



GSDMs 家族蛋白介导细胞焦亡在 抗肿瘤免疫中的作用*

季文博^{1,2,3)**} 李雲健^{2,3)**} 蔡和平¹⁾ 陈冠儒¹⁾ 田界勇⁴⁾ 胡磊⁵⁾

戴海明^{2,3)***} 刘海鹏^{1)***}

(¹⁾ 安徽省儿童医院临床药学部, 合肥 230000; (²⁾ 安徽医科大学基础医学院, 合肥 230032;

(³⁾ 中国科学院合肥物质科学研究院健康与医学技术研究所, 医学物理与技术安徽省重点实验室, 合肥 230031;

(⁴⁾ 中国科学技术大学第一附属医院 (安徽省立医院) 胸外科, 合肥 230001; (⁵⁾ 皖南医学院基础医学院, 芜湖 241002)

摘要 细胞焦亡是一种调节性细胞死亡方式。Gasdermine (GSDMs) 是一类执行细胞焦亡的胞内蛋白质。虽然 GSDMs 表达后的完整蛋白质不具有活性, 但能被某些蛋白水解酶激活。被激活的 GSDMs N 端在质膜上穿孔, 导致细胞裂解, 引起细胞内的促炎分子及损伤相关分子模式 (danger-associated molecular patterns, DAMPs) 迅速有效地从焦亡细胞中释放, 从而引发炎症和免疫反应。焦亡细胞促进抗肿瘤免疫作用可能涉及细胞毒性 T 淋巴细胞对肿瘤细胞的杀伤。本文介绍 GSDMs 介导的细胞焦亡及细胞焦亡过程中引发促炎症和免疫反应的关键分子, 并且探讨细胞焦亡对肿瘤治疗的有利及不利因素, 以期更好地了解细胞焦亡对肿瘤免疫微环境的影响及对肿瘤免疫治疗的作用, 有助于促进恶性肿瘤治疗策略的改进。

关键词 焦亡, GSDMs 家族, 免疫原性细胞死亡, 抗肿瘤免疫

中图分类号 Q2, Q7

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0563

依据细胞形态、导致细胞死亡的生化反应和功能等方面特征, 细胞死亡可以分为多种方式: 细胞凋亡 (apoptosis)、坏死性凋亡 (necroptosis)、铁死亡 (ferroptosis)、细胞焦亡 (pyroptosis) 等^[1]。细胞焦亡是一种调节性细胞死亡 (regulated cell death, RCD)^[2], 最终导致质膜穿孔, 迅速释放白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 和高迁移率族蛋白 1 (high mobility group box-1 protein, HMGB1) 等炎性物质^[3-5]。

目前癌症免疫治疗主要包括肿瘤疫苗、细胞因子疗法、过继细胞转移疗法和免疫检查点抑制剂治疗等, 癌症免疫治疗的主要目标之一是重新激活抗原特异性 T 细胞, 以促进其抗肿瘤活性^[6]。这些治疗在一些患者中取得了成功, 但在大多数患者中缺乏有效性, 因此需要更多的方法策略来促进抗肿瘤免疫。最近的几项研究发现, 通过介导细胞焦亡对肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 和

抗肿瘤免疫产生影响, 使 TME 处于免疫刺激状态, 显著增加了肿瘤内抗原特异性 CD8⁺T 细胞和 NK 细胞 (natural killer cell) 的数量, 并促进了肿瘤浸润性淋巴细胞 (tumor infiltrating lymphocyte, TIL) 中颗粒酶 B (granzyme B, GzmB)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 和 γ 干扰素 (interferon γ , IFN- γ) 的表达, 以及肿瘤相关巨噬细胞对肿瘤细胞的吞噬^[7-8]。本文将介绍细胞焦亡和它所触发的免疫反应, 并讨论其在癌症治疗中的促免疫效应和影响。

* 安徽医科大学基金 (2020xkj079) 和国家自然科学基金 (31970701) 资助项目。

** 并列第一作者。

*** 通讯联系人。

刘海鹏 Tel: 0551-62237587, E-mail: itishaipeng@yeah.net

戴海明 Tel: 0551-62727063, E-mail: daih@cmpt.ac.cn

收稿日期: 2022-12-12, 接受日期: 2023-02-13

1 细胞焦亡是由GSDMs家族蛋白介导的

细胞焦亡最初发现于受病原体感染的依赖于胱天蛋白酶1 (Caspase-1) 的巨噬细胞死亡^[9-10]。后来的研究表明了Caspase-4和Caspase-5 (人)/Caspase-11 (鼠) 也可以诱导细胞焦亡, 并发现胞质蛋白Gasdermine D (GSDMD) 是炎性Caspase (Caspase-1、4、5和11) 引起焦亡的关键介质^[11-12]。这些炎性Caspase识别并切割GSDMD蛋白于Asp275 (人) 或Asp276 (鼠) 位残基, 将具有成孔活性的N端结构域 (GSDMD-N) 从抑制性结构域C端 (GSDMD-C) 中解离出来^[13-14]。游离的GSDMD-N可以与质膜内叶和线粒体中的磷脂结合, 在膜上寡聚化, 形成内径为10~15 nm的跨膜 β 桶状孔道。该孔道不具有选择性, 小于孔道直径的小分子物质均可自由穿过^[15-16]。焦亡的细胞会表现出特定的形态特征, 在细胞膜破裂之前会形成气泡样囊泡, 细胞体积增大, 细胞器变形, 细胞核变小^[17-19], 失去细胞膜的完整性, 细胞内的促炎分子能迅速有效地从细胞中释放出来, 从而引发炎症。有研究表明, 炎性小体激活GSDMD通过形成膜孔并从中释放大分子和细胞器促进细胞焦亡^[20]。

细胞外环境中的钙离子通过GSDMD孔内流作为细胞启动膜修复的信号。钙离子内流可以招募转运必需内体分选复合体 (endosomal sorting complex required for transport, ESCRT) 到质膜,

