

细胞焦亡及其对脓毒症影响的研究进展

曾培歌 林志鸿

福建医科大学附属第一医院急诊科, 福建福州 350005

通信作者: 林志鸿, Email: fzlinzh@163.com

【摘要】 细胞焦亡在研究早期被认为是一种天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1 (caspase-1) 依赖的“细胞凋亡”形式。随着炎症小体通路的发现,“焦亡”又被认为是炎症性 caspase 依赖的细胞死亡的特殊炎症效应机制。但对“焦亡”及 Gasdermin (GSDM) 家族的进一步研究表明, GSDM-N 端结构域 (GSDM-NT) 是焦亡的主要执行者,但 GSDM-NT 在某些情况下并不需要炎症性 caspase 的活化。因此目前“焦亡”被定义为由炎症小体通路等方式介导,以 GSDM-NT 为主要执行者,引起膜通透性改变,细胞内容物释放,最终导致的溶解性细胞死亡。根据 GSDM 活化类型或方式、细胞类型不同以及 GSDM 孔是否被修复,而出现不同的炎症水平。GSDM 引起的焦亡在许多遗传性疾病、自身免疫性疾病以及癌症中起突出作用。现就细胞焦亡机制及 GSDM 家族的研究进展以及对脓毒症的影响进行综述。

【关键词】 细胞焦亡; 天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶; Gasdermin; 脓毒症

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2021.04.027

Research progress in pyroptosis and its effect on sepsis Zeng Peige, Lin Zhihong

Department of Emergency, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian, China

Corresponding author: Lin Zhihong, Email: fzlinzh@163.com

【Abstract】 Pyroptosis was identified as a form of cysteinyl aspartate specific proteinase 1 (caspase-1)-dependent form of "apoptosis" in the initial research. With the discovery of the inflammasome pathway, "Pyroptosis" was considered to be a special inflammatory effect mechanism of inflammatory caspase-dependent cell death. However, further studies on "pyroptosis" and the Gasdermin (GSDM) family have found that the GSDMs N-terminal domain (GSDM-NT) is the sole executor of pyroptosis, the activation of inflammatory caspase is not necessary for GSDM-NT in some cases. Therefore, in recent years, "pyroptosis" is redefined as inflammasome-dependent pathway, with GSDM-NT as the prominent executor, inducing changes in membrane permeability, releasing cell contents, and leading to lytic cell death ultimately. Pyroptosis can most likely result in different levels of inflammation, which depends on the type or pathway of GSDM activation, cell different types, and whether the GSDM pores are repaired or not. The pyroptosis caused by GSDMs plays a prominent role in many genetic diseases, autoimmune diseases and cancers. In this review, the research developments in the pyroptosis mechanism and the GSDMs family, as well as the pyroptosis impact on sepsis were discussed.

【Key words】 Pyroptosis; Caspase; Gasdermin; Sepsis

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2021.04.027

1992 年, Zychlinsky 等^[1]首次观察到福氏志贺菌感染可以诱导巨噬细胞发生伴有细胞膜破裂的炎症性“凋亡”。2000 年, Cookson 和 Brennan^[2]根据这种特殊类型“凋亡”的形态特征及其对天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1 (caspase-1) 严格且特异的需求,将这种新的程序性细胞死亡过程称为“焦亡”,以强调这种细胞死亡形式的促炎性质及其与释放成熟白细胞介素-1 β (IL-1 β) 和白细胞介素-18 (IL-18) 的联系。随后 20 年,多种体内外实验研究陆续表明,多种信号分子通过不同通路触发焦亡,且与 Gasdermin (GSDM) 家族之间存在密切关系。因此,现主要阐述目前细胞焦亡的研究进展以及 GSDM 家族在焦亡中的重要作用,并讨论细胞焦亡在脓毒症中扮演的重要角色。

1 经典炎症小体通路

1.1 caspase-1: caspase 是一类参与多细胞生物的程序性细胞死亡以及炎症发生的保守的半胱氨酸依赖天冬氨酸蛋白酶家族^[3]。caspase 在炎症、细胞增殖和细胞分化中起重要作用,是调控细胞死亡方式的中心环节,过去 30 年来的大量证据表明, caspase 激活失调是一种发生在肿瘤、自身免疫、炎症和感染性疾病中的因果机制^[4-9]。所有 caspase 都

被首先合成为酶原,由一个可变长度的氨基末端结构域和一个羧基末端蛋白酶结构域组成,其中含有底物识别和催化所必需的残基,活化后的 caspase 在特定天冬氨酸残基上处理其底物^[10]。根据参与的信号级联以及底物特异性,将其分为凋亡性和炎症性 caspase,炎症性 caspase 家族包括 caspase-1、人 caspase-4 和 caspase-5 以及小鼠 caspase-11 和 caspase-12,它们通过氨基末端 caspase 募集结构域 (CARD) 促进其在多蛋白复合物中的募集和激活。各种危险信号主要通过经典和非经典炎症小体两种通路启动 caspase 引发焦亡效应^[11-15]。

