

高碱抗性粪肠球菌通过 ZBP1 诱导弱化的巨噬细胞泛凋亡

肖亦方¹, 刘润泽¹, 欧东晨², 范伟¹

[摘要] 目的 探讨高碱抗性粪肠球菌 (highly alkali-resistant *Enterococcus faecalis*, HAR *E. faecalis*) 如何调控 Z-DNA 结合蛋白 1 (Z-DNA binding protein 1, ZBP1) 以及巨噬细胞的泛凋亡 (焦亡、凋亡、坏死)。方法 通过连续碱性传代培养构建高碱抗性粪肠球菌。使用高碱抗性及标准粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis*, *E. faecalis*) 感染 RAW264.7 巨噬细胞, 采用流式细胞术、活/死细胞染色、共聚焦显微镜成像分析和蛋白免疫印迹法, 分析巨噬细胞 ZBP1 的表达水平以及死亡途径。使用小干扰 RNA 敲低巨噬细胞 ZBP1 的表达后进行相同感染, 采用蛋白免疫印迹法分析敲低 ZBP1 后巨噬细胞泛凋亡标志物表达的变化。结果 高碱抗性粪肠球菌上调巨噬细胞中 ZBP1 和泛凋亡标志物表达的能力较标准粪肠球菌弱。敲低 ZBP1 后, 上述指标的表达均下降, 且菌株间无显著差异。结论 高碱抗性粪肠球菌可能通过微弱激活 ZBP1, 诱导弱化的巨噬细胞泛凋亡, 削弱了机体彻底清除细菌的能力, 从而有利于持续性根尖周炎的发生与发展。

[关键词] 粪肠球菌; 碱抗性; Z-DNA 结合蛋白 1; 泛凋亡

[中图分类号] R781.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-9872(2026)04-0260-06

[doi] 10.13591/j.cnki.kqyx.2026.04.004

Highly alkali-resistant *Enterococcus faecalis* induces compromised PANoptosis of macrophage via ZBP1

XIAO Yifang, LIU Runze, OU Dongchen, FAN Wei. (School & Hospital of Stomatology, Wuhan University, Key Laboratory of Oral Biomedicine Ministry of Education, Hubei Key Laboratory of Stomatology, State Key Laboratory of Oral & Maxillofacial Reconstruction and Regeneration, Wuhan 430079, China)

Abstract: **Objective** To investigate how highly alkali-resistant *Enterococcus faecalis* (HAR *E. faecalis*) regulates Z-DNA binding protein 1 (ZBP1) and macrophage PANoptosis (pyroptosis, apoptosis, necrosis). **Methods** Highly alkali-resistant *Enterococcus faecalis* was constructed by continuous alkaline subculturing. RAW264.7 macrophages were infected with either the highly alkali-resistant or standard *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*). Flow cytometry, live/dead cell staining, confocal microscopy, and Western blot were employed to analyze ZBP1 expression levels and macrophage death pathways. Small interfering RNA (siRNA) was used to knock down ZBP1 expression in macrophages, followed by the same infection protocol. Western blot was used to analyze changes in the expression of PANoptosis markers after ZBP1 knockdown. **Results** The highly alkali-resistant *Enterococcus faecalis* exhibited a weaker ability to upregulate the expression of ZBP1 and PANoptosis markers in macrophages compared to the standard strain. Following ZBP1 knockdown, the expression of these markers decreased, with no significant differences observed between the two strains. **Conclusion** Highly alkali-resistant *Enterococcus faecalis* induces compromised macrophage PANoptosis by weak activation of ZBP1, which impairs the host's ability to completely eradicate the bacteria, thereby possibly favoring the occurrence and development of persistent apical periodontitis.

Key words: *Enterococcus faecalis*; alkali-resistance; Z-DNA binding protein 1; PANoptosis

Stomatology, 2026, 46(4): 260-265

持续性根尖周炎特指以根管治疗后持续或复发性炎症为特征的病理状态。尽管现代根管治疗技术成功率较高, 但仍有 30%~40% 的病例会发生持续性根尖周炎^[1]。其主要病因之一是根管系统内残留的微生物膜, 其中粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis*,

E. faecalis) 被认为与根管内持续性和复发性感染密切相关——该菌在 24%~77% 的持续性根尖周炎病例中被检出, 且常与氢氧化钙根管消毒后的根管治疗失败相关^[2]。从持续性根尖周炎患者根管分离的粪肠球菌具有更高的碱抗性^[3-4], 这种特性使其能在氢氧化钙处理形成的碱性环境中存活, 并在条件合适的情况下导致根管及根尖周组织的再感染^[5]。

巨噬细胞是持续性根尖周炎免疫应答中的核心调控因子^[6]。最新研究表明, Z-DNA 结合蛋白 1 (Z-DNA binding protein 1, ZBP1) 作为关键核酸传感

