

炎症小体信号通路的负调控*

于馨 张彩**

(山东大学药学院免疫药理与免疫治疗研究所, 济南 250012)

摘要 炎症小体(inflammasomes)活化后产生的 IL-1 β 和 IL-18 等促炎因子对天然免疫和适应性免疫具有重要作用。炎症小体持续活化可引起促炎因子过度表达, 导致慢性炎症和自身免疫疾病的发生。正常生理状态下, 机体存在多种炎症小体负调机制, 以维持免疫反应平衡。病理状态下, 感染机体的病原微生物通过多种途径抑制炎症小体信号通路的活化及促炎因子的产生, 以利于免疫逃逸。本文综述了机体和病原微生物对炎症小体信号通路的负调控机理。阐明炎症小体信号通路负调控机制将为感染性疾病及其他炎症小体相关炎症性疾病的治疗提供策略。

关键词 炎症小体, 负调控, 信号转导, 炎症

学科分类号 R392.1, Q71

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00306

天然免疫应答在机体抵御病原微生物早期感染及顺利启动适应性免疫应答过程中具有非常重要的作用。在微生物感染过程中, 宿主细胞通过其自身模式识别受体(pattern-recognition receptors, PRR)识别病原相关分子模式(pathogen associated molecular pattern, PAMP)及危险相关分子模式(danger associated molecular pattern, DAMP), 引发快速的免疫反应^[1]。常见的模式识别受体包括 Toll 样受体(TLR)、C 型凝集素受体(CLR)、RIG-I 样受体(RLR)、Nod 样受体(NLR)和 PYHIN (pyrin domain and HIN domain-containing)蛋白等, 其中 TLR 和 CLR 属膜结构蛋白, 识别胞外及内体中的信号, 而 RLR、NLR 和 PYHIN 分布于胞浆中, 识别胞内信号。分布于胞浆中的模式识别受体被活化后, 一方面诱导 NF- κ B 及 IRF3 等转录因子的转录, 促进炎症因子及干扰素的产生, 另一方面招募其他蛋白质分子共同形成炎症复合体, 即炎症小体(inflammasome)。炎症小体基本包含三种蛋白, 分别是感受器(如 NLR、RIG-I、IFI16 等)、接头蛋白 ASC(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD)和效应分子半胱天冬蛋白酶前体 pro-caspase-1。炎症小体的主要作用是活化半胱天冬蛋白酶(caspase-1), 剪切 IL-1 β 、IL-18 及 IL-33

的前体, 使其成熟并发挥促炎作用。此外, 炎症小体还介导一种 caspase-1 依赖的前炎症性细胞死亡, 即 pyroptosis, 导致病原微生物再次被释放及识别^[2]。

炎症小体活化所介导的促炎症因子的产生及细胞死亡与机体抵御病原微生物感染、维持自身稳态密切相关。炎症小体被活化后, 机体及时对其进行负反馈调节, 抑制过度活化造成的病理损伤, 维持机体正常的生理功能。然而, 某些病原微生物感染机体后产生的相关蛋白具有抑制炎症小体形成及活化的功能, 使机体不能产生足够的 IL-1 β 和 IL-18, 导致病原微生物无法被及时清除, 并可能形成慢性感染。本文就机体和病原微生物负调炎症小体信号通路的研究进展作一综述。

1 炎症小体的结构及活化机制

已知模式识别受体中的 NLR、RLR 及 PYHIN

* 国家自然科学基金(81273220, 31200651), 国家重点基础研究发展计划(973)(2013CB944901)和山东省优秀中青年科研奖励基金(BS2010YY033)资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 0531-88383782, E-mail: caizhangsd@sdu.edu.cn

收稿日期: 2013-07-02, 接受日期: 2013-09-27

蛋白在相应配体或信号的刺激下均能形成炎症小体并发挥作用。NLR 家族成员 NLRP1、NLRP2、NLRP3、NLRC4(IPAF)、NLRP6 及 NLRP12 被证明能够形成炎症小体而活化 caspase-1。NLR 包含三个区域, 分别为 C 端亮氨酸重复序列(LRRs)、核苷酸结合寡聚化区域(也称 NACHT 区或 NOD 区)以及 N 端效应结合域。LRRs 是炎症小体信号感知区域, LRR 识别相关信号后可以诱导 NACHT 区寡聚化, 暴露 NLR N 端的 CARD 区, 进而募集同样含有 CARD 区的 pro-caspase-1, 以 CARD-CARD 的方式传递信号。但并非所有 NLR 的 N 端都有 CARD 区, 有些被 PYD 区取代, 这时则需要凋亡相关斑点样蛋白 ASC 作为接头蛋白辅助信号传递。ASC 含有 PYD 和 CARD 两个结构域, 其中 PYD 区可与 NLR 的 PYD 区相互作用, 将信号传递给另一端的 CARD 区, 再由 CARD 区向下传递。尽管已知 NLR 的 LRR 区能够感知 PAMP 或 DAMP, 但并没有找到 LRR 与其作用的结合位点, 因此有关 LRR 识别这些信号的分子机制尚不清楚。相比之下, PYHIN 炎症小体识别的配体较为明确。PYHIN 家族的两个成员 AIM2 和 IFI16 均含有 PYD 区和 HIN 区, HIN 区识别细菌或病毒 dsDNA, PYD 区募集 ASC 并与之结合。AIM2 位于胞浆中, 可识别长度大于 80 bp 的 dsDNA, 而 IFI16 则主要位于细胞核中, 识别进入核中的 dsDNA, 它们与配体相结合后介导自身炎症小体的形成及活化^[1]。RLR 成员 RIG-I 识别细菌或病毒 5'端三磷酸化的 RNA 后, 除了可以诱导 I 型干扰素的产生外, 也能够形成炎症小体, 诱导 caspase-1 的活化^[2]。当炎症小体中心分子识别相应信号后, 直接或者通过 ASC 募集 pro-caspase-1, pro-caspase-1 经过自剪切作用水解为 p35(含 CARD 区)和 p10, p35 再被剪切为 CARD 和 p20, 两个 p20 和两个 p10 结合构成具有活性的 caspase-1, 发挥对 pro-IL-1 β 和 pro-IL-18 的剪切作用, 进而产生成熟的具有生物学活性的 IL-1 β 和 IL-18。

