

细胞焦亡调控与炎症和肿瘤病理机制的关系

殷康力¹, 赵波², 张大伟²

(1. 上海中医药大学 市中西医结合临床学院, 上海 201203; 2. 山东中医药大学附属医院 周围血管病科, 济南 250000)

摘要: 细胞焦亡是近年来的研究热点, 且在多种疾病中发挥关键作用, 在机体炎症反应和免疫反应中普遍存在。该文回顾性综述近年来有关细胞焦亡机制及相关疾病的最新文献, 系统而全面地阐述细胞焦亡研究的最新进展。

关键词: 细胞焦亡; 炎症小体; 糖尿病; 肿瘤

中图分类号: R392.32

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2022)01-0155-10

细胞焦亡是在炎症小体诱导下, 经炎性半胱天冬酶家族激活 Gasdermin-D(GSDMD)打孔活性, 使细胞膜穿孔致细胞裂解死亡的过程, 是特殊的细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD)。细胞焦亡广泛参与到感染、炎症反应和免疫反应中, 在感染、肿瘤及糖尿病等疾病的核心环节发挥关键作用。随着研究的深入, GSDMD 被证实是焦亡途径的共有底物, 相关研究也逐渐完善。本文将从焦亡最新研究进展, 分子机制及相关疾病层面进行论述。

1 经典焦亡途径的分子机制

2001 年, Cookson 等^[1]发现, 被沙门氏菌感染的巨噬细胞呈现出与细胞程序性坏死和凋亡全然不同的死亡表现, 其特征是由炎性半胱天冬酶介导, 研究者将其命名为细胞焦亡。近年来随着研究的不断深入, 已证实致病原感染和内源性损伤均可诱导细胞焦亡, 根据炎性半胱天冬酶的不同, 细胞焦亡可分为经典途径与非经典途径, 其共性在于均通过调控 GSDMD 在特定位点裂解使细胞膜穿孔, 半胱天冬酶(caspase)是其特异性的分子标志。

caspase 家族的共性是特异性进攻半胱氨酸残基并切断天冬氨酸残基后面的肽键, 效应专一, 其

最早发现于 20 世纪 90 年代^[2]。研究证实, caspase 家族广泛存在于人、鼠、兔等哺乳动物当中, 介导凋亡、坏死、焦亡等过程, 其中人体中与焦亡相关的分子以 caspase-1/4/5/12 为主, 鼠中主要以 caspase-1/11/12 为主, 其中 caspase-12 作为人鼠共有底物, 其活化水平被证实与巨噬细胞凋亡直接相关, 参与机体的炎症反应^[3]。

1.1 caspase-1 主导经典焦亡途径 caspase-1 为人鼠共有细胞死亡相关蛋白, 以无活性的酶原形式存在于细胞质中, 相对分子质量约 47 000, 受 PAMP/损伤相关分子模式(damage associated molecular pattern, DAMP)/稳态预警分子过程(homeostasis-altering molecular process, HAMP)刺激, 胞质内 PRR 被激活启动低聚反应, 选择性结合 caspase-1 前体与凋亡相关微粒蛋白, caspase-1 前体水解释放大小不同的 p20 和 p10 亚基, 聚合成具备生物学活性的四聚体——caspase-1, 形成特殊的炎症复合物, 即炎症小体^[3]。GSDMD 上天冬氨酸残基被 caspase-1 切割后形成活性氨基(N)末端及羧基(C)末端, 其中具有脂质选择性的 N 末端可以特异性结合细胞膜上脂质成分, 低聚形成环状中空结构, 直径 10~21 nm^[4-8], 这种结构破坏了膜内外渗透压平衡, 细胞随即裂解、死亡(图 1)。

同时, caspase-1 首先切割 IL-1 β 和 IL-18 的前体, 形成成熟的 IL-1 β 和 IL-18; 细胞膜打孔后, IL-1 β 和 IL-18 经由孔蛋白分泌到细胞外, 诱发炎症反应, 激活其他细胞的焦亡途径, 产生趋化效应使其他免疫细胞定向趋化并放大炎症效应^[9]。

收稿日期: 2020-04-12

基金项目: 山东省中医药管理局(2019-0203); 山东省自然科学基金(ZR2017LH066)

作者简介: 殷康力(1995—), 男, 硕士生, 主要从事血管外科疾病相关的临床与基础研究

通信作者: 张大伟(E-mail: zhangdaweijn@126.com)

1.2 经典焦亡途径相关的炎症小体 炎症小体是参与固有免疫的细胞内复合物, 通常包括受体蛋白、接头蛋白和效应蛋白三部分, 根据不同的蛋白质底物其最终结构存在差别。在识别到特定的 PAMP、DAMP 或 HAMP 后, 胞质内的 PRR 激活并启动炎症小体组装过程, 募集接头蛋白 ASC; 一般来说, ASC 包含吡啶域(pyridine, PYD)和半胱天冬酶募集结构域(caspase recruitment domain, CARD)2 个结构域, 也有部分炎症小体不具备 PYD^[10]。ASC 通过 CARD 活化 caspase, 进而激活下游炎症反应。根据受体蛋白的不同, 可以将炎症小体分为 NLR 家族和 ALR 家族等^[11]。

1.2.1 NLR 家族 NLR 是最早发现的炎症小体家族, 当前研究证实其包括 NLRP1、NLRP3、NAIP-NLRC4、NLRP6 和 NLRP9b 等多位成员, 它们均能启动焦亡途径^[12]。

NLRP1 是最早被发现的炎症小体, 广泛存在于人体和鼠类的巨噬细胞中, 二者结构不同, 区别在于鼠 NLRP1 存在 3 种同源结构(NLRP1a~1c), 并普遍缺乏 PYD^[13]。研究证明, 人 NLRP1 和鼠 NLRP1 均可特异性识别炭疽芽孢杆菌、志贺氏菌、真菌、弓形虫和 Val-Bro-Pro——一种胞质丝氨酸蛋白酶抑制剂并活化 caspase-1, 启动焦亡过程^[13-15]。Okondo 等^[16]研究显示, 加入蛋白酶抑制剂后, 鼠 NLRP1 活性大幅度下降, 证实蛋白酶活性对 NLRP1 的表达非常重要; 而 Zhong 等^[17]研究显示, 在缺乏 PYD 结构的 NLRP1 突变的人群中, NLRP1 炎症小体高表达且异常活化, IL-1 β 等炎症介质水平上升, 证实 PYD 是人 NLRP1 具备结构自抑性的核心结构域。

NAIP-NLRC4 同样是人鼠共有的炎症小体, 能够识别鞭毛蛋白和革兰氏阴性杆菌的 III 型分泌系统产物, 其中已知 NAIP1 能够识别针样蛋白, NAIP2 能够识别弓形虫的棒状体蛋白, NAIP5 和 NAIP6 能够识别鞭毛^[18-19]。在 PRR 识别特定 PAMP 后, 细胞内的 NLRC4 被活化并募集 ASC, 活化 caspase-1, 启动经典焦亡途径。Rauch 等^[20]观察到在非免疫细胞中, 例如肠道上皮中, 同样存在 NAIP-NLRC4 炎症小体表达, 认为其参与到了肠道细胞抗感染过程中。