促进受损膜囊泡的脱落和释放, 从而介导质膜的修复^[21]。因此, GSDMD孔介导的钙离子内流同时对焦亡有负调节作用, 其作用可能与细胞死亡过程的阶段有关。综上所述, GSDMD孔不仅执行焦亡, 而且还对其进行正负调节, GSDMD被激活的细胞的命运可能至少部分取决于GSDMD孔数量和钙依赖的膜修复调节机制之间的平衡^[22]。

在发现GSDMD蛋白通过Caspase-1/4/5/11的切割来介导细胞焦亡之后, 后续的研究又发现其他GSDM家族成员也可以介导细胞膜破裂及细胞焦亡发生。邵峰等^[23]发现, 化疗药物诱导的Caspase-3激活可以切割GSDME引起细胞焦亡。该细胞焦亡也发生于抗肿瘤药物诱导的肿瘤细胞中^[24]。目前发现的GSDMs家族有6个成员 (GSDMA、GSDMB、GSDMC、GSDMD、GSDME、DFNB59)^[25]。除DFNB59外, GSDMs家族的其他成员都由类似于GSDMD的两个结构域组成。GSDMs蛋白的N端同GSDMD的GSDMD-N具有相同的质膜成孔能力^[14, 25], 因此, 与GSDMD类似, 其他GSDMs成员被蛋白酶切割活化后同样会介导细胞焦亡。不同的蛋白酶可以切割激活不同GSDMs, 除Caspase-1/3/4/5/8/9可以激活GSDMs蛋白外, 颗粒酶A (granzyme A, GzmA) 和GzmB可以分别切割并激活GSDMB和GSDME, 中性粒细胞弹性蛋白酶 (neutrophil elastase) 和组织蛋白酶G (cathepsin G) 可以切割GSDMD^[8, 23, 26-27] (图1)。

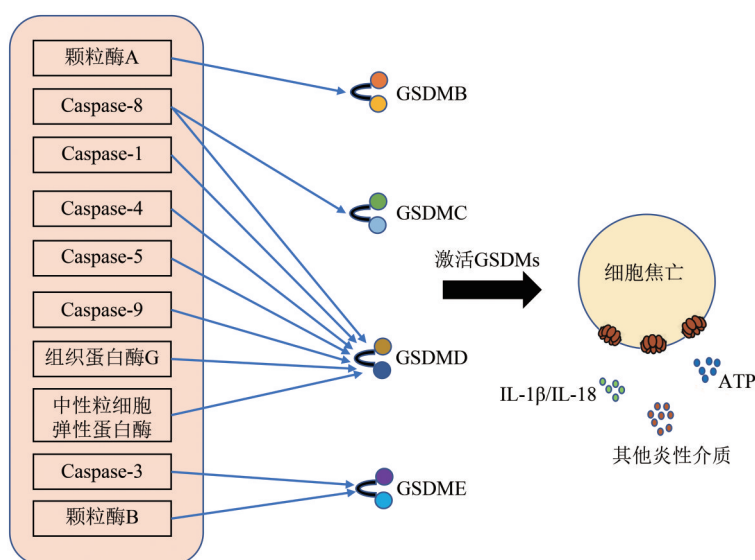


Fig. 1 GSDMs family proteins and corresponding activators

图1 GSDMs家族蛋白与相应的激活蛋白酶

颗粒酶A切割并激活GSDMB; Caspase-8切割并激活GSDMC; Caspase-1/4/5/8/9、中性粒细胞弹性蛋白酶和组织蛋白酶G切割并激活GSDMD; Caspase-3和颗粒酶B切割并激活GSDME。

2 细胞焦亡是免疫原性细胞死亡

能够诱导机体发生免疫反应的细胞死亡方式称为免疫原性死亡 (immunogenic cell death, ICD)^[1]。ICD是一种受调节的细胞死亡形式,可以在具有免疫活性的宿主中激活适应性免疫反应。某些化疗药物、放疗、光动力疗法和一些新型ICD诱导剂等可以诱发肿瘤细胞的ICD^[28-29]。炎症、佐剂性和抗原性是ICD的三个关键因素^[30]。ICD导致的特定的损伤相关分子模式 (danger-associated molecular patterns, DAMPs) 的释放以及暴露是产生佐剂性的主要机制,而抗原性主要是细胞死亡过程中抗原 (对于肿瘤则是肿瘤相关抗原) 的暴露^[31]。被ICD诱导剂杀死的癌细胞可以在没有任何外来佐剂的情况下诱导针对癌细胞的抗原特异性免疫并抑制肿瘤生长。肿瘤相关抗原可能包括低亲和力和T细胞抗原受体 (TCR) 识别的抗原,也可能来自具有癌细胞特异性翻译后修饰的蛋白质、病毒蛋白和非常规翻译产生的多肽。具有点突变和移码突变的蛋白质能提供新的抗原,赋予癌细胞特有的抗原性^[22]。

肿瘤细胞发生ICD时释放的DAMPs,可以促进抗原递呈细胞的成熟、抗原处理和抗原呈递^[23, 28]。与ICD研究相关的DAMPs有钙网蛋白 (calreticulin, CRT)^[32]、ATP、HMGB1、膜联蛋白1 (Annexin-1) 和I型IFN等^[33]。CRT是一种内质网驻留蛋白,在ICD前期,CRT从内质网管腔转移到质膜外表面,细胞表面暴露的CRT作为一种“eat me”信号,促进巨噬细胞和树突状细胞 (dendritic cell, DC) 的吞噬作用^[34]。CRT还通过与抗原递呈细胞上的CD91结合,触发信号级联激活核因子- κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B),诱导促炎细胞因子的产生和Th17细胞的启动^[35]。ATP是一种“find me (找到我)”信号,招募单核细胞、巨噬细胞和DC。胞外的ATP与P2X和P2Y嘌呤受体结合,发挥免疫刺激作用^[36]。HMGB1是一个约25 ku的核蛋白,在受炎症刺激和细胞死亡时从细胞中释放出来。细胞外HMGB1可以与包括Toll样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 等10多种不同的受体相结合,激活DC并促进DC向T细胞递呈抗原^[37]。Annexin-1被认为可以增强正在死亡的癌细胞和表达甲酰胺受体1的肿瘤浸润性DC之间的相互作用^[38]。