炎症小体信号通路与其他信号通路(尤其是 TLR 信号通路)之间存在着广泛而密切的联系。一般认为, 炎症小体发挥作用需要双重信号的刺激。第一信号被称为预刺激信号, 由 TLR 或其他模式识别受体介导, 通过活化 MAPK 和 NF- κ B 信号途径而上调炎症小体中心分子和 IL-1 β 、IL-18 前体的表达; 第二信号又叫活化信号, 即 ATP、ROS 等 PAMP 或 DAMP 诱导 NLR 的寡聚化及变构, 进

而募集 ASC, 活化 caspase-1。最近, Rathinam 等^[3]提出, 在革兰氏阴性菌感染中, 细菌可通过活化 TRIF 信号途径诱导 I 型干扰素的产生进而活化 caspase-11, caspase-11 随后与组装好的 NLRP3 炎症小体协同调节 caspase-1 的活化, 并导致 caspase-1 非依赖性的细胞死亡, 这被称为炎症小体活化的第三信号。

2 宿主对炎症小体的负调控

机体在受到微生物感染或创伤后, 炎症小体被活化, 产生 IL-1 β 和 IL-18 等促炎因子介导炎症发生, 但是炎症反应在清除微生物感染的同时会导致组织损伤, 所以机体需及时进行负反馈调节, 抑制促炎因子过度产生, 这对其维持内环境稳定尤为重要。炎症小体的活化是 IL-1 β 和 IL-18 成熟的关键步骤, 因此机体通过产生一系列针对炎症小体的负调分子, 抑制其过度活化。

2.1 宿主相关分子直接抑制炎症小体信号通路

很多炎症小体的中心分子含有 PYCARD 区, 因此那些含有 PYCARD 结合域的蛋白分子能够在很大程度上竞争性结合这些分子, 使信号传递受到抑制。人类含 PYCARD 的蛋白有 COPs(CARD-only proteins)、POPs(PYD-only proteins)、热蛋白 pyrin 及 PYNOD。COPs 家族包含 Iceberg、COP1/Pseudo-ICE、INCA 和 caspase-12 等分子。其中 Iceberg、COP1/Pseudo-ICE 和 INCA 分别与 caspase-1 的 CARD 区有 53%、92%和 81%的相似度, 能够与其相互作用, 抑制 pro-caspase-1 与 ASC 的 CARD 区相互结合。caspase-12 中的一段 CARD 区也具有类似功能。这些编码 COPs 的基因与编码 caspase-1 的基因均定位于人 11 号染色体(11q22.3), 由具有相同起源的基因重复序列所编码。人 POPs 家族中研究最为深入的是 POP1 和 POP2。编码 POP1 的基因位于染色体 16p12.1 上, 起源于 ASC 基因 1 号外显子的基因重复序列。POP2 定位于染色体 3q28 上。POP1 与 ASC 的 PYD 区具有 64%的一致性, 能够与 ASC 以 PYD 依赖方式结合, 抑制炎症小体中心分子与其结合。相比之下, POP2 虽然也具有 PYD 区, 但是与 ASC 的结合弱于 POP1, 而能够与 NLR 的 PYD 区结合。POP1 和 POP2 均能通过抑制 NF- κ B 的活化抑制 IL-1 β 前体的产生。热蛋白 Pyrin 尽管被证明能够与 ASC 相互作用有助于炎症小体的活化, 但是近年来, Pyrin 被发现也具有负调炎症小体的作用。Pyrin 不但能干扰

NLRP3 与 ASC 之间 PYD 依赖的信号传递过程, 还能够与其他炎症小体直接结合, 抑制 caspase-1 的活化. PYNOD 蛋白又叫 NLRP10, 含有 PYD 区和 NACHT 区, 属 Nod 样受体蛋白, 但缺少 LRR 区. PYNOD 的 NACHT 区在自身寡聚化后与 ASC 结合, 却不募集活化 pro-caspase-1, 从而抑制 IL-1 β 的产生. 在转录水平, PYNOD 通过对 NF- κ B 活化的抑制减少 IL-1 β 和 IL-18 mRNA 的产生^[6].

除此之外, 机体产生的某些分子可以直接抑制炎症小体发挥作用. 例如, 组成性表达于血管平滑肌细胞及其他一些组织中的丝氨酸蛋白酶抑制剂 9 (PI-9) 与细胞中的 pro-caspase-1 以蛋白质-蛋白质相互作用的方式结合, 抑制其向活性形式的转变. 在动脉粥样硬化模型中, PI-9 的表达与细胞中 IL-1 β 的含量呈负相关. 凋亡相关蛋白 Bcl 家族成员 Bcl-2 和 Bcl-X(L) 被证明能直接与 NLRP1 结合而抑制 NLRP1 自身寡聚化, 继而抑制 caspase-1 的活化及 IL-1 β 的成熟. 在此过程中, Bcl-2 和 Bcl-X(L) 蛋白结构的第一个 α 螺旋和第二个 α 螺旋

之间的一个可变环状区域起着关键作用. 如果将此可变环状区进行突变, 这种抑制作用随之消失^[7].

