

炎症复合体与炎症反应*

祝筱梅 姚咏明** 盛志勇

(解放军总医院第一附属医院全军烧伤研究所, 北京 100048)

摘要 炎症复合体(inflammasome)是胞浆内一组复杂的多蛋白复合体, 是胱天蛋白酶(caspase)-1 活化所必需的反应平台, 调控白介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-18、IL-33 等促炎细胞因子的加工及活化, 参与天然免疫系统的激活。核苷酸结合寡聚化结构域样受体(nucleotide-binding and oligomerization domain-like receptors, NLRs)是胞浆内重要的模式识别受体, 能感知胞内病原微生物产物及代谢性应激, 起始炎症复合体的组装, 是构成炎症复合体的核心成分。综述了炎症复合体和 NLRs 研究现状及其在炎症反应中的作用。

关键词 炎症复合体, 胱天蛋白酶-1, 白介素-1 β , 炎症
学科分类号 R392.1

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2009.00408

天然免疫应答是机体抵御病原生物入侵的第一道防线, 也是获得性免疫的基础。天然免疫反应主要是通过吞噬细胞(如巨噬细胞、中性粒细胞)摄取并杀灭入侵机体的病原体, 之后通过分泌细胞因子和趋化因子激活获得性免疫系统。宿主天然免疫细胞对胞内感染的各种病原微生物及其产物的快速识别依赖于胞浆内存在的一类被称为“炎症复合体(inflammasome)”的多蛋白复合体^[1]。炎症复合体除了识别各类病原菌外, 同时还可感知宿主自身代谢性应激刺激, 通过活化胱天蛋白酶(cysteiny aspartate-specific protease, caspase)-1、caspase-5 等, 进一步诱导白介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-18、IL-33 等促炎细胞因子的加工分泌及细胞凋亡, 调节免疫应答和炎症反应。新近的研究提示, 炎症复合体的活化对机体获得性免疫反应具有重要调控作用, 与 IL-6、IL-12 的分泌相关, 影响辅助性 T 细胞(T helper cell, Th) 1、Th17 及调节性 T 细胞的活性^[2]。其功能状态对多种临床疾病的发生、发展及预后恢复均具有重要意义。近年来越来越多的研究表明, 炎症复合体在天然免疫反应中发挥着至关重要的作用。

炎症复合体是 caspase 活化所必需的反应平台, 目前已鉴定出多种不同的炎症复合体, 在装配炎症复合体的多种蛋白质成分中, 核苷酸结合寡聚化结构域(nucleotide binding oligomerization domain, NOD)

样受体(NOD like receptors, NLRs)家族成员, 包括 NALPs(NACHT, LRR and PYD containing proteins)、白介素转化酶(interleukin-converting enzyme, ICE)激活因子(ICE protease-activating factor, IPAF)、神经元凋亡抑制蛋白(neuronal apoptosis inhibitor protein, NAIP)等, 能够感受外界信号的刺激从而起始炎症复合体复合物的装配, 是构成炎症复合体的核心成分^[3]。炎症复合体的研究始于对“家族寒冷自体炎症综合征”患者的遗传学分析。研究发现, 寒冷敏感性状有着常染色体遗传模式, 患者的同一个基因发生了突变, 该基因被命名为“寒冷诱导自体炎症综合征-1”(cold-induced auto-inflammatory syndrome-1, CIAS-1)基因, 其编码蛋白被称为 cryopyrin(该蛋白质即为 NALPs 家族重要成员 NALP3), 随后发现慢性婴儿期皮肤关节综合征病人也存在该基因的突变^[4]。后续研究表明, 该蛋白质活化后通过蛋白质间的相互作用与胞内的 pro-caspase-1 蛋白结合, 对 pro-caspase-1 加工和激活

* 国家重点基础研究发展计划(973)(2005CB522602), 国家自然科学基金(30672178, 30872683, 30800437)和创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室开放基金(SKLF200902)资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 010-66867394, E-mail: c_ff@sina.com

收稿日期: 2009-07-08, 接受日期: 2009-09-16

非常重要^[5-7]. 2002年, Martinon等^[8]鉴定了一个由NALP1与凋亡相关点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC)、caspase-1/5构成的多蛋白复合体, 该复合体对caspase的激活非常重要, 并被命名为“inflammasome”(炎症复合体). 本文拟就炎症复合体和NLRs研究现状及其在炎症反应中的作用作一综述.

1 核苷酸结合寡聚化结构域样受体的结构与功能

NLRs是胞浆内一组重要的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs), 在机体天然免疫应答中发挥独特的功能. 20世纪90年代初, Janeway等提出, 在机体的免疫系统中, 参与天然免疫的细胞可通过PRRs直接识别和结合广泛存在于病原体上的病原相关分子模式[pathogen-associated molecular pattern, PAMP], 包括细菌的碳水化合物如脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)和甘露糖、革兰阳性菌的肽聚糖和脂磷壁酸以及真菌多糖等]以及

来自宿主本身的危险信号而被激活, 启动机体免疫防御反应. PRRs包括被称为Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)的跨膜受体和被称为NLRs的胞浆内受体. 目前对于TLRs人们了解较多, 它可以识别细胞外或吞噬体内的细菌及病毒PAMP, 并诱导可引发免疫反应的信号通路激活. NLRs是近年发现的胞浆PRRs蛋白家族, 与TLRs不同, NLRs主要负责识别宿主细胞胞浆内的微生物PAMP^[9].