相对于坏死类的细胞死亡,细胞凋亡通常被认为是一种炎症较少、免疫原性较低的细胞死亡过程^[7]。凋亡细胞的低免疫原性可能与其释放很少的DAMPs和激活与凋亡相关的Caspase有关,尤其是Caspase-3和Caspase-7。在细胞凋亡过程中,Caspase-3/7对翻转酶和拼接酶的切割导致磷脂酰丝氨酸 (phosphatidylserine, PS) 的外化,PS作为一个信号,在不引起炎症的情况下介导吞噬细胞清除凋亡细胞^[35]。Caspase-3还降解凋亡细胞中的环状GMP-AMP合成酶 (cGAS) 及其下游信号分子,从而抑制由于线粒体外膜通透性而释放的线粒体DNA诱导的I型IFN的产生^[36]。此外,Caspase-3蛋白激活胞浆内钙非依赖性磷脂酶A2,从而导致花生四烯酸的免疫抑制脂质产物PGE₂的产生^[37]。研究还表明,凋亡细胞释放的是AMP,而不是ATP。细胞外的AMP被代谢成腺苷,然后腺苷通过A2a腺苷受体刺激巨噬细胞,诱导抗炎基因的表达^[38]。

与细胞凋亡不同 (表1),细胞焦亡被认为是一种新型的ICD,并逐渐成为提高癌症免疫治疗效果的一个新策略。多项研究表明,细胞焦亡具有促进抗肿瘤免疫作用。即便是只有很少量的肿瘤细胞焦亡,GSDMA介导的细胞焦亡也可以促进抗肿瘤免疫的发生^[7]。除了GSDME介导的细胞焦亡,杀伤性T淋巴细胞 (CTLs) 通过颗粒酶B诱导靶细胞发生焦亡;颗粒酶B介导的GSDMB激活所介导的细胞焦亡同时促进抗肿瘤免疫的发生^[28]。在另一项研究中,Deets等^[39-40]发现,焦亡的细胞肿胀和质膜破裂,导致促炎细胞因子IL-1 β 、IL-18和细胞内容物释放到细胞外间隙,促进DC成熟,激活炎症反应。Zhang等^[8]研究发现,细胞焦亡促进抗肿瘤免疫依赖于保护的杀伤性淋巴细胞,如NK细胞。这些研究都表明,细胞焦亡释放炎症介质,刺激DC成熟并激活CD8⁺T细胞,从而导致强烈的免疫反应,说明细胞焦亡是一种ICD。

作为一种高免疫原性的细胞死亡形式,焦亡引起局部炎症并吸引炎症细胞浸润,为缓解TME的免疫抑制和诱导全身免疫反应治疗实体瘤提供了极好的机会^[41]。在最近的一项研究中,乳腺癌细胞在接受化疗药物多柔比星处理后,癌细胞会出现GSDME依赖性的焦亡^[42]。化疗药物同时诱导GSDME的表达和Caspase-3、Caspase-8的切割,导致细胞焦亡,并迅速释放ATP和

HMGB1^[4-5, 16, 42]。还有研究发现,专业吞噬细胞和非专业吞噬细胞都可以有效地吞噬焦亡的细胞。PS在细胞焦亡时是外化的,但它是否参与了焦亡细胞的吞噬尚不完全清楚^[5, 43-44]。

Table 1 Comparison between characteristics of apoptosis and pyroptosis
表1 细胞凋亡与焦亡的常见特征比较

	凋亡	焦亡
常见诱因	生理条件下的基因调控	病理性刺激、药物诱导或放疗等
细胞形态	缩小	起泡、膨大
细胞膜	膜结构完整	细胞膜破裂
细胞器	完整	变形,焦亡后期会被释放
参与Caspase	Caspase-3/7/8/9	Caspase-1/3/4/5/8/9
炎性物质释放	不释放或少量释放ATP 不释放HMGB1、IL-1 β	大量释放ATP、HMGB1、IL-1 β
性质	非免疫原性或低免疫原性	具有免疫原性

3 细胞焦亡通过GSDMs孔道释放促炎分子及DAMP

炎症和佐剂性是ICD的重要因素。细胞焦亡是促炎性及免疫原性细胞死亡,是因为焦亡细胞释放大量促炎分子和细胞器,如核苷酸、IL-1家族细胞因子、HMGB1、核酸、线粒体等^[16],这些分子有些具有促炎性作用,有些则是诱导ICD发生的重要DAMP。质膜中GSDMs孔的形成首先导致离子梯度的消失和可通过孔的小胞质分子的释放。此后,由于渗透压变化和水流入导致细胞裂解,并释放更多的胞内物质。因此,不同大小的DAMPs从焦亡细胞中释放出来的时间不同。

ATP分子非常小,可以通过GSDMs形成的小孔释放^[4, 16]。在细胞凋亡早期,ATP也会通过膜联蛋白1(pannexin-1, PANX1)释放^[45]。然而,Caspase-1激活导致的焦亡细胞似乎比凋亡细胞更有效地释放ATP^[4, 38]。在有GSDMs成孔的焦亡细胞中,核苷酸的快速外流可能导致细胞ATP/dATP的耗尽,从而抑制线粒体的凋亡途径。细胞外的ATP被P2X和P2Y嘌呤能受体感知,并发挥免疫刺激作用^[46]。ATP作为一个“find me”的信号,招募单核细胞、巨噬细胞和DC^[4, 45]。ATP还激活NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)炎症小体,并以依赖于嘌呤能受体(P2X7)的方式诱导IL-1 β 的产生^[47]。