基金项目: 国家自然科学基金 (82270968)

作者单位: 1 武汉大学口腔医学院·口腔医院, 口腔生物医学教育部重点实验室, 湖北省口腔医学重点实验室, 口腔颌面重建与再生全国重点实验室, 湖北武汉 (430079); 2 厦门大学附属第一医院口腔科, 福建厦门 (361003)

通信作者: 范伟 E-mail: weifan@whu.edu.cn

欧东晨 E-mail: xmodc@sina.com

器^[7],主要通过识别 Z-RNA/Z-DNA(源自病原体或内源性损伤信号)^[8-9]激活下游信号通路(特别是 RIPK3-MLKL 介导的坏死性凋亡^[10]、NLRP3 炎症小体^[11-12]及 NF- κ B/IRF 通路^[13-15]),从而对巨噬细胞功能发挥关键调控作用。巨噬细胞不同死亡模式对炎症应答的调控作用各异:Caspase3 依赖性细胞凋亡可维持免疫稳态,但可能降低抗菌效能^[16-17];而 MLKL 依赖性细胞焦亡与 GSDME 依赖性坏死会放大炎症反应^[18-19],导致慢性病理改变^[20]。这些死亡模式共同参与细菌清除与炎症调控^[21]。研究证实粪肠球菌可通过激活 GSDMD-N、pMLKL 和 Cleaved-Caspase3(Cleaved-Casp3)等代表性蛋白,进一步引发巨噬细胞泛凋亡(焦亡、凋亡及坏死)^[22]。但高碱抗性粪肠球菌(highly alkali-resistant *Enterococcus faecalis*, HAR *E. faecalis*)激活巨噬细胞泛凋亡的能力及其机制仍不清楚。

基于以上信息,本研究旨在比较高碱抗性粪肠球菌与标准粪肠球菌诱导巨噬细胞泛凋亡能力的差异,并探讨高碱抗性粪肠球菌是否通过 ZBP1 调控巨噬细胞泛凋亡。

1 材料与方法

1.1 主要材料和仪器

小鼠单核巨噬细胞系(RAW264.7)、粪肠球菌(ATCC,美国);DMEM 培养基(Gibco,美国);胎牛血清(FBS)(四季青,中国);脑心浸液肉汤培养基(BHI)(北京陆桥,中国);氢氧化钙(阿拉丁,中国);Calcein/PI 细胞活性与细胞毒性检测试剂盒、RIPA 裂解液(中)、PMSF、含 DAPI 的抗荧光淬灭封片剂(碧云天,中国);磷酸酶抑制剂混合物片(PhosSTOP)(Roche,瑞士);靶向 ZBP1 的小干扰 RNA(siZBP1)、阴性对照小干扰 RNA(NC-siRNA)、siRNA 转染试剂(吉玛基因,中国);12%PAGE 凝胶超快速配制试剂盒(赛维尔,中国);0.45 μ m PVDF 膜(Millipore,美国);抗 ZBP1 抗体(AG-20B-0010,蛋白免疫印迹用,AdipoGen,瑞士);抗 GSDME-N 抗体(ab215191,Abcam,英国);抗 Cleaved-Casp3 抗体(#9664, Cell Signaling Technology, 美国);抗 phospho-MLKL(pMLKL)抗体(TA7420,艾比玛特,中国);抗 β -actin 抗体(PMK058)、ECL 超敏发光液(普美生物,中国);HRP 标记的二抗(SA00001-1, SA00001-2, Proteintech, 美国);抗 ZBP1 抗体(H-9, sc-271483, 流式细胞术用)(Santa Cruz Biotechnology, 美国);Alexa Fluor 488(Thermo Fisher Scientific, 美国);CFDA-SE(伊莱瑞特,中国);TRITC-鬼笔环

肽(源叶,中国)。

细胞计数器(Invitrogen,美国);荧光显微镜、共聚焦激光扫描显微镜(Zeiss,德国);CytoFLEX 流式细胞仪(Beckman Coulter,美国);细胞培养箱、细菌培养箱(Thermo Fisher Scientific,美国);紫外分光光度计(岛津,日本)。

1.2 细胞培养

在含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中培养 RAW264.7 巨噬细胞(37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂)。将细胞以每孔 1×10^6 个细胞的密度接种于六孔板中,静置过夜使其充分贴壁后开始实验。

1.3 细菌培养

将粪肠球菌置于 BHI 培养基中,于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂、1% O₂ 条件下培养,并调至 OD₆₀₀ = 1.0。