人类NLRs家族大概有23个成员(表1), 与植物R基因高度同源. NLRs分子结构如图1所示, 其C端为亮氨酸重复序列(LRRs), 是一个与TLRs胞外段相同约20~29个氨基酸残基序列的结构域. LRRs的可能功能是为病原或细胞内物质之间蛋白质-蛋白质或蛋白质-糖/脂的相互作用提供支架, 在许多具有分化功能的蛋白上均有, 在感受和识别PAMP或其他配体上发挥重要作用. NLRs分子中段为NLR各成员共有的特征性结构域, 称为NACHT, 它是仅存于NLRs家族成员中的一种结构域, NACHT的名称从以下相关分子缩写词前端1、2个字母拼接而来: NAIP(神经元凋亡抑制蛋

Table 1 The human NLRs family

表1 人类NLRs家族成员

NLRs	分子名称	其他命名方式	结构域组成
NALP	NALP1	DEFCAP; NAC; CARD7; CLR17.1	PYD-NACHT-NAD-LRR-FIIND-CARD
	NALP2	PYPAF2; NBS1; PAN1; CLR19.9	PYD-NACHT-NAD-LRR
	NALP3	PYPAF1; CIAS1; Cryopyrin; CLR1.1	PYD-NACHT-NAD-LRR
	NALP4	PYPAF4; PAN2; RNH2; CLR19.5	PYD-NACHT-NAD-LRR
	NALP5	PYPAF8; MATER, PAN11; CLR19.8	PYD-NACHT-NAD-LRR
	NALP6	PYPAF5; PAN3; CLR11.4	PYD-NACHT-NAD-LRR
	NALP7	PYPAF3; NOD12; PAN7; CLR19.4	PYD-NACHT-NAD-LRR
	NALP8	PAN4; NOD16; CLR19.2	PYD-NACHT-NAD-LRR
	NALP9	NOD6; PAN12; CLR19.1	PYD-NACHT-NAD-LRR
	NALP10	PAN5; NOD8; Pynod; CLR11.1	PYD-NACHT-NAD
	NALP11	PYPAF6; NOD17; PAN10; CLR19.6	PYD-NACHT-NAD-LRR
	NALP12	PYPAF7; Monarch1; RNO2; PAN6; CLR19.3	PYD-NACHT-NAD-LRR
	NALP13	NOD14; PAN13; CLR19.7	PYD-NACHT-NAD-LRR
	NALP14	NOD5; PAN8; CLR11.2	PYD-NACHT-NAD-LRR
Cardinal	TUCAN; CARD8; NDDP1	F II ND-CARD	
NOD	NOD1	CARD4; CLR7.1	CARD-NACHT-NAD-LRR
	NOD2	CARD15; IBD1, PSORAS1; CLR16.3	CARD2x-NACHT-NAD-LRR
	NOD3	CLR16.2	(CARD)-NACHT-NAD-LRR ^a
	NOD4	NOD27; CLR16.1	(CARD)-NACHT-NAD-LRR ^a
	NOD5	NOD9; CLR11.3	X-NACHT-NAD-LRR
C II TA	C II TA	MHC2TA, C2TA	(CARD)-NACHT-NAD-LRR
IPAF	IPAF	CARD12; CLAN; CLR2.1	CARD-NACHT-LRR
NAIP	NAIP	BIRC1; CLR5.1	BIR3x-NACHT-LRR

NOD3、NOD4各包含一个非典型CARD结构域.

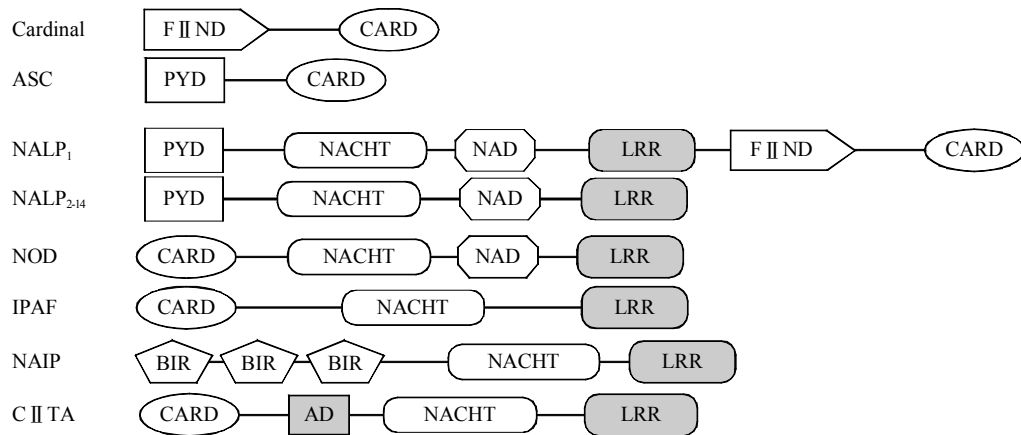


Fig. 1 Domain organization of NLRs

Modified from: Nat Rev Mol Cell Biol, 2003, 4: 95-104; TRENDS Immunol, 2005, 26: 447-454.

图 1 NLRs 结构域组成

NLR 分子有 3 种基本的结构域: LRRs 结构域, 主要负责探测和识别配体; NACHT 结构域; 效应结构域, 为 PYD、CARD 或者 BIR 结构域。(改编自: Nat Rev Mol Cell Biol, 2003, 4: 95-104; TRENDS Immunol, 2005, 26: 447-454)

白)、C II TA、HET-E 和 TPI。NACHT 区包括 7 个不同的基序, 其中有 ATP/GTP 酶获得性 P 环和 Mg^{2+} 结合区。NACHT 区与凋亡蛋白酶激活因子 (APAF-1) 的核酸结合区——称为核酸结合的 ARC 区(NB-ARC), 具有同源性。NLR 分子的 N 端为效应结构域, 主要由两种成分组成: 胱天蛋白酶招募结构域(caspase recruitment domain, CARD)或热蛋白结构域(pyrin domain, PYD), 功能是将 NLR 受体分子和下游衔接蛋白及效应分子连接起来。另外, 某些 NLR 分子的 LRR 区和 NACHT 区中间还可能有一个 NACHT 相关结构域 (NACHT-associated domain, NAD)。

