

· 综述 ·

Caspase 家族与固有免疫关系研究进展

余莹华, 徐志猛, 曾昊, 倪荣兴, 李萍*

(中国药科大学天然药物活性组分与药效国家重点实验室, 南京 210009)

摘要 Caspases 是一组存在于胞质溶胶中的结构上相关的半胱氨酸蛋白酶, 它们的一个重要共同点是活性位点都含有半胱氨酸, 并可特异性地断开天冬氨酸残基后的肽键。根据其功能特点, 该家族主要分为炎性 Caspases 和凋亡 Caspases。炎性 Caspases 包括 Caspase-1、Caspase-4/5/11 和 Caspase-12, 在固有免疫防御过程中发挥重要作用。凋亡相关的 Caspase-2/3/6/7/8/9/10 主要调控免疫沉默的细胞凋亡过程, 但近年来研究发现, Caspase-8 也可通过多种途径介导细胞和机体的免疫反应。越来越多研究表明, Caspases 在多种免疫相关疾病的发生发展进程中充当重要角色, 因此本文主要对 Caspases 家族中与固有免疫相关的 Caspase-1/4/5/11/8/12 的活性调控及免疫介导机制进行综述, 以期阐释 Caspases 与固有免疫的关系, 同时为多种疾病的治疗提供一定的科学依据和理论参考。

关键词 Caspase-1; Caspase-4/5/11; Caspase-8; Caspase-12; 固有免疫

中图分类号 R967 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2019)05-0622-09

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20190517

引用本文 余莹华, 徐志猛, 曾昊, 等. Caspase 家族与固有免疫关系研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2019, 50(5): 622-630.

Cite this article as: YU Yinghua, XU Zhimeng, ZENG Hao, et al. Advances in the study of relationship between Caspases and innate immunity[J]. J China Pharm Univ, 2019, 50(5): 622-630.

Advances in the study of relationship between Caspases and innate immunity

YU Yinghua, XU Zhimeng, ZENG Hao, NI Rongxing, LI Ping*

State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract Caspases are a group of structurally related cysteine proteases present in cytosol. One of their important common points is that the active sites contain cysteine and can specifically break the peptide bonds after the aspartic acid residues. Caspases are broadly divided into two groups based on their functions, including inflammatory Caspases and apoptotic Caspases. Inflammatory Caspases include Caspase-1, Caspase-4, Caspase-5, Caspase-11 and Caspase-12, which play important roles in the process of innate immune defense. Unlike inflammatory Caspases, apoptotic Caspases (2/3/6/7/8/9/10) initiate and execute an immunologically silent form of programmed cell death known as apoptosis. However, ongoing investigations have uncovered essential functions of Caspase-8 in the regulation of immunity in cells and organisms. Accumulated studies have shown that Caspases play important roles in the occurrence and development of various immunity-related diseases. In order to comprehensively elucidate the relationship between Caspases and innate immunity, and to provide some scientific basis and theoretical reference for the treatment of various diseases, this article reviews the regulation of activity and inflammation mechanism of innate immunity-related Caspase-1/4/5/11/8/12.

Key words Caspase-1; Caspase-4/5/11; Caspase-8; Caspase-12; innate immunity

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China and Macao Science and Technology Development Fund (No. 8181101169)

收稿日期 2019-08-20 * 通信作者 Tel: 13505142632 E-mail: liping2004@126.com

基金项目 国家自然科学基金与澳门科学技术发展基金共同资助合作项目 (No. 8181101169)

病原体相关分子模式 (PAMPs) 和受损或死亡细胞释放的损伤相关分子模式 (DAMPs) 可激活机体固有免疫系统,引发炎症反应。模式识别受体 (PRRs) 是机体固有免疫系统的重要组成部分,主要在白细胞的细胞膜或胞浆中表达,识别 PAMPs 和 DAMPs。目前已定义 5 个 PRR 家族,包括 TOLL 样受体 TLRs、RIG-I 样受体 RLRs、C 型凝集素受体 CLRs、核苷酸结合寡聚化域样受体 NLRs、黑色素瘤缺乏因子 2 样受体 ALRs,其中来自 NLRs 和 ALRs 家族的蛋白可形成炎症小体^[1]。炎症小体是 2002 年由 Martinon 等^[2] 共同命名的一种介导炎症 Caspase 激活的高相对分子质量蛋白复合物。Caspase-1 和 Caspase-4/5/11 可分别通过经典炎症小体和非经典炎症小体途径被激活^[2-3]。炎症 Caspases 另一成员 Caspase-12 主要定位在内质网^[4],但其免疫调控机制仍不明确,有待进一步研究。

与炎症 Caspases 不同,凋亡 Caspases 主要引发和执行免疫沉默的细胞程序性死亡-细胞凋亡。以往研究认为凋亡 Caspases 不参与固有免疫应答过程,但近年来研究发现 Caspase-8 除引发细胞凋亡外,在固有免疫的调控过程中也不可或缺,既可通过 NF-κB 等途径促进炎症反应的发生,也可通过抑制坏死性凋亡等途径抑制固有免疫应答^[4-5]。

本文主要总结该家族近年来与固有免疫相关的 Caspases-1/4/5/11/12 及 Caspase-8 的研究进

展,以期 Caspases 与固有免疫关系的进一步研究及相关疾病的临床治疗提供一些参考。

1 Caspase 家族的分类和结构

根据 Caspases 的功能,哺乳动物 Caspases 从广义上被分为两类:炎症 Caspases 和凋亡 Caspases。炎症 Caspases 包括 Caspase-1、Caspase-4、Caspase-5、Caspase-11 和 Caspase-12。其中人类基因组编码 Caspase-1、Caspase-4、Caspase-5、和 Caspase-12,小鼠基因组编码 Caspase-1、Caspase-11、Caspase-12,人源 Caspase-4/5 和鼠源 Caspase-11 是同源物。凋亡 Caspases 主要分为凋亡起始 Caspases 和凋亡效应 Caspases。起始 Caspases 包括 Caspase-2、Caspase-8、Caspase-9、Caspase-10,效应 Caspases 包括 Caspase-3、Caspase-6、Caspase-7。Caspases 最初被合成为非活性单体酶原,只有在适当的刺激下才能获得催化活性,其羧基端蛋白效应域由一个大亚基和一个小亚基组成。Caspase-1/2/4/5/9/11/12 还包含一个氨基末端 Caspase 激活和招募结构域 (CARD), Caspase-8/10 包含两个死亡效应域 (DED), Caspase-3/6/7 则只有一个较短的前体蛋白结构域。Caspase-12 有全长和缩短两种亚型,人类基因组既可编码有活性的全长亚型,也可编码无活性的缩短亚型,小鼠和大鼠基因组则只编码全长亚型^[4,6]。人和小鼠的 Caspases 的分类和结构如表 1 所示。