1.4 高碱抗性粪肠球菌筛选

将处于指数生长期的标准粪肠球菌悬液(100 μ L, OD₆₀₀ = 1.0)转移至含 3 mg/mL 氢氧化钙的 BHI 培养基(pH = 10)中^[4]。在持续碱性胁迫条件下进行连续传代培养(共 3 代,每周 37 $^{\circ}$ C 培养 24 h),获得耐碱变异株;通过琼脂平板单菌落划线分离法纯化后,命名为高碱抗性粪肠球菌(HAR *E. f* 组)。为进行表型验证,将等量的高碱抗性菌株与标准菌株(*E. f* 组)分别接种于上述相同碱性 BHI 培养基中。培养 12 h 后,取 50 μ L 菌液涂布于 BHI 琼脂平板,37 $^{\circ}$ C 继续培养 24 h。当高碱抗性粪肠球菌的菌落形成单位较标准菌株显著增加时,即确认其具有高耐碱性。

1.5 细胞感染

在进行微生物刺激实验前,将 RAW264.7 细胞以 1×10^6 个/孔的密度接种于六孔板中静置过夜,并预留一孔用于细胞计数。同时,复苏冻存的高碱抗性和标准粪肠球菌,并将其 OD₆₀₀ 值调整至 1.0(约合 1×10^9 CFU/mL)。根据计算的体积将细菌悬液加入细胞中,以实现目标感染复数(multiplicity of infection, MOI)为 1 和 10。感染组在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下培养 12 h。未感染的细胞作为对照组。

1.6 流式细胞术

在 37 $^{\circ}$ C、MOI 为 1 或 10 条件下,将 RAW264.7 细胞与高碱抗性或标准粪肠球菌共孵育 12 h(未经感染的细胞为对照组)。细胞经固定和透化后,先与抗 ZBP1 抗体(H-9)孵育,再用 Alexa Fluor 488 标记的二抗进行流式荧光染色。经 PBS 洗涤 3 次后,离心(200 \times g, 5 min)收集细胞,重悬于 PBS 中,并采用 CytoFLEX 流式细胞仪通过 FITC-A 通道进行检测分析。

1.7 活/死细胞染色

将 RAW264.7 细胞接种于 12 孔培养板(每孔 5×10^5 个细胞),分别以 MOI=1 或 10 的高碱抗性及标准粪肠球菌进行刺激(未经感染的细胞为对照组)。在感染 12 h 后,使用 Calcein/PI 细胞活性与细胞毒性检测试剂盒进行双荧光活力染色。荧光成像在荧光显微镜上完成,红色荧光标记死细胞,绿色荧光标记活细胞,细胞死亡率按以下公式计算:细胞死亡率=[红色荧光细胞数/(红色荧光细胞数+绿色荧光细胞数)] $\times 100\%$ 。

1.8 共聚焦显微镜成像分析

将 CFDA-SE 标记后的高碱抗性及标准粪肠球菌以 MOI = 10 的条件,感染处于对数生长期的 RAW264.7 细胞 12 h。PBS 洗涤 3 次后,在室温下使用 4% 多聚甲醛固定细胞 20 min,并再次以 PBS 洗涤 3 次。细胞在避光条件下与 TRITC-鬼笔环肽于室温共同孵育 30 min,随后用 PBS 洗涤。最后,使用含 DAPI 的抗荧光淬灭封片剂对样本进行封片。处理完成的样本通过共聚焦激光扫描显微镜进行成像采集。

1.9 siRNA 介导的基因沉默

根据制造商提供的操作流程,采用 siRNA 转染试剂将 siZBP1 转染至 RAW264.7 细胞中。平行对照组以同等浓度加入经验证的乱序 NC-siRNA,并通过蛋白免疫印迹法验证基因敲低效果。siRNA 序列详见表 1。

表 1 用于基因敲低的 siRNA 序列

Tab.1 siRNA sequences for gene knockdown

基因	引物序列(5'—3')
siZBP1	F:GGACAUAGAAAGCUCUCAATT
	R:UUGAGAGCUUUCUAUGUCCTT
NC-siRNA	F:UUCUCCGAACGUGUCACGUTT
	R:ACGUAGCACGUUCGAGAATT

1.10 蛋白免疫印迹

采用含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的蛋白裂解液制备细胞裂解物。蛋白质样品在 95 °C 下变性 5 min 后,通过 12% PAGE 凝胶电泳进行分离。随后,在 200 mA 恒流条件下湿转 60 min,将蛋白质转移至 0.45 μm PVDF 膜。转膜完毕后,使用含 5% 脱脂牛奶的 TBST 溶液封闭膜 1 h。封闭后的膜在 4 °C 下与以下一抗孵育过夜:抗 ZBP1 抗体、抗 GSDME-N 抗体、抗 Cleaved-Casp3 抗体、抗 pMLKL 抗体以及抗 β -actin 抗体(均为 1 : 1 000)。使用 TBST 洗涤膜 3 次(每次 10 min)后,在室温下与二抗(1 : 5 000)孵育 1 h。最后,使用 ECL 发光液进