IL-1 β 缺乏分泌信号,可以通过非常规机制从细胞中释放出来。在细胞焦亡时,成熟的IL-1 β 可以穿过GSDMs孔被释放出来,而不需要细胞膜破裂^[48]。也有一些情况下,成熟的IL-1 β 通过

GSDMD孔从活细胞中释放出来,称为吞噬细胞的过度激活^[49-51]。例如,在肽聚糖诱导的非典型NLRP3炎症小体激活之后,IL-1 β 通过GSDMD形成的小孔释放,但细胞不发生死亡^[51-52]。过度激活导致吞噬细胞数天的IL-1 β 的持续释放,这可能会增强适应性免疫反应^[49]。最近的一项研究表明,DC能刺激长久保护性T细胞反应,过度激活的DC能增强这种刺激,而DC的过度激活依赖于炎性体依赖性细胞因子IL-1 β 的释放,从而诱导了更为持久的抗肿瘤免疫反应,对抗对程序性细胞死亡蛋白1(programmed cell death protein 1, PD-1)抑制敏感或抵抗的肿瘤^[53]。在支原体脂蛋白/脂多肽刺激的巨噬细胞中,也观察到IL-1 β 的释放而没有细胞死亡^[54]。

HMGB1在炎症刺激和细胞死亡时从细胞中释放出来。在体外炎性小体激活后,HMGB1以GSDMs依赖的方式释放,并且需要细胞裂解后才能从焦亡的细胞中释放出来^[55]。释放后HMGB1已被发现与10多种不同的受体结合,包括Toll样受体和晚期糖基化终末产物受体(the receptor of advanced glycation endproducts, RAGE),以发挥趋化和细胞因子样活性^[56-57]。HMGB1的翻译后修饰决定了它的亚细胞定位和促炎活性,HMGB1在第23、45和106位有3个半胱氨酸残基,它们的氧化还原状态对它们的免疫活性至关重要^[58-60]。诱导细胞焦亡可引起完全还原的HMGB1释放,完全还原的HMGB1具有很强的趋化活性^[5]。另一项研究表明,完全氧化的HMGB1在凋亡细胞诱导的免疫耐受中起着核心作用^[37]。因此,焦亡细胞比凋亡细胞更有效地释放免疫刺激形式的HMGB1。

由此可见, 通过治疗或其他方法诱导与肿瘤相关的急性炎症能通过促进成熟的树突状细胞和巨噬细胞的抗原提呈、免疫细胞TME中的募集、效应性和记忆性淋巴细胞的扩增和发育来增强宿主的抗肿瘤免疫。除了上述的ATP、IL-1家族细胞因子、HMGB1, 细胞焦亡诱导的其他内容物或炎性因子、炎症小体的释放也具有促进免疫的作用^[20, 61-62]。

4 细胞焦亡促进抗肿瘤免疫及免疫检查点抑制剂疗效

最近的几项研究进一步阐明了细胞焦亡对肿瘤微环境和抗肿瘤免疫的影响。颗粒酶A激活GSDMB, 颗粒酶B和Caspase-3激活GSDME介导细胞焦亡, 焦亡可能会增强细胞毒性淋巴细胞对癌细胞的杀伤力^[8, 28]。研究发现, GSDME在黑色素瘤和乳腺癌细胞中的过表达显著抑制了免疫活性小鼠肿瘤的生长, 而GSDME的缺失则不会有抑制作用^[8]。GSDME的抑瘤作用依赖于小鼠CD8⁺T细胞、NK细胞和穿孔素(PFN), 进一步说明了焦亡在淋巴细胞杀伤肿瘤细胞中的重要性。值得注意的是, 肿瘤细胞焦亡可激活TME, 使其处于免疫刺激状态。在肿瘤细胞中过表达GSDME显著增加了

肿瘤浸润NK细胞和抗原特异性CD8⁺T细胞的数量, 促进肿瘤浸润性淋巴细胞中颗粒酶B、PFN、IFN- γ 和TNF- α 的表达, 以及肿瘤相关巨噬细胞对肿瘤细胞的吞噬。此外, 刘志博和邵峰团队^[7]通过肿瘤原位可控激活细胞焦亡技术, 在部分肿瘤细胞中诱导焦亡导致T细胞依赖性肿瘤消退, 同时伴随着T细胞、NK细胞、M1巨噬细胞群的增加以及调节性T细胞、M2巨噬细胞、中性粒细胞和髓系衍生抑制细胞群的减少, 提示焦亡与细胞毒性淋巴细胞可相互促进, 通过正反馈环路促进抗肿瘤免疫作用。IL-1 β 可能在焦亡诱导的微环境激活中也发挥关键作用, 但这可能取决于具体情况^[7-8]。癌细胞通常表达免疫检查点分子, 这会抑制肿瘤中T细胞的功能, 程序性细胞死亡配体1(programmed cell death ligand 1, PD-L1)与T细胞上的PD-1相互作用, 抑制靶标识别。阻断PD-1-PD-L1途径与诱导肿瘤细胞焦亡的联合使用强烈地抑制了肿瘤的生长^[7]。此外, NK细胞和细胞毒性T淋巴细胞通过焦亡杀死表达GSDMB的细胞。杀伤是由细胞毒性淋巴细胞释放颗粒酶A选择性切割靶细胞GSDMB, 释放了其N端成孔活性片段而诱导细胞发生焦亡(图2)。在一些肿瘤中, I型IFN、IFN- γ 和