Table 1 Classification and structure of human and mouse Caspases^[4,6]

Classification	Caspases	Genomic location		Domain structure
		Human	Mouse	
Inflammatory	Caspase-1	11q23	9A1	CARD-L-S
	Caspase-4	11q22. 2-11q22. 3	Absent	CARD-L-S
	Caspase-5	11q22. 2-11q22. 3	Absent	CARD-L-S
	Caspase-11	Absent	9A1	CARD-L-S
	Caspase-12	11q22. 3	9A1	CARD-L-S
	Caspase-12 *	11q22. 3	Absent	CARD-L
Initiator	Caspase-2	7q34-7q35	6B2. 1	CARD-L-S
	Caspase-9	1p36. 21	4E1	CARD-L-S
	Caspase-8	2q33-2q34	1B	DED-DED-L-S
	Caspase-10	2q33-2q34	Absent	DED-DED-L-S
Effector	Caspase-3	4q34	8B1. 1	L-S
	Caspase-6	4q25	3H1	L-S
	Caspase-7	10q25	19D2	L-S
Other	Caspase-14	19p13. 1	10C1	L-S
	Caspase-16	16p13. 3	17A3. 3	L-S

2 Caspase-1 与固有免疫关系研究进展

Caspase-1 主要通过经典炎性小体途径被激活^[1]。经典炎性小体是由 NLRs 或 ALRs、凋亡相关斑点样蛋白 ASC、Caspase-1 三部分组成的多聚体复合物,通过调控 Caspase-1 活化介导 IL-1 β /

IL-18 的成熟释放和细胞焦亡^[7-8]。已有研究表明,NLRP1^[9]、NLRP2^[10]、NLRP3^[11]、NLRC4^[12-13]、NLRP6^[14-15]、NLRP9b^[16]、Pyrin^[17-18] 和 AIM2^[19]、IFI16^[20] 等参与体内外 Caspase-1 炎性小体的形成。这些经典炎性小体的激活剂及受体结构如表 2 所示。

Table 2 Activators and receptor structure of Caspase-1 inflammasome^[1]

Activator	Receptor	Structure
<i>Bacillus anthracis</i> toxin	NLRP1	N-PYD-NACHT-LRRs(6)-FIND-CARD-C
Extracellular ATP	NLRP2	N-PYD-NACHT-LRRs(8)-C
Extracellular ATP/crystals/Pore-forming toxins	NLRP3	N-PYD-NACHT-LRRs(9)-C
Flagellin	NLRC4	N-CARD-NACHT-LRRs(12)-C
Gut metabolites and lipoteichoic acid	NLRP6	N-PYD-NACHT-LRRs(5)-C
dsRNA (rotavirus)	NLRP9b	N-PYD-NACHT-LRRs(7)-C
dsDNA	AIM2	N-PYD-HIN200-C
dsDNA	IFI16	N-PYD-HIN200-HIN200-C
<i>C. difficile</i> toxins	Pyrin	N-PYD-(B-box or coli-coli)-PRY-SPRY-C

2.1 NLRP3 炎性小体

NLRP3 炎性小体是现阶段研究最广泛的一种经典炎症小体,由 NLRP3 受体、衔接蛋白 ASC、效应蛋白 Caspase-1 组装而成。其中 NLRP3 受体由核苷酸结合寡聚化结构域(NOD/NACHT)、亮氨酸重复序列(LRR)、热蛋白结构域(PYD)3 部分构成。该受体中央结构域 NACHT 含有 ATPase 活性,对核酸结合和自我寡聚化非常重要,LRR 作为高度保守的氨基酸序列,主要用于识别配体^[1,21]。衔接蛋白 ASC 含有 PYD 和 CARD 两个结构域,当 NLRP3 受到相应刺激被激活时,ASC 通过 PYD 结构域与 NLRP3 同型结合,同时通过 CARD 结构域招募并活化 Caspase-1,完成炎性小体组装和活化^[2]。NLRP3 的激活通常需要两个过程:预处理过程和活化过程。预处理过程主要通过 TLRs 激活 NF- κ B 信号通路,诱导 IL-1 β 、IL-18 等炎症因子及 NLRP3 炎性小体相关基因的表达^[22]。活化过程包括炎性小体的组装和 Caspase-1 的活化,主要由细胞外 ATP、淀粉样蛋白- β 、活性氧、二氧化硅、胆固醇晶体、病原微生物等活化信号介导^[1]。对 NLRP3 炎性小体进行体内外活性鉴定时,除了证明其相关基因表达上调外,更重要的是检测 Caspase-1、IL-1 β 、IL-18、GSDMD 剪切体等代表蛋白酶水解活性的指标及显微镜下可见的由 NLR、ASC、Caspase-1 3 部分寡聚化进行的炎性小体组装。

