

细胞程序性死亡与炎症发生

陈梦^{1,2,3} 戴海明^{1,2*}

(¹中国科学院合肥肿瘤医院医学病理中心, 合肥 230031; ²中国科学院合肥物质科学研究院健康与医学技术研究所医学物理与技术安徽省重点实验室, 合肥 230031; ³中国科学技术大学, 合肥 230026)

摘要 细胞死亡是机体内发生的一种普遍的生物学过程, 在机体的生长发育过程中起重要作用, 并与多种疾病的发生发展相关。而炎症则是机体对于损伤因子等刺激产生的一种免疫防御反应。适当的炎症可以刺激并提高机体免疫力, 过度的炎症则对机体产生持续的损伤, 甚至危及生命。传统意义上来讲, 导致炎症发生的细胞死亡方式是坏死。近年来却发现, 包括凋亡在内的多种细胞程序性死亡在一定程度上都与炎症发生有关。该文就不同细胞程序性死亡的分子机制及其在炎症发生中的作用的研究进展作综述, 旨在为相关科学问题研究提供思路。

关键词 细胞程序性死亡; 凋亡; 坏死性凋亡; 焦亡; 炎症

Programmed Cell Death and Inflammation

CHEN Meng^{1,2,3}, DAI Haiming^{1,2*}

(¹Center of Pathology and Laboratory Medicine, Hefei Cancer Hospital, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, China; ²Anhui Province Key Laboratory of Medical Physics and Technology, Institute of Health & Medical Technology, Hefei Institutes of Physical Science, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, China; ³University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China)

Abstract Cell death is a common biological process that plays an important role in the growth and development of the body. Moreover, cell death is related to the development of many diseases. Inflammation is an immune defense response to stimuli of injury factors. Appropriate inflammation can stimulate and improve the body's immunity. However, excessive inflammation will cause continuous damage to the body, even life-threatening. Traditionally, the cell death that causes inflammation is necrosis. Recently, it has been found that a variety of programmed cell death, including apoptosis, are related to the development of inflammation to a certain extent. This review summarizes the recent progress in the understanding of molecular mechanisms of different programmed cell death and their roles in inflammation, which aims to provide ideas for the research of related scientific issues.

Keywords programmed cell death; apoptosis; necroptosis; pyroptosis; inflammation

细胞死亡在机体的生长发育等生理功能中发挥着不可替代的作用。根据可控性, 细胞死亡分为程序性死亡和非程序性死亡两大类。凋亡(apoptosis)是最典型的也是研究得最清楚的细胞程序性死亡(programmed cell death)形式, 是一种多基因控制的

死亡过程。在形态上, 凋亡细胞呈现出细胞皱缩、染色质凝集、凋亡小体形成和细胞骨架解离等特征, 一般认为不会引起对周围组织的伤害。凋亡伴随着个体生长发育的全过程, 表现为对细胞类型及数量的精准控制。而非细胞程序性死亡, 如坏死(necro-

收稿日期: 2020-06-19 接受日期: 2020-09-21

国家自然科学基金面上项目(批准号: 21703254、21772201)和安徽医科大学与医学物理与技术中心联合基金(批准号: LHJJ202006、LHJJ202007)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0551-62727063, E-mail: daih@cmpt.ac.cn

Received: June 19, 2020 Accepted: September 21, 2020

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.21703254, 21772201) and the Co-operative Grant from Anhui Medical University and Center of Medical Physics and Technology (Grant No.LHJJ202006, LHJJ202007)

*Corresponding author. Tel: +86-551-62727063, E-mail: daih@cmpt.ac.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5410>

sis), 其发生不受基因控制, 通常由极端的物理、化学或机械损伤引发质膜的物理分解, 导致胞内组分的释放, 并伴随炎症反应的发生, 早前研究一直认为, 炎症与这种死亡方式发生息息相关。然而近期的研究表明, 多种细胞死亡也受到程序性控制, 具有不同的发生机制, 并且包括凋亡在内的多种细胞程序性死亡也与炎症发生相关。