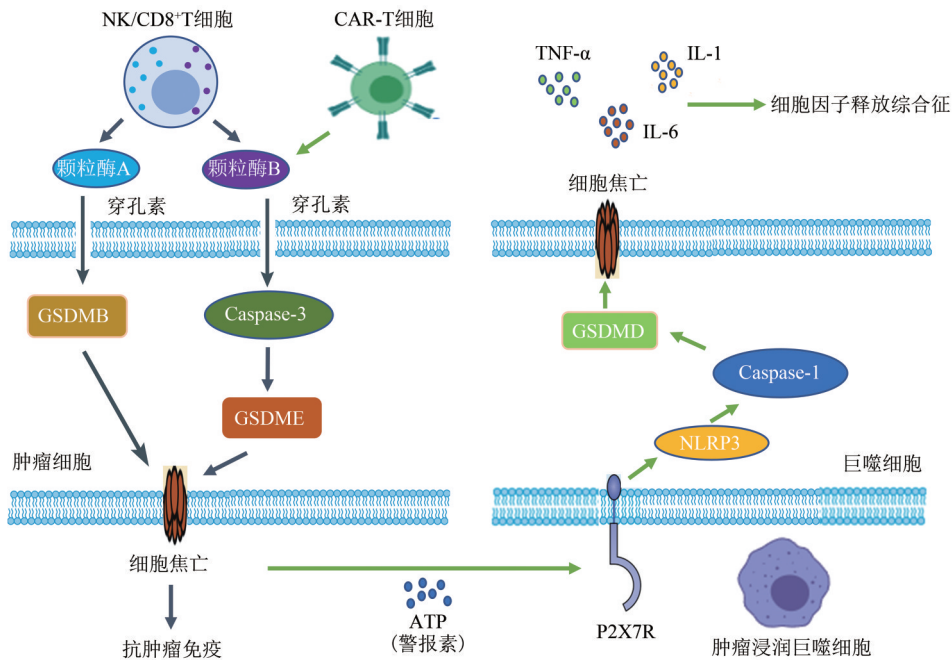


Fig. 2 Molecular mechanism of antitumor immunity and CRS induced by pyroptosis
图2 细胞焦亡诱导的抗肿瘤免疫和细胞因子释放综合征分子机制

在穿孔素(PFN)的帮助下, GzmA/B从细胞毒性淋巴细胞进入到靶癌细胞的细胞质中。这些Gzms直接或通过诱导Caspase-3激活GSDMB/E, 导致肿瘤细胞焦亡。焦亡的肿瘤细胞激活肿瘤微环境, 使其向免疫刺激状态发展, 在抗肿瘤免疫中形成正反馈循环。嵌合抗原受体T细胞(CAR-T)治疗诱导肿瘤细胞大量焦亡可能会引起细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS), 这取决于宿主巨噬细胞中ATP的大量释放和随之而来的NLRP3炎性小体的激活。

TNF- α 可以上调 GSDMB 的表达, 促进细胞焦亡。诱导表达 GSDMB 的结肠癌和黑色素瘤细胞焦亡, 不影响免疫活性小鼠的肿瘤生长, 然而, 它显著增强了联合使用抗 PD-1 抗体的抗肿瘤效果^[28]。因此, 焦亡可以作为 ICD 的一种形式, 与免疫检查点抑制剂协同作用, 诱导抗肿瘤免疫作用。

5 细胞焦亡对肿瘤治疗的不利因素

肿瘤细胞焦亡诱导的炎症作用并不总是对肿瘤治疗有利。最近的一项研究表明, GSDME 介导的癌细胞焦亡可导致细胞因子释放综合征 (cytokine release syndrome, CRS), 这是在 CAR-T 细胞治疗常见的并发症^[63]。在小鼠 CAR-T 治疗模型中, CD19 识别 CAR-T 细胞引起的大量 B 白血病细胞恶性焦亡导致 ATP 的显著释放, ATP 作为一种警报素, 被宿主巨噬细胞的 P2X₇ 受体识别, 激活巨噬细胞中 NLRP3 炎性小体, 从而触发 CRS (图 2)。抑制 ATP-P₂X₇ 通路和 Caspase-1 活性可改善 CAR-T 诱导的 CRS。CAR-T 治疗也会引起神经毒性, 这种毒性可能很严重, 血脑屏障会被破坏, 对阻断 IL-6 没有反应, 人们对其机制知之甚少。但由于神经元高表达 GSDME, 小胶质细胞高表达 GSDMD, 因此 CAR-T 治疗引起的神经毒性可能与此有关^[64]。

同时, 细胞焦亡也增加了各种肿瘤治疗的毒副作用。GSDMs 在胃肠道和造血细胞中高表达, 因此胃肠道和造血系统是化疗毒副作用发生的重要部位。*Gsdme*^{-/-} 小鼠对化疗药物如顺铂、5-FU 和博来霉素的耐受性, 比 *Gsdme*^{+/+} WT 小鼠好得多; 毒副作用明显减少, 包括体重减轻、胃肠道毒性、造血毒性和肺部毒性显著降低, 脾淋巴细胞耗竭减轻^[23]。GSDME 在心肌中也高度表达, 可能会加剧蒽环类药物的心脏毒性。CD34⁺ 造血干细胞也表达 Caspase-1 和 GSDMD。虽然 Val-boroPro 能诱导急性髓系白血病细胞发生焦亡, 但它也能激活正常 B 细胞和 CD34⁺ 造血干细胞中的焦亡^[65]。如果 GSDMs 的激活仅限于肿瘤, 那么触发 GSDMs 激活的抗肿瘤作用将是最有效的。一种诱导肿瘤细胞焦亡而不会对正常组织细胞杀伤的策略是将活性 GSDMs 蛋白输送到细胞内。为了达到这个目的, 邵峰院士课题组^[7] 建立了一种生物正交化学体系, 其中活性 GSDMA3 蛋白通过硅基醚连接物连接到金纳米颗粒上, 该连接物可被癌症成像探针苯丙氨酸三氟硼酸盐 (Phe-BF₃) 催化的脱硅反应所切

割。纳米粒和 Phe-BF₃ 都选择性地 在肿瘤中积聚, 使活性 GSDMA3 能够在肿瘤细胞中得到控制释放。此外, 病毒载体也可用于在肿瘤细胞中选择性地诱导焦亡。