行显色反应,并通过 Odyssey 成像系统捕获信号。采用 Image J 1.53t 软件进行灰度值分析。

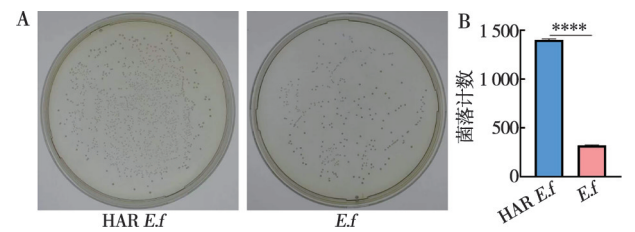
1.11 统计学分析

所有实验均重复 3 次,数据以均值 \pm 标准差表示。数据分析采用 GraphPad Prism 8.0 软件完成。两组数据比较使用 Welch's *t* 检验。检测高碱抗性粪肠球菌诱导巨噬细胞泛凋亡能力时使用双因素方差分析,其余数据使用单因素方差分析。统计学显著性设定为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 高碱抗性粪肠球菌筛选成功

平板计数结果显示,碱性条件刺激后高碱抗性粪肠球菌的菌落形成单位数量显著高于标准菌株,证实了高碱抗性粪肠球菌的成功筛选(图 1)。



A:碱性培养后高碱抗性或标准粪肠球菌的菌落;B:上述菌落形成单位统计结果;****: $P < 0.0001$ 。

图 1 碱性培养后高碱抗性或标准粪肠球菌的菌落形成单位

Fig.1 Colony forming units of HAR *E. faecalis* or standard *E. faecalis* following alkaline culture

2.2 高碱抗性粪肠球菌上调 ZBP1 的能力较标准菌弱

流式细胞术结果表明,高碱抗性和标准粪肠球菌均会上调巨噬细胞 ZBP1 的表达,且感染复数越高 ZBP1 表达量越高,但是高碱抗性粪肠球菌上调 ZBP1 的能力显著较标准菌弱(图 2)。

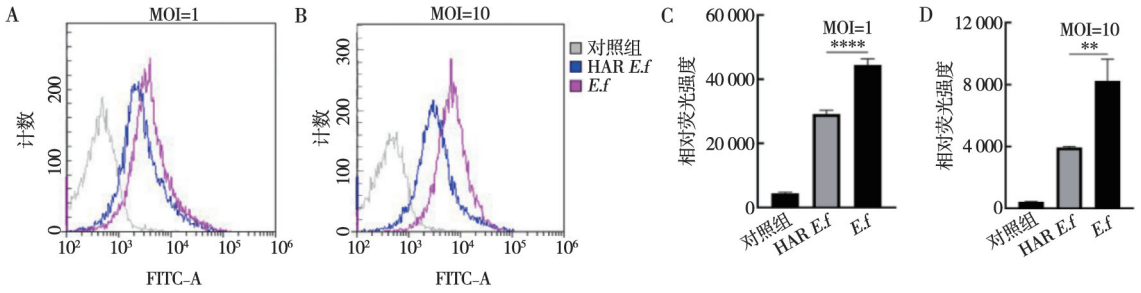
2.3 高碱抗性或标准粪肠球菌持续感染引起巨噬细胞死亡

活/死细胞染色结果显示,高碱抗性或标准粪肠球菌的持续性感染均会导致巨噬细胞死亡,感染复数越高死亡细胞越多,且高碱抗性粪肠球菌引起的巨噬细胞死亡率显著低于标准粪肠球菌(图 3)。

共聚焦成像分析显示,经高碱抗性或标准粪肠球菌持续性感染后,巨噬细胞均呈现出细胞肿胀增大和细胞膜破裂等典型的坏死形态学特征(图 4)。

2.4 高碱抗性粪肠球菌引起巨噬细胞泛凋亡能力较标准菌弱

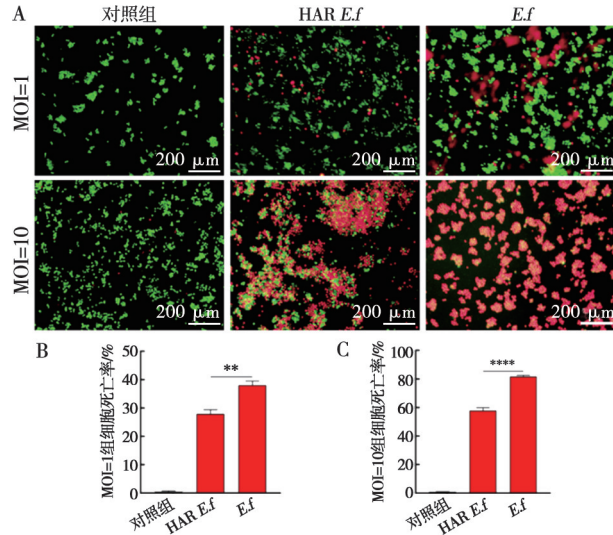
蛋白免疫印迹结果显示,ZBP1、GSDME-N、pMLKL 和 Cleaved-Casp3 的表达水平随感染复数增加而升高,但高碱抗性粪肠球菌诱导的上述蛋白表达强度显著低于标准菌(图 5)。