研究显示,炎症小体介导的 caspase-1 激活发生在细菌、病毒、真菌等病原体感染的巨噬细胞、树突状细胞等其他细胞中,是哺乳动物天然免疫的重要执行者^[12]。早期研究显示, caspase-1 能将 IL-1 β 和 IL-18 的非活性前体转化为成熟的炎性细胞因子,因此最初被称为 IL-1 β 转换酶 (ICE)^[16]。随后进一步研究表明, caspase-1 的激活不仅会引起炎性因子的产生,还会触发以质膜破裂和释放促炎细胞内容物为特征快速细胞死亡^[17]。

caspase-1 通过上游模式识别受体 (PRR) 识别因细胞死

亡、损伤或感染引起的细胞稳态改变或病原体相关分子模式(PAMP)、损伤相关分子模式(DAMP)^[18]以及凋亡相关斑点样蛋白(ASC)组成的复合物相互作用激活,进而介导细胞焦亡。根据位置不同,PRR分为膜连接和胞内识别受体,膜连接PRR包括Toll样受体(TLR)及C型凝集素受体(CLR),胞内PRR包括NOD样受体(NLR)、维甲酸诱导基因I样受体(RLR)及黑色素瘤缺乏因子2(AIM2)样受体(ALR)等^[18-19]。这些特异性受体通过炎症小体募集组装成包含CARD的ASC,也称为PYCARD。ASC中包含两个结构域,即Pyrin结构域(PYD)和CARD,通过同型或异型的PYD或CARD相互作用,ASC使上游PRR与caspase-1耦合^[20]。在此过程中,炎症小体复合物作为炎症性caspase募集和激活的支架起着不可或缺的作用。

1.2 炎症小体及炎症小体复合物:炎症小体复合物被认为是围绕NLR或HIN-200蛋白家族成员组装形成的胞内多蛋白异质复合物^[21-22]。目前发现至少5种有明确刺激因素、基因验证的炎症小体,它们通常以组装炎症小体的PRR命名, Van Opendenbosch和Lamkanfi^[23]区分了由细胞内核苷酸结合结构域的成员、富含亮氨酸的重复序列家族、HIN-200家族成员AIM2和三结构域蛋白(TRIM)家族成员Pyrin等组装形成的经典炎症小体。随着对炎症小体的深入研究,炎症小体家族不断扩大,除了研究较多的经典炎症小体,还发现了其他非经典炎症小体。

人NOD样受体蛋白1(NLRP1)是第1个被鉴定为炎症小体复合物的蛋白质,在小鼠体内有3种对应物(NLRP1a-c),其可被炭疽杆菌分泌的炭疽致死毒素激活,其他激活物还有弓形虫、胞质丝氨酸蛋白酶抑制剂(PT100)等^[24]。近期有学者认为,多种激活剂可能通过引起NLRP1b N端降解从而激活NLRP1b炎症小体^[22,25]。

NOD样受体蛋白3(NLRP3)是一种广谱的PAMP和DAMP传感器,NLRP3炎症小体是目前最具特征的炎症小体^[25]。经典NLRP3炎症小体活化可通过多种PAMP或DAMP诱导,包括病原体、微生物毒素、核酸、三磷酸腺苷(ATP)和结晶物质(如尿酸)等。多项研究表明,刺激物通过胞内离子通量改变(如钾离子外流、钙离子内流等)激活NLRP3^[22,26]。在NLRP3激活后,NLRP3寡聚化导致PYD结构域聚类并呈现与含有PYD和CARD的衔接子ASC的同型相互作用,其CARD结构域反过来募集caspase-1的CARD。同时,NLRP3炎症小体还可通过胞内脂多糖(LPS)与caspase-11结合激活,参与非经典炎症小体通路^[26-27]。

人和小鼠巨噬细胞中的NLR家族凋亡抑制蛋白(NAIP)-NLRC4炎症小体与自身炎症性疾病相关,可被鞭毛蛋白及Ⅲ型分泌系统蛋白活化。NLRC4炎症小体可以感知细菌毒力因子,并有助于宿主防御兼性细胞内病原体,如伤寒沙门菌、福氏志贺菌、铜绿假单胞菌等^[28-29]。活化的NLRC4可通过依赖ASC及非依赖ASC两种方式激活caspase-1,NLRC4非依赖ASC方式使得焦亡发生快于NLRP3和AIM2^[30]。

AIM2是一种胞质受体,HIN-200PRR的胞质成员,可

检测到微生物或宿主来源的双链DNA(dsDNA)。Man等^[31]证明干扰素诱导的鸟苷酸结合蛋白(GBP)家族的鸟苷三磷酸酶(GTPase)是激活由土拉热杆菌和其他细菌病原体触发的AIM2炎症小体的关键。另外,当宿主出现由全身照射引起的胃肠道综合征及造血功能衰竭时,AIM2炎症小体也会引起对自身基因组dsDNA断裂的有害炎症反应^[32]。