目前比较公认的 NLRP3 的激活机制主要有 3 种。(1)钾离子外流:多种活化信号激活 NLRP3 时均伴随钾离子外流,如细胞外 ATP 可激活 P2X7 嘌呤受体,诱导钾离子通道开放,导致胞内钾离子外流^[23]。钾离子外流后,丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 NEK7 可与亮氨酸重复序列 LRR 结合,从而激活 NLRP3 炎性小体^[24]。(2)线粒体事件:线粒体产生的活性氧可能通过与硫氧还蛋白相互作用蛋白(TXNIP)结合激活 NLRP3^[25]。泄露至胞内的线粒体 DNA 也可通过核酸转移酶(cGAS)-干扰素刺激基因(STING)途径激活 NLRP3 炎症小体^[26]。(3)溶酶体破裂:当较大颗粒的尿酸盐结晶或草酸盐结晶通过胞吞作用进入胞内时,可引起溶酶体破裂,组织蛋白酶释放到胞质中,导致 NLRP3 炎症小体活化^[1,27]。和识别限定配体的模式识别受体不同,NLRP3 炎性小体的主要功能是感知细胞或组织的稳态变化。

2.2 其他 NLR 炎性小体

2013 年,Minkiewicz 等^[10]发现人类星形胶质细胞可表达 NLRP2 炎性小体,该炎性小体可被 ATP 激活,诱导 Caspase-1 和 IL-1 β 剪切。NLRP2 可与嘌呤受体 P2X7 及 pannexin 1 通道结合,使用 P2X7 抑制剂丙苯酸及 pannexin 1 通道拮抗剂亮蓝 G 均可抑制 ATP 诱导的 NLRP2 炎性小体的激活。此项研究结果表明 NLRP2 是中枢神经系统炎症应答的一个重要组成部分,也许是中枢神经系统疾病

炎症治疗的一个潜在靶标。NLRC4 主要感知细菌的鞭毛蛋白(flagellin)和保守型Ⅲ型分泌系统(TSS)杆组件,正常情况下处于自抑制的静息状态,病原菌成分进入胞内时,可被另一类 NLR 蛋白 NAIP 亚家族蛋白识别并激活,活化的 NLRC4 发生自身寡聚化并招募 Caspase-1,形成炎症小体^[12]。革兰阳性菌产生的脂磷壁酸(LTA)可结合并激活 NLRP6 炎症小体。与 LTA 结合后,NLRP6 与 ASC 形成含有 Caspase-11 和 Caspase-1 的复合物,促进 IL-1 β /IL-18 成熟,加重感染^[15]。轮状病毒(*Rotavirus*)是幼儿患腹泻及肠胃炎的一个主要诱导因素,具有很高的传染性和潜在致命性。NLRP9b 在小肠上皮细胞中特异性表达并且可抑制轮状病毒 *Rotavirus* 感染。相关研究表明 NLRP9b 可通过解旋酶 DHX9 识别一些较短的双链 RNA,随后与 ASC 和 Caspase-1 形成炎症小体,杀死被 *Rotavirus* 感染的细胞,阻止进一步的感染^[16]。与 NLR 家族其他成员不同,NLRP1 含有 FIIND 结构域,且其可激活 C 端的 CARD 结构域。致死因子 LF 处理 NLRP1 后可水解其 N 端肽段,产生新的 N 末端。N 端水解后的 NLRP1 蛋白呈现不稳定性,可经蛋白酶体途径降解,游离出有活性的 C 端。这个活性片段包含 CARD 结构域和 FIIND 的 UPA 亚结构域,UPA-CARD 没有跟随其全长蛋白进入蛋白酶体,而是通过 CARD 募集 Caspase-1,实现炎症小体的组装与活化^[28-30]。

2.3 dsDNA 感知和 pyrin 炎症小体

2008 年在巨噬细胞中鉴定了一个可感知胞质 DNA 的炎症小体-AIM2 炎症小体。AIM2 由一个 HIN200 结构域和一个 PYD 结构域组成,可以非序列特异性的方式与双链 DNA 结合,随后招募 ASC 与 Caspase-1,完成炎症小体组装^[19]。胞质溶质细菌(包括分枝杆菌和图拉菌)和病毒(如牛痘病毒和巨细胞病毒)及辐照暴露、化疗和 HIV 天冬氨酸蛋白酶抑制剂治疗等诱导的内源性 dsDNA 均可被 AIM2 感知并激活炎症小体^[1,19]。干扰素诱导蛋白 16(IFI16)包含一个 PYD 结构域和两个 HIN200 结构域,可感知核内的 dsDNA。研究表明 IFI16 与 Kaposi 肉瘤相关疱疹病毒感染的病毒 DNA 结合,被激活后形成炎症小体复合物^[20]。2014 年,邵峰研究组^[17]发现 Pyrin 炎症小体可以先天免疫感知细菌的 Rho GTPases 修饰,且其结果证实 Pyrin 可响

应艰难梭状芽胞杆菌的主要毒力因子细胞毒素 TcdB 的 Rho 糖基化,从而介导 Caspase-1 炎症小体激活。研究人员随后也证明洋葱伯克霍尔德菌可通过使 switch-I 区域中的 Asn 41 脱酰胺化诱导 RHOA 失活,引发 Pyrin 炎症小体激活。2016 年,Xu 等^[18]进一步证明 RhoA 可激活丝氨酸/苏氨酸激酶 PKN1 和 PKN2,活化的 PKN1 和 PKN2 与 Pyrin 结合并磷酸化 Pyrin,磷酸化的 Pyrin 与 14-3-3 结合,14-3-3 在这里作为一个分子开关可抑制 Pyrin 炎症小体的活化。

3 Caspase-4/5/11 与固有免疫关系研究进展

近年来研究发现,Caspase-4/5/11 是脂多糖(LPS)的胞内受体,主要通过诱导细胞焦亡介导机体固有免疫应答^[31]。GSDMD 是细胞焦亡主要调控因子,被剪切后其氨基末端(GSDMD-NT)可插入细胞膜中引发细胞焦亡。GSDMD-NT 对哺乳动物内质膜小叶的磷脂酰肌醇磷酸盐、磷脂酸和磷脂酰丝氨酸以及线粒体内膜和细菌细胞壁中存在的心磷脂具有亲和力。这些特性使 GSDMD-NT 能够插入细菌或细胞膜并在其中产生小孔,从而在不影响细胞器和其他邻近细胞的情况下引发细胞焦亡,发挥抗菌效应^[1,32]。适度的细胞焦亡对机体有益,但过度的焦亡应答可造成机体器官损伤及死亡。近期研究表明,谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)可通过减少磷脂氢过氧化物负性调控 GSDMD,从而抑制过度的细胞焦亡^[31]。