1 细胞程序性死亡

1.1 凋亡

凋亡根据其诱导因素可以分为两类: 内源性凋亡(线粒体凋亡途径)和外源性凋亡(死亡受体途径)。内源性凋亡主要感受细胞内环境的改变从而启动凋亡。生长因子缺乏、DNA损伤、内质网压力、活性氧过量、复制压力、微管束改变以及有丝分裂缺陷等都可以诱导内源性凋亡的发生^[1]。内源性凋亡中至关重要的一步是线粒体外膜破裂(mitochondrial outer membrane permeabilization, MOMP), 该过程主要受控于BCL2蛋白家族^[2]。BCL2蛋白质家族包括: 多结构域直接促凋亡分子BAX、BAK和BOK等; 抗凋亡分子BCL2、BCLXL、BCLw和MCL1等; 转换不同凋亡信号的仅含BH3结构域蛋白BID、BIM、PUMA和NOXA等。BCL2家族蛋白通过促凋亡因子和抗凋亡因子之间复杂而有序的相互作用, 共同调控凋亡过程。外源性凋亡主要由细胞膜上的死亡受体介导, 共有八类死亡受体: TNFR1、Fas、DR3、TRAILR1、TRAILR2、DR6、EDAR和NGFR。这些死亡受体中都含有1个约80个氨基酸的死亡结构域(death domain), 是介导凋亡所必需的^[3-4]。执行凋亡时, 死亡受体与配体结合后, 通过受体的死亡结构域招募衔接蛋白形成DISC(death-inducing signaling complex), DISC再招募pro-Caspase-8诱导其激活, 进一步诱导凋亡的发生。同时, 外源性凋亡可以通过进一步切割BID, 诱导内源性凋亡以放大凋亡信号。

凋亡的形态特征是由促凋亡的Caspase(cysteine-aspartic proteases, 天冬氨酸依赖性的半胱氨酸水解酶)切割细胞内的蛋白质, 并且诱导DNA的切割所致的^[5]。Caspase在功能上可分为两大类; 一类是促凋亡Caspase, 主要包括Caspase-2/3/6/7/8/9/10, 在细胞发生凋亡过程中发生级联反应, 致使细胞形态发生变化。另一类是炎性Caspase, 主要包括Caspase-1/4/5/11, 主要作用涉及细胞因子的加工

和炎症调控^[6-8]。与凋亡相关的Caspase又分为起始Caspase——Caspase-2/8/9/10及效应Caspase——Caspase-3/6/7^[9]。这一类的凋亡调控因子需要通过前体Caspase的活化才能发挥作用。

1.2 坏死性凋亡

坏死性凋亡(necroptosis)可由Toll样受体激活、病毒感染、线粒体积累的ROS(reactive oxygen species)信号和TNF- α (tumor necrosis factor- α)刺激引发。其中, 细胞死亡受体可介导形成的不同蛋白复合体(complex I、complex IIa、complex IIb), 使细胞分别走向存活、凋亡和坏死性凋亡的道路^[10-11]。