Pyrin是一种PRR组成因子,可与炎症小体适配器ASC结合,形成caspase-1激活复合物,还参与调节IL-1 β 的处理过程^[33]。Pyrin编码基因MEFV的突变可引起一种称为家族性地中海热的人类自身炎症性疾病^[34],Pyrin可间接受到细菌毒素的活性,检测到微生物病原体,而引起RhoAGTPase的失活^[35]。尽管Pyrin在免疫和疾病中起重要作用,但其生理功能尚不明确。在体外实验中,Pyrin通过氨基末端的Pyrin结构域与ASC相互作用,促进caspase-1激活^[35]。

炎症小体复合物受相应刺激活化后,随即募集ASC,后者通过复杂的信号过程产生级联效应,到达亚细胞位置,即“ASC斑点”^[36],其支持炎症小体处局部高浓度的caspase-1前体二聚体化,通过同型或异型的PYD或CARD相互作用,驱动caspase-1自处理和激活^[23]。NLRP1 β 和NLRC4在其羧基和氨基末端分别含有一个CARD(与AIM2和NLRP3不同,它们含有Pyrin结构域),因此在过表达时可以直接与caspase-1相互作用,而不需要ASC^[12]。caspase-1激活后切割GSDMD的链接区,产生有细胞毒性的31000的N端GSDMD-NT片段,启动焦亡,最终导致电解质、细胞因子及DAMPs等细胞内容物溢出。

2 非经典炎症小体通路

焦亡在早期研究中被认为是一种依赖于caspase-1的细胞死亡,由经典炎症小体激活的caspase-1通路被认为在天然免疫应答过程中是必不可少的。但2011年,Kayagaki等^[27]发现,LPS引起caspase-11活化切割GSDMD诱导的焦亡并不依赖caspase-1通路,由此“焦亡”的概念被重新定义。

2.1 LPS直接与caspase-11结合:小鼠caspase-11以及人类caspase-4和caspase-5介导非经典炎症小体通路信号可被细胞内细菌LPS和霍乱毒素B(CTB)激活^[27,37]。早期实验表明,大肠杆菌LPS中的脂质A可激活TLR4,并认为TLR4在细胞对LPS的反应中起核心作用。但近期研究表明,TLR5和NLRC4都可感受到胞内LPS,因此TLR4在LPS触发的非经典炎症通路中不是必要的^[37]。进一步研究显示,与LPS结合蛋白[如CD14、TLR4、髓质分化蛋白2(MD2)和脂多糖结合蛋白(LBP)]相比,LPS-caspase-4/11具有更高的结合亲和性,脂质A可以直接与caspase-11CARD结构域结合^[38]。LPS与caspase-4/11特异性结合后,诱导炎症性caspase自我切割并活化^[39]。

2.2 caspase-11触发非经典炎症小体依赖的caspase-1激活:早期研究将caspase-11描述为caspase-1复合物的关键成分,但2011年Kayagaki等^[27]发现与caspase-1依赖的经典炎症小体通路不同的caspase-11非经典炎症小体途径,后者不仅能够触发焦亡,同时还能协调caspase-1依赖的非经典炎症小体焦亡通路,并认为激活NLRP3-ASC-caspase-1轴

可能在体内只起到放大炎症反应,引起 IL-1 β 等非活性炎症因子成熟的作用,而导致致死性脓毒性休克的主要原因可能是由 caspase-11 介导的焦亡引起。Rühl 和 Broz^[26]以及 Kayagaki 等^[40]后来证实细胞内 LPS 诱导的非经典 caspase-1 激活需要 NLRP3 和 ASC 适配器的组装,caspase-11 在 NLRP3 活化的上游起作用,并控制 NLRP3-ASC (ASC 斑点)的组装。进一步的研究表明,LPS 转染的 caspase-11 激活可导致细胞内钾离子水平下降,这对于 NLRP3 的活化是必需的,非经典炎症小体 NLRP3-ASC-caspase-1 轴的激活与否并不影响细胞焦亡的过程,即 caspase-11 诱导的 GSDMD 激活触发了两种细胞内在信号,包括诱导焦亡和 NLRP3 依赖的 caspase-1 活化,并认为这两种信号可能并不同时发生在同一细胞中^[40]。相反,Rühl 和 Broz^[26]认为活性 caspase-11 以细胞内的方式触发典型的 NLRP3 通路,与相邻细胞释放危险信号或细胞因子无关。

2.3 炎症性 caspase 切割 GSDMD:2015 年,Kayagaki 等^[40]及 Shi 等^[41]两组研究团队同时发现炎症性 caspase 切割 GSDMD 触发焦亡,并由 Lee 等^[39]证实了该结论,即骨髓来源的巨噬细胞(BMDM)中 pro-caspase-11 在细胞内 LPS 刺激下被处理为 caspase-11 p26 片段,引起活化的 caspase-11 在全长的 GSDMD Asp285 位点上切割产生活性片段,Asp276 是 GSDMD 的生理非重复切割位点,而在该位点的切割是引发焦亡的最终触发因素。并验证了额外的蛋白水解步骤(caspase-11 自处理)先于 GSDMD 切割,这种自解步骤对于所有下游事件都是必不可少的,包括 GSDMD 激活、IL-1 β 和 IL-18 释放以及致死性脓毒症诱导,从而完善了非典型炎症激活模型^[42]。