NLRP6 在鼠类肠道中高表达, 能够识别组胺、精氨酸和革兰氏阳性杆菌的脂磷壁酸(lipotechoic acid, LTA)。在识别组胺或精氨酸后, NLRP6 募集 ASC, 活化 caspase-1, 启动经典焦亡途径并将 IL-18 分泌至细胞外。而在识别 LTA 后, ASC 首先结合 caspase-11, 进而活化 caspase-1, 同时产生 IL-18^[21]。NLRP9b 同样在肠道上皮细胞中表达, 并通过 DHX-9 识别轮状病毒的双链 RNA, 形成大分子复合物并募集 ASC, 活化 caspase-1, 启动经典焦亡途径, 将 IL-1 β 、IL-18 分泌至细胞外^[22]。研究证实, NLRP6 和 NLRP9b 与肠道感染及自身免疫性疾病密切相关。

1.2.2 AIM2 炎症小体 AIM2 炎症小体是 ALR 家族的重要成员之一, 为人鼠共有, 通过识别自体或异体双链 DNA 启动经典焦亡途径, 共同特点是不需要识别特定的核苷酸序列, 而是通过非特异性结合带负电的糖磷酸骨架实现, 当 DNA 链长度小于 70 bp 时则不被激活^[23-26]。对于不同来源的双链 DNA, AIM2 识别途径存在区别。Man 等^[27]研究发现, 细菌首先要在 IFN- γ 的作用下导致菌膜裂解, 暴露双链 DNA 后与 AIM2 结合形成核酸复合物, 募集 ASC 并活化 caspase-1, 启动经典的焦亡途径; DNA 病毒则无需 IFN 参与, 能够直接被 AIM2 识别。自体 DNA 主要来源于损伤细胞核和线粒体, 被释放到胞质的 DNA 激活 AIM2 受体, Micco 等^[28]研究证实, 当核膜完整性被药物破坏后, AIM2 的表达水平显著升高。一般来说, AIM2 的激活是通过释放到胞质的 DNA 来实现的, 但 Hu 等^[29]观察到, 受放射损伤的鼠细胞中, AIM2 在受损 DNA 的刺激下向细胞核内移动, 启动焦亡从而抑制细胞增殖。

1.2.3 吡啶炎症小体 与 NLR 和 ALR 不同, PYR 并非通过识别模式信号启动。正常状态下, 细胞内的 PYR 会被丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶 1 (PKC-related serine/threonine-protein kinase N1, PKN1) 和 PKN2 磷酸化, 从而抑制 14-3-3 蛋白活性, 使 PYD 失活。在人类和鼠类中, PKN 需要在一类名为 Rho 修饰蛋白的作用下结合 PYD, 当 Rho 修饰蛋白失活后, 磷酸化的 PYD 脱离 PKN 从而被激活, 募集 ASC, 启动经典的焦亡途径^[30]。