6 总结和展望

细胞焦亡是由 GSDMs 家族介导的一种促炎性细胞死亡方式。最近对细胞焦亡的研究大大提高了人们对其引发炎症和免疫反应发生的机制和作用的认识。GSDMs 被 Caspases 和颗粒酶激活, 可能使肿瘤微环境由“冷”变“热”, 增强抗肿瘤免疫, 特别是与免疫治疗相结合, 在肿瘤治疗领域具有广阔的应用前景。尤其是通过药物或者其他物理治疗方法诱导肿瘤细胞发生焦亡, 可能有效促进免疫检查点抑制剂疗效, 部分解决目前免疫检查点抑制剂受益患者比例较低的问题。不同肿瘤中表达有不同的 GSDMs, 这可能会导致个性化的诱导细胞焦亡方式从而促进抗肿瘤免疫, 或者涉及针对特异肿瘤中 GSDMs 表达的组合疗法。同时, 通过特异性地在肿瘤组织中诱导 GSDMs 表达或者将 GSDMs 靶向导入至特定肿瘤细胞中, 因为即便少量肿瘤细胞发生焦亡也会促进抗肿瘤免疫, 将会避免由于肿瘤靶向过程的效率低而导致的抗肿瘤疗效偏低。

但是, 也应注意到肿瘤细胞焦亡过程中产生的副作用问题。在肿瘤浸润性巨噬细胞和正常黏膜细胞或血细胞中, 它可以加重 CAR-T 细胞治疗导致的化疗毒性或细胞因子释放综合征。因此, 在相应的治疗过程中需要有效监测细胞焦亡导致的副作用, 将毒副作用降低。另外, 在特定肿瘤治疗中通过特异性 GSDMs 抑制剂去抑制细胞焦亡发生也是一种可能的手段。

参 考 文 献

- [1] Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, *et al.* Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ*, 2018, **25**(3): 486-541
- [2] Jorgensen I, Miao E A. Pyroptotic cell death defends against intracellular pathogens. *Immunol Rev*, 2015, **265**(1): 130-142
- [3] Tsuchiya K, Nakajima S, Hosojima S, *et al.* Caspase-1 initiates apoptosis in the absence of gasdermin D. *Nat Commun*, 2019, **10**(1): 2091
- [4] Wang Q, Imamura R, Motani K, *et al.* Pyroptotic cells externalize eat-me and release find-me signals and are efficiently engulfed by macrophages. *Int Immunol*, 2013, **25**(6): 363-372
- [5] Nyström S, Antoine D J, Lundbäck P, *et al.* TLR activation regulates damage-associated molecular pattern isoforms released

- during pyroptosis. *EMBO J*, 2013, **32**(1): 86-99
- [6] Zhang Y, Zhang Z. The history and advances in cancer immunotherapy: understanding the characteristics of tumor-infiltrating immune cells and their therapeutic implications. *Cell Mol Immunol*, 2020, **17**(8): 807-821
- [7] Wang Q, Wang Y, Ding J, *et al*. A bioorthogonal system reveals antitumour immune function of pyroptosis. *Nature*, 2020, **579**(7799): 421-426
- [8] Zhang Z, Zhang Y, Xia S, *et al*. Gasdermin E suppresses tumour growth by activating anti-tumour immunity. *Nature*, 2020, **579**(7799): 415-420
- [9] Hilbi H, Chen Y, Thirumalai K, *et al*. The interleukin 1 β -converting enzyme, caspase 1, is activated during *Shigella flexneri*-induced apoptosis in human monocyte-derived macrophages. *Infect Immun*, 1997, **65**(12): 5165-5170
- [10] Mathan M M, Mathan V. Morphology of rectal mucosa of patients with shigellosis. *Rev Infect Dis*, 1991, **13**(Supplement_4): S314-S318
- [11] Kayagaki N, Wong M T, Stowe I B, *et al*. Noncanonical inflammasome activation by intracellular LPS independent of TLR4. *Science*, 2013, **341**(6151): 1246-1249
- [12] Kayagaki N, Warming S, Lamkanfi M, *et al*. Non-canonical inflammasome activation targets caspase-11. *Nature*, 2011, **479**(7371): 117-121
- [13] Van Opdenbosch N, Lamkanfi M. Caspases in cell death, inflammation, and disease. *Immunity*, 2019, **50**(6): 1352-1364
- [14] Shi J, Zhao Y, Wang Y, *et al*. Inflammatory caspases are innate immune receptors for intracellular LPS. *Nature*, 2014, **514**(7521): 187-192
- [15] Fink S L, Cookson B T. Caspase-1-dependent pore formation during pyroptosis leads to osmotic lysis of infected host macrophages. *Cell Microbiol*, 2006, **8**(11): 1812-1825
- [16] Tsuchiya K. Inflammasome-associated cell death: pyroptosis, apoptosis, and physiological implications. *Microbiol Immunol*, 2020, **64**(4): 252-269
- [17] Kayagaki N, Stowe I B, Lee B L, *et al*. Caspase-11 cleaves gasdermin D for non-canonical inflammasome signalling. *Nature*, 2015, **526**(7575): 666-671
- [18] Shi J, Zhao Y, Wang K, *et al*. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature*, 2015, **526**(7575): 660-665
- [19] Ding J, Wang K, Liu W, *et al*. Pore-forming activity and structural autoinhibition of the gasdermin family. *Nature*, 2016, **535**(7610): 111-116
- [20] Liu X, Zhang Z, Ruan J, *et al*. Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores. *Nature*, 2016, **535**(7610): 153-158
- [21] Ruan J, Xia S, Liu X, *et al*. Cryo-EM structure of the gasdermin A3 membrane pore. *Nature*, 2018, **557**(7703): 62-67
- [22] Liu Z, Wang C, Yang J, *et al*. Crystal structures of the full-length murine and human gasdermin D reveal mechanisms of autoinhibition, lipid binding, and oligomerization. *Immunity*, 2019, **51**(1): 43-49
- [23] Wang Y, Gao W, Shi X, *et al*. Chemotherapy drugs induce pyroptosis through caspase-3 cleavage of a gasdermin. *Nature*, 2017, **547**(7661): 99-103
- [24] Hu L, Chen M, Chen X, *et al*. Chemotherapy-induced pyroptosis is mediated by BAK/BAX-caspase-3-GSDME pathway and inhibited by 2-bromopalmitate. *Cell Death Dis*, 2020, **11**(4): 281
- [25] Davis M A, Fairgrieve M R, Den Hartigh A, *et al*. Calpain drives pyroptotic vimentin cleavage, intermediate filament loss, and cell rupture that mediates immunostimulation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, **116**(11): 5061-5070
- [26] Rühl S, Shkarina K, Demarco B, *et al*. ESCRT-dependent membrane repair negatively regulates pyroptosis downstream of GSDMD activation. *Science*, 2018, **362**(6417): 956-960
- [27] Broz P, Pelegrin P, Shao F. The gasdermins, a protein family executing cell death and inflammation. *Nat Rev Immunol*, 2020, **20**(3): 143-157
- [28] Zhou Z, He H, Wang K, *et al*. Granzyme A from cytotoxic lymphocytes cleaves GSDMB to trigger pyroptosis in target cells. *Science*, 2020, **368**(6494): eaaz7548
- [29] Kroemer G, Galluzzi L, Kepp O, *et al*. Immunogenic cell death in cancer therapy. *Annu Rev Immunol*, 2013, **31**: 51-72
- [30] Tang R, Xu J, Zhang B, *et al*. Ferroptosis, necroptosis, and pyroptosis in anticancer immunity. *J Hematol Oncol*, 2020, **13**(1): 1-18
- [31] Aaes T L, Vandenabeele P. The intrinsic immunogenic properties of cancer cell lines, immunogenic cell death, and how these influence host antitumor immune responses. *Cell Death Differ*, 2021, **28**(3): 843-860
- [32] Obeid M, Tesniere A, Ghiringhelli F, *et al*. Calreticulin exposure dictates the immunogenicity of cancer cell death. *Nat Med*, 2007, **13**(1): 54-61
- [33] Pawaria S, Binder R J. CD91-dependent programming of T-helper cell responses following heat shock protein immunization. *Nat Commun*, 2011, **2**(1): 521
- [34] Vacchelli E, Ma Y, Baracco E E, *et al*. Chemotherapy-induced antitumor immunity requires formyl peptide receptor 1. *Science*, 2015, **350**(6263): 972-978
- [35] Nagata S, Tanaka M. Programmed cell death and the immune system. *Nat Rev Immunol*, 2017, **17**(5): 333-340
- [36] Ning X, Wang Y, Jing M, *et al*. Apoptotic caspases suppress type I interferon production via the cleavage of cGAS, MAVS, and IRF3. *Mol Cell*, 2019, **74**(1): 19-31
- [37] Kazama H, Ricci J E, Herndon J M, *et al*. Induction of immunological tolerance by apoptotic cells requires caspase-dependent oxidation of high-mobility group box-1 protein. *Immunity*, 2008, **29**(1): 21-32
- [38] Yamaguchi H, Maruyama T, Urade Y, *et al*. Immunosuppression via adenosine receptor activation by adenosine monophosphate released from apoptotic cells. *Elife*, 2014, **3**: e02172
- [39] Deets K A, Vance R E. Inflammasomes and adaptive immune responses. *Nat Immunol*, 2021, **22**(4): 412-422