革兰阴性菌可产生外膜囊泡(OMV),通过内吞作用将 LPS 传递到宿主细胞的胞质溶胶中^[33]。Caspase-4/5/11 由 CARD、P20、P10 三部分组成,其 CARD 结构域可与胞内 LPS 的脂质 A 部分直接作用,诱导 Caspase-4/5/11-LPS 复合物寡聚化,形成有活性的 Caspase-4/5/11 非经典炎症小体。活化的 Caspase-4/5/11 非经典炎症小体可在天冬氨酸 276 残基位点剪切 GSDMD,产生 GSDMD 的 N 端和 C 端结构,N 端结构寡聚化插入细胞膜中形成小孔,引发细胞焦亡^[34-35]。除此之外,活化的 Caspase-4/5/11 非经典炎症小体还可诱导 NLRP3 的组装与激活,随后引发进一步的细胞焦亡并诱导 IL-1 β 和 IL-18 的成熟与释放^[36]。有研究发现,GSDMD 的缺失可消除巨噬细胞中胞内 LPS 诱导的 NLRP3 的激活,这一现象可能主要由 GSDMD 孔

引发的钾离子外流介导^[31,36] (具体过程如图 1 所示)。2016 年 Zanon 等^[37] 发现树突状细胞中的氧化磷脂(oxPAPC)可在不介导细胞焦亡的情况下诱

导 Caspase-11 依赖的 IL-1 β 的释放。但也有研究表明 oxPAPC 可竞争性地抑制 LPS 与 Caspase-11 的结合及随后的炎症反应^[38]。

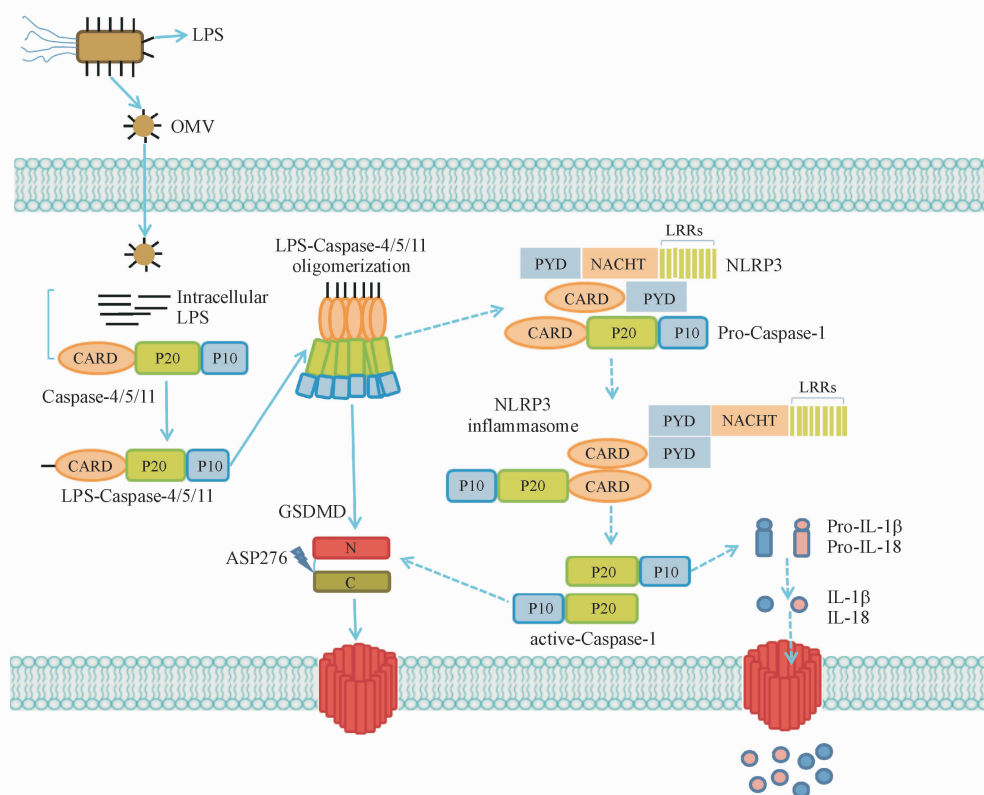


Figure 1 Mechanism of Caspase-4/5/11-mediated inflammation

4 Caspase-8 与固有免疫关系研究进展

越来越多研究表明 Caspase-8 在固有免疫的调控过程中发挥双重作用。既可通过诱导炎症基因的表达^[39]、剪切活化 IL-1 β ^[5]、诱导细胞焦亡^[40-41]等途径促进免疫反应进程,也可通过抑制炎症小体的激活^[42]、坏死性凋亡^[43]等途径抑制机体固有免疫反应。

4.1 Caspase-8 对炎症反应的促进作用

4.1.1 Caspase-8 促进 IL-1 β 的成熟和释放 近年来研究表明,除 Caspase-1 外,Caspase-8 也可通过其酶活性直接剪切 IL-1 β 前体,促进 IL-1 β 的成熟和释放(如图 2 所示)。2008 年,Maelfait 等^[44] 首次发现过表达 TLR3 和 TLR4 的一个共同衔接蛋白 TRIF 或用 Poly(I:C) 和 LPS 分别刺激 TLR3 和 TLR4 均可诱导 Caspase-8 在 ASP117 位点直接剪切活化 IL-1 β 。2015 年,Moriwaki 等^[45] 证明在 LPS 处理的 BMDCs 中,RIPK3 对 IL-1 β 的剪切活化至