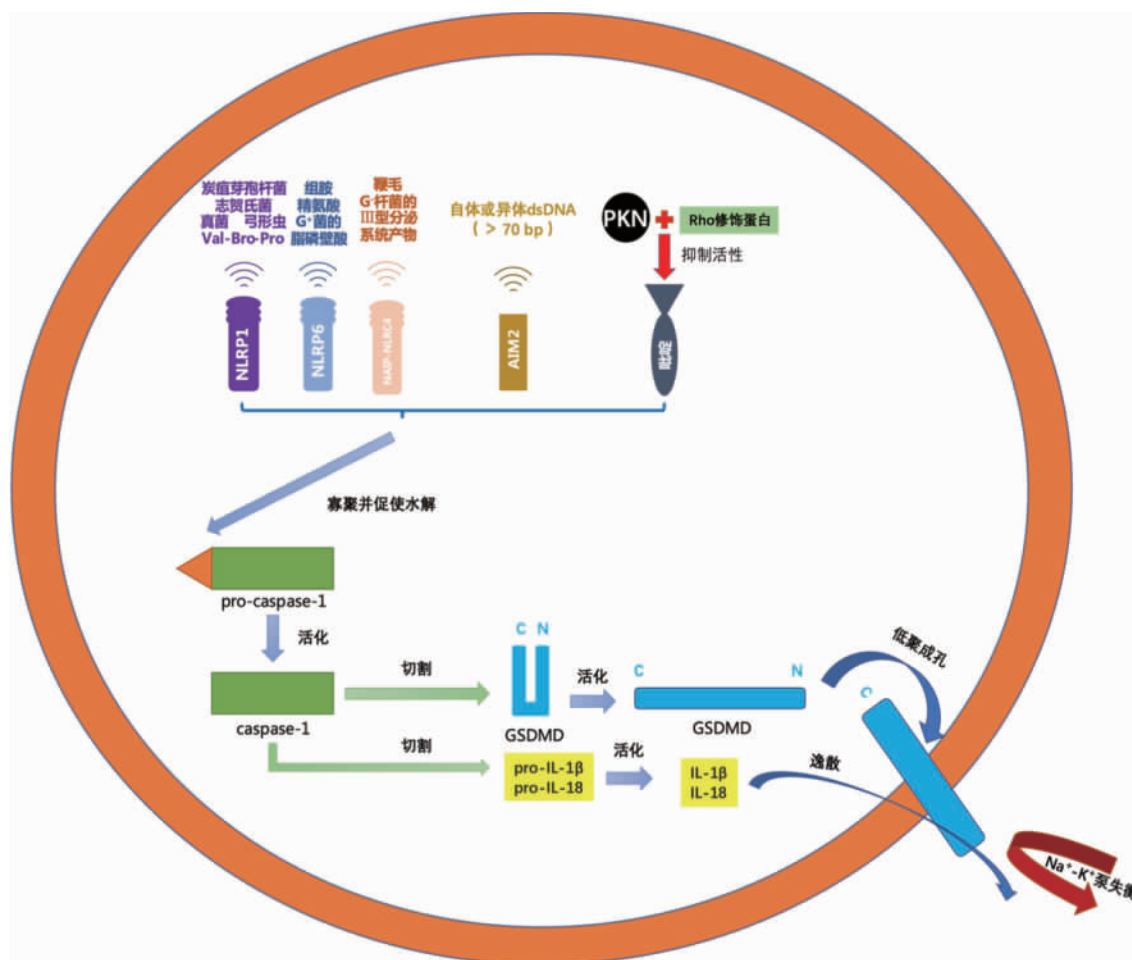


图1 caspase-1 介导的经典焦亡途径

2 非经典焦亡途径的分子机制

2.1 caspase-4/5 及 caspase-11 主导的非经典焦亡途径 人源性 caspase-4/5 与鼠源性 caspase-11 是同源异构体, 被证实具有高度类似的蛋白结构, 其生理功能也基本相同。与 caspase-1 不同, 除特定炎症小体外, caspase-4/5 和 caspase-11 的前体还能够直接识别 LPS、氧化的 1-棕榈酰-2-花生四烯酰-3-甘油-磷脂酰胆碱 (oxidized 1-palmitoyl-2-arachidonoyl-sn-glycero-3-phosphorylcholine, ox-PAPC) 信号, 活化并诱导焦亡。动物研究证实, caspase-11 受到炎症小体刺激后, 活化并特异性地结合细胞内脂蛋白, 作用于 GSDMD 释放 N 末端及 C 末端, 使细胞膜穿孔^[31]。同时活化的 caspase-11 激活膜上的 Panx1 通道, 诱导细胞分泌 ATP 并活化 P2X7 分子, 激活下游 caspase-1 前体, 启动经典的焦亡途径, 释放 IL-1 β 和 IL-18 (图 2)。

2.2 caspase 家族其他成员与焦亡 caspase 家族被证实哺乳动物中广泛存在, 其中在人类基因组

中有 14 种成员, 小鼠基因组中有 11 种, 其中鼠基因组缺乏 caspase-4/5/10, 而人基因组缺乏 caspase-11^[32], 除主导经典途径的 caspase-1 和非经典途径的 caspase-4/5 外, 包括 caspase-3、caspase-8 等其他成员也被证实与焦亡密切相关。

caspase-3 通常由线粒体诱导因子启动的细胞凋亡途径产生, 被认为是细胞凋亡的重要环节, 在肿瘤化疗损伤机制中最为常见。Ding 等^[33]研究证实, caspase-3 可通过 GSDME 使原本处于凋亡进程中的肿瘤细胞产生类似细胞焦亡的 PCD 过程, 他们认为 GSDME 作为 GSDMD 的同族蛋白, 具备相似的分子结构, 同时有着与 caspase-3 相同作用位点的结构, 活化的 caspase-3 切割 GSDME 使其暴露出 N 末端和 C 末端, 在细胞膜上发挥与 GSDMD 相同的作用。但是, Sarhan 等^[34]和 Chen 等^[35]研究认为, 虽然 caspase-3 能够通过 GSDME 介导类焦亡过程, 但与焦亡相比, 该过程中细胞死亡并不典型。

caspase-8 是外源性细胞凋亡的起始因子, 可

以抑制 RIKP3 和 MLKL 介导的细胞坏死。Gram 等^[36]研究证实, caspase-8 可以裂解 GSDMD 从而介导焦亡。除了其固有的酶活性外, Fritsch 等^[37]研究显示, caspase-8 还可以通过充当支架蛋白促使炎症因子产生, 激活 caspase-1, 促进细胞焦亡, 该研究还认为 caspase-8 参与的焦亡是与细胞凋亡同时发生的, 它们共同抑制细胞坏死, 减少细胞损伤。

2.3 非经典焦亡途径的炎症小体 NLRP3 是非经典焦亡途径中最主要的炎症小体, 能够广泛识别多种 PAMP、HAMP 和 DAMP, 包括致病原、微生物

毒素、核酸、ATP 和结晶体, 通常表达于细胞膜成孔、溶酶体破裂和细胞器功能障碍的细胞中^[38-39]。在结构上, NEK-7 是鼠 NLRP3 炎症小体的组成部分, 同时也是 NLRP3 激活的共有底物, 在人体中通过结合 LRR 激活 NLRP3 活性^[40]。NLRP3 的转录与修饰要求多种细胞介质参与, 如 MyD88、I-RAK、ASK1 等, 被激活的 NLRP3 炎症小体活化 caspase-8, 启动焦亡途径。最新的研究认为, 钾离子外流、活性氧类生成、内质网压力和溶酶体损伤等胞内因素同样是激活 NLRP3 的诱因^[41-44]。

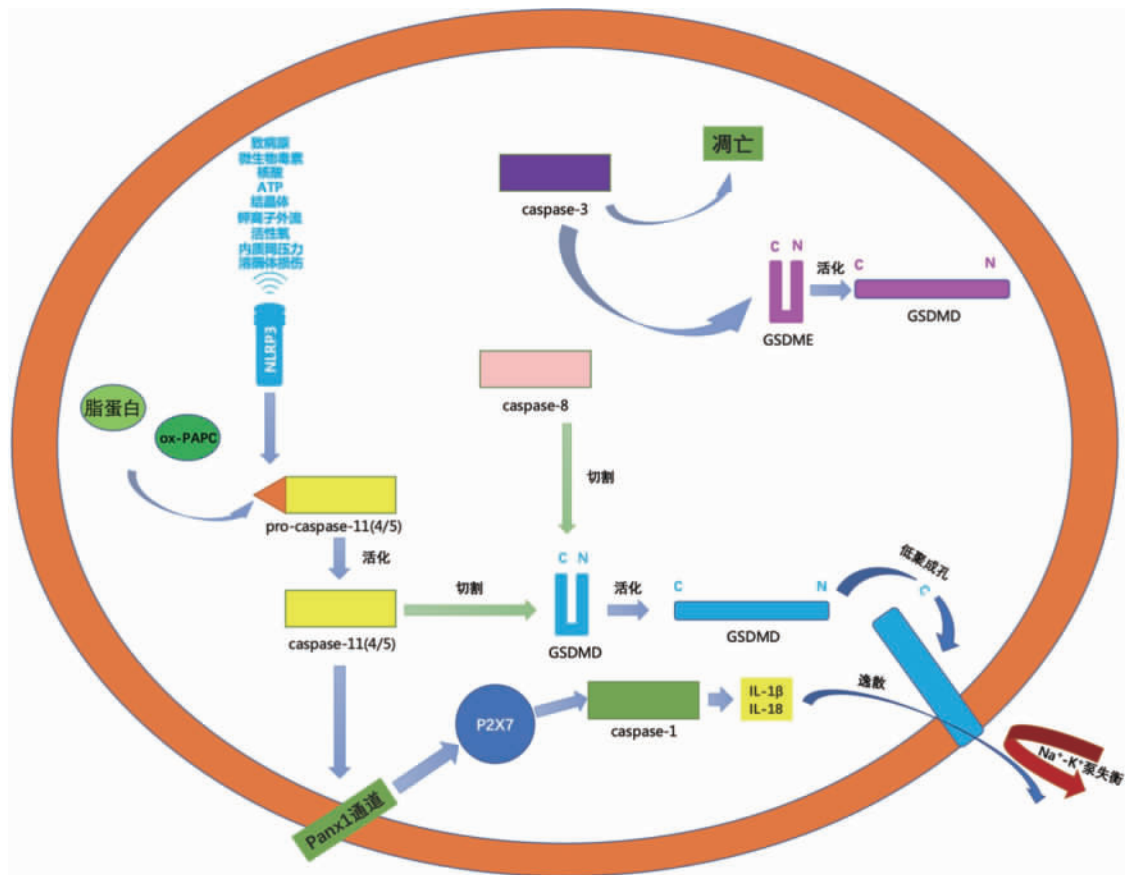


图 2 细胞焦亡的非经典途径

3 GSDMD 的结构与作用

GSDMD 是焦亡的关键分子, 同时也是 GSDM 家族的代表性蛋白, 主要在食道、胃肠道和皮肤中表达。Liu 等^[45]研究证实, 在人类细胞中, GSDMD 由 242 个氨基酸组成, 其中 43-aa 与 199-aa 羧基末端的结构域相连接, 使 GSDMD 具有结构自抑性, 无生物活性。只有经活化的 caspase 裂解后, GSDMD 才会产生具备亲脂质的 N 末端和亲细胞质的 C 末端, N 末端与真核细胞膜特有的磷