依据 NACHT 的序列和功能, NLRs 家族可分为多个亚家族——NALP、C II TA、NOD、IPAF 和 NAIP。

1.1 NALP 亚家族

NALPs 包括 14 个成员, 是 NLRs 蛋白中的一大类亚家族。其 N 端含有一个 PYD 结构域, 比较特殊的是 NALP1 分子的 LRR 残基后还有一个附加区 F II ND(function to find, 功能未明)以及形成 C 端延伸的 CARD 结构域。NALP1 是家族中唯一一个具有 C 端 F II ND-CARD 结构的分子。有趣的是, 单独 F II ND-CARD 即可构成一个被称为 CARDINAL 的接头蛋白(图 1)。

1.2 NOD 亚家族

NOD 成员又称 NBS(nucleotide-binding site and leucine-rich repeat)或 CATERPILLAR 蛋白家族, 共

有 5 个成员, NOD1-NOD5, NOD1 和 NOD2 因为与凋亡调节子 APAF-1 有结构同源性而得到确认。NOD1-NOD4 分子 N 端含有 CARD 结构域, 而 NOD5 可能不存在 CARD 结构域。

1.3 CIITA 亚家族

含有 2 个 CARD 结构域和 1 个主要组织相容性复合体(MHC) II 类分子反式激活蛋白(class II transactivator, C II TA)的活化结构域(AD), C II TA 在 MHC II 类基因转录过程中充当一种共激活蛋白的作用。

1.4 IPAF 亚家族

IPAF 含有一个氨基端 CARD、一个中心 NACHT 和一个 C 端 LRRs, 但它缺少 NAD, 因此与 NOD1 和 NOD2 不同。据报道, IPAF 与 caspase-1 以及多种 CARD 蛋白有关, 还能激活 caspase-1 过度表达, 表明 IPAF-1 参与了炎症过程。

1.5 NAIP 亚家族

即使不具有 CARD 或 PYD 结构域, NAIP 也属于 NLRs 这一家族, 因为它的 NACHT 和 LRR 区具有高度的序列相似性。代替 CARD 和 PYD 的是 NALP 氨基端的 3 个被称为杆状病毒凋亡抑制重复序列 (baculovirus inhibitor of apoptosis protein repeat domain, BIR)的结构域, 它们能抑制 caspases 活性。

除上述成分外, 炎症复合体的构建还包括 2 个重要的接头蛋白 ASC、cardinal 及具有 PYD 结构域的热蛋白(pyrin)等。ASC 参与了 NALP1-3 炎症

复合体和 IPAF 炎症复合体的组成并在其中起着重要的促进作用^[10], 但它并不是 NALP1 炎症复合体的必要成分^[8]. ASC 蛋白分子包含 195 个氨基酸残基(图 1), 其 N 端含有热蛋白样结构域 (pyrin domain, PYD), C 端为 caspase 募集域 (caspase recruitment domain, CARD), 是许多参与凋亡信号转导蛋白的特征性结构. ASC 作为细胞内的一种重要连接蛋白, 其 CARD 结构域是效应结构域, 而 PYD 结构域则是寡聚结构域, 通过 caspase-1 活化途径中的上游信号分子来调节 CARD 结构域的寡聚状态, 在 caspase-1 信号途径中发挥活化因子作用. ASC 和 NALPs 之间的作用最初是在 NALP1 上发现的, 现在发现 NALP2、NALP3 和 NALP12 均存在, 不过其确切效应尚有待探讨.

2 炎症复合体的活化信号机制

caspase-1 的活化过程由炎症复合体控制, 因此必须严格调节炎症体的激活. NLRs 家族成员都具有一个 LRR 结构域, 该结构域似乎对 IPAF 有自主抑制功能, 除去该结构域的 NALP 和 IPAF 都以活性形式存在^[11]. 由此可推测 NALP 只有在应激细胞激活或释放的因子与其 LRRs 结构域结合后才会被活化, 并依次使得蛋白质结构打开、PYD 暴露、ASC 结合、caspase-1 激活和 IL-1 β 产生(图 2).

炎症复合体可感受细胞内多种微生物产物及代谢性应激, 各种信号的刺激均能引起 caspase-1 活化和 IL-1 β 分泌, 这些信号并非都激活同一种炎症

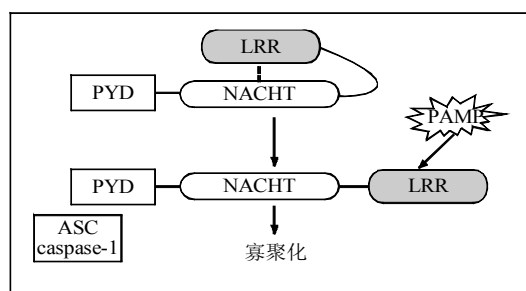


Fig. 2 Proposed mechanism of NLRs activation
Modified from: Nat Rev Mol Cell Biol, 2003, 4: 95-104;
TRENDS Immunol, 2005, 26: 447-454.

图 2 NLRs 活化的可能机制

改编自: Nat Rev Mol Cell Biol, 2003, 4: 95-104; TRENDS Immunol, 2005, 26: 447-454.

复合体(表 2). 不同病原体 PAMP 通过各炎症复合体激活 caspase-1 的具体途径有所不同, caspase-1 活化后引发的细胞效应亦不相同, 有时导致细胞因子分泌, 有时会使细胞死亡^[7, 12]. 而不同的激活途径也可产生共同的结果, 沙门菌感染和炭疽致死毒素两种刺激分别经 NALP1b 炎症复合体或 IPAF 炎症复合体活化 caspase-1, 不同的刺激活化机制汇聚于 caspase-1 激活并随之诱发细胞凋亡途径, 出现 DNA 裂解、细胞因子活化、细胞溶解, 触发巨噬细胞、树突状细胞 caspase-1 依赖性胞溶过程, 即“pyroptosis”^[13]. 炎症复合体感受各类刺激活化 caspase-1 诱导炎症反应与 pyroptosis 的调控机制目前仍有待进一步研究.