- [40] Tan Y, Chen Q, Li X, *et al.* Pyroptosis: a new paradigm of cell death for fighting against cancer. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, **40**(1): 153
- [41] Zhao P, Wang M, Chen M, *et al.* Programming cell pyroptosis with biomimetic nanoparticles for solid tumor immunotherapy. *Biomaterials*, 2020, **254**: 120142
- [42] Zhang Z, Zhang H, Li D, *et al.* Caspase-3-mediated GSDME induced Pyroptosis in breast cancer cells through the ROS/JNK signalling pathway. *J Cell Mol Med*, 2021, **25**(17): 8159-8168
- [43] Lu J, Shi W, Liang B, *et al.* Efficient engulfment of necroptotic and pyroptotic cells by nonprofessional and professional phagocytes. *Cell Discov*, 2019, **5**(1): 39
- [44] Jorgensen I, Zhang Y, Krantz B A, *et al.* Pyroptosis triggers pore-induced intracellular traps (PITs) that capture bacteria and lead to their clearance by efferocytosis. *J Exp Med*, 2016, **213**(10): 2113-2128
- [45] Elliott M R, Chekeni F B, Trampont P C, *et al.* Nucleotides released by apoptotic cells act as a find-me signal to promote phagocytic clearance. *Nature*, 2009, **461**(7261): 282-286
- [46] Vultaggio-Poma V, Sarti A C, Di Virgilio F. Extracellular ATP: a feasible target for cancer therapy. *Cells*, 2020, **9**(11): 2496
- [47] Ghiringhelli F, Apetoh L, Tesniere A, *et al.* Activation of the NLRP3 inflammasome in dendritic cells induces IL-1 β -dependent adaptive immunity against tumors. *Nat Med*, 2009, **15**(10): 1170-1178
- [48] Heilig R, Dick M S, Sborgi L, *et al.* The Gasdermin-D pore acts as a conduit for IL-1 β secretion in mice. *Eur J Immunol*, 2018, **48**(4): 584-592
- [49] Zanoni I, Tan Y, Di Gioia M, *et al.* By capturing inflammatory lipids released from dying cells, the receptor CD14 induces inflammasome-dependent phagocyte hyperactivation. *Immunity*, 2017, **47**(4): 697-709
- [50] Zanoni I, Tan Y, Di Gioia M, *et al.* An endogenous caspase-11 ligand elicits interleukin-1 release from living dendritic cells. *Science*, 2016, **352**(6290): 1232-1236
- [51] Evavold C L, Ruan J, Tan Y, *et al.* The pore-forming protein gasdermin D regulates interleukin-1 secretion from living macrophages. *Immunity*, 2018, **48**(1): 35-44
- [52] Wolf A J, Reyes C N, Liang W, *et al.* Hexokinase is an innate immune receptor for the detection of bacterial peptidoglycan. *Cell*, 2016, **166**(3): 624-636
- [53] Zhivaki D, Borriello F, Chow O A, *et al.* Inflammasomes within hyperactive murine dendritic cells stimulate long-lived T cell-mediated anti-tumor immunity. *Cell Rep*, 2020, **33**(7): 108381
- [54] Saeki A, Tsuchiya K, Suda T, *et al.* Gasdermin D-independent release of interleukin-1 β by living macrophages in response to mycoplasma lipoproteins and lipopeptides. *Immunology*, 2020, **161**(2): 114-122
- [55] Volchuk A, Ye A, Chi L, *et al.* Indirect regulation of HMGB1 release by gasdermin D. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 4561
- [56] Magna M, Pisetsky D S. The role of HMGB1 in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases. *Mol Med*, 2014, **20**: 138-146
- [57] Yang H, Wang H, Chavan S S, *et al.* High mobility group box protein 1 (HMGB1): the prototypical endogenous danger molecule. *Mol Med*, 2015, **21**(1): S6-S12
- [58] Yang H, Hreggvidsdottir H S, Palmblad K, *et al.* A critical cysteine is required for HMGB1 binding to Toll-like receptor 4 and activation of macrophage cytokine release. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(26): 11942-11947
- [59] Venereau E, Casalgrandi M, Schiraldi M, *et al.* Mutually exclusive redox forms of HMGB1 promote cell recruitment or proinflammatory cytokine release. *J Exp Med*, 2012, **209**(9): 1519-1528
- [60] Yang H, Lundbäck P, Ottosson L, *et al.* Redox modifications of cysteine residues regulate the cytokine activity of HMGB1. *Mol Med*, 2021, **27**(1): 58
- [61] Lamkanfi M, Dixit V M. Mechanisms and functions of inflammasomes. *Cell*, 2014, **157**(5): 1013-1022
- [62] Walle L V, Lamkanfi M. Pyroptosis. *Curr Biol*, 2016, **26**(13): R568-R572
- [63] Liu Y, Fang Y, Chen X, *et al.* Gasdermin E-mediated target cell pyroptosis by CAR T cells triggers cytokine release syndrome. *Sci Immunol*, 2020, **5**(43): eaax7969
- [64] Dougan M, Luoma A M, Dougan S K, *et al.* Understanding and treating the inflammatory adverse events of cancer immunotherapy. *Cell*, 2021, **184**(6): 1575-1588
- [65] Johnson D C, Taabazuing C Y, Okondo M C, *et al.* DPP8/DPP9 inhibitor-induced pyroptosis for treatment of acute myeloid leukemia. *Nat Med*, 2018, **24**(8): 1151-1156