脂酰肌醇或原核细胞膜特有的羧磷酸酯结合, 形成中空的环状结构, 直径在 10~21 nm 之间, 破坏细胞膜的完整性, 进而使膜内外钠钾离子浓度失衡, 同时促进 Ca^{2+} 内流, 增加胞内渗透压导致细胞吸水, 细胞随即肿大、裂解、死亡。Evavold 等^[46]研究证实, 在孔蛋白数量较少时, 细胞自身可以代偿。Liu 等^[45]研究证实, 在细胞焦亡过程中, GSDMD 特异性结合脂质释放甘氨酸, 能够避免细胞肿胀或溶解, 减少细胞损伤; 游离的 GSDMD 的 N 末端仅对同样具备致病原或内源性损伤信号的细

胞发挥作用,不影响正常细胞。因此,焦亡是机体抗感染,减轻炎症反应,减少组织损伤的重要机制,这一点是通过 GSDMD 实现的。

GSDMD 同样是固有免疫细胞释放 IL-1 β 、IL-18 的必备因素。Shi 等^[32]研究显示,在敲除 GSDMD 的细胞中,IL-1 β 和 IL-18 前体依然能够被 caspase-1 激活,但无法被正常转运出细胞。由此可见,GSDMD 的打孔功能是 IL-1 β 、IL-18 分泌的必要条件。

自 2015 年 Shi 等^[32]通过全基因组筛选确认 GSDMD 是焦亡的关键分子以来,相关研究日渐完善,在 caspase-1 经典途径和 caspase-4/5/11 非经典途径外,研究者也发现了 caspase-3/8 等同样具备切割 GSDMD,激活打孔活性的能力,进一步完善了焦亡的细胞内途径^[35]。而随着研究的深入,Russo 等^[47]证实,人 GSDMD 的多态性影响了炎症反应,它们将目前的研究带入到基因水平。

GSDM 家族是一类结构类似于 GSDMD 的蛋白质,能够产生类似焦亡的打孔过程,主要有 gasdermin A、gasdermin B、gasdermin C、DFNA5 和 DFNB59 几种,除 DFNB59 外,GSDM 家族都具有结构自抑性,能够作为底物被 caspase 切割产生活性 N 末端和惰性 C 末端,从而获得打孔活性,但现有研究证据不支持 GSDM 家族具备 GSDMD 的功能,其具体功能尚不明确^[48]。

值得研究的是,GSDMD 除了作为细胞焦亡效应器外,其打孔活性同样可以独立存在。Chen 等^[49]、Wolf 等^[50]和 Evavold 等^[46]研究发现,在人鼠单核巨噬细胞中,炎症介质例如 IL-1 β 可以在不发生细胞焦亡的基础上被分泌至胞外。研究还发现,当 GSDMD 数量较少时,呈现打孔活性的 GSDMD 不会使细胞裂解,相反孔蛋白导致的 Ca²⁺ 内流会促使细胞被募集至内吞体分选转运复合体,修复并恢复细胞膜的结构^[51]。

4 焦亡相关疾病

4.1 细胞焦亡与感染性疾病 焦亡被证实存在于多种感染性疾病当中,Wang 等^[52]研究显示,在日本脑炎病毒感染过程中,DNA 损伤和活性氧的产生激活细胞焦亡,这可能与 AIM2 和 NLRP3 炎症小体的激活有关,与脑组织炎症损伤的加重密切相关;Tan 等^[53]研究证实,登革热病毒感染可以通过激活 caspase-1 促使人单核细胞发生焦亡,分泌

IL-1 β 等炎性物质,焦亡在发病过程中起到明显的促炎作用,并通过趋化反应放大炎症;Kuriakose 等^[54]的研究表明,流感病毒固有的 ZBP1/DAI 能够通过 NLRP3 途径诱使被感染细胞发生焦亡,加重病毒诱发的肺部炎症反应。而在 HBV 和 HCV 感染过程中,病原体通过抑制 caspase-1 阻断经典焦亡途径,从而避免肝巨噬细胞的清除作用,实现免疫耐受。因此,在不同类型的病原体感染过程中,焦亡发挥着截然不同的作用。

焦亡可以通过促使被感染细胞死亡的方式清除病原体,起到保护机体的作用。Costa 等^[55]研究证实,AIM2 能够通过诱使感染细胞焦亡,进而抵御李斯特菌、弗朗西斯菌和结核分枝杆菌感染。Carvalho 等^[56]研究还证实,包括利什曼原虫、疟原虫、克鲁斯锥形虫和弓形虫在内的寄生虫感染均能激活 NLRP3 等炎症小体,诱使感染细胞发生焦亡,起到清除致病原的作用。Aachoui 等^[57]研究发现,肺炎军团菌和泰国伯克霍尔德氏杆菌感染均能激活 caspase-11 促使细胞发生焦亡;而在霍乱弧菌和 A 型链球菌感染过程中,由于感染细胞钾离子外流激活 NLRP3,进而发生细胞焦亡^[58]。

细胞焦亡也是免疫应答失衡、炎症反应加剧和组织损伤的重要原因。caspase-3 介导的细胞焦亡被认为是 HIV 感染促使 CD4⁺ T 细胞死亡的原因,而 HIV 感染过程中的 cDNA 整合与传染又能诱使细胞发生 caspase-1 依赖的经典细胞焦亡^[28]。Wang 等^[59]研究证实,在柯萨奇病毒诱发的心肌炎中,组织蛋白酶 B 激活炎症小体促使细胞焦亡,释放 IL-1 β 等炎性介质,扩大炎症反应,从而加重病情。Deng 等^[60]的研究显示,人气道上皮细胞体外感染细小病毒后,诱导经典焦亡途径,导致细胞萎缩和屏障功能受损。Kofahi 等^[61]的研究则表明,HCV 感染通过细胞焦亡破坏肝脏细胞,抑制肝细胞增殖。