3 GSDM 家族与焦亡

2000 年,Saeki 等^[43]在一项关于原癌基因的研究中,分离了一种新的在小鼠胃肠道和皮肤上皮中表达的独特基因,将其命名为“Gasdermin”。早期研究显示,GSDM 家族相关基因与人类常染色体显性、非间隔性听力损失有关。基于这一同源性,随后发现了其他 GSDM 家族成员和 GSDM 样蛋白。目前该家族由人类的 6 个同源基因组成,包括 GSDMA、GSDMB、GSDMC、GSDMD、GSDME (即 DFNA5) 和 PJVK (即 DFNB59)。与人类不同,啮齿类动物缺乏 GSDMB,但有 3 种 GSDMA (GSDMA1-3) 和 4 种 GSDMC (GSDMC1-4)^[41,44]。早期 GSDM 家族确切的生物学功能一直不明确,直至 2015 年,有学者发现,炎症性 caspase 切割 GSDMD 产生的毒性片段 GSDMD-NT 是细胞焦亡的唯一执行者^[40-41],由此开始广泛研究 GSDM 家族在炎症及细胞死亡等方面的功能。

3.1 GSDM 的自抑制作用:GSDM 家族共有 45% 的整体序列同源性。GSDMD 在人和小鼠体内基因序列保守,序列相似性为 72%^[41]。除 PJVK 外,所有 GSDM 家族成员均为双结构域结构,即具有成孔细胞毒性的氨基末端片段[GSDM-N 端结构域(GSDM-NT)]的相对分子质量为 31 000 的结构域(P30 片段)和抑制性羧基末端片段[GSDM-C 端结构域(GSDM-CT)]的相对分子质量为 22 000 的结构域(P20 片段),两者由一个无序的结构域间连接体连接^[45]。炎

症性 caspase 在其 N 端和 C 端结构域之间切割,这种裂解释放了 GSDM-CT 对 GSDM-NT 的自抑制作用^[41]。

GSDM 家族的自抑制两结构域的结构基因为保守序列,炎症性 caspase 在 272FLTD275 (或 273LLSD276)序列后特异性切割 GSDMD,蛋白水解产生 GSDMD-NT 片段,从而解除由 GSDM-CT 掩盖 GSDM-NT 的关键位点,该切割位点的突变可以完全抵抗焦亡^[41],因此,蛋白水解是目前已知 GSDM 激活的唯一方式。其他 GSDM 家族成员没有 FLTD 基因序列,因此不被炎症性 caspase 切割,而是通过某些突变或其他蛋白水解酶对自身抑制域间相互作用的破坏触发 GSDM 激活,如在某些生理情况下,磷酸化或翻译后修饰也可引起 GSDM 激活^[44],这提示 GSDM-CT 结构域本身的存在不干扰膜孔的形成。

3.2 GSDM 膜孔形成机制:2016 年首次明确了 GSDMA3 孔的结构,发现 GSDM-NT 的膜破坏与其脂质结合的特性密切相关,并确定了 GSDM-NT 在细胞膜的靶向定位^[45]。整个 GSDM 家族具有共同的膜靶向机制,其中 GSDMD-NT 更易结合酸性磷脂,如磷酸肌醇和心磷脂,但也能弱结合磷脂酸和磷脂酰丝氨酸,这使得 GSDM-NT 可在哺乳动物细胞膜或细菌细胞膜的细胞内小叶中的酸性脂质结合成孔。Ding 等^[45]在体外通过负染色电镜观察到大多数 GSDM 孔的内径为 10~14 nm,含有 16 个对称原聚体,而 GSDMD 孔有更大的变异性,内径范围为 10~20 nm。同时还确定 GSDM 家族是新的成孔蛋白(PFP)家族之一,但与其他 PFP 不同的是,GSDM 从细胞内引起细胞死亡,而在细胞外不发生细胞裂解。

2018 年,Ruan 等^[46]首次在冷冻电镜下用氯化汞标记半胱氨酸残基,记录了 GSDMA3 孔的形成过程。GSDMA3-NT 与自抑制状态相比,在成孔时构象发生了根本性的变化,这是通过 NT 结构域与膜磷脂结合触发的。GSDMA3-NT 结构域形成一种扩展的扭曲 β 片层,侧面的几个螺旋结构则构成了一种新的球状折叠,高分辨率下的 GSDMA3 孔主要由 27 个(共 108 个长 β 链)对称原聚体组成的反向平行的 β 桶结构域以及由 α -螺旋和 β -片层组成的球状结构组成,这种结构可能更类似于体内细胞膜上的孔隙结构^[46]。