Table 2 Stimuli for inflammasomes activation

表 2 诱导炎症复合体活化的刺激信号

炎症复合体	信号种类
NALP3 炎症复合体	导致 K ⁺ 外流的试剂: ATP、P2X7 受体激活剂, 尼日利亚菌素(nigericin), 刺尾鱼毒素(maitotoxin), 金黄色葡萄球菌(<i>Staphylococcus aureus</i>), 单核细胞增生李斯特菌(<i>Listeria monocytogenes</i>) 导致痛风和假痛风(gout and pseudogout)的结晶: 尿酸钠(monosodium urate, MSU)和焦磷酸钙二水合物(calcium pyrophosphate dihydrate, CPPD) NALP3 的活化突变 细菌 RNA; R837 和 R848 胞壁酰二肽(muramyl dipeptide, MDP) 三硝基氯苯(trinitrophenylchloride, TNP)
NALP1 炎症复合体	炭疽致死毒素(anthrax lethal toxin, LT)
IPAF 炎症复合体	鼠伤寒沙门菌(<i>Salmonella typhimurium</i>), 弗氏志贺菌(<i>Shigella flexneri</i>) 嗜肺军团菌(<i>Legionella pneumophila</i>)
NALP2 炎症复合体	内源性配体有待进一步研究

目前已鉴定出多种不同的炎症复合体, 其中研究比较清楚的有 NALP1 炎症复合体和 NALP3 炎症复合体两种(图 3). NALP1 炎症复合体由 NALP1、ASC 和 pro-caspase-1/5 构成, NALP1/ASC/caspase-1/

caspase-5 在活化情况下组合成约 106 u 的复合物; NALP3 炎症复合体由 NALP3、ASC、pro-caspase-1 和 Cardinal 蛋白构成. 下面分别介绍各炎症复合体的作用与意义.

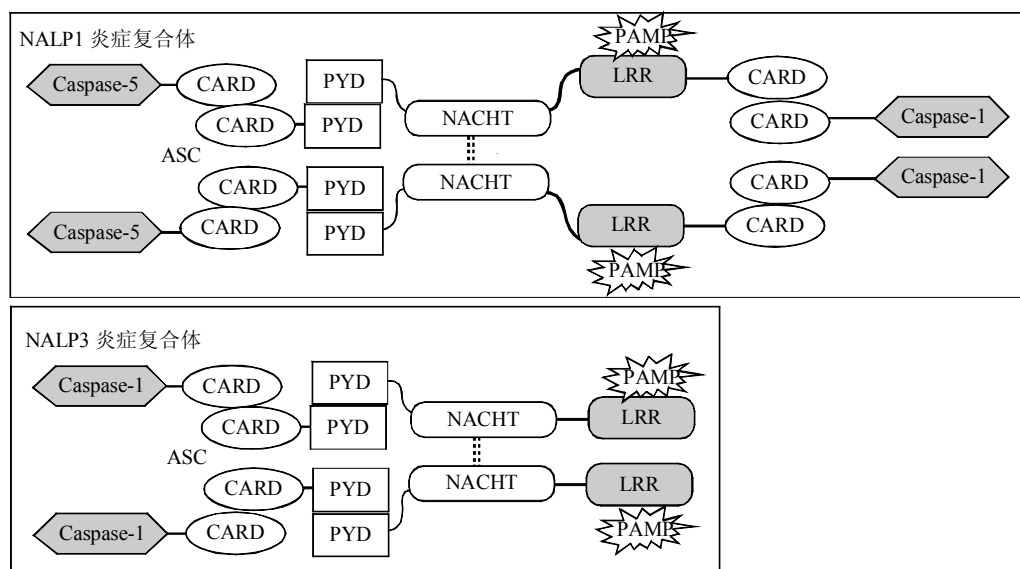


Fig. 3 Structure of the NALP1- and the NALP3-inflammasome

Modified from: Nat Rev Mol Cell Biol, 2003, 4: 95-104; TRENDS Immunol, 2005, 26: 447-454.

图 3 NALP1-和 NALP3-炎症复合体结构组成

改编自: Nat Rev Mol Cell Biol, 2003, 4: 95-104; TRENDS Immunol, 2005, 26: 447-454.

2.1 NALP1 炎症复合体

近期研究报道, Nalp1b 功能性等位基因可能是小鼠炭疽致死毒素(anthrax lethal toxin, LT)易感性的关键决定因子^[14]. 实验显示, LT 可快速杀死某些小鼠种系(如 129S1)来源的巨噬细胞, 而 C57BL/6J 巨噬细胞或其他同系繁殖的小鼠对 LT 具有天然耐受性^[12]. 对 LT 耐受小鼠进行基因转染, 导入 129S1 小鼠来源的 Nalp1b 易感等位基因, 小鼠对 LT 诱导的毒性敏感性则明显增强. 抑制 Nalp1b 的表达可使 LT 敏感性巨噬细胞对 LT 产生耐受. 另外, caspase-1 的活化只在 LT 敏感性巨噬细胞内被检测到, 且 caspase-1 缺失巨噬细胞即使存在敏感性 Nalp1b 基因, 它对 LT 诱导的细胞死亡也具有一定的抵抗力, 提示 Nalp1b 诱导的 caspase-1 活化在 LT 介导巨噬细胞杀伤效应中具有重要意义.

目前尚不清楚的问题是, 人类 NALP1 炎症复合体的其他组分如 ASC 的基因尚未检测到鼠类同源基因. 同时, 人类 NALP1 包含 CARD 和 pyrin 结构域, 可与 pro-caspase-1 直接结合来招募炎症复合体的其他组分活化 caspase-1, 而鼠类并不编码

CARDINAL, NALP1b 缺少 pyrin 结构域. Nalp1b 抗 LT 的作用机制以及 LT 与 NALP1b 相互作用而导致巨噬细胞死亡的关键分子结构目前尚未阐明.