最近, Mishra 等^[8]的研究揭示, NO 分子能够通过其对 NLRP3 分子进行硫醇亚硝基化修饰抑制其募集 ASC, 进一步抑制 NLRP3 炎症小体的活化, 而对 AIM2 炎症小体无抑制作用. TRIM 30(tripartite-motif protein) 作为一类跨膜接头蛋白既能够通过降解 TLR 信号通路中的重要分子 TAB2/TAB3 来负性调控 TLR 信号通路中 NF- κ B 的活化, 也能通过降低活性氧的产生抑制 NLRP3 炎症小体的活化^[9-10].

近年来, 微小 RNA(microRNA) 由于在宿主细胞中存在丰富且调控作用广泛, 日益受到人们重视. microRNA 长度在 21~23nt 之间, 属内源性非编码 RNA, 通过与靶分子 mRNA 的 3'-UTR (3' untranslated region) 区互补配对行使对靶分子的转录后调控. Bauernfeind 等^[11]发现, miR-223 能够特异性靶向于 NLRP3 mRNA 的 3' UTR 区, 从而抑制 NLRP3 分子的表达(图 1).

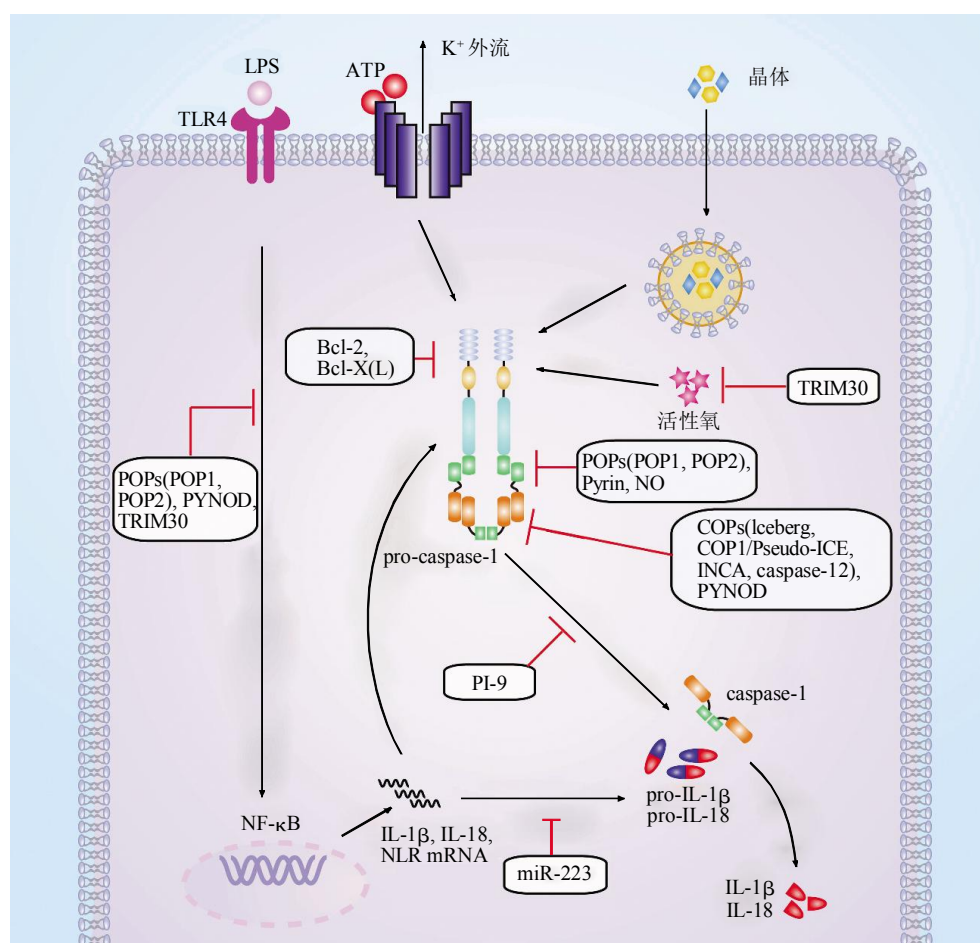


Fig. 1 Negative regulation of inflammasome signaling by host-driven molecules

图 1 宿主相关分子对炎症小体信号通路的负调控

2.2 干扰素负调炎症小体信号通路

入侵机体的病原微生物在活化炎症小体的同时也会刺激机体产生一系列免疫应答, 如 TLR 信号通路的活化、炎症因子和干扰素的产生等. 干扰素作为机体感染早期产生的一种重要细胞因子, 在一定程度上调控炎症小体的表达与活化. 临床上, IFN- β 被用来作为治疗多发性硬化症 (multiple sclerosis, MS) 的一线药物已有 15 年的历史, 而 MS 多与中枢神经系统免疫细胞 NLRP3 炎症小体的过度活化有关. IFN- β 通过抑制 NLRP3 炎症小体的活化而降低 IL-1 β 等促炎因子的产生. 有报道指出, I 型干扰素一方面能够通过促进细胞 IL-10 的分泌而促进 stat3 的转录, 进而抑制 pro-IL-1 β 的产生, 另一方面通过诱导转录因子 stat1 701 位氨基酸酪氨酸的磷酸化, 抑制 NLRP3 及 NLRP1b 介导的炎症小体的活化, 从而抑制 IL-1 β 的产生^[12]. Inoue 等^[13]证明, I 型干扰素信号通路能够通过活化 SOCS 1 (suppressor of cytokine signaling 1) 导致 Rac1 的泛素化, 而 Rac1 的表达是活性氧 (ROS) 产生的前提, 因此, NLRP3 炎症小体的活化受到抑制. 但是, 有关 I 型干扰素对炎症小体信号通路影响的报道并非完全一致, 也有研究表明 I 型干扰素对某些炎症小体的活化具有促进作用. 在土拉弗朗西斯菌活化 AIM2 炎症小体的过程中, 如果细胞缺失了 IRF3 或 I 型干扰素受体, 那么细菌对 AIM2 炎症小体的活化作用明显减弱^[14].