3.3 GSDM 孔的作用及影响:细胞膜孔形成以及膜损伤不是焦亡的终末事件,细胞是否从亚溶解阶段(GSDMD 孔短暂聚集)向溶解阶段(GSDMD 孔引起膜的完整性完全破坏)转化依赖活化信号的强弱、GSDMD 表达以及激活水平、细胞类型和膜修复机制的激活^[47]。

GSDMD 孔的主要功能可能不是引起细胞溶解。这些孔是非选择性的,研究显示,在未检测到细胞裂解的情况下,GSDMD 孔允许离子流动以及成熟 IL-1 β 、IL-18 和其他小分子蛋白通过。细胞内外离子变化对细胞通路信号有巨大影响,细胞内钾离子外流引起非经典炎症小体通路的 NLRP3-caspase-1 轴激活,进而引起 IL-1 β 释放,放大炎症反应^[40-41,48],同时细胞外高钾又可以通过降低 ASC 寡聚以及细胞因子释放来抑制细胞焦亡和炎症扩大^[26]。IL-1 β 和 IL-18 是 caspase-1 在经典炎症小体途径中的关键底物,生理状态下作为功能不活跃的蛋白质产生并储存在胞质中,由于

活化的 IL-1 β 和 IL-18 缺乏将其导向高尔基体的氨基酸序列,而被称作“无领导蛋白”,可以通过非常规的分泌机制释放^[49],大量研究表明,IL-1 β 可以被胞膜完整的细胞分泌,在此过程中需要 GSDMD 孔作为通道,因此亚溶解 GSDMD 孔可能是无领导细胞因子非常规的直接释放方式。乳酸脱氢酶(LDH)释放需要细胞裂解,因此可以量化细胞裂解的程度,提示焦亡发生^[42,45,50-51]。

最终,GSDM-NT 激活水平增加,GSDM 孔克服调节机制导致细胞焦亡,出现广泛膜泡,细胞内外离子梯度消失,由此产生以净渗透压增加、水内流、细胞肿胀、渗透溶解并释放大量促炎因子为特征的形态表现^[17],但导致细胞溶解的详细过程仍不清楚。焦亡同时也会引起 DNA 断裂,染色质缩合,核膜也在焦亡过程中呈现出更圆润的形态,但仍会维持细胞核的完整性^[52-54]。另外,在经典和非经典炎症小体介导的焦亡中都可观察到线粒体损伤^[52,55],提示 GSDMD 除了影响质膜外,还可能影响一些细胞膜结合的细胞器^[45,56],导致即使在高效的膜修复机制下仍不能阻止细胞死亡。

4 细胞焦亡与脓毒症

任何细胞死亡模式都具有破坏病原体复制并将其暴露于免疫系统的能力。细胞焦亡后释放大量的细胞内容物,包括可以招募吞噬细胞的“找到我”和“吃掉我”的信号,从而使细胞碎片被胞葬作用移除。胞葬作用一般可分为 4 个步骤:①死亡细胞释放“发现我”信号以招募吞噬细胞;②吞噬细胞识别和参与死亡细胞上的“吃掉我”信号;③细胞碎片的吞噬;④对吞噬细胞碎片的处理、降解和免疫反应^[57]。这 4 个步骤中的任何一个缺陷都可能导致不必要的炎症反应和自身免疫性疾病^[58]。

死亡细胞释放大量的促炎因子引起全身性炎症级联放大反应,进而出现致死性的脓毒性休克。严重脓毒症总是伴随高内毒素血症,而内毒素血症引起的致死性在很大程度上取决于 caspase-11 的激活^[27,37,40]。高迁移率族蛋白 1(HMGB1)对 caspase-11 依赖的焦亡、致命性的内毒素血症以及细菌性脓毒症是必不可少的^[40,48],肝细胞是内毒素血症和细菌性脓毒症 HMGB1 的主要来源。临床研究显示,在脓毒性休克患者体内存在针对 HMGB1 的蛋白水解抗体^[59]。Deng 等^[48]研究显示,在急性脓毒性休克小鼠模型中,肝细胞释放 HMGB1 结合 LPS,并通过晚期糖基化终末产物受体(RAGE)将其内化到巨噬细胞和内皮细胞的溶酶体中,介导 LPS 向胞质易位并引起溶酶体破裂,导致 LPS 与 caspase-11 相互作用,诱导焦亡以及肿瘤坏死因子(TNF)产生,引起致死性的内毒素血症。机体整体缺失 Casp11 或 Ager 基因,或肝细胞特异性缺失 HMGB1,可显著提高脓毒症模型小鼠的存活率^[48]。相反,髓系细胞来源的 HMGB1 缺乏被证明会增加细胞死亡^[57]。

另外,对于中性粒细胞, HMGB1 可通过 RAGE 依赖性信号传导起作用,降低中性粒细胞中的还原型辅酶 II(NADPH)氧化酶活性,抑制中性粒细胞清除细菌的能力,从而诱导持续性炎症,加重脓毒症诱导的器官功能障碍并增加死亡率^[60]。HMGB1-RAGE 介导的中性粒细胞 NADPH 氧