A: MOI=1 时流式细胞术 ZBP1 荧光表达情况; B: MOI=10 时流式细胞术 ZBP1 荧光表达情况; C: MOI=1 时 ZBP1 相对荧光强度统计结果; D: MOI=10 时 ZBP1 相对荧光强度统计结果; **: $P<0.01$; ****: $P<0.0001$ 。

图 2 流式细胞术检测高碱抗性或标准粪肠球菌刺激下巨噬细胞 ZBP1 的表达

Fig.2 Flow cytometric analysis of ZBP1 expression in macrophages stimulated with HAR *E. faecalis* or standard *E. faecalis*



A: 高碱抗性或标准粪肠球菌感染后巨噬细胞的活/死细胞染色(红色荧光标记死细胞,绿色荧光标记活细胞); B: MOI=1 时上述活/死细胞染色死亡率统计结果; C: MOI=10 时上述活/死细胞染色死亡率统计结果; **: $P<0.01$; ****: $P<0.0001$ 。

图 3 高碱抗性或标准粪肠球菌感染后巨噬细胞的活/死细胞染色分析

Fig.3 Live/dead cells staining of macrophages following infection with HAR *E. faecalis* or standard *E. faecalis*

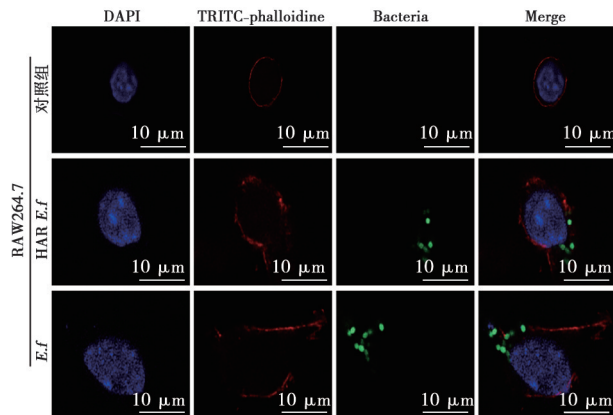


图 4 高碱抗性或标准粪肠球菌感染后巨噬细胞的共聚聚焦成像分析

Fig.4 Confocal imaging analysis of macrophages infected with HAR *E. faecalis* or standard *E. faecalis*

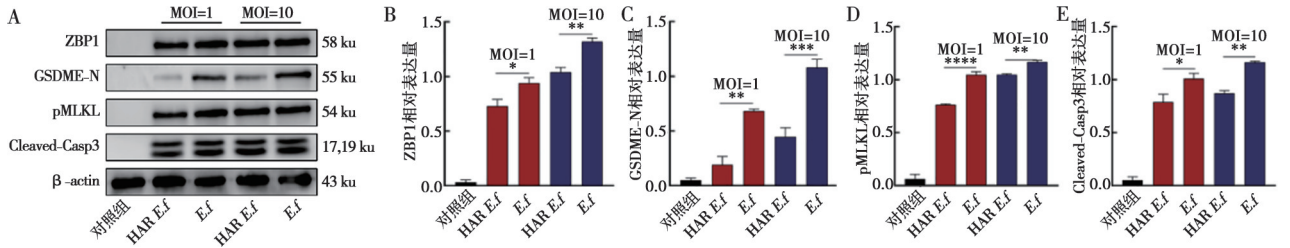
2.5 ZBP1 敲低可减轻粪肠球菌导致的巨噬细胞泛凋亡

蛋白免疫印迹分析证实,敲低巨噬细胞的 ZBP1 可显著降低高碱抗性或标准粪肠球菌诱导的 GSDME-N、pMLKL 和 Cleaved-Casp3 表达,且二者诱导上述蛋白的表达水平之间无显著差异(图 6)。