II 型干扰素对 IL-1 β 的抑制作用受诸多条件的限制, 具有一过性、细胞特异性、种属特异性等特点. 在结核分枝杆菌感染小鼠模型中, CD4⁺T 细胞产生的 IFN- γ 只能抑制单核巨噬细胞中 IL-1 β 的分泌, 对树突状细胞并无类似作用. IFN- γ 预刺激小鼠的巨噬细胞和 DC 细胞后, LPS 诱导产生 pro-IL-1 β 的能力下降, 这种作用能够被 SOCS1 逆转^[15]. Eigenbrod 等^[16]认为, IFN- γ 可以通过抑制 NF- κ B 与 IL-1 β 启动子结合而实现对 IL-1 β mRNA 的抑制. IFN- γ 不但能够在转录水平抑制 IL-1 β 前体的产生, 也通过 NO 依赖的方式特异性抑制 NLRP3 炎症小体的活化, 从而抑制 IL-1 β 的成熟^[8]. IFN- γ 对炎症小体的抑制作用被认为是机体对于获得性免疫应答启动后的炎症应答重要的负反馈调节机制.

2.3 T 细胞负调炎症小体信号通路

2009 年, Greta Guarda 等研究发现, 效应性及记忆性 T 细胞能够以细胞 - 细胞相接触的方式抑制

NLRP1 及 NLRP3 炎症小体介导 caspase-1 的活化和 IL-1 β 的成熟过程, 而对 NLRC4 及其他炎症介质 (如 CXCL4、IL-6、TNF) 的释放无明显作用. 这种细胞 - 细胞间的抑制方式也能够被受体 - 配体结合的方式所取代. 当活化的 T 细胞表面表达的肿瘤坏死因子家族配体 CD40L、OX40L 及 RANKL 与巨噬细胞表面的受体相结合时, 巨噬细胞中炎症小体的活化也能被抑制. 活化的人 CD4⁺CD45RO⁺ 记忆性 T 细胞也能够抑制外周血单核细胞中 NLRP3 的活化, 这种抑制作用由 P2X7R 介导且依赖于 FasL 的表达, 表现为可溶性活化形式的 caspase-1 被抑制, 但记忆性 T 细胞对非 P2X7R 介导的 NLRP3 炎症小体的活化未表现出明显的抑制作用^[15]. 在微生物感染过程中, 大量增殖和活化的 T 细胞以更加直接和有效的方式对炎症小体进行负调控, 与机体其他负性调控分子共同配合, 维持机体内环境的稳态.

2.4 自噬负调炎症小体信号通路

自噬是细胞利用溶酶体降解自身受损的蛋白或细胞器, 并将分解产物进行循环再利用的过程. 在免疫反应中, 自噬过程与抗原递呈、促炎细胞因子分泌、细胞死亡等密切相关. 最近的研究表明, 自噬抑制 NLRP3 炎症小体的活化. 自噬相关基因 Atg16L1 (autophagy-related gene 16-like 1) 缺陷时, 细胞对 LPS 及其他炎症小体活化信号的刺激更加敏感, 产生更多活化的 caspase-1, 导致 IL-1 β 和 IL-18 分泌增多. 自噬负调炎症小体信号通路的机制, 可能是自噬能通过清除功能受损的线粒体抑制 ROS 及线粒体 DNA 的释放, 进而抑制炎症小体的活化. 同时, 自噬也能够降解 IL-1 β 的前体, 导致 IL-1 β 的分泌降低^[15].

3 病毒对炎症小体信号通路的负调控

病毒通过多种机制行使对炎症小体的负调控. 有些病毒能够产生与炎症小体信号通路中某些蛋白结构相似的分子, 干扰信号的传递, 发挥对炎症小体的抑制作用. 卡波西氏肉瘤相关疱疹病毒 (Kaposi's sarcoma associated herpesvirus, KSHV) 编码的 Orf63 蛋白与 NLRP1 分子中的 LRR 区高度类似, 但缺乏 PYD 及 CARD 区, 能够与 NLRP1 相结合, 抑制其与配体胞壁酰二肽 (MDP) 的结合. 研究中观察到, Orf63 对 NLRP3 炎症小体的活化也具有类似的抑制作用^[17]. 痘病毒家族中的黏液瘤病毒 (Myxoma virus) 和肖普纤维瘤病毒 (Shope

fibromavirus, SFV)分别能产生含 PYD 结构的蛋白分子 M013 和 gp013L, 被称为 vPOP(viral PYD only protein)^[18-19]. 它们能够与核周围及胞浆中 ASC 的 PYD 区域以 PYD-PYD 的方式结合, 进而抑制 pro-caspase-1 的活化^[20]. 此外, M013 又能够直接与胞内 NF- κ B 转录因子 p105 亚基相结合, 阻止 RelA/p65 入核, 抑制 NLR 和 pro-IL-1 β 等促炎症因子的产生^[18]. 另外, 痘病毒家族中的其他很多成员也能编码保守的含有 PYD 结构域的蛋白分子, 如塔痘病毒属的 Yaba-like 病毒(Yaba-like disease virus, YLDV)编码的 ORF18L、猪痘病毒属的猪痘病毒(Swine pox virus, SPV)编码的 ORF014L 等^[20].

有些病毒通过产生某些具有蛋白酶活性的物质降解炎症小体相关蛋白分子, 抑制炎症小体发挥作用. 单纯疱疹病毒(Herpes simplex virus, HSV)产生的早期蛋白 ICP0 能够特异性降解 IFI16 分子, 而对 NLRP3 和 AIM2 没有作用. IFI16 被降解后, 无法形成炎症小体识别病毒 DNA. 同时, caspase-1 也被限制于肌动蛋白处无法被募集至 ASC 附近而发挥作用^[21].