化酶功能障碍可以在存活的脓毒性休克患者中检测到^[61]。

5 结语

细胞焦亡作为一种新发现的细胞死亡形式,通常由炎症性 caspase 介导,可以引起不同类型的免疫预后以及不同水平的炎症反应,而这种炎症反应水平依赖于 GSDM 激活类型、细胞环境、发生焦亡的细胞类型以及 GSDM 孔损坏细胞膜修复的程度。这使得焦亡在不同病理生理条件下产生许多不同功能,在机体健康与疾病中发挥重要作用,在微生物感染的情况下,一方面可以抵御细菌入侵,减少炎症扩大,另一方面可以释放炎性因子,加重感染,引起致死性脓毒性休克。但关于焦亡在脓毒症中的具体作用及影响机制尚不明确,更深入地了解焦亡及 GSDM 家族的机制和生理作用,将更有助于了解这些新的细胞死亡效应物如何被靶向用于治疗脓毒症及其他炎症性疾病。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Zychlinsky A, Prevoost MC, Sansonetti PJ. Shigella flexneri induces apoptosis in infected macrophages [J]. Nature, 1992, 358 (6382): 167-169. DOI: 10.1038/358167a0.
- [2] Cookson BT, Brennan MA. Pro-inflammatory programmed cell death [J]. Trends Microbiol, 2001, 9 (3): 113-114. DOI: 10.1016/S0966-842X(00)01936-3.
- [3] Lamkanfi M, Declercq W, Kalai M, et al. Alice in caspase land. A phylogenetic analysis of caspases from worm to man [J]. Cell Death Differ, 2002, 9 (4): 358-361. DOI: 10.1038/sj.cdd.4400989.
- [4] Wang S, Miura M, Jung YK, et al. Murine caspase-11, an ICE-interacting protease, is essential for the activation of ICE [J]. Cell, 1998, 92 (4): 501-509. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80943-5.
- [5] Gurcel L, Abrami L, Girardin S, et al. Caspase-1 activation of lipid metabolic pathways in response to bacterial pore-forming toxins promotes cell survival [J]. Cell, 2006, 126 (6): 1135-1145. DOI: 10.1016/j.cell.2006.07.033.
- [6] Yang DH, He Y, Muñoz-Planillo R, et al. Caspase-11 requires the pannexin-1 channel and the purinergic P2X7 pore to mediate pyroptosis and endotoxic shock [J]. Immunity, 2015, 43 (5): 923-932. DOI: 10.1016/j.immuni.2015.10.009.
- [7] Amaral MP, Bortoluci KR. Caspase-8 and FADD: where cell death and inflammation collide [J]. Immunity, 2020, 52 (6): 890-892. DOI: 10.1016/j.immuni.2020.05.008.
- [8] Willson J. A matter of life and death for caspase 8 [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21 (2): 63. DOI: 10.1038/s41580-019-0201-8.
- [9] Han CH, Liu ZD, Zhang YJ, et al. Tumor cells suppress radiation-induced immunity by hijacking caspase 9 signaling [J]. Nat Immunol, 2020, 21 (5): 546-554. DOI: 10.1038/s41590-020-0641-5.
- [10] Siegel RM. Caspases at the crossroads of immune-cell life and death [J]. Nat Rev Immunol, 2006, 6 (4): 308-317. DOI: 10.1038/nri1809.
- [11] Agard NJ, Maltby D, Wells JA. Inflammatory stimuli regulate caspase substrate profiles [J]. Mol Cell Proteomics, 2010, 9 (5): 880-893. DOI: 10.1074/mcp.M900528-MCP200.
- [12] Lamkanfi M. Emerging inflammasome effector mechanisms [J]. Nat Rev Immunol, 2011, 11 (3): 213-220. DOI: 10.1038/nri2936.
- [13] Fuentes-Prior P, Salvesen GS. The protein structures that shape caspase activity, specificity, activation and inhibition [J]. Biochem J, 2004, 384 (Pt 2): 201-232. DOI: 10.1042/BJ20041142.
- [14] Salvesen GS, Riedl SJ. Caspase mechanisms [J]. Adv Exp Med Biol, 2008, 615: 13-23. DOI: 10.1007/978-1-4020-6554-5_2.
- [15] 沈灵芝,李莉,严静.焦亡在脓毒症中的研究进展[J].中华危重病急救医学,2019,31(4):498-500. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.04.026.
- [16] Fantuzzi G, Dinarello CA. Interleukin-18 and interleukin-1 beta: two cytokine substrates for ICE (caspase-1) [J]. J Clin Immunol, 1999, 19 (1): 1-11. DOI: 10.1023/a:1020506300324.
- [17] Fink SL, Cookson BT. Caspase-1-dependent pore formation during pyroptosis leads to osmotic lysis of infected host macrophages [J]. Cell Microbiol, 2006, 8 (11): 1812-1825. DOI: 10.1111/j.1462-5822.