3 讨论

在持续性根尖周炎中,粪肠球菌被认为是相关致病菌^[23]。粪肠球菌对氢氧化钙具有相对较高的碱耐受性^[24]。巨噬细胞作为根尖周组织中负责识别和清除细菌的主要细胞^[25],其细胞泛凋亡模式(焦亡、凋亡、坏死)共同调控炎症进展^[26]。其天然免疫传感器 ZBP1 可通过介导细胞死亡影响病原体清除和组织损伤^[27]。然而,ZBP1 在高碱抗性粪肠球菌引发的根尖周炎中的作用尚未阐明。因此,探讨高碱抗性粪肠球菌通过调控巨噬细胞中 ZBP1 影响细胞泛凋亡的特点和机制,对进一步理解慢性根尖周感染的机制具有重要意义。

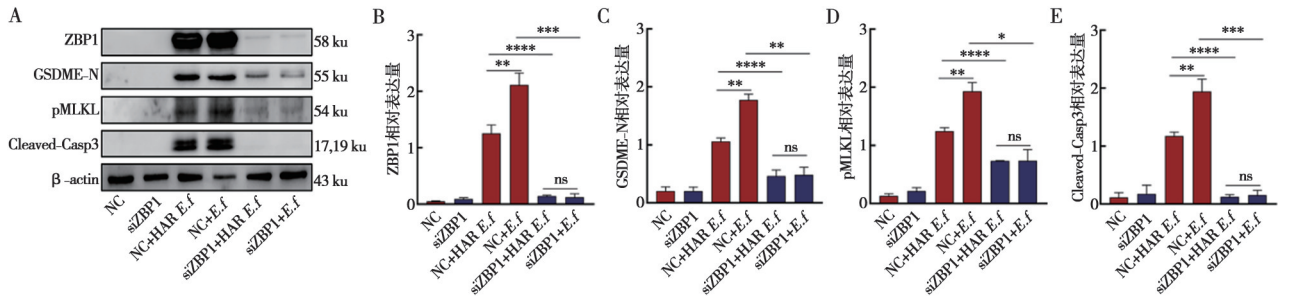
本研究首先探究了高碱抗性粪肠球菌或标准粪肠球菌感染对巨噬细胞中 ZBP1 表达的影响。研究表明,无论是标准粪肠球菌还是高碱抗性粪肠球菌,均能显著诱导巨噬细胞内 ZBP1 在蛋白水平的表达上调。更为重要的是,这种上调效应呈现出明显的感染复数依赖性特征,这提示细菌负载量与宿主细胞的 ZBP1 免疫应答强度直接相关。然而,在相同的感染复数条件下,高碱抗性粪肠球菌感染组细胞中 ZBP1 的表达量始终低于标准粪肠球菌感染组。这一差异表示,高碱抗性粪肠球菌可能演化出了一种更为温和或隐匿的免疫激活策略,它足以启动免疫反应,但强度较低,这或许与其诱发慢性感染的生物学特性相关。



A:感染 12 h 蛋白免疫印迹代表性条带;B:ZBP1 蛋白相对表达量;C:GSDME-N 蛋白相对表达量;D:pMLKL 蛋白相对表达量;E: Cleaved-Casp3 蛋白相对表达量; *:P<0.05; **:P<0.01; ***:P<0.001; ****:P<0.000 1。

图 5 高碱抗性或标准粪肠球菌感染后巨噬细胞的蛋白免疫印迹分析

Fig.5 Western blot analysis of macrophages infected with HAR *E. faecalis* or Standard *E. faecalis*



A:12 h,MOI= 10 时,蛋白免疫印迹代表性条带;B:ZBP1 蛋白相对表达量;C:GSDME-N 蛋白相对表达量;D:pMLKL 蛋白相对表达量;E: Cleaved-Casp3 蛋白相对表达量;ns:P>0.05; *:P<0.05; **:P<0.01; ***:P<0.001; ****:P<0.000 1。

图 6 ZBP1 敲低对感染高碱抗性或标准粪肠球菌的巨噬细胞泛凋亡标志蛋白表达的影响

Fig.6 Effects of ZBP1 knockdown on the expression of PANoptosis marker proteins in macrophages infected with HAR *E. faecalis* or standard *E. faecalis*

先前有研究证实,在 β 冠状病毒模型中,通过敲除 ZBP1 基因,能够有效阻断泛凋亡的发生,从而减轻组织损伤^[28]。基于此,本研究进一步探索了 ZBP1 在粪肠球菌诱导的巨噬细胞泛凋亡中的作用。值得注意的是,高碱抗性粪肠球菌相较于标准粪肠球菌,诱导泛凋亡标志蛋白表达的能力较弱^[29]。这种差异化调控表明与标准菌株相比,高碱抗性粪肠球菌采用了一种更为隐匿的抑制性免疫致病策略。它并非完全逃避宿主免疫系统的识别,而是以相对温和但持久的作用,持续诱发巨噬细胞泛凋亡。这种持续、温和的细胞死亡,可能造成局部免疫细胞的不断耗竭,削弱了机体彻底清除细菌的能力。强烈、爆发性的细胞死亡会迅速清除感染,但也会导致宿主剧烈的炎症反应^[30];而温和、持续的细胞死亡,虽然每次的炎症强度较低,但会造成长期、低度的组织损伤和免疫功能障碍^[31],这或许是高碱抗性粪肠球菌能够在与宿主免疫系统的长期拉锯战中得以存续,并驱动持续性根尖周炎的免疫机制。