病毒除了可以产生蛋白酶类似物降解炎症小体相关分子外, 也可以产生一些分子直接抑制其发挥作用. 牛痘病毒(Vaccinia virus, VACV)能够产生一种 BCL2 类似物 F1L, 这种分子可以与 NLRP1 结合, 直接抑制其与下游分子的结合, 进而抑制炎症小体的形成. 进一步的研究发现, F1L 上的一个多肽类片段(hexapeptide)在这个过程中起着非常重要的作用^[22]. 黏液瘤病毒编码的 Serp2 和牛痘病毒编码的 CrmA 均属于丝氨酸蛋白酶抑制剂, 它们能够特异性地与 caspase-1 的活性中心结合, 使其失活^[7]. 其他的丝氨酸蛋白酶抑制剂还包括痘苗病毒(Vaccinia virus)的 B13R 蛋白和小鼠脱脚病毒(Ectromelia virus)的 SPI-2 蛋白^[23-24].

有些病毒则是在 caspase-1 前体向活性形式的转变这一过程发挥抑制作用. 杆状病毒(Baculovirus)表达的抗凋亡蛋白 p35, 能够阻滞 caspase-1 前体向活化形式的转变. 将表达 p35 与表达 caspase-1 的质粒共转入稳定表达 pro-IL-1 β 的 COS-1 细胞中, 与只转入表达 caspase-1 的质粒相比, 细胞分泌 IL-1 β 的量降低 90%. 纯化后的 p35 表现出对 caspase-1 更加显著的抑制作用^[25]. 但是, p35 抑制 pro-caspase-1 的分子机制尚不清楚. 流感病毒(Influenza virus)A/PR/8/34 编码的非结构性蛋白分子 NS1 也能够抑制 caspase-1 前体向活化形式

的转变, 若 NS1 蛋白 N 端的 RNA 结合区和二聚化功能域发生突变, 则这种病毒促进 IL-1 β 分泌的能力大大增加^[26]. 有趣的是, 在 NS1 发生突变的流感病毒 A/PR/8/34 感染的细胞中, 如果 RNA 依赖的蛋白激酶(PKR)被抑制, 则炎症小体依赖的 IL-1 β 的分泌也会被抑制. 但是, NS1 蛋白对炎症小体的作用并非完全一致, 因为在高致病性 H5N1 鸟甲型流感病毒株感染中, NS1 蛋白则表现出活化 caspase-1 及诱导细胞凋亡的作用^[27].

与宿主调节炎症小体功能的机制类似, 有些病毒能够通过产生 microRNA 来发挥对炎症小体的抑制作用. 如人疱疹病毒(Epstein-barr virus, EBV)编码的 miR-BART15 可特异性作用于 NLRP3 mRNA 的 3' UTR 区, 抑制 NLRP3 的表达, 从而发挥对炎症小体的抑制作用. 不仅如此, miR-BART15 还能够从被感染的 B 细胞中释放至周围细胞中, 影响其他非感染细胞, 在其他细胞中发挥抑制作用^[28].

4 细菌对炎症小体的抑制作用

目前尚未发现细菌能够产生 NLR 或 POPs 类似物来抑制炎症小体的活化. 细菌主要通过下调自身的 PAMP 逃避炎症小体的识别作用. 细菌的 III 型分泌系统(T3SS)能够分泌一些毒力因子至宿主细胞中, 这些毒力因子能够干扰炎症小体对细菌的识别而抑制炎症小体的活化, 最具代表性的是假结核耶尔森菌(*Yersinia pseudotuberculosis*) III 型分泌系统分泌的毒力因子 YopK, 它能够与细菌 T3SS 的转位子蛋白相互作用, 阻碍炎症小体对病原菌的识别. 当表达 YopK 的基因发生突变时, 细菌活化 caspase-1 及刺激机体产生 IL-1 β 的能力显著提高^[29].

一些细菌产生的具有酶活作用的蛋白对 caspase-1 有调节作用. 例如, 绿脓假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)可以产生 T3SS 效应蛋白 ExoU 和 ExoS, 其中 ExoU 具有磷脂酶活性, ExoS 的 C 端具有 ADP 核糖转移酶活性结构域, 它们均能够抑制 caspase-1 的活化及 IL-1 β 的分泌, 这些蛋白的酶活区域对于它们发挥炎症小体的抑制作用至关重要^[30-31]. 小肠结肠炎耶尔森菌(*Yersinia enterocolitica*)表达的 YopE 和 YopT 效应蛋白能够抑制 Rho GTP 酶的活性, 进而抑制 pro-caspase-1 的寡聚化而抑制炎症小体的活化^[32]. 结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)Rv0198c 基因编码的 Zn²⁺ 金属蛋白酶 ZMP1 也能够抑制 caspase-1 的活化^[33]. 土拉弗朗西斯菌表达的一种磷脂转位酶

mviN 能够抑制 AIM2 炎症小体活化信号通路中 caspase-1 的活化^[34].

有些细菌可以在转录水平对炎症小体进行调节. 嗜肺军团菌(*Legionella pneumophila*)能够抑制炎症小体复合物中接头蛋白 ASC mRNA 及炎症小体中心分子 NLRC4 mRNA 的产生, 从而抑制其形成, 导致促炎因子水平降低^[35]. 在人 DC 细胞中, 肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)产生的溶血素(pneumolysin)能够抑制 caspase-1 mRNA 的产生, 使其表达降低^[36]. 土拉弗朗西斯菌 (*Francisella tularensis*)表达的包膜蛋白 ripA 通过抑制 MAPK 信号通路, 抑制 IL-1 β mRNA 的产生^[37]. 最近的研究发现, 沙门氏菌感染 B 细胞后, 其 T3SS 通过诱导 Yap 的磷酸化, 促进 Yap 和 Hck 的相互作用, 进而抑制 NLRC4 的转录^[38].