The Role of Cell Pyroptosis Mediated by GSDMs in Antitumor Immunity*

JI Wen-Bo^{1,2,3)**}, LI Yun-Jian^{2,3)**}, CAI He-Ping¹⁾, CHEN Guan-Ru¹⁾, TIAN Jie-Yong⁴⁾, HU Lei⁵⁾,
DAI Hai-Ming^{2,3)***}, LIU Hai-Peng^{1)***}

⁽¹⁾Clinical Pharmacy Department, Anhui Provincial Children's Hospital, Hefei 230000, China;

⁽²⁾School of Basic Medical Sciences, Anhui Medical University, Hefei 230032, China;

⁽³⁾Anhui Province Key Laboratory of Medical Physics and Technology, Institute of Health & Medical Technology, Hefei Institutes of Physical Science, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, China;

⁽⁴⁾Department of Thoracic Surgery, The First Affiliated Hospital of University of Science and Technology of China (Anhui Provincial Hospital), Hefei 230001, China;

⁽⁵⁾College of Basic Medical Sciences, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China)

Abstract Pyroptosis, a type of regulated cell death, has been shown to be immunogenic in quite a few studies. Pyroptosis has been observed since 1986 and was found to be mediated by GSDM family proteins until recently. Gasdermines (GSDMs) are a group of intracellular proteins that mediate cell pyroptosis. Although GSDMs are expressed in inactive forms, some proteolytic enzymes can activate them. The N-terminus of activated GSDMs perforate the plasma membrane, resulting in cell lysis. Pyroptosis is a double-edged sword that is closely related to the tumor immune microenvironment. Pro-inflammatory molecules and DAMPs will be quickly and effectively released into the microenvironment from the pyroptotic cells, and trigger inflammation and immune response, while these immune responses are not always positive. Inductions of pyroptotic cell death have been shown to promote anti-tumor immunity and improve the efficacy of immune checkpoint inhibitors, which involves the cytotoxic effects of effector T lymphocytes, or reprogramming of the tumor microenvironment to an immunostimulatory state. In this review, we not only summarize the mechanisms of different types of pyroptosis and the key molecules that promote inflammatory and immune response during pyroptosis, but also compare its common features with apoptosis. In addition, we discuss the potential positive and negative factors to cancer therapy during pyroptosis. Although our understanding of pyroptosis in cancer is growing, many mechanisms remain unclear: how pyroptosis activates the immune system, how pyroptosis is regulated, and how pyroptosis can be harnessed therapeutically to improve cancer immunotherapy or to reduce therapy related toxicity. We hope this review will help further understanding the role of pyroptosis in tumor microenvironment and cancer immune therapy, promoting the improvement of cancer therapy strategies.

Key words pyroptosis, GSDMs family, immunogenic cell death, antitumor immunity

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0563

* This work was supported by grants from the Foundation of Anhui Medical University (2020xkj079) and The National Natural Science Foundation of China (31970701).

** These authors contributed equally to this work.

*** Corresponding author.

LIU Hai-Peng. Tel: 86-551-62237587, E-mail: itishaipeng@yeah.net

DAI Hai-Ming. Tel: 86-551-62727063, E-mail: daih@cmpt.ac.cn

Received: December 12, 2022 Accepted: February 13, 2023