2.2 NALP3 炎症复合体

NALP3 可识别多种病原体 PAMP 及内源性危险信号, 近年来的资料证实, LPS、类脂 A、脂磷壁酸、脂蛋白及 dsRNA 等活化 caspase-1 均依赖于 NALP3. 用 LPS 刺激 C3H/HeN 小鼠诱发炎症反应, 结果显示, LPS 刺激 3~48 h, 小鼠眼部组织 NALP3、ASC、caspase-1、IL-1 β 及 IL-18 等含量明显增加, 但未检测到 NALP1b 的表达, 提示 NALP3(而非 NALP1)炎症复合体参与了 LPS 诱导的眼部炎症反应^[15]. Mariathasan 等^[7]报道, 革兰阳性杆菌(*L. monocytogenes* 和 *S. aureus*)感染诱导 caspase-1 活化中特别需要 NALP3 炎症复合体的参与. 巨噬细胞胞内腺病毒 DNA 激活 caspase-1 诱导 pro-IL-1 β 的成熟亦依赖于 NALP3 炎症复合体、NALP3 及 ASC 基因缺失小鼠对腺病毒的自然免疫反应明显减弱^[16]. 研究表明, 胞外 ATP 刺激 P2X7 嘌呤受体引起胞内钾离子水平的突然降低是 NALP3 炎症复合体激活的重要机制. ATP 刺激

P2X7受体活化诱导K⁺选择性通道快速开放,随后活化的P2X7受体招募pannexin-1介导形成渐次开放的更大的膜通透孔.研究发现,pannexin-1对LPS诱导巨噬细胞中caspase-1的活化及IL-1 β 分泌非常重要^[17].另据报道,pannexin-1可介导TLR配体LPS向胞浆内的转运,在胞浆内被NALP3识别,通过一种不依赖TLR信号途径的方式激活caspase-1,引起IL-1 β 释放^[18].

NALP3还可识别尿酸单钠结晶^[19]及双水焦磷酸钙结晶^[20],在无ATP参与的情况下,活化caspase-1,促进IL-1 β 释放,诱发痛风及假痛风慢性关节炎的发生与发展^[9].

石棉和硅尘等空气污染物颗粒吸入后被肺组织巨噬细胞吞噬,吞噬过程中由NADPH氧化酶催化反应产生大量活性氧自由基,触发NLRP3炎症复合体活化可引起IL-1 β 大量分泌.NLRP3炎症复合体是识别这些致病性尘埃及诱发慢性炎症反应的关键所在,Nalp3^{-/-}小鼠吸入石棉后肺部炎症细胞浸润明显减弱,细胞因子产生也显著降低^[21].

2.3 IPAF炎症复合体

NLRs蛋白IPAF对感受胞内病原体如鼠伤寒沙门杆菌、嗜肺性军团菌诱发天然免疫系统反应非常重要.这些胞内病原体感染巨噬细胞可快速有效地引起caspase-1活化及细胞因子的释放,而Ipaf基因缺失的巨噬细胞感染上述病原体后则不产生应答反应.近来研究表明,鼠伤寒沙门杆菌及嗜肺性军团菌的鞭毛蛋白可被胞浆内IPAF识别,缺乏鞭毛的细菌其激活caspase-1的能力明显减弱,在没有细菌感染而直接进行重组纯化鞭毛蛋白的胞浆运输即可诱导IPAF依赖性caspase-1活化,提示鞭毛蛋白的胞浆运输可能是胞内病原菌诱导IPAF炎症复合体活化的重要因素及关键环节^[22-24].IPAF对胞内鞭毛蛋白的识别及其后caspase-1活化并未涉及鞭毛蛋白的胞外受体TLR5及核因子(NF)- κ B途径的活化.细菌鞭毛蛋白的胞内运输需要一种功能性细菌分泌系统(鼠伤寒沙门杆菌为III型分泌系统、嗜肺性军团菌IV型分泌系统),转运的具体分子机制尚不清楚.也有报道沙门菌诱导caspase-1活化需要ASC蛋白参与^[10].巨噬细胞感染铜绿假单胞菌所致caspase-1活化及IL-1 β 释放也依赖于Ipaf炎症复合体的激活,但并不涉及鞭毛蛋白的胞内运输^[25].很多其他病原菌鞭毛蛋白是否可被Ipaf或ASC识别以及识别后的效应机制等问题有待于进一步研究.

2.4 NALP2炎症复合体

NALP2又称PYPAF2或PAN1,Bruey等^[26]报道,NALP2可通过其pyrin结构域同参与caspase-1活化的接头蛋白ASC结合,Nalp2转染进入巨噬细胞后能与ASC协同促进caspase-1活化及IL-1 β 的分泌释放,采用RNAi技术降低单核细胞胞内NALP2表达水平则可明显减少LPS诱导IL-1 β 分泌.有资料证实,一组家族性基因组印记病(伯-韦综合征)患者染色体11p15.5存在Nalp2基因变异,但是该变异并未对患者造成任何免疫异常或自身免疫性疾病.很有可能,Nalp2在人类建立控制基因组印记中发挥着重要作用.尽管对人NALP2炎症复合体成分结构进行了体外分析,内源性NALP2炎症复合体活化的详细机制及相应配体有待进一步澄清.

3 炎症复合体活化的负调控

目前已经鉴定出多个炎症复合体的负调控子,它们能够阻断炎症复合体的装配和caspase-1的活化,干扰IL-1 β 形成蛋白质.根据结构差别大致可以分为两类^[27]:一类具有CARD结构域,包括拟白细胞介素转换酶(pseudo-interleukin-converting enzyme, Pseudo-ICE)、COP (CARD-only protein)、ICEBERG、INCA、caspase-12等.这些蛋白质是由单链CARD组成的,它们的CARD与caspase-1的CARD有高度同源性.通过CARD-CARD作用,它们就能够阻止caspase-1和ASC或IPAF之间的相互作用,从而负向调控IL-1 β 的产生.另一类具有PYD结构域,通过PYD-PYD相互作用,干扰了ASC和NALPs间的作用,这一类包括热蛋白、POP(PAAD/PYR IN-only protein)和病毒热蛋白(viral pyrin domain, vPYDs).蛋白酶抑制剂(PI)-9是另一个caspase-1抑制剂,如同ICEBERG一样由LPS、肿瘤坏死因子(TNF)- α 等诱导表达,可能是负反馈通路的一个部分,PI-9通过与caspase-1活性位点结合来抑制caspase-1活化.