本研究首次揭示了 ZBP1 是高碱抗性粪肠球菌触发巨噬细胞泛凋亡的分子枢纽。我们的数据显示,在巨噬细胞 ZBP1 被敲低后,由高碱抗性粪肠球菌所引发的泛凋亡关键标志物的表达均显著下降。更重要的是,在 ZBP1 缺陷的背景下,高碱抗性粪肠

球菌与标准粪肠球菌在诱导这些泛凋亡标志蛋白的能力上不再表现出差异。这一结果表明,ZBP1 的信号通路是不同碱抗性粪肠球菌诱导巨噬细胞泛凋亡的共同途径,其在泛凋亡的发生中居于上游主导地位。高碱抗性粪肠球菌在感染根尖周组织后,被驻留于此的巨噬细胞吞噬,通过巨噬细胞胞内识别机制激活了 ZBP1 的表达。上调的 ZBP1 随后作为分子平台,同时激活 GSDME-N、pMLKL 和 Cleaved-Casp3 等焦亡、凋亡和坏死执行蛋白,进而导致巨噬细胞发生泛凋亡。然而,巨噬细胞中 ZBP1 具体如何被高碱抗性粪肠球菌激活的分子机制仍需进一步研究。

综上所述,本研究揭示了 ZBP1 在高碱抗性粪肠球菌诱导巨噬细胞泛凋亡中的核心作用,发现了高碱抗性粪肠球菌可能通过弱激活“ZBP1-泛凋亡轴”来促进持续性根尖周感染的发生发展。这为进一步理解高碱抗性粪肠球菌引起持续性根尖周感染的机制奠定了重要的理论基础。

[参 考 文 献]

[1] Bergenholtz G. Assessment of treatment failure in endodontic therapy[J]. J Oral Rehabil, 2016, 43(10): 753-758.
 [2] Wang Z, Yang G, Ren B, et al. Effect of antibacterial root canal sealer on persistent apical periodontitis[J]. Antibiotics, 2021, 10