- 2006.00751.x.
- [18] Lamkanfi M, Dixit VM. Mechanisms and functions of inflammasomes [J]. *Cell*, 2014, 157 (5): 1013–1022. DOI: 10.1016/j.cell.2014.04.007.
- [19] Hill AA, Diehl GE. Identifying the patterns of pattern recognition receptors [J]. *Immunity*, 2018, 49 (3): 389–391. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.08.027.
- [20] 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. DOI: 10.1038/nri.2015.7.
- [21] de Vasconcelos NM, Lamkanfi M. Recent insights on inflammasomes, gasdermin pores, and pyroptosis [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2020, 12 (5): a036392. DOI: 10.1101/cshperspect.a036392.
- [22] Xue YS, Enosi Tuipulotu D, Tan WH, et al. Emerging activators and regulators of inflammasomes and pyroptosis [J]. *Trends Immunol*, 2019, 40 (11): 1035–1052. DOI: 10.1016/j.it.2019.09.005.
- [23] Van Opendenbosch N, Lamkanfi M. Caspases in cell death, inflammation, and disease [J]. *Immunity*, 2019, 50 (6): 1352–1364. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.05.020.
- [24] Van Opendenbosch N, Van Gorp H, Verdonck M, et al. Caspase-1 engagement and TLR-Induced c-FLIP expression suppress ASC/caspase-8-dependent apoptosis by inflammasome sensors NLRP1b and NLR4 [J]. *Cell Rep*, 2017, 21 (12): 3427–3444. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.11.088.
- [25] Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes [J]. *Cell*, 2010, 140 (6): 821–832. DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.040.
- [26] Rühl S, Broz P. Caspase-11 activates a canonical NLRP3 inflammasome by promoting K⁺ efflux [J]. *Eur J Immunol*, 2015, 45 (10): 2927–2936. DOI: 10.1002/eji.201545772.
- [27] Kayagaki N, Warming S, Lamkanfi M, et al. Non-canonical inflammasome activation targets caspase-11 [J]. *Nature*, 2011, 479 (7371): 117–121. DOI: 10.1038/nature10558.
- [28] Zhao Y, Yang JL, Shi JJ, et al. The NLR4 inflammasome receptors for bacterial flagellin and type III secretion apparatus [J]. *Nature*, 2011, 477 (7366): 596–600. DOI: 10.1038/nature10510.
- [29] Kofoed EM, Vance RE. Innate immune recognition of bacterial ligands by NAIPs determines inflammasome specificity [J]. *Nature*, 2011, 477 (7366): 592–595. DOI: 10.1038/nature10394.
- [30] Miao EA, Rajan JV, Aderem A. Caspase-1-induced pyroptotic cell death [J]. *Immunol Rev*, 2011, 243 (1): 206–214. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2011.01044.x.
- [31] Man SM, Karki R, Malireddi RK, et al. The transcription factor IRF1 and guanylate-binding proteins target activation of the AIM2 inflammasome by Francisella infection [J]. *Nat Immunol*, 2015, 16 (5): 467–475. DOI: 10.1038/ni.3118.
- [32] Hu B, Jin CC, Li HB, et al. The DNA-sensing AIM2 inflammasome controls radiation-induced cell death and tissue injury [J]. *Science*, 2016, 354 (6313): 765–768. DOI: 10.1126/science.aaf7532.
- [33] Seshadri S, Duncan MD, Hart JM, et al. Pyrin levels in human monocytes and monocyte-derived macrophages regulate IL-1 β processing and release [J]. *J Immunol*, 2007, 179 (2): 1274–1281. DOI: 10.4049/jimmunol.179.2.1274.
- [34] Chae JJ, Wood G, Richard K, et al. The familial Mediterranean fever protein, pyrin, is cleaved by caspase-1 and activates NF- κ B through its N-terminal fragment [J]. *Blood*, 2008, 112 (5): 1794–1803. DOI: 10.1182/blood-2008-01-134932.
- [35] 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. DOI: 10.1038/nature13449.
- [36] Masumoto J, Taniguchi S, Ayukawa K, et al. ASC, a novel 22-kDa protein, aggregates during apoptosis of human promyelocytic leukemia HL-60 cells [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274 (48): 33835–33838. DOI: 10.1074/jbc.274.48.33835.
- [37] Kayagaki N, Wong MT, Stowe IB, et al. Noncanonical inflammasome activation by intracellular LPS independent of TLR4 [J]. *Science*, 2013, 341 (6151): 1246–1249. DOI: 10.1126/science.1240248.
- [38] Shi JJ, Zhao Y, Wang YP, et al. Inflammatory caspases are innate immune receptors for intracellular LPS [J]. *Nature*, 2014, 514 (7521): 187–192. DOI: 10.1038/nature13683.
- [39] Lee BL, Stowe IB, Gupta A, et al. Caspase-11 auto-proteolysis is crucial for noncanonical inflammasome activation [J]. *J Exp Med*, 2018, 215 (9): 2279–2288. DOI: 10.1084/jem.20180589.
- [40] 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. DOI: 10.1038/nature15541.