4 炎症复合体活化与炎症反应

4.1 自身免疫性疾病、无菌性炎症、慢性炎症反应

炎症复合体活化在自身免疫性疾病、无菌性炎症、慢性炎症反应等病理过程中的作用及意义日益受到关注.据报道,先天性磷酸酶减少导致双水焦磷酸钙结晶在组织及关节部位聚集、急性痛风性关

节炎患者关节部位的尿酸单钠结晶沉积均通过激活 NALP3 炎症复合体, 诱发慢性关节炎的发生与发展, NALP3 炎症复合体在此过程中具有重要意义^[19-20]. 这些结晶颗粒还可与 LPS 协同作用, 促进 IL-1 β 的释放, 加重炎症反应. 石棉和硅尘等被吸入肺脏, 也可被 NLRP3 炎症复合体识别进而引起 caspase-1 活化和 IL-1 β 释放, 触发慢性炎症反应, 这是空气污染物颗粒造成肺部炎症、纤维化和肺部肿瘤发生的重要机制^[21]. 寄生于宿主巨噬细胞的结核分支杆菌可损害宿主天然及获得性免疫能力, 有研究显示, 结核菌 *zmp1* 基因编码产物(推测可能为 Zn²⁺ 依赖性金属蛋白酶)能抑制宿主巨噬细胞炎症复合体活化及促炎细胞因子 IL-1 β 的分泌. 缺失 *zmp1* 基因的结核菌感染巨噬细胞后则引起明显的炎症复合体活化, 导致 IL-1 β 分泌增加, 促进结核菌吞噬体的成熟, 巨噬细胞对结核菌的清除能力增强^[28].

NALP3 的编码基因突变与多种自身免疫性疾病密切相关, Muckle-wells 综合征(MWS)和家族性荨麻疹(FCU, 也称 FCAS)是两种相对的常染色体优势的状态. MWS 和 FCU/FCAS 被发现与染色体 1q44 位点相关, 这一位点正好位于 NALP3 的编码基因上. 此外, NALP3 的多个点突变也在 MWS 和 FCU/FCAS 中发现. 在慢性婴儿期皮肤关节综合征(CINCA)患者也证实 NACHT 区存在不同的突变^[4]. 值得注意的是, NALP3 的这些突变都集中在高度保守的 NACHT 区. 常染色体隐性家族性地中海高热(FMF), 是由于 *pyrin* 和 *marenstrin* 均有突变引起的. 有趣的是, *pyrin* 和 *marenstrin* 的氨基端 PYD 与 ASC 作用而可能抑制 caspase-1 激活. 此外, 有资料提示 Blau 综合征也是由 NOD2 的 NACHT 区——相当于 NALP3 的 R260W 突变引起的. 它是常染色体优势的疾病, 其特征为滑膜炎、关节皮肤肉芽肿以及颅神经障碍. 另据报道, NOD2 的突变可导致 Crohn 肠炎, 并观察到 NOD2 的 LRRs 发生了突变. 因此, 炎症小体信号通路上的任何一个突变都可能诱发 MWS、FMF 或 FCU/FCAS.

4.2 感染、脓毒症

脓毒症(sepsis)是严重烧(创)伤、感染、外科大手术应激后常见的并发症, 进一步发展可导致脓毒性休克、多器官功能障碍综合征, 是当前烧(创)伤外科面临的棘手难题, 已成为临床危重患者的重要死亡原因之一. 业已明确, 促炎细胞因子诱发的全

身性炎症反应是脓毒症发生、发展的重要机制, 其中 IL-1 β 是急性炎症反应的关键细胞因子之一. IL-1 β 可引起炎症反应, 更重要的是它能同时诱导其自身及 IL-6、IL-8、TNF- α 等多种促炎细胞因子和黏附分子、趋化因子的表达^[29-30]. 由于 IL-1 β 在炎症反应中具有如此重要的作用, 其分泌和释放过程受到高度控制. 以无活性前体形式合成的 pro-IL-1 β 必需经 caspase-1(即 IL-1 β 转化酶, ICE)酶切活化才能形成有生物活性的成熟 IL-1 β ^[31-32]. caspase-1 的活化是启动 IL-1 β 、IL-18、IL-33 等重要促炎细胞因子产生及分泌的关键步骤, 而 caspase-1 的活性又受到炎症复合体的精确调控^[4].

Fahy 等^[33]对脓毒性休克早期单核细胞 TLR、NOD-LRR 蛋白、细胞因子及 NF- κ B 相关基因 mRNA 表达进行检测, 发现 ASC、caspase-1、NALP1、NALP12 等炎症复合体相关分子的基因水平明显降低, NALP1 mRNA 水平与脓毒症患者存活率直接相关.

4.3 应激反应

研究表明, 妊娠分娩过程中细胞应激(cellular stress)与羊膜内感染一样都可诱导炎症复合体的显著激活^[34]. 在自发性未足月产妇中, 羊膜内感染及炎症使得孕妇羊水中 caspase-1 活性明显升高, 而在大部分足月产妇, 尽管并不伴有羊膜内感染和炎症反应, 但其羊水中 caspase-1 活性显著高于未临产孕妇.