5 结 语

在宿主与病原微生物博弈的漫长历史中, 病原

微生物通过各种机制逃逸机体免疫反应(表 1). 纵然关于炎症小体的相关研究已经取得了很大进展, 但是仍有许多问题尚待解决. 例如, 关于炎症小体识别活化信号的具体机制, 利用纯化的 NLRP1 及 AIM2 体外重组的方法已证明两者分别能够与 MDP 等细菌壁组分和 dsDNA 结合并被活化. 但是能够与其他炎症小体直接结合的配体组分还未发现. NLRP3 炎症小体能够识别多种危险信号, 是否存在一种未知蛋白介导了这种识别作用还不得而知. 现有的理论仍不能解释在多种炎症小体的效应因子和受体因子缺失的情况下, 细胞对某些病原相关分子的识别作用, 这说明一定还存在着其他感受器. 最近发现的能够识别病毒 DNA 的 IFI16 炎症小体给从事炎症小体相关工作的研究者们极大鼓舞.

由于 IL-1 β 等促炎因子在机体抵抗病原微生物感染中具有重要作用, 且炎症小体的活化是 IL-1 β 成熟的关键环节, 因此炎症小体成为机体和病原微生物调节免疫反应的重要靶点. 了解机体和病原微

Table 1 Examples of pathogens that negatively regulate inflammasome signal pathways

表 1 对炎症小体信号通路发挥负调控作用的病原微生物

	名称	来源	类别	功能	参考文献
病毒	Orf63	卡波西氏肉瘤相关疱疹病毒	LRR 类似物	结合 NLRP1	[17]
	M013	黏液瘤病毒	POP 类似物	结合 ASC; 抑制 NLR 和 pro-IL-1 β 的产生	[18-19]
	gp013L	肖普纤维瘤病毒	POP 类似物	结合 ASC	[19-20]
	ORF18L	Yaba-like 病病毒	POP 类似物	结合 ASC	[20]
	ORF014L	猪痘病毒	POP 类似物	结合 ASC	[20]
	ICP0	单纯疱疹病毒	蛋白酶	降解 IFI16	[21]
	F1L	牛痘病毒		结合 NLRP1	[22]
	Serp2	黏液瘤病毒	丝氨酸蛋白酶抑制剂	抑制 caspase-1 活化	[7]
	CrmA	牛痘病毒	丝氨酸蛋白酶抑制剂	抑制 caspase-1 活化	[7]
	B13R	痘苗病毒	丝氨酸蛋白酶抑制剂	抑制 caspase-1 活化	[24]
	SPI-2	小鼠脱脚病毒	丝氨酸蛋白酶抑制剂	抑制 caspase-1 活化	[23]
	p35	杆状病毒		抑制 caspase-1 活化	[25]
	NS1	流感病毒	dsRNA 结合蛋白	抑制 caspase-1 活化	[26]
	miR-BART15	人疱疹病毒	微小 RNA	抑制 NLRP3 表达	[28]
细菌	YopK	假结核耶尔森菌	T3SS 结合蛋白	抑制炎症小体识别 T3SS 系统	[29]
	ExoU	绿脓假单胞菌	磷脂酶	抑制 caspase-1 活化	[30-31]
	ExoS	绿脓假单胞菌	ADP 核糖转移酶	抑制 caspase-1 活化	[30-31]
	YopE	小肠结肠炎耶尔森菌	GTP 酶活化蛋白	抑制 caspase-1 活化	[32]
	YopT	小肠结肠炎耶尔森菌	半胱氨酸蛋白酶	抑制 caspase-1 活化	[32]
	ZMP1	结核分枝杆菌	Zn ²⁺ 金属蛋白酶	抑制 caspase-1 活化	[33]
	mviN	土拉弗朗西斯菌	磷脂转位酶	抑制 caspase-1 活化	[34]
	溶血素	肺炎链球菌		抑制 caspase-1 mRNA	[36]
	ripA	土拉弗朗西斯菌	包膜蛋白	抑制 IL-1 β mRNA	[37]

生物对炎症小体调控的内在机制有助于为免疫相关性疾病的治疗提供个体化治疗的靶点和思路。此外, 炎症小体和人类肝脏疾病之间存在密切关系, 如脂肪肝、肝脏纤维化、肝脏缺血再灌注损伤、病毒性肝炎等都与炎症小体的异常活化有关^[39]。人丙肝病毒(HCV)能够诱导肝脏 Kupffer 细胞中 NLRP3 炎症小体的活化, 进而导致炎症及肝脏相关疾病的产生^[40]。但是, 关于肝脏 HBV 感染与炎症小体活化的关系尚不明确。本实验室长期从事天然免疫和肝脏免疫学研究, 近年在乙型肝炎病毒感染与肝脏免疫耐受的关系, 及通过逆转肝脏内源性免疫耐受进而纠正 HBV 感染所导致的全身免疫耐受方面取得了重要进展^[41-43]。关于炎症小体与肝脏疾病的关系, 我们近期的研究初步发现, HBV 感染可以引起肝脏细胞尤其是 Kupffer 细胞炎症小体的活化, 产生的 IL-1 β 有利于机体对 HBV 的清除, 但是, HBV 的 e 抗原却可以对 LPS 诱导的炎症小体的活化发挥负向的调节作用(资料待发表), 我们认为这是 HBV 抑制机体天然免疫应答、逃避免疫系统监视的机制之一。关于 HBV 对炎症小体活化和调节的具体分子机制、在 HBV 感染的不同阶段炎症小体活化的不同及其与 HBV 感染相关肝癌发生发展的关系尚需进一步探讨。