Rathkey 等^[62]的一项研究证明,药物 Necro-sulfoamide 通过抑制 GSDMD 的打孔活性,延长败血症小鼠模型的存活时间,这被认为是基于细胞焦亡的潜在靶点药物。

4.2 细胞焦亡与肿瘤 当前研究证实,在肺癌、胃癌、食管癌、结直肠癌、乳腺癌及卵巢癌等肿瘤中,焦亡能够起到抑制肿瘤细胞异常增殖,促进其死亡的作用^[63]。Zhang 等^[64]的研究显示,在小鼠和人类肿瘤细胞系中,过度表达的 GSDME 将 caspase-3

诱导的非炎性凋亡途径转变成细胞焦亡,而在与肿瘤相关的 22 个 GSDME 突变中,有 20 个导致其功能丧失。在三阴性乳腺癌和结直肠癌小鼠细胞系中敲除 GSDME 后,肿瘤细胞生长速度明显加快,证实 GSDME 是肿瘤抑制因子,细胞焦亡是发挥抑制作用的重要途径^[64];而 Wang 等^[65]的研究则发现,在癌细胞成像探针介导下,通过纳米颗粒能够有选择地活化肿瘤细胞的 GSDMA3,经过三轮治疗后,肿瘤病灶明显缩小,证明焦亡在抗肿瘤免疫反应中发挥重要作用。而在肿瘤的治疗方面,Lian 等^[66]研究证实,化疗药物如伊利替康、顺铂等能够产生外泌体促使细胞核释放 DNA,激活 AIM2 促进细胞焦亡,起到抑制细胞异常增殖的作用。而 Hu 等^[29]研究证实,缺乏 AIM2 的小鼠出现放射治疗的抗性,证明 AIM2 介导的细胞焦亡是放化疗发挥作用的重要基础。

4.3 细胞焦亡与糖尿病 焦亡是促使 1 型糖尿病和 2 型糖尿病发病的重要原因。Carlos 等^[67]研究证实,1 型糖尿病发病依赖于 mDNA 激活 NLRP3,诱导细胞发生非经典途径焦亡,释放 IL-1 β 破坏胰岛 β 细胞。2 型糖尿病中,细胞焦亡的主要炎性产物 IL-1 β 被证实能够降低胰岛素受体底物活性,抑制其基因表达,这与自身炎症反应诱发胰岛素抵抗的认识一致。Sun 等^[68]的研究表明,在胰岛素抵抗模型中,NLRP3 和 caspase-1 均被激活,而缺乏 NLRP3 和 caspase-1 的细胞则具有更高的胰岛素敏感性,可改善机体对葡萄糖的利用。Bensellam 等^[69]的研究提出,高血糖诱发的低氧状态是刺激细胞内 NLRP3 活化并促使细胞焦亡的主要原因,该过程可加重肥胖和胰岛素抵抗的发生。Iannantouni 等^[70]的发现也印证这一观点,在血糖控制不佳的情况下,NLRP3 和 caspase-1 的表达更加活跃。

细胞焦亡与糖尿病并发症密切相关。目前研究认为,ELAV 样蛋白、lncRNA KCNQ1OT1 等通过激活 NLRP3,介导经典的细胞焦亡途径。损伤心肌细胞,是导致糖尿病及心脏病心肌损害的主要原因;NLRP3、caspase-1、IL-1 β 途径同样被证实糖尿病肾病的早期发展中发挥作用,但由于包括 NF- κ B、p38 MAPK 等多种物质均参与肾纤维化的过程,其具体病理机制仍需深入研究。IL-1 β 、IL-18 等炎性介质还可以破坏局部微血管结构,使血管壁通透性增加,血管壁炎性物质沉积,这被认为

是诱发糖尿病视网膜病变、糖尿病周围血管病变的共有病理基础^[71]。

传统药物能够通过不同途径抑制细胞焦亡。Yang 等^[72]研究证实,二甲双胍可以抑制 GSDMD 活性 N 末端的表达,从而使其丧失打孔活性,减少 IL-1 β 等炎性介质的释放,改善胰岛 β 细胞分泌和胰岛素受体活性;Kawahara 等^[73]的研究则显示,格列苯脲能减少细胞外 IL-1 β 表达,增强其细胞内表达,提示格列苯脲可能通过抑制 IL-1 β 分泌改善机体炎症反应。上述研究提示,细胞焦亡是治疗糖尿病及其并发症的潜在靶点。

4.4 细胞焦亡与自身免疫性疾病 炎症小体是细胞固有的免疫信号复合物,因此包括系统性红斑狼疮、炎症性肠病、类风湿关节炎等自身免疫性疾病均被证实与细胞焦亡密切相关。当前研究认为,焦亡是促使自身免疫性疾病发病和进展的重要因素,如 Kahlenberg 等^[74]研究发现,细胞焦亡与存在中性粒细胞胞外诱捕网清除障碍的系统性红斑狼疮的复发与疾病损害密切相关。NLRP3 缺陷可以促使小鼠抵抗慢性炎症性肠病,移植野生型小鼠肠道菌群后又再度恢复其对疾病的敏感性,NLRP6 和 NLRP9b 也被证实与小鼠炎症性肠病的发病存在关联^[75]。Wang 等^[76]和 Levandowski 等^[77]研究则认为,NLRP1 诱导的细胞焦亡是类风湿关节炎发病的主要病理机制。

4.5 细胞焦亡与皮肤疾病 焦亡通过释放炎性介质,促使银屑病、牛皮癣、特应性皮炎、接触性皮炎、静脉性溃疡和糖尿病足溃疡等疾病发病。Dombrowski 等^[78]证实,与健康对照组相比,银屑病患者皮损的角质形成细胞中存在 DNA 释放,进而激活 AIM2 炎症小体,刺激细胞释放 IL-1 β ,加重局部炎症反应。Kim 等^[79]在实验性外伤模型中发现,AIM2 存在高表达,认为 AIM2 上调是皮肤屏障受损后机体抵御病原体入侵的首要手段,但在长期的屏障受损情况下,高水平的 AIM2 活化释放大量 IL-1 β 等炎性介质,诱发慢性皮肤疾病,这与 Koning 等^[80]在牛皮癣、接触性皮炎和静脉性溃疡病变细胞中观察到的 AIM2 高表达,caspase-1 活化,细胞焦亡释放炎性介质的现象基本符合。Stojadinovic 等^[81]观察 12 例经标准护理的糖尿病足溃疡患者组织后发现,与愈合良好的患者相比,愈合受阻的患者的病变细胞中 AIM2 水平更高,认为 AIM2 高表达延长了溃疡的愈合时间。