4.4 干细胞移植、免疫佐剂开发

炎症复合体活化及其调节机制的研究对干细胞移植、免疫佐剂开发等具有重要意义, 通过对炎症复合体相关的 5 种基因 NLRP1、NLRP2、NLRP3、CARD8 和 CASP5 进行分析, 发现 NALP2、NALP3 基因变异可作为预后指示因素, 其基因类型对人类白细胞抗原相同同胞间异体干细胞移植后果具有重要影响^[35]. 佐剂是疫苗的辅助材料, 它本身不具有特异的抗原性, 但可刺激诱导免疫系统反应. 明矾佐剂通过激活 NALP3 炎症复合体诱导巨噬细胞和树突状细胞分泌 IL-1 β , NALP3 炎症复合体成分缺失的细胞中, 明矾佐剂对 IL-1 β 释放的诱导效应也消失. 机体对明矾-卵清蛋白的天然免疫反应亦需要 NALP3 炎症复合体的参与, NALP3 基因缺失小鼠早期 IL-1 β 的产生明显减少, 腹腔腔内炎症细胞浸润明显减轻; 对明矾-卵清蛋白的获得性细胞免疫反应是由单核/树突状细胞前体通过 NALP3 依赖途径诱导抗原特异性 T 细胞增殖来启动的^[36].

4.5 细胞保护与再生

Keller 等^[7]应用 iTRAQ 蛋白组学技术分析 caspase-1 活化对 pro-IL-1 α 、caspase-1、成纤维细胞生长因子-2 等无引导序列蛋白分泌的影响, 虽然 pro-IL-1 α 、成纤维细胞生长因子-2 并非 caspase-1 的底物, 但 caspase-1 活化可促进这些蛋白质的分泌, 它们在炎症反应、细胞保护及组织修复中具有重要作用. 这样, 应激诱导的 caspase-1 活化将炎症反应与细胞保护、细胞存活及再生程序直接联系起来.

5 结 语

NLRs 家族中多个成员参与构建炎症复合体, 诱导 caspase-1 活化, 在其中发挥了关键性作用. 但是这些 NLRs 及炎症复合体其他组分在细胞胞浆内的定位, 以及这些炎症复合体的感受器与病原微生物、代谢性应激刺激的具体识别机制等问题尚未明确, 甚至有些炎症复合体可识别的胞内配体仍未得到鉴定. 这些问题均有待深入研究, 对其阐明将有助于理解 caspase-1 活化及 IL-1 β 、IL-18 等炎症细胞因子释放的复杂机制, 为拓展炎症及感染性疾病的新干预途径提供理论依据.

参 考 文 献

- [1] Mariathasan S, Monack D M. Inflammasome adaptors and sensors: intracellular regulators of infection and inflammation. *Nat Rev Immunol*, 2007, **7**(1): 31–40
- [2] Watanabe H, Gehrke S, Contassot E, *et al.* Danger signaling through the inflammasome acts as a master switch between tolerance and sensitization. *J Immunol*, 2008, **180**(9): 5826–5832
- [3] Tschopp J, Martinon F, Burns K. NALPs: a novel p roteins family involved in inflammation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2003, **4**(2): 95–104
- [4] Feldmann J, Prieur A M, Quartier P, *et al.* Chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome is caused by mutations in CIAS1, a gene highly expressed in polymorphonuclear cells and chondrocytes. *Am J Hum Genet*, 2002, **71**(1): 198–203
- [5] Kanneganti T D, Ozoren N, Body-Malapel M, *et al.* Bacterial RNA and small antiviral compounds activate caspase-1 through cryopyrin/Nalp3. *Nature*, 2006, **440**(7081): 233–236
- [6] Martinon F, Petrilli V, Mayor A, *et al.* Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature*, 2006, **440**(7081): 237–241
- [7] Mariathasan S, Weiss D S, Newton K, *et al.* Cryopyrin activates the inflammasome in response to toxins and ATP. *Nature*, 2006, **440**(7081): 228–232
- [8] Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Mol Cell*, 2002, **10**(2): 417–426
- [9] Franchi L, McDonald C, Kanneganti T D, *et al.* Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors: intracellular pattern recognition molecules for pathogen detection and host defense. *J Immunol*, 2006, **177**(6): 3507–3513
- [10] Mariathasan S, Newton K, Monack D M, *et al.* Differential activation of the inflammasome by caspase-1 adaptors ASC and Ipaf. *Nature*, 2004, **430**(6996): 213–218
- [11] Poyet J L, Srinivasula S M, Thani M, *et al.* Identification of Ipaf, a human caspase-1 -activating protein related to Apaf-1. *J Biol Chem*, 2001, **276**(30): 28309–28313
- [12] Boyden E D, Dietrich W F. Nalp1b controls mouse macrophage susceptibility to anthrax lethal toxin. *Nat Genet*, 2006, **38**(2): 240–244
- [13] Fink S L, Bergsbaken T, Cookson B T. Anthrax lethal toxin and Salmonella elicit the common cell death pathway of caspase-1-dependent pyroptosis *via* distinct mechanisms. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, **105**(11): 4312–4317
- [14] Faustin B, Lartigue L, Bruey J M, *et al.* Reconstituted NALP1 inflammasome reveals two-step mechanism of caspase-1 activation. *Mol Cell*, 2007, **25**(5): 713–724
- [15] González-Bentéz J F, Juárez-Verdayes M A, Rodríguez-Martínez S, *et al.* The NALP3/Cryopyrin-inflammasome complex is expressed in LPS-induced ocular inflammation. *Mediators Inflamm*, 2008, **2008**: 614345
- [16] Muruve D A, Petrilli V, Zaiss A K, *et al.* The inflammasome recognizes cytosolic microbial and host DNA and triggers an innate immune response. *Nature*, 2008, **452**(7183): 103–107
- [17] Pelegrin P, Surprenant A. Pannexin-1 mediates large pore formation and interleukin-1 release by the ATP-gated P2X7 receptor. *EMBO J*, 2006, **25**(21): 5071–5082
- [18] Kanneganti T D, Lamkanfi M, Kim Y G, *et al.* Pannexin-1-mediated recognition of bacterial molecules activates the cryopyrin inflammasome independent of Toll-like receptor signaling. *Immunity*, 2007, **26**(4): 433–443
- [19] Giamarellos-Bourboulis E J, Moutkaroudi M, Bodar E, *et al.* Crystals of monosodium urate monohydrate enhance lipopolysaccharide-induced release of interleukin 1 beta by mononuclear cells through a caspase 1-mediated process. *Ann Rheum Dis*, 2009, **68**(2): 273–278
- [20] Beck C, Morbach H, Richl P, *et al.* How can calcium pyrophosphate crystals induce inflammation in hypophosphatasia or chronic inflammatory joint diseases?. *Rheumatol Int*, 2008, **29**(3): 229–238
- [21] Dostert C, Petrilli V, Van Bruggen R, *et al.* Innate immune activation through Nalp3 inflammasome sensing of asbestos and silica. *Science*, 2008, **320**(5876): 674–677
- [22] Amer A, Franchi L, Kanneganti T D, *et al.* Regulation of Legionella phagosome maturation and infection through flagellin and host Ipaf. *J Biol Chem*, 2006, **281**(46): 35217–35223
- [23] Franchi L, Amer A, Body-Malapel M, *et al.* Cytosolic flagellin requires Ipaf for activation of caspase-1 and interleukin 1 β in salmonella-infected macrophages. *Nat Immunol*, 2006, **7**(6): 576–582