总之, 炎症小体的发现为免疫和炎症相关疾病发病机制的探讨开辟了新的领域, 阐明炎症小体活化及其负调控的确切分子机制对于炎症小体相关疾病的治疗至关重要, 有望为感染性疾病、自身免疫性疾病、代谢性疾病、炎性疾病及肿瘤等提供新的个体化的治疗靶点。

参 考 文 献

- [1] Strowig T, Henao-Mejia J, Elinav E, *et al.* Inflammasomes in health and disease. *Nature*, 2012, **481**(7381): 278-286
- [2] Conforti-Andreoni C, Ricciardi-Castagnoli P, Mortellaro A. The inflammasomes in health and disease: from genetics to molecular mechanisms of autoinflammation and beyond. *Cell Mol Immunol*, 2011, **8**(2): 135-145
- [3] Schattgen S A, Fitzgerald K A. The PYHIN protein family as mediators of host defenses. *Immunol Rev*, 2011, **243**(1): 109-118
- [4] Poeck H, Bscheider M, Gross O, *et al.* Recognition of RNA virus by RIG-I results in activation of CARD9 and inflammasome signaling for interleukin 1 beta production. *Nat Immunol*, 2010, **11**(1): 63-69
- [5] Rathinam V A, Vanaja S K, Waggoner L, *et al.* TRIF licenses caspase-11-dependent NLRP3 inflammasome activation by gram-negative bacteria. *Cell*, 2012, **150**(3): 606-619
- [6] Stehlik C, Dorfleutner A. COPs and POPs: modulators of inflammasome activity. *J Immunol*, 2007, **179**(12): 7993-7998
- [7] Taxman D J, Huang M T, Ting J P. Inflammasome inhibition as a pathogenic stealth mechanism. *Cell Host Microbe*, 2010, **8**(1): 7-11
- [8] Mishra B B, Rathinam V A, Martens G W, *et al.* Nitric oxide controls the immunopathology of tuberculosis by inhibiting NLRP3 inflammasome-dependent processing of IL-1 β . *Nat Immunol*, 2012, **14**(1): 52-60
- [9] Shi M, Deng W, Bi E, *et al.* TRIM30 alpha negatively regulates TLR-mediated NF-kappa B activation by targeting TAB2 and TAB3 for degradation. *Nat Immunol*, 2008, **9**(4): 369-377
- [10] Mao K, Chen S, Chen M, *et al.* Nitric oxide suppresses NLRP3 inflammasome activation and protects against LPS-induced septic shock. *Cell Research*, 2013, **23**(2): 201-212
- [11] Bauernfeind F, Rieger A, Schildberg F A, *et al.* NLRP3 inflammasome activity is negatively controlled by miR-223. *J Immunol*, 2012, **189**(8): 4175-4181
- [12] Guarda G, Braun M, Staehli F, *et al.* Type I interferon inhibits interleukin-1 production and inflammasome activation. *Immunity*, 2011, **34**(2): 213-223
- [13] Inoue M, Shinohara M L. The role of interferon-beta in the treatment of multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis - in the perspective of inflammasomes. *Immunology*, 2013, **139**(1): 11-18
- [14] Henry T, Brotcke A, Weiss D S, *et al.* Type I interferon signaling is required for activation of the inflammasome during Francisella infection. *J Exp Med*, 2007, **204**(5): 987-994
- [15] Rathinam V A, Vanaja S K, Fitzgerald K A. Regulation of inflammasome signaling. *Nat Immunol*, 2012, **13**(4): 333-332
- [16] Eigenbrod T, Bode K A, Dalpke A H. Early inhibition of IL-1 β expression by IFN- β is mediated by impaired binding of NF- κ B to the IL-1 β promoter but is independent of nitric oxide. *J Immunol*, 2013, **190**(12): 6533-6541
- [17] Gregory S M, Davis B K, West J A, *et al.* Discovery of a viral NLR homolog that inhibits the inflammasome. *Science*, 2011, **331**(6015): 330-334
- [18] Rahman M M, Mohamed M R, Kim M, *et al.* Co-regulation of NF-kappaB and inflammasome-mediated inflammatory responses by myxoma virus pyrin domain-containing protein M013. *PLoS Pathog*, 2009, **5**(10): e1000635
- [19] Dorfleutner A, Talbott S J, Bryan N B, *et al.* A Shope Fibroma virus PYRIN-only protein modulates the host immune response. *Virus Genes*, 2007, **35**(3): 685-694
- [20] Johnston J B, Barrett J W, Nazarian S H, *et al.* A poxvirus-encoded pyrin domain protein interacts with ASC-1 to inhibit host inflammatory and apoptotic responses to infection. *Immunity*, 2005, **23**(6): 587-598
- [21] Johnson K E, Chikoti L, Chandran B. Herpes Simplex Virus 1 infection induces activation and subsequent inhibition of the IFI16 and NLRP3 inflammasomes. *J Virol*, 2013, **87**(9): 5005-5018
- [22] Gerlic M, Faustin B, Postigo A, *et al.* Vaccinia virus F1L protein promotes virulence by inhibiting inflammasome activation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(19): 7808-7813
- [23] Turner S J, Silke J, Kenshole B, *et al.* Characterization of the

