诱导的人腹膜间皮细胞 IL-6 和 IL-8 表达的影响 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2016, 25 (11): 1169–1171.
- [21] Xiao Q, Fu B, Chen P, et al. Three polymorphisms of tumor necrosis factor- $\alpha$  and hepatitis B virus related hepatocellular carcinoma: a meta-analysis [J]. *Medicine*, 2016, 95 (50): e5609.

收稿日期: 2018-03-14