4.6 细胞焦亡与其他疾病 He 等^[82]研究证实, 痤疮丙酸杆菌通过激活 NLRP3 途径使髓核细胞发生焦亡, 诱导椎间盘退行性病变的发生。荨麻疹性血管炎亚型之一的 Schnitzler 综合征、冷吡啶相关周期性综合征、家族性地中海热及痛风等自发炎症性疾病均与 caspase-1 介导的经典细胞焦亡途径相关^[83]。He 等^[84]的研究还发现, GLI1 通过诱导细胞焦亡促使平滑肌细胞死亡, 敲除 ASC 可以抑制此过程, 从而减轻小鼠肺动脉高压。

5 结语

自 2001 年首次发现以来, 研究者已经在多种病理生理机制中发现细胞焦亡的存在。焦亡的研究完善了人类对疾病的认识, 填补了先前研究的空白。通过梳理近年来细胞焦亡的最新研究进展, 不难发现, 炎症小体作为细胞内固有的免疫信号复合物, 能够特异性识别包括致病原、自体反应和内环境变化在内的多种信号模式, 使焦亡广泛参与到多种炎症及免疫反应当中。caspase 家族作为细胞焦亡的枢纽环节, 一方面活化 GSDMD, 使其具备打孔活性, 另一方面切割 IL-1 β 、IL-18 等炎性介质的前体, 使其成熟。GSDMD 作为焦亡的特异性分子, 其打孔活性既能促使细胞裂解, 同时促进炎性介质释放, 在不同疾病中起到加重损害或保护机体 2 种截然相反的作用。但关于细胞焦亡的研究仍有许多需要明确的环节, 包括尚未发现的炎症小体和 caspase 家族成员, GSDM 家族中其他成员的具体作用, 以及焦亡与凋亡、细胞坏死等其他细胞死亡途径的相互关系及协同作用。相信随着研究的深入, 可以进一步明确细胞焦亡在各类疾病发展中的具体过程及作用, 通过选择性地抑制一个或多个环节起到治疗作用, 是未来病理研究、新药研发等领域重要的潜在靶点。

参考文献

- [1] Cookson BT, Brennan MA. Pro-inflammatory programmed cell death[J]. Trends Microbiol, 2001, 9(3): 113-114.
- [2] Ekert PG, Silke J, Vaux DL. Caspase inhibitors[J]. Cell Death Differ, 1999, 6(11): 1081-1086.
- [3] Songane M, Khair M, Saleh M. An updated view on the functions of caspases in inflammation and immunity[J]. Semin Cell Dev Biol, 2018, 82: 137-149.
- [4] Aglietti RA, Estevez A, Gupta A, et al. GsdmD p30 elicited by caspase-11 during pyroptosis forms pores in membranes[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016, 113(28): 7858-7863.
- [5] Ding JJ, Wang K, Liu W, et al. Pore-forming activity and structural autoinhibition of the gasdermin family[J]. Nature, 2016, 535(7610): 111-116.
- [6] Liu X, Zhang ZB, Ruan JB, et al. Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores[J]. Nature, 2016, 535(7610): 153-158.
- [7] Sborgi L, Rühl S, Mulvihill E, et al. GSDMD membrane pore formation constitutes the mechanism of pyroptotic cell death[J]. EMBO J, 2016, 35(16): 1766-1778.
- [8] Boyden ED, Dietrich WF. Nalp1b controls mouse macrophage susceptibility to anthrax lethal toxin[J]. Nat Genet, 2006, 38(2): 240-244.
- [9] Itani S, Watanabe T, Nadatani Y, et al. NLRP3 inflammasome has a protective effect against oxazolone-induced colitis; a possible role in ulcerative colitis[J]. Sci Rep, 2016, 6: 39075.
- [10] Masters SL, Gerlic M, Metcalf D, et al. NLRP1 inflammasome activation induces pyroptosis of hematopoietic progenitor cells[J]. Immunity, 2012, 37(6): 1009-1023.
- [11] van Opdenbosch N, Lamkanfi M. Caspases in cell death, inflammation, and disease[J]. Immunity, 2019, 50(6): 1352-1364.
- [12] Strowig T, Henao-Mejia J, Elinav E, et al. Inflammasomes in health and disease[J]. Nature, 2012, 481(7381): 278-286.
- [13] Sandstrom A, Mitchell PS, Goers L, et al. Functional degradation: a mechanism of NLRP1 inflammasome activation by diverse pathogen enzymes[J]. Science, 2019, 364(6435): eaau1330.
- [14] Ewald SE, Chavarria-Smith J, Boothroyd JC. NLRP1 is an inflammasome sensor for *Toxoplasma gondii*[J]. Infect Immun, 2014, 82(1): 460-468.
- [15] Okondo MC, Rao SD, Taabazuing CY, et al. Inhibition of Dpp8/9 activates the Nlrp1b inflammasome[J]. Cell Chem Biol, 2018, 25(3): 262-267.
- [16] Okondo MC, Johnson DC, Sridharan R, et al. DPP8 and DPP9 inhibition induces pro-caspase-1-dependent monocyte and macrophage pyroptosis[J]. Nat Chem Biol, 2017, 13(1): 46-53.
- [17] Zhong FL, Mamai O, Sborgi L, et al. Germline NLRP1 mutations cause skin inflammatory and cancer susceptibility syndromes via inflammasome activation[J]. Cell, 2016, 167(1): 187-202.
- [18] Zhao Y, Yang JL, Shi JJ, et al. The NLR4 inflammasome receptors for bacterial flagellin and type III secretion apparatus[J]. Nature, 2011, 477(7366): 596-600.
- [19] Suzuki S, Franchi L, He Y, et al. Shigella type III secretion protein Mxi I is recognized by Naip2 to induce Nlr4 inflammasome activation independently of Pkc δ [J]. PLoS Pathog, 2014, 10(2): e1003926.
- [20] Rauch I, Deets KA, Ji DX, et al. NAIP-NLRC4 inflammasomes coordinate intestinal epithelial cell expulsion with eico-