- ectromelia virus serpin, SPI-2. *J Gen Virol*, 2000, **81**(10): 2425–2430
- [24] Kettle S, Alcamí A, Khanna A, *et al.* Vaccinia virus serpin B13R (SPI-2) inhibits interleukin-1 β -convertin enzyme and protects virus-infected cells from TNF- and Fas-mediate apoptosis, but does not prevent IL-1 β -induced fever. *J Gen Virol*, 1997, **78**(Pt 3): 677–685
- [25] Bump N J, Hackett, M, Hugunin, *et al.* Inhibition of ICE family proteases by baculovirus antiapoptotic protein p35. *Science*, 1995, **269**(29): 1885–1888
- [26] Stasakova J, Ferko B, Kittel C, *et al.* Influenza A mutant viruses with altered NS1 protein function provoke caspase-1 activation in primary human macrophages, resulting in fast apoptosis and release of high levels of interleukins 1 β and 18. *J Gen virol*, 2005, **86** (Pt 1): 185–195
- [27] Lam W Y, Tang J W, Yeung A C, *et al.* Avian influenza virus A/HK/483/97 (H5N1) NS1 protein induces apoptosis in human airway epithelial cells. *J Virol*, 2008, **82**(6): 2741–2751
- [28] Haneklaus M, Gerlic M, Kurowska-Stolarska M, *et al.* Cutting edge: miR-223 and EBV miR-BART15 regulate the NLRP3 inflammasome and IL-1 β production. *J Immunol*, 2012, **189**(8): 3795–3799
- [29] Brodsky I E, Palm N W, Sadanand S, *et al.* A Yersinia effector protein promotes virulence by preventing inflammasome recognition of the type III secretion system. *Cell Host Microbe*, 2010, **7**(5): 376–387
- [30] Broz P, Monack D M. Molecular mechanisms of inflammasome activation during microbial infections. *Immunol Rev*, 2011, **243**(1): 174–190
- [31] Galle M, Schotte P, Haegman M, *et al.* The Pseudomonas aeruginosa Type III secretion system plays a dual role in the regulation of caspase-1 mediated IL-1 β maturation. *J Cell Mol Med*, 2008, **12**(5A): 1767–1776
- [32] Schotte P, Denecker G, Van Den Broeke A, *et al.* Targeting Rac1 by the Yersinia effector protein YopE inhibits caspase-1-mediated maturation and release of interleukin-1 β . *J Biol Chem*, 2004, **279**(24): 25134–25142
- [33] Master S S, Rampini S K, Davis A S, *et al.* Mycobacterium tuberculosis prevents inflammasome activation. *Cell Host Microbe*, 2008, **3**(4): 224–232
- [34] Ulland T K, Buchan B W, Ketterer M R, *et al.* Cutting edge: mutation of Francisella tularensis mviN leads to increased macrophage absent in melanoma 2 inflammasome activation and a loss of virulence. *J Immunol*, 2010, **185**(5): 2670–2674
- [35] Abdelaziz D H, Gavrilin M A, Akhter A, *et al.* Apoptosis-associated speck-like protein (ASC) controls Legionella pneumophila infection in human monocytes. *J Biol Chem*, 2011, **286**(5): 3203–3208
- [36] Littmann M, Albiger B, Frentzen A, *et al.* Streptococcus pneumoniae evades human dendritic cell surveillance by pneumolysin expression. *EMBO Mol Med*, 2009, **1**(4): 211–222
- [37] Huang M T, Mortensen B L, Taxman D J, *et al.* Deletion of ripA alleviates suppression of the inflammasome and MAPK by Francisella tularensis. *J Immunol*, 2010, **185**(9): 5476–5485
- [38] Perez-Lopez A, Rosales-Reyes R, Alpuche-Aranda C M, *et al.* Salmonella downregulates Nod-like receptor family CARD domain containing protein 4 expression to promote its survival in B cells by preventing inflammasome activation and cell death. *J Immunol*, 2013, **190**(3): 1201–1209
- [39] Szabo G, Csak T. Inflammasomes in liver diseases. *J Hepatol*, 2012, **57**(3): 642–654
- [40] Negash A A, Ramos H J, Crochet N, *et al.* IL-1 β production through the NLRP3 inflammasome by hepatic macrophages links hepatitis C virus infection with liver inflammation and disease. *PLoS Pathog*, 2013, **9**(4): e1003330
- [41] Han Q, Zhang C, Zhang J, *et al.* Reversal of hepatitis B virus-induced immune tolerance by an immunostimulatory 3p-HBx-siRNAs in a retinoic acid inducible gene I-dependent manner. *Hepatology*, 2011, **54**(4): 1179–1189
- [42] Lan P, Zhang C, Han Q, *et al.* Therapeutic recovery of hepatitis B virus (HBV)-induced hepatocyte-intrinsic immune defect reverses systemic adaptive immune tolerance. *Hepatology*, 2013, **58** (1): 73–85
- [43] Han Q, Zhang C, Zhang J, *et al.* The role of innate immunity in HBV infection. *Semin Immunopathol*, 2013, **35**(1): 23–38

Negative Regulation of Inflammasome Signaling*

YU Xin, ZHANG Cai**

(Institute of Immunopharmacology & Immunotherapy, School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University, Jinan 250012, China)

Abstract Inflammasomes activation is critical for both innate and adaptive immunity through their regulation of interleukin 1 β (IL-1 β) and IL-18. Prolonged inflammasomes activation can lead to exaggerated expression of signaling components as well as pro-inflammatory cytokines that can damage the host, resulting in chronic inflammatory diseases and autoimmune disorders. Therefore, pathways of deactivation are important to balance the immune responses. However, recent discoveries have uncovered a plethora of pathogenic strategies to inhibit the activation of inflammasome signal pathways and the production of pro-inflammatory cytokines to evade immune responses. Elucidation of these mechanisms might be helpful to the rational design of therapy against infectious diseases and other inflammasome-dependent inflammatory processes.

Key words inflammasome, negative regulation, signal transduction, inflammation

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00306

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (81273220, 31200651), National Basic Research Program of China (2013CB944901), and Award Foundation for Excellent Young and Middle-aged Scientists of Shandong Province (BS2010YY033).

**Corresponding author.

Tel: 86-531-88383782, E-mail: caizhangsd@sdu.edu.cn

Received: July 2, 2013 Accepted: September 27, 2013