- (6): 741.
- [3] Salem AS, Tompkins GR, Cathro PR. Alkaline tolerance and bio-film formation of root canal isolates of *Enterococcus faecalis*: Anstudy[J]. J Endod, 2022, 48(4): 542-547. e4.
- [4] Liu RZ, Liu P, Luo Y, et al. Metformin reduced the alkaline resistance of *Enterococcus faecalis* against calcium hydroxide via ManPTS EII; *In vitro* and *in vivo* studies [J]. Clin Oral Investig, 2024, 28(10): 520.
- [5] Pascale C, Geaman J, Mendoza C, et al. *In vitro* assessment of antimicrobial potential of low molecular weight chitosan and its ability to mechanically reinforce and control endogenous proteolytic activity of dentine[J]. Int Endod J, 2023, 56(11): 1337-1349.
- [6] Hernández-Sandoval EM, Sánchez-Gutiérrez R, Torres-Monjarás AP, et al. α -IRAK-4 suppresses the activation of RANK/RANKL pathway on macrophages exposed to endodontic microorganisms [J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(15): 8434.
- [7] Mishra S, Dey AA, Kesavardhana S. Z-nucleic acid sensing and activation of ZBP1 in cellular physiology and disease pathogenesis [J]. Immunol Rev, 2025, 329(1): e13437.
- [8] He JF, Zhu YY, Tian ZC, et al. ZBP1 senses spliceosome stress through Z-RNA: DNA hybrid recognition[J]. Mol Cell, 2025, 85(9): 1790-1805. e7.
- [9] Yang ZH, Wu PQ, Zhang BX, et al. ZBP1 senses splicing aberration through Z-RNA to promote cell death[J]. Mol Cell, 2025, 85(9): 1775-1789. e5.
- [10] Chen CM, Xie JZ, Chen ZM, et al. Role of Z-DNA binding protein 1 sensing mitochondrial Z-DNA and triggering necroptosis in oxalate-induced acute kidney injury [J]. J Am Soc Nephrol, 2025, 36(3): 361-377.
- [11] Ma ZC, Liu DP, Cao WD, et al. Suppression of ZBP1-mediated NLRP3 inflammasome by the tegument protein VP22 facilitates pseudorabies virus infection[J]. mBio, 2024, 15(12): e0194524.
- [12] Yan SG, Yu LN, Chen ZR, et al. ZBP1 promotes hepatocyte pyroptosis in acute liver injury by regulating the PGAM5/ROS pathway[J]. Ann Hepatol, 2024, 29(4): 101475.
- [13] Sun K, Lu F, Hou LC, et al. IRF1 regulation of ZBP1 links mitochondrial DNA and chondrocyte damage in osteoarthritis[J]. Cell Commun Signal, 2024, 22(1): 366.
- [14] Gomes MTR, Guimarães ES, Oliveira SC. ZBP1 senses *Brucella abortus* DNA triggering type I interferon signaling pathway and unfolded protein response activation [J]. Front Immunol, 2025, 15: 1511949.
- [15] Zhuang Y, Ortega-Ribera M, Thevkar Nagesh P, et al. Bile acid-induced IRF3 phosphorylation mediates cell death, inflammatory responses, and fibrosis in cholestasis-induced liver and kidney injury via regulation of ZBP1[J]. Hepatology, 2024, 79(4): 752-767.
- [16] Qi F, Yi ZJ, Liu Y, et al. CMT4 promotes PD-L1-mediated macrophage apoptosis by enhancing STAT2 phosphorylation in sepsis[J]. Exp Cell Res, 2025, 447(2): 114519.
- [17] Liu H, Liu YX, Fan W, et al. *Fusobacterium nucleatum* triggers proinflammatory cell death via Z-DNA binding protein 1 in apical periodontitis[J]. Cell Commun Signal, 2022, 20(1): 196.
- [18] Li SQ, Chen TF, Gao KX, et al. *Streptococcus suis* induces macrophage M1 polarization and pyroptosis[J]. Microorganisms, 2024, 12(9): 1879.
- [19] Yang S, Chang N, Li WY, et al. Necroptosis of macrophage is a key pathological feature in biliary atresia via GDCA/S1PR2/ZBP1/p-MLKL axis[J]. Cell Death Dis, 2023, 14(3): 175.
- [20] Xu S, Peng YF, Yang K, et al. PROTAC based STING degrader attenuates acute colitis by inhibiting macrophage M1 polarization and intestinal epithelial cells pyroptosis mediated by STING-NLRP3 axis[J]. Int Immunopharmacol, 2024, 141: 112990.
- [21] Yang ZS, Wang JJ, Pi J, et al. Identification and validation of genes related to macrophage polarization and cell death modes under *Mycobacterium tuberculosis* infection [J]. J Inflamm Res, 2024, 17: 1397-1411.
- [22] Chi DL, Lin XW, Meng QZ, et al. Real-time induction of macrophage apoptosis, pyroptosis, and necroptosis by *Enterococcus faecalis* OG1RF and two root canal isolated strains[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11: 720147.
- [23] Nair PNR. On the causes of persistent apical periodontitis: A review[J]. Int Endod J, 2006, 39(4): 249-281.
- [24] Liu RZ, Luo Y, Liu P, et al. The potential regulatory role of mannose phosphotransferase system EII in alkaline resistance of *Enterococcus faecalis*[J]. J Oral Microbiol, 2025, 17(1): 2487944.
- [25] Gong QM, Lv XM, Liao CX, et al. Single-cell RNA sequencing combined with proteomics of infected macrophages reveals prothymosin- α as a target for treatment of apical periodontitis[J]. J Adv Res, 2024, 66: 349-361.
- [26] Ma RY, Deng ZL, Du QY, et al. *Enterococcus faecalis* extracellular vesicles promote apical periodontitis[J]. J Dent Res, 2024, 103(6): 672-682.
- [27] Song QX, Fan YH, Zhang HL, et al. Z-DNA binding protein 1 orchestrates innate immunity and inflammatory cell death[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2024, 77: 15-29.
- [28] Karki R, Lee S, Mall R, et al. ZBP1-dependent inflammatory cell death, PANoptosis, and cytokine storm disrupt IFN therapeutic efficacy during coronavirus infection [J]. Sci Immunol, 2022, 7(74): eabo6294.
- [29] Wei WD, Zhan BL, Chen LX, et al. PANoptosis-mediated mechanisms underlying AST elevation in *Talaromyces marneffei* infection [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2025, 19(9): e0013443.
- [30] Shi JJ, Gao WQ, Shao F. Pyroptosis: Gasdermin-mediated programmed necrotic cell death[J]. Trends Biochem Sci, 2017, 42(4): 245-254.
- [31] Sternkopf LE, Prodjinotho UF, Gres V, et al. Helminthic larval stage induces cellular apoptosis via caspase 9-mediated mitochondrial dysfunction[J]. Front Immunol, 2025, 16: 1603385.

(收稿日期:2025-11-10)

(本文编辑:孙鑫)