- sanoid and IL-18 release via activation of caspase-1 and -8[J]. *Immunity*, 2017, 46(4): 649-659.
- [21] Hara H, Seregin SS, Yang DH, *et al.* The NLRP6 inflammasome recognizes lipoteichoic acid and regulates gram-positive pathogen infection[J]. *Cell*, 2018, 175(6): 1651-1664.
- [22] Zhu S, Ding SY, Wang PH, *et al.* Nlrp9b inflammasome restricts rotavirus infection in intestinal epithelial cells[J]. *Nature*, 2017, 546(7660): 667-670.
- [23] Hornung V, Ablasser A, Charrel-Dennis M, *et al.* AIM2 recognizes cytosolic dsDNA and forms a caspase-1-activating inflammasome with ASC[J]. *Nature*, 2009, 458(7237): 514-518.
- [24] Jin TC, Perry A, Jiang JS, *et al.* Structures of the HIN domain: DNA complexes reveal ligand binding and activation mechanisms of the AIM2 inflammasome and IFI16 receptor[J]. *Immunity*, 2012, 36(4): 561-571.
- [25] Pierini R, Juruj C, Perret M, *et al.* AIM2/ASC triggers caspase-8-dependent apoptosis in *Francisella*-infected caspase-1-deficient macrophages[J]. *Cell Death Differ*, 2012, 19(10): 1709-1721.
- [26] Matyszewski M, Morrone SR, Sohn J. Digital signaling network drives the assembly of the AIM2-ASC inflammasome[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(9): E1963-E1972.
- [27] Man SM, Karki R, Malireddi RK, *et al.* The transcription factor IRF1 and guanylate-binding proteins target activation of the AIM2 inflammasome by *Francisella* infection[J]. *Nat Immunol*, 2015, 16(5): 467-475.
- [28] Di Micco A, Frera G, Lugrin J, *et al.* AIM2 inflammasome is activated by pharmacological disruption of nuclear envelope integrity[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(32): E4671-E4680.
- [29] Hu B, Jin CC, Li HB, *et al.* The DNA-sensing AIM2 inflammasome controls radiation-induced cell death and tissue injury[J]. *Science*, 2016, 354(6313): 765-768.
- [30] Gao WQ, Yang JL, Liu W, *et al.* Site-specific phosphorylation and microtubule dynamics control Pyrin inflammasome activation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(33): E4857-E4866.
- [31] Kuriakose T, Kanneganti TD. Pyroptosis in antiviral immunity[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2019: 1-19.
- [32] Shi JJ, Zhao Y, Wang K, *et al.* Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death[J]. *Nature*, 2015, 526(7575): 660-665.
- [33] Ding Z, Yang X, Pater A, *et al.* Resistance to apoptosis is correlated with the reduced caspase-3 activation and enhanced expression of antiapoptotic proteins in human cervical multi-drug-resistant cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 270(2): 415-420.
- [34] Sarhan J, Liu BC, Muendlein HI, *et al.* Caspase-8 induces cleavage of gasdermin D to elicit pyroptosis during *Yersinia* infection[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(46): E10888-E10897.
- [35] Chen KW, Demarco B, Heilig R, *et al.* Extrinsic and intrinsic apoptosis activate pannexin-1 to drive NLRP3 inflammasome assembly[J]. *EMBO J*, 2019, 38(10): e101638.
- [36] Gram AM, Booty LM, Bryant CE, *et al.* Chopping GSDMD: caspase-8 has joined the team of pyroptosis-mediating caspases[J]. *EMBO J*, 2019, 38(10): e102065.
- [37] Fritsch M, Günther SD, Schwarzer R, *et al.* Caspase-8 is the molecular switch for apoptosis, necroptosis and pyroptosis[J]. *Nature*, 2019, 575(7784): 683-687.
- [38] Man SM, Kanneganti TD. Regulation of inflammasome activation[J]. *Immunol Rev*, 2015, 265(1): 6-21.
- [39] Swanson KV, Deng M, Ting JP. The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics[J]. *Nat Rev Immunol*, 2019, 19(8): 477-489.
- [40] He Y, Zeng MY, Yang DH, *et al.* NEK7 is an essential mediator of NLRP3 activation downstream of potassium efflux[J]. *Nature*, 2016, 530(7590): 354-357.
- [41] Muñoz-Planillo R, Kuffa P, Martínez-Colón G, *et al.* K⁺ efflux is the common trigger of NLRP3 inflammasome activation by bacterial toxins and particulate matter[J]. *Immunity*, 2013, 38(6): 1142-1153.
- [42] Groß CJ, Mishra R, Schneider KS, *et al.* K⁺ efflux-independent NLRP3 inflammasome activation by small molecules targeting mitochondria[J]. *Immunity*, 2016, 45(4): 761-773.
- [43] Shimada K, Crother TR, Karlin J, *et al.* Oxidized mitochondrial DNA activates the NLRP3 inflammasome during apoptosis[J]. *Immunity*, 2012, 36(3): 401-414.
- [44] Bronner DN, Abuaita BH, Chen XY, *et al.* Endoplasmic reticulum stress activates the inflammasome via NLRP3- and caspase-2-driven mitochondrial damage[J]. *Immunity*, 2015, 43(3): 451-462.
- [45] Liu ZH, Wang CP, Rathkey JK, *et al.* Structures of the gasdermin D C-terminal domains reveal mechanisms of autoinhibition[J]. *Structure*, 2018, 26(5): 778-784.
- [46] Evavold CL, Ruan JB, Tan YH, *et al.* The pore-forming protein gasdermin D regulates interleukin-1 secretion from living macrophages[J]. *Immunity*, 2018, 48(1): 35-44.
- [47] Russo HM, Rathkey J, Boyd-Tressler A, *et al.* Active caspase-1 induces plasma membrane pores that precede pyroptotic lysis and are blocked by lanthanides[J]. *J Immunol*, 2016, 197(4): 1353-1367.
- [48] Gong WH, Shi Y, Ren JJ. Research progresses of molecular mechanism of pyroptosis and its related diseases[J]. *Immunobiology*, 2020, 225(2): 151884.
- [49] Chen KW, Groß CJ, Sotomayor FV, *et al.* The neutrophil NLRC4 inflammasome selectively promotes IL-1 β maturation without pyroptosis during acute *Salmonella* challenge[J]. *Cell Rep*, 2014, 8(2): 570-582.
- [50] Wolf AJ, Reyes CN, Liang WB, *et al.* Hexokinase is an innate immune receptor for the detection of bacterial pepti-