- [41] Shi JJ, Zhao Y, Wang K, et al. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death [J]. *Nature*, 2015, 526 (7575): 660–665. DOI: 10.1038/nature15514.
- [42] Broz P. Immunology: caspase target drives pyroptosis [J]. *Nature*, 2015, 526 (7575): 642–643. DOI: 10.1038/nature15632.
- [43] Saeki N, Kuwahara Y, Sasaki H, et al. Gasdermin (Gsdm) localizing to mouse Chromosome 11 is predominantly expressed in upper gastrointestinal tract but significantly suppressed in human gastric cancer cells [J]. *Mamm Genome*, 2000, 11 (9): 718–724. DOI: 10.1007/s003350010138.
- [44] Broz P, Pelegrin P, Shao F. The gasdermins, a protein family executing cell death and inflammation [J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20 (3): 143–157. DOI: 10.1038/s41577-019-0228-2.
- [45] Ding JJ, Wang K, Liu W, et al. Pore-forming activity and structural autoinhibition of the gasdermin family [J]. *Nature*, 2016, 535 (7610): 111–116. DOI: 10.1038/nature18590.
- [46] Ruan JB, Xia SY, Liu X, et al. Cryo-EM structure of the gasdermin A3 membrane pore [J]. *Nature*, 2018, 557 (7703): 62–67. DOI: 10.1038/s41586-018-0058-6.
- [47] Chen KW, Demarco B, Broz P. Beyond inflammasomes: emerging function of gasdermins during apoptosis and NETosis [J]. *EMBO J*, 2020, 39 (2): e103397. DOI: 10.15252/embj.2019103397.
- [48] Deng MH, Tang YT, Li WB, et al. The endotoxin delivery protein HMGB1 mediates caspase-11-dependent lethality in sepsis [J]. *Immunity*, 2018, 49 (4): 740–753. e7. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.08.016.
- [49] Nickel W, Rabouille C. Mechanisms of regulated unconventional protein secretion [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10 (2): 148–155. DOI: 10.1038/nrm2617.
- [50] Gaidt MM, Ebert TS, Chauhan D, et al. Human monocytes engage an alternative inflammasome pathway [J]. *Immunity*, 2016, 44 (4): 833–846. DOI: 10.1016/j.immuni.2016.01.012.
- [51] Monteleone M, Stanley AC, Chen KW, et al. Interleukin-1 β maturation triggers its relocation to the plasma membrane for gasdermin-D-dependent and-independent secretion [J]. *Cell Rep*, 2018, 24 (6): 1425–1433. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.07.027.
- [52] de Vasconcelos NM, Van Opendenbosch N, Van Gorp H, et al. Single-cell analysis of pyroptosis dynamics reveals conserved GSDMD-mediated subcellular events that precede plasma membrane rupture [J]. *Cell Death Differ*, 2019, 26 (1): 146–161. DOI: 10.1038/s41418-018-0106-7.
- [53] Sharma BR, Karki R, Kanneganti TD. Role of AIM2 inflammasome in inflammatory diseases, cancer and infection [J]. *Eur J Immunol*, 2019, 49 (11): 1998–2011. DOI: 10.1002/eji.201848070.
- [54] Watson PR, Gautier AV, Paulin SM, et al. Salmonella enterica serovars typhimurium and dublin can lyse macrophages by a mechanism distinct from apoptosis [J]. *Infect Immun*, 2000, 68 (6): 3744–3747. DOI: 10.1128/IAI.68.6.3744-3747.2000.
- [55] Humphries F, Shmuel-Galia L, Ketelut-Carneiro N, et al. Succination inactivates gasdermin D and blocks pyroptosis [J]. *Science*, 2020, 369 (6511): 1633–1637. DOI: 10.1126/science.abb9818.
- [56] 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. DOI: 10.1038/nature18629.
- [57] Yanai H, Matsuda A, An J, et al. Conditional ablation of HMGB1 in mice reveals its protective function against endotoxemia and bacterial infection [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110 (51): 20699–20704. DOI: 10.1073/pnas.1320808110.
- [58] Green DR, Oguin TH, Martinez J. The clearance of dying cells: table for two [J]. *Cell Death Differ*, 2016, 23 (6): 915–926. DOI: 10.1038/cdd.2015.172.
- [59] Barnay-Verdier S, Borde C, Fattoum L, et al. Emergence of antibodies endowed with proteolytic activity against High-mobility group box 1 protein (HMGB1) in patients surviving septic shock [J]. *Cell Immunol*, 2020, 347: 104020. DOI: 10.1016/j.cellimm.2019.104020.
- [60] Tadić JM, Bae HB, Banerjee S, et al. Differential activation of RAGE by HMGB1 modulates neutrophil-associated NADPH oxidase activity and bacterial killing [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2012, 302 (1): C249–C256. DOI: 10.1152/ajpcell.00302.2011.
- [61] Grégoire M, Tadić JM, Uhel F, et al. Frontline Science: HMGB1 induces neutrophil dysfunction in experimental sepsis and in patients who survive septic shock [J]. *J Leukoc Biol*, 2017, 101 (6): 1281–1287. DOI: 10.1189/jlb.5HI0316-128RR.