关重要,并且需要 RIPK1、TRIF 和 FADD 参与。据报道,促凋亡的刺激可导致线粒体功能紊乱,诱导第二线粒体衍生的半胱天冬酶激活剂(SMAC)从线粒体释放。SMAC 可抑制凋亡抑制蛋白(IAPs),在巨噬细胞中敲除 IAPs 或使用 SMAC 类似物处理 IAPs 后,RIPK3 可被激活,介导 Caspase-8 和 Caspase-1 依赖的 IL-1 β 的活化^[4,46]。也有研究发现,在 LPS 处理的 BMDCs 中,内质网应激诱导剂可促进 Caspase-8 介导的 IL-1 β 的剪切成熟^[47]。FAS 与 FAS 配体(FasL)的结合是另外一条介导 Caspase-8 直接剪切活化 IL-1 β 的途径。在此途径中,衔接蛋白 FADD 招募 Caspase-8 与 Fas 结合,在成熟的 IL-1 β 的产生过程中发挥重要作用^[48-49]。在某些刺激下,Caspase-8 也可通过组装生物大分子介导 IL-1 β 的剪切。例如在人类树突状细胞识别某些真菌和分枝细菌感染时,Dectin-1 和它的衔接蛋白 SYK 可促进复合物 CARD9-BCL-10-MALT1 的形成,这个复合物一方面促进 IL-1 β 基因转录,

另一方面招募 ASC 和 Caspase-8, 形成非经典 Caspase-8 炎性小体, 剪切活化 IL-1 β ^[50]。此外, 也

有一些研究表明 Caspase-8 可通过激活 Caspase-1 炎性小体间接产生具有生物活性的 IL-1 β ^[51]。

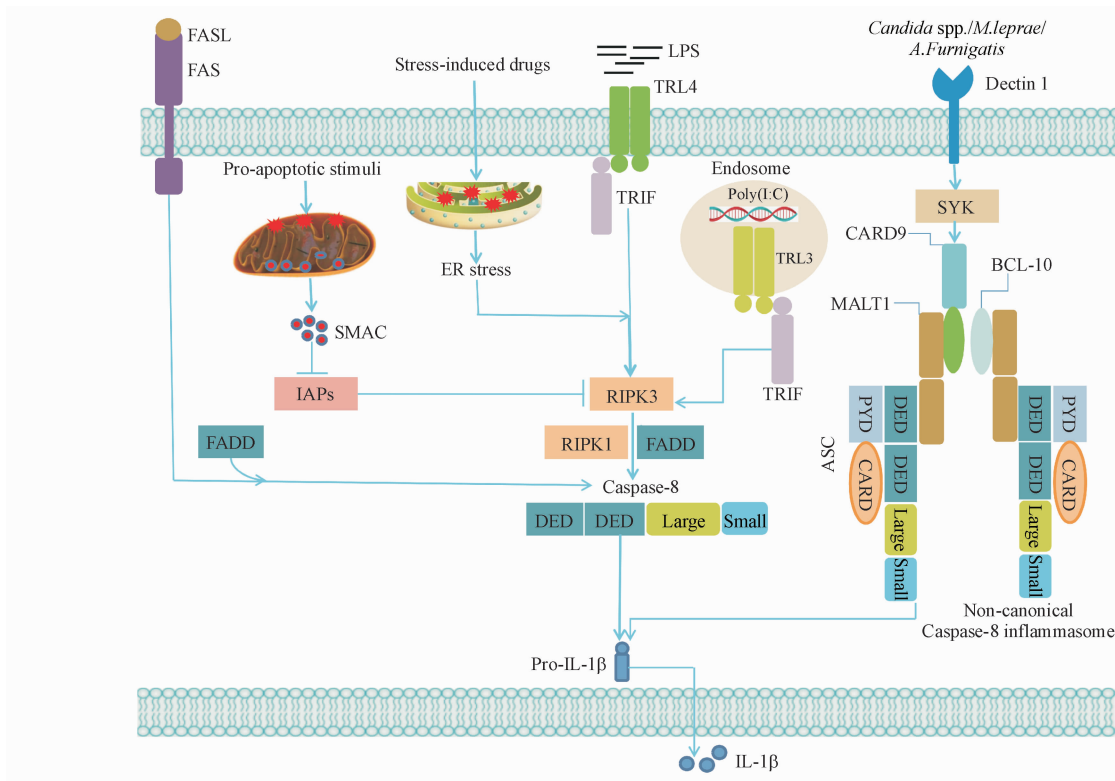


Figure 2 Pathways of Caspase-8 directly processing IL-1 β

4.1.2 Caspase-8 介导炎症基因表达和细胞焦亡

Alexandra 等^[39]发现 Caspase-8 可促进 c-Rel 依赖的炎症因子的表达。在 LPS 或 CpG 处理的骨髓来源巨噬细胞 (BMDM) 中, Caspase-8 可上调 I κ B 激酶 IKK 的磷酸化, 使得 I κ B ϵ 亚基被泛素化修饰, 随后被蛋白酶体降解, 解除对 c-Rel 的同源二聚体的抑制作用。之后 Caspase-8 可通过酶活性和支架功能共同促进 c-Rel 核转位, c-Rel 入核后, 被招募至 Caspase-8 依赖的基因启动子上, 启动 IL-1 β 、IL-1 α 、IL-12 β 等炎症基因的转录。该研究也发现 Caspase-8 对 P65 的核转位没有影响, 表明 Caspase-8 对 NF- κ B 家族成员的核转位调控仅限于 I κ B ϵ 。近期也有研究表明, 毒力蛋白 YopJ 通过抑制转化生长因子激酶 1 (TAK1) 活性活化受体相互作用蛋白激酶 RIP1 和 Caspase-8, 活化的 Caspase-8 可通过切割 GSDMD 引发细胞焦亡^[40-41]。