- [24] Miao E A, Alpuche-Aranda C M, Dors M, *et al.* Cytoplasmic flagellin activates caspase-1 and secretion of interleukin 1 *via* Ipaf. *Nat Immunol*, 2006, **7**(6): 569–575
- [25] Sutterwala F S, Mijares L A, Li L, *et al.* Immune recognition of *Pseudomonas aeruginosa* mediated by the IPAF/NLRC4 inflammasome. *J Exp Med*, 2007, **204**(13): 3235–3245
- [26] Bruey J M, Bruey-Sedano N, Newman R, *et al.* PAN1/NALP2/PYPAF2, an inducible inflammatory mediator that regulates NF- κ B and caspase-1 activation in macrophages. *J Biol Chem*, 2004, **279**(50): 51897–51907
- [27] Martinon F, Tschopp J. Inflammatory caspases and inflammasomes: master switches of inflammation. *Cell Death Differ*, 2007, **14**(1): 10–22
- [28] Master S S, Rampini S K, Davis A S, *et al.* Mycobacterium tuberculosis prevents inflammasome activation. *Cell Host Microbe*, 2008, **3**(4): 224–232
- [29] Ikejima T, Okusawa S, Ghezzi P, *et al.* Interleukin-1 induces tumor necrosis factor (TNF) in human peripheral blood mononuclear cells *in vitro* and a circulating TNF-like activity in rabbits. *J Infect Dis*, 1990, **162**(1): 215–223
- [30] Shalaby M R, Waaga A, Aarden L, *et al.* Endotoxin, tumor necrosis factor-alpha and interleukin 1 induce interleukin 6 production *in vivo*. *Clin Immunol Immunopathol*, 1989, **53**(3): 488–498
- [31] Fantuzzi G, Dinarello C A. Interleukin-18 and interleukin-1 beta: two cytokine substrates for ICE(caspase-1). *J Clin Immunol*, 1999, **19**(1): 1–11
- [32] Dinarello C A. Interleukin-1 beta, interleukin-18, and the interleukin-1 beta converting enzyme. *Ann N Y Acad Sci*, 1998, **856**(1): 1–11
- [33] Fahy R J, Exline M C, Gavrillin M A, *et al.* Inflammasome mRNA expression in human monocytes during early septic shock. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, **177**(9): 983–988
- [34] Gotsch F, Romero R, Chaiworapongsa T, *et al.* Evidence of the involvement of caspase-1 under physiologic and pathologic cellular stress during human pregnancy: a link between the inflammasome and parturition. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2008, **21**(9): 605–616
- [35] Granell M, Urbano-Ispizua A, Pons A, *et al.* Common variants in NLRP2 and NLRP3 genes are strong prognostic factors for the outcome of HLA-identical sibling allogeneic stem cell transplantation. *Blood*, 2008, **112**(10): 4337–4342
- [36] Kool M, Pétrilli V, De Smedt T, *et al.* Cutting edge: alum adjuvant stimulates inflammatory dendritic cells through activation of the NALP3 inflammasome. *J Immunol*, 2008, **181**(6): 3755–3759
- [37] Keller M, Rüegg A, Werner S, *et al.* Active caspase-1 is a regulator of unconventional protein secretion. *Cell*, 2008, **132**(5): 818–831

Inflammasome and Inflammatory Response*

ZHU Xiao-Mei, YAO Yong-Ming**, SHENG Zhi-Yong

(Burns Institute, First Hospital Affiliated to the Chinese PLA General Hospital, Beijing 100048, China)

Abstract Inflammasome is a multiprotein complex and oligomeric platform that dimerizes and thereby activates cysteinyl aspartate-specific protease (caspase)-1. Caspase-1, also known as the interleukin (IL)-1 β -converting enzyme (ICE), is the prototypical member of the inflammatory caspases and involved in regulating maturation of IL-1 β , IL-18, and IL-33, key cytokines for the recruitment and engagement of inflammatory cells. Nucleotide-binding and oligomerization domain-like receptors (NLRs), which detect intracellular pathogens or other ‘alarms’, promote the assembly of inflammasome. Some evolutionary aspects and biochemical studies were reviewed, underlining the role of inflammasomes in infection as well as inflammatory diseases.

Key words inflammasome, cysteinyl aspartate-specific protease-1, interleukin-1 β , inflammation

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2009.00408

*This work was supported by grants from National Basic Research Program of China (2005CB522602), The National Natural Science Foundation of China (30672178, 30872683, 30800437) and Project of State Key Laboratory of Trauma, Burns, and Combined Injury (SKLKF200902).

**Corresponding author.

Tel: 86-10-66867394, E-mail: c_ff@sina.com

Received: July 8, 2009 Accepted: September 16, 2009