- doglycan[J]. *Cell*, 2016, 166(3): 624-636.
- [51] Rühl S, Shkarina K, Demarco B, *et al.* ESCRT-dependent membrane repair negatively regulates pyroptosis downstream of GSDMD activation[J]. *Science*, 2018, 362(6417): 956-960.
- [52] Wang ZY, Zhen ZD, Fan DY, *et al.* Transcriptomic analysis suggests the M1 polarization and launch of diverse programmed cell death pathways in Japanese encephalitis virus-infected macrophages[J]. *Viruses*, 2020, 12(3): E356.
- [53] Tan TY, Chu JJH. Dengue virus-infected human monocytes trigger late activation of caspase-1, which mediates pro-inflammatory IL-1 β secretion and pyroptosis[J]. *J Gen Virol*, 2013, 94(Pt 10): 2215-2220.
- [54] Kuriakose T, Man SM, Malireddi RK, *et al.* ZBP1/DAI is an innate sensor of influenza virus triggering the NLRP3 inflammasome and programmed cell death pathways[J]. *Sci Immunol*, 2016, 1(2): aag2045.
- [55] Costa Franco MMS, Marim FM, Alves-Silva J, *et al.* AIM2 senses *Brucella abortus* DNA in dendritic cells to induce IL-1 β secretion, pyroptosis and resistance to bacterial infection in mice[J]. *Microbes Infect*, 2019, 21(2): 85-93.
- [56] de Carvalho RVH, Zamboni DS. Inflammasome activation in response to intracellular protozoan parasites[J]. *Trends Parasitol*, 2020, 36(5): 459-472.
- [57] Aachoui Y, Leaf IA, Hagar JA, *et al.* Caspase-11 protects against bacteria that escape the vacuole[J]. *Science*, 2013, 339(6122): 975-978.
- [58] Queen J, Agarwal S, Dolores JS, *et al.* Mechanisms of inflammasome activation by *Vibrio cholerae* secreted toxins vary with strain biotype[J]. *Infect Immun*, 2015, 83(6): 2496-2506.
- [59] Wang YP, Jia LL, Shen J, *et al.* Cathepsin B aggravates coxsackievirus B3-induced myocarditis through activating the inflammasome and promoting pyroptosis[J]. *PLoS Pathog*, 2018, 14(1): e1006872.
- [60] Deng XF, Zou W, Xiong M, *et al.* Human parvovirus infection of human airway epithelia induces pyroptotic cell death by inhibiting apoptosis[J]. *J Virol*, 2017, 91(24): e01533-e01517.
- [61] Kofahi HM, Taylor NG, Hirasawa K, *et al.* Hepatitis C virus infection of cultured human hepatoma cells causes apoptosis and pyroptosis in both infected and bystander cells[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 37433.
- [62] Rathkey JK, Zhao JJ, Liu ZH, *et al.* Chemical disruption of the pyroptotic pore-forming protein gasdermin D inhibits inflammatory cell death and sepsis[J]. *Sci Immunol*, 2018, 3(26): eaat2738.
- [63] Fang Y, Tian S, Pan Y, *et al.* Pyroptosis: a new frontier in cancer[J]. *Biomed & Pharmacother*, 2020, 121: 109595.
- [64] Zhang ZB, Zhang Y, Xia SY, *et al.* Gasdermin E suppresses tumour growth by activating anti-tumour immunity[J]. *Nature*, 2020, 579(7799): 415-420.
- [65] Wang QY, Wang YP, Ding JJ, *et al.* A bioorthogonal system reveals antitumour immune function of pyroptosis[J]. *Nature*, 2020, 579(7799): 421-426.
- [66] Lian QS, Xu J, Yan SS, *et al.* Chemotherapy-induced intestinal inflammatory responses are mediated by exosome secretion of double-strand DNA via AIM2 inflammasome activation[J]. *Cell Res*, 2017, 27(6): 784-800.
- [67] Carlos D, Costa FR, Pereira CA, *et al.* Mitochondrial DNA activates the NLRP3 inflammasome and predisposes to type 1 diabetes in murine model[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 164.
- [68] Sun XY, Hao HJ, Han QW, *et al.* Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells ameliorate insulin resistance by suppressing NLRP3 inflammasome-mediated inflammation in type 2 diabetes rats[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 241.
- [69] Bensellam M, Duvillié B, Rybachuk G, *et al.* Glucose-induced O₂ consumption activates hypoxia inducible factors 1 and 2 in rat insulin-secreting pancreatic beta-cells[J]. *PLoS One*, 2012, 7(1): e29807.
- [70] Iannantuoni F, Diaz-Morales N, Escribano-Lopez I, *et al.* Does glycemic control modulate the impairment of NLRP3 inflammasome activation in type 2 diabetes ?[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2019, 30(2): 232-240.
- [71] Yu ZW, Zhang J, Li X, *et al.* A new research hot spot; the role of NLRP3 inflammasome activation, a key step in pyroptosis, in diabetes and diabetic complications[J]. *Life Sci*, 2020, 240: 117138.
- [72] Yang F, Qin Y, Wang YQ, *et al.* Metformin inhibits the NLRP3 inflammasome via AMPK/mTOR-dependent effects in diabetic cardiomyopathy[J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(5): 1010-1019.
- [73] Kawahara Y, Kaneko T, Yoshinaga Y, *et al.* Effects of sulfonyleureas on periodontopathic bacteria-induced inflammation[J]. *J Dent Res*, 2020, 99(7): 830-838.
- [74] Kahlenberg JM, Yalavarthi S, Zhao W, *et al.* An essential role of caspase 1 in the induction of murine lupus and its associated vascular damage[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2014, 66(1): 152-162.
- [75] Bauer C, Duewell P, Lehr HA, *et al.* Protective and aggravating effects of Nlrp3 inflammasome activation in IBD models; influence of genetic and environmental factors[J]. *Dig Dis*, 2012, 30(Suppl 1): 82-90.
- [76] Wang T, Zhu CL, Wang S, *et al.* Role of NLRP3 and NLRP1 inflammasomes signaling pathways in pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2014, 7(10): 827-831.
- [77] Levandowski CB, Mailloux CM, Ferrara TM, *et al.* NLRP1 haplotypes associated with vitiligo and autoimmunity increase interleukin-1 β processing via the NLRP1 inflammasome[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(8): 2952-2956.
- [78] Dombrowski Y, Peric M, Koglin S, *et al.* Cytosolic DNA triggers inflammasome activation in keratinocytes in psoriatic

- lesions[J]. *Sci Transl Med*, 2011, 3(82): 82ra38.
- [79] 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.
- [80] de Koning HD, Bergboer JG, van den Bogaard EH, *et al.* Strong induction of AIM2 expression in human epidermis in acute and chronic inflammatory skin conditions[J]. *Exp Dermatol*, 2012, 21(12): 961-964.
- [81] Stojadinovic O, Sawaya A, Kirsner R, *et al.* Prolonged inflammation correlates with induction of pyroptosis in healing impaired diabetic foot ulcers[J]. *J Invest Dermatol*, 2014, 134: S137-S137.
- [82] He DS, Zhou MJ, Bai ZB, *et al.* *Propionibacterium acnes* induces intervertebral disc degeneration by promoting nucleus pulposus cell pyroptosis via NLRP3-dependent pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 526(3): 772-779.
- [83] Xue YS, Enosi Tuipulotu D, Tan WH, *et al.* Emerging activators and regulators of inflammasomes and pyroptosis[J]. *Trends Immunol*, 2019, 40(11): 1035-1052.
- [84] He S, Ma C, Zhang L, *et al.* GLI1-mediated pulmonary artery smooth muscle cell pyroptosis contributes to hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2020, 318(3): L472-L482.

Pyroptosis regulation in inflammatory and tumor pathogenesis

YIN Kang-li¹, ZHAO Bo², ZHANG Da-wei² (1. *Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai TCM-Integrated Hospital, Shanghai 201203, China*; 2. *Department of Peripheral Vascular Disease, The Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250000, China*)

Abstract: Pyroptosis is a new research frontier and it plays key roles in inflammatory and immune response. Pyroptosis is involved in the development of a variety of diseases. This review summarizes the up-to-date research progress on the mechanisms of pyroptosis and pyroptosis-related diseases, providing a systematic and comprehensive overview of current knowledge in pyroptosis.

Key words: pyroptosis; inflammasome; diabetes mellitus; tumor