4.2 Caspase-8 对炎症反应的抑制作用

4.2.1 Caspase-8 抑制细胞坏死性凋亡 细胞坏死性凋亡 (necroptosis) 是近年来发现的一种程序

性细胞坏死。与凋亡不同, 坏死性凋亡的特征是细胞体积增大、细胞器肿胀、细胞膜穿孔、随后细胞崩解、释放内容物, 引发先天和适应性免疫应答。坏死性凋亡依赖于受体相互作用丝氨酸/苏氨酸激酶 RIPK1 和 RIPK3 对混合谱系激酶样蛋白 MLKL 的激活。在 TNFR1 配体诱导的坏死性凋亡中, 去泛素化的 RIPK1 与 RIPK3 的 RHIM 结构域同型结合, 诱导 RIPK3 的多聚化与激活, 进一步激活 MLKL。效应蛋白 MLKL 被激活后, 转位到细胞质膜上, 诱导细胞破裂及死亡^[52]。

已有研究表明, Caspase-8 在引发细胞凋亡的同时可抑制坏死性凋亡。与此密切相关的一个复合物由 Fas 相关死亡域蛋白 (FADD), Caspase-8 和 FLICE 样抑制蛋白 (cFLIP) 组成。cFLIP 是决定细胞命运的一个开关, 根据转录后 mRNA 的剪接, 以 cFLIP long (cFLIP_L) 和 cFLIP short (cFLIP_S) 两种形式存在。cFLIP_L 处于低水平状态时, Caspase-8 可自剪切活化, 引发细胞凋亡。同时去泛素化的 RIPK1 通过 FADD 的 DD 结构域

与 FADD-proCaspase-8-cFLIP_L 复合物同型结合, 并进一步通过 RHIM 结构域与 RIPK3 结合, 形成新的复合物。Caspase-8 可在多个位点剪切 RIPK1 和 RIPK3, 从而抑制 MLKL 活化及其介导的坏死性凋亡^[43]。

4.2.2 Caspase-8 抑制 NLRP3 炎症小体及 I 型干扰素信号 2013 年, Kang 等^[42]报道 Caspase-8 对 LPS 诱导的 NLRP3 炎症小体激活及 IL-1 β 产生的负性调控作用。与野生型对照组相比, Caspase-8^{-/-} 树突状细胞可产生更多 IL-1 β 。机制研究表明, LPS 诱导的 NLRP3 炎症小体的自发性激活依赖于 RIPK1 和 RIPK3。在 Caspase-8^{-/-} 树突状细胞中基因敲除 RIPK1 及使用 RIPK1 激酶抑制剂均可抑制 LPS 诱导的 IL-1 β 。SiRNA 沉默 MLKL 基因后, 也可减少 LPS 诱导的 Caspase-8^{-/-} 树突状细胞中 IL-1 β 的产生。这些研究结果表明 Caspase-8 可负性调控 RIPK1-RIPK3-MLKL 介导的 NLRP3 炎症小体的激活。

Andrew 等^[53]曾研究发现在小鼠基底表皮形成细胞中敲除 Caspase-8 或诱导表达无酶活性的 Caspase-8 均可引发慢性皮肤炎症。该研究表明由 Caspase-8 缺失诱发的炎症并不依赖于真皮巨噬细胞功能、TNF、IL-1 β 、TOLL 样受体 MyD88、TRIF 等途径。结果发现在 Caspase-8 敲除的角质细胞中, 干扰素调节因子 3 (IRF3) 和 TANK 结合激酶 1 (TBK1) 可持续磷酸化, 诱导表达更高水平的 IFN β 和 IFN 诱导蛋白, 基因敲除 IRF3 可逆转 Caspase-8 缺失诱发的炎症效应。

5 Caspase-12 与固有免疫关系研究

Caspase-12 属于炎症 Caspases 的一员, 在多种组织中均有表达^[4]。2006 年, Saleh 等^[54]报道 Caspase-12 是 Caspase-1 激活的一个主要负调节因子。作者通过在 HEK293T 细胞中过表达 Caspase-12, 发现无论全长还是无酶活性的 Caspase-12 均可抑制 Caspase-1 的激活和 IL-1 β /IL-18 的分泌。免疫共沉淀结果发现 Caspase-12 可在结构上与 Caspase-1 发生直接相互作用, 从而抑制 Caspase-1 蛋白酶活性。另外, 他们也证明在 LPS/Pam3CSK4/poly(I:C) 处理的 THP-1 细胞中过表达 Caspase-12 可抑制 ATP 诱导的 IL-1 β 的分泌。2016 年, Walle 等^[55]研究结果表明, 无

论是 Caspase-12 缺失的细胞还是小鼠均未增加 Caspase-1 的活化。另外 IL-1 β /IL-18 通过典型和非典型炎症小体途径的释放也没有因 Caspase-12 的缺失有所增强。这两项结果相悖的研究表明, Caspase-12 对炎症的具体调控作用仍有待进一步深入研究。

6 总结与展望

越来越多的研究揭示固有免疫相关的 Caspases 的活性调控及炎症介导机制。当细胞受到 DAMPs 和 PAMPs 等刺激时, NLRs 或 ALRs 与 ASC 及 Caspase-1 组装形成经典炎症小体, 激活 Caspase-1, 剪切活化 IL-1 β 、IL-18 和 GSDMD, 引发炎症反应和细胞焦亡。鼠源 Caspase-11 和人源 Caspase-4/5 是 LPS 的胞内受体, 与 LPS 结合后寡聚化激活, 引发 GSDMD 介导的细胞焦亡, 另一方面也可通过激活 NLRP3 炎症小体促进 IL-1 β /IL-18 的分泌。目前 Caspase-12 与固有免疫的关系仍未有统一的定论, 具体作用机制亟待进一步深入研究。以往认为炎症 Caspases 和凋亡 Caspases 分别调控炎症和凋亡, 但近年来研究发现这些 Caspases 也有一些除既定角色之外的功能。如, 凋亡 Caspase-8 除介导细胞凋亡外, 还可在固有免疫调控过程中扮演双重角色, 综合调控、平衡机体的免疫应答。

尽管目前已有较多关于 Caspase 家族成员与固有免疫关系的研究, 但还需更广泛更深入的探索以全面阐释二者的关系。如, (1) 凋亡 Caspases 除 Caspase-8 外, 其他成员与固有免疫的关系及作用机制鲜有报道, 有待研究。(2) 有研究表明 Caspases 成员之间存在调控关系, 如 Caspase-11 和 Caspase-8 可介导 Caspase-1 活化, 但具体机制不明确, 有待深入研究。(3) Caspase-12 虽属炎症 Caspases 成员, 但其免疫调控作用及机制均不明确, 有待进一步研究。(4) 在心肌梗死、脑卒中等心脑血管疾病的发生发展进程中, 因组织缺血缺氧往往伴随细胞坏死、坏死性凋亡、细胞焦亡、细胞凋亡等与 Caspases 相关的多种死亡方式。明确 Caspase 家族在该类疾病中的作用, 可为其临床治疗提供更有效的靶标和策略。(5) 天然产物对 Caspases 介导的固有免疫的调控及机制研究。

参考文献

- [1] Takanori K, Daniel AM. The role of inflammasomes in kidney disease [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2019. doi: 10. 1038/s41581-019-0158-z.
- [2] Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta [J]. *Molecular Cell*, 2002, **10** (2): 417-426.
- [3] Yi YS. Caspase-11 non-canonical inflammasome: a critical sensor of intracellular lipopolysaccharide in macrophage-mediated inflammatory responses [J]. *Immunology*, 2017, **152** (2): 207-217.
- [4] Man SM, Kanneganti TD. Converging roles of Caspases in inflammasome activation, cell death and innate immunity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, **16** (1): 7-21.
- [5] Gurung P, Kanneganti TD. Novel Roles for Caspase-8 in IL-1 β and Inflammasome Regulation [J]. *Am J Pathol*, 2015, **85** (1): 17-25.
- [6] Chen HH, Ning XH, Jiang ZF. Caspases control antiviral innate immunity [J]. *Cell Mol Immunol*, 2017, **14** (9): 736-747.
- [7] Winsor N, Krustev C, Bruce J, et al. Canonical and non-canonical inflammasomes in intestinal epithelial cells [J]. *Cell Microbiol*, 2019. doi:10. 1111/cmi. 13079.
- [8] He WT, Wan HQ, Hu LC, et al. Gasdermin D is an executor of pyroptosis and required for interleukin-1 β secretion [J]. *Cell Res*, 2015, **25** (12): 1285-1298.
- [9] Mitchell PS, Sandstrom A, Vance RE, et al. The NLRP1 inflammasome: new mechanistic insights and unresolved mysteries [J]. *Curr Opin Immunol*, 2019, **60**: 37-45.
- [10] Minkiewicz J, Vaccari JPD, Keane RW. Human astrocytes express a novel NLRP2 inflammasome [J]. *Glia*, 2013, **61** (7): 1113-1121.
- [11] Mangan MSJ, Olhava EJ, Roush WR. Targeting the NLRP3 inflammasome in inflammatory diseases [J]. *Nat Rev Drug Disco*, 2018, **17** (8): 588-606.
- [12] Zhao Y, Shao F. The NAIP-NLRC4 inflammasome in innate immune detection of bacterial flagellin and type III secretion apparatus [J]. *Nat Rev*, 2015, **265** (1): 85-102.
- [13] Hu ZH, Zhou Q, Zhang CL, et al. Structural and biochemical basis for induced self-propagation of NLRC4 [J]. *Science*, 2015, **350** (6259): 399-404.
- [14] Levy M, Thaïs CA, Zeevi D, et al. Microbiota-modulated metabolites shape the intestinal microenvironment by regulating NLRP6 inflammasome signaling [J]. *Cell*, 2015, **163** (6): 1428-1443.
- [15] 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.
- [16] Zhu S, Ding SY, Wang PH, et al. Nlrp9b inflammasome restricts rotavirus infection in intestinal epithelial cells [J]. *Nature*, 2017, **546** (7660): 667-670.
- [17] Park YH, Wood G, Kastner DL, et al. Pyrin inflammasome activation and RhoA signaling in the autoinflammatory diseases FMF and HIDS [J]. *Nat Immunol*, 2016, **17** (8): 914-921.
- [18] Xu H, Yang JL, Gao WQ, et al. Innate immune sensing of bacterial modifications of Rho GTPases by the Pyrin inflammasome [J]. *Nature*, 2014, **513** (7517): 237-241.
- [19] Lugrin J, Martinon F. The AIM2 inflammasome: Sensor of pathogens and cellular perturbations [J]. *Immunol Rev*, 2018, **281** (1): 99-114.
- [20] Kerur N, Veetil MV, Sharma-Walia N, et al. IFI16 acts as a nuclear pathogen sensor to induce the inflammasome in response to Kaposi Sarcoma-associated herpesvirus infection [J]. *Cell Host Microbe*, 2011, **9** (5): 363-375.
- [21] Elinav E, Strowig T, Henao-Mejia J, et al. Regulation of the anti-microbial response by NLR proteins [J]. *Immunity*, 2011, **34** (5): 665-679.
- [22] Cordero MD, Williams MR, Ryffel B. AMP-activated protein kinase regulation of the NLRP3 inflammasome during aging [J]. *Trends Endocrin Met*, 2018, **29** (1): 8-17.
- [23] Gong T, Yang YQ, Jin TC, et al. Orchestration of NLRP3 inflammasome activation by ion fluxes [J]. *Trends Immunol*, 2018, **39** (5): 393-406.
- [24] He Y, Zeng MY, Yang D, et al. NEK7 is an essential mediator of NLRP3 activation downstream of potassium efflux [J]. *Nature*, 2016, **530** (7590): 354-357.
- [25] Liu QY, Zhang DY, Hu DY, et al. The role of mitochondria in NLRP3 inflammasome activation [J]. *Mol Immunol*, 2018, **469**: 115-124.
- [26] Gaidt MM, Ebert TS, Chauhan D, et al. The DNA inflammasome in human myeloid cells is initiated by a STING-cell death program upstream of NLRP3 [J]. *Cell*, 2017, **171** (5): 1110-1124.
- [27] He Y, Hara H, Núñez G. Mechanism and regulation of NLRP3 inflammasome activation [J]. *Trends Biochem Sci*, 2016, **41** (12): S0968000416301487.
- [28] Levinsohn JL, Newman ZL, Hellmich KA, et al. Anthrax lethal factor cleavage of Nlrp1 is required for activation of the inflammasome [J]. *PLoS Pathog*, 2012, **8** (3): e002638.
- [29] 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.
- [30] Chui AJ, Okondo MC, Rao SD, et al. N-terminal degradation activates the NLRP1B inflammasome [J]. *Science*, 2019, **364** (6435): 82-85.
- [31] Rathinam VAK, Zhao Y, Shao F. Innate immunity to intracellular LPS [J]. *Nat Immunol*, 2019, **20**: 527-533.
- [32] 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.

- [33] Vanaja SK, Russo AJ, Behl B, *et al.* Bacterial outer membrane vesicles mediate cytosolic localization of LPS and Caspase-11 activation[J]. *Cell*, 2016, **165**(5):1106–1119.
- [34] Kayagaki N, Stowe IB, Lee BL, *et al.* Caspase-11 cleaves gasdermin D for non-canonical inflammasome signalling[J]. *Nature*, 2015, **526**(7575):666–671.
- [35] Ding JJ, Shao F. Snapshot: the noncanonical inflammasome[J]. *Cell*, 2017, **168**(3):544–544.
- [36] Ruehl S, Broz P. Caspase-11 activates a canonical NLRP3 inflammasome by promoting K^+ efflux[J]. *Eur J Immunol*, 2015, **45**(10):2927–2936.
- [37] Zanoni I, Tan YH, Di Gioia M, *et al.* An endogenous Caspase-11 ligand elicits interleukin-1 release from living dendritic cells[J]. *Science*, 2016, **352**(6290):1232–1236.
- [38] Chu LH, Indramohan M, Ratsimandresy RA, *et al.* The oxidized phospholipid oxPAPC protects from septic shock by targeting the non-canonical inflammasome in macrophages[J]. *Nat Commun*, 2018, **9**(1):996.
- [39] DeLaney AA, Berry CT, Christian DA, *et al.* Caspase-8 promotes c-Rel-dependent inflammatory cytokine expression and resistance against *Toxoplasma gondii*[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, **116**(24):11926–11935.
- [40] Orning P, Weng D, Starheim K, *et al.* Pathogen blockade of TAK1 triggers Caspase-8-dependent cleavage of gasdermin D and cell death[J]. *Science*, 2018, **362**(6418):1064–1069.
- [41] 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.
- [42] Kang TB, Yang SH, Toth B, *et al.* Caspase-8 blocks kinase RIPK3-mediated activation of the NLRP3 inflammasome[J]. *Immunity*, 2013, **38**(1):27–40.
- [43] Tummers B, Green DR. Caspase-8: regulating life and death[J]. *Immunol Rev*, 2017, **77**(1):76–89.
- [44] Maelfait J, Vercammen E, Janssens S, *et al.* Stimulation of Toll-like receptor 3 and 4 induces interleukin-1 β maturation by Caspase-8[J]. *J Exp Med*, 2008, **205**(9):1967–1973.
- [45] Moriawaki K, Bertin J, Gough PJ, *et al.* A RIPK3-Caspase 8 complex mediates atypical pro-IL-1 β processing[J]. *J Immunol*, 2015, **194**(4):1938–1944.
- [46] Vince JE, Wong WWL, Gentle I, *et al.* Inhibitor of apoptosis proteins limit RIP3 kinase-dependent interleukin-1 activation. [J]. *Immunity*, 2012, **36**(2):215–227.
- [47] Shenderov K, Riteau N, Yip R, *et al.* Cutting edge: endoplasmic reticulum stress licenses macrophages to produce mature IL-1 β in response to TLR4 stimulation through a Caspase-8 and TRIF-dependent pathway [J]. *J Immunol*, 2014, **192**(5):2029–2033.
- [48] Bossaller L, Chiang PI, Schmidt-Lauber C, *et al.* Cutting edge: FAS (CD95) mediates noncanonical IL-1 β and IL-18 maturation via Caspase-8 in an RIP3-independent manner[J]. *J Immunol*, 2012, **189**(12):5508–5512.
- [49] Uchiyama R, Yonehara S, Tsutsui H. Fas-mediated inflammatory response in *Listeria monocytogene* infection [J]. *J Immunol*, 2013, **190**(8):4245–4254.
- [50] Gringhuis SI, Kaptein TM, Wevers BA, *et al.* Dectin-1 is an extracellular pathogen sensor for the induction and processing of IL-1 β via a noncanonical Caspase-8 inflammasome[J]. *Nat Immunol*, 2012, **13**(3):246–254.
- [51] Philip NH, Dillon CP, Snyder AG, *et al.* Caspase-8 mediates Caspase-1 processing and innate immune defense in response to bacterial blockade of NF- κ B and MAPK signaling[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, **111**(20):7385–7390.
- [52] Pasparakis M, Vandenabeele P. Necroptosis and its role in inflammation[J]. *Nature*, 2015, **517**(7534):311–320.
- [53] Andrew K, Jin CK, Tae BK, *et al.* Caspase-8 deficiency in epidermal keratinocytes triggers an inflammatory skin disease[J]. *J Exp Med*, 2009, **206**(10):2161–2177.
- [54] Saleh M, Mathison JC, Wolinski MK, *et al.* Enhanced bacterial clearance and sepsis resistance in Caspase-12-deficient mice [J]. *Nature*, 2006, **440**(7087):1064–1068.
- [55] Walle LV, Fernandez DJ, Demon D, *et al.* Does Caspase-12 suppress inflammasome activation[J]. *Nature*, 2016, **534**(7605):E1–U15.