目前研究较清楚的是TNF- α 结合并激活TNFR1引发的信号通路。TNF- α 结合TNFR1后, TNFR1开始在胞质端招募TRADD(TNFR1-associated death domain protein)、RIPK1(receptor interacting protein kinase 1)、cIAPs(cellular inhibitor of apoptosis proteins)、TRAF2(TNFR-associated factor 2)/5和LUBAC(linear ubiquitin chain assembly complex)蛋白形成复合体I, 激活NF- κ B(nuclear factor- κ B)和MAPK(mitogen-activated protein kinase)介导的信号通路, 细胞存活。此时, RIPK1被多聚泛素化。而pro-Caspase-8和TRADD、FADD组成的胞质复合体IIa的形成则需要RIPK1通过去泛素化酶或泛素修饰酶去泛素化从细胞膜上解离, 最终介导凋亡。如果cIAPs、TAK1(TGF activated kinase 1)、NEMO(NF- κ B essential modulator)的活性被抑制或者表达被敲低, 此时由RIPK1、RIPK3、FADD和pro-Caspase-8组成的复合体IIb形成, 同样能诱导凋亡发生, 此时依赖于RIPK1激酶的活性。然而, 当RIPK3和MLKL(mixed lineage kinase domain-like protein)的表达水平足够高或Caspase-8活性降低或缺失时, 复合体IIb促使坏死复合体的形成。在此种情况下, RIPK3和RIPK1会通过它们各自的RHIM结构域相互结合, 之后RIPK3发生自磷酸化, 募集并磷酸化MLKL, 导致程序性坏死发生^[12-13]。目前认为, MLKL一种是作为质膜上募集Ca²⁺和Na⁺离子通道的平台, 另一种是在膜上形成孔复合体发挥作用^[14-16]。MLKL的T357/S358磷酸化已经成为程序性坏死的一个分子标志。然而, 最近的研究表明, Caspase-8不仅在控制凋亡和坏死性凋亡的过程中起作用。而且, Caspase-8还可以通过激活焦亡(pyroptosis)通路诱发炎症发生, 该激活过程并不需要Caspase-8的酶活性, 具体分子机制还有待进一步阐明^[17-18]。

1.3 焦亡

焦亡是近期发现的依赖于相关的Caspase的一种细胞程序性死亡方式,并伴随炎症反应发生。焦亡是由促炎性Caspase介导的,其中Caspase-1是最早在哺乳动物中发现的Caspase。1993年,YUAN等^[19]发现,IL-1 β 转换酶(IL-1 β converting enzyme, ICE)与秀丽线虫(*Caenorhabditis elegans*)的死亡基因*CED-3*有高度同源性,并能引起细胞死亡,因此ICE之后被命名为Caspase-1。Caspase-1不仅与某些凋亡发生有关,还能作为炎症小体组装的中心分子引发天然免疫反应。与凋亡相比,焦亡发生的更快,并会伴随大量促炎症因子和溶酶体等细胞内容物的释放,引起炎症级联反应。当细胞被病原体感染或感受到内源危险信号时,Caspase-1由典型的炎症小体如NLRP1、NLRP3、NAIPs-NLRC4、AIM2以及Pyrin激活,一方面,通过切割Gasdermin家族蛋白GSDMD,使后者N-、C-两端的结构域分开,进而释放N-端的片段在膜上寡聚化穿孔,导致细胞渗透压变化、胞膜破裂和内容物释放,发生焦亡并伴随炎症发生;另一方面,Caspase-1切割pro-IL-1 β 和pro-IL-18,形成IL-1 β 和IL-18释放到胞外扩大炎症反应。后来发现,Caspase-4/5/11在胞质可以直接与细菌的LPS(lipopolysaccharide)结合并活化,活化的Caspase-4/5/11也通过切割GSDMD导致焦亡发生^[20],还可以诱导Caspase-1的活化,对pro-IL-1 β 和pro-IL-18切割形成有活性的IL-1 β 和IL-18。Caspase-3本是执行凋亡的关键蛋白,可被TNF- α 或化疗药物所激活引起凋亡。近期研究发现,在TNF- α 或化疗药物诱导下,BAK/BAX依赖的Caspase-3能切割Gasdermin家族蛋白GSDME,释放N-端活性片段,导致焦亡发生。在这种焦亡发生过程中,GSDME的C-端被棕榈酰化修饰,并且能被棕榈酰化抑制剂2-BP(2-bromopalmitate)抑制^[21]。Caspase-3切割GSDME的效率更高,当细胞中表达GSDME蛋白时,则会使细胞从凋亡迅速转入焦亡的进程。

1.4 铁死亡

铁死亡(ferroptosis)是近来发现的一种新的促炎性的死亡方式。铁是人体内含量最高的微量元素,广泛存在于各个组织和器官中。铁死亡主要由铁依赖的氧化损伤所引起,它在形态学、生物化学和遗传学等方面与其他死亡方式截然不同。这一死亡过程的标志为细胞质和脂质活性氧增多、线粒体变小

以及线粒体膜密度较大。

目前,发现多种物质和外界条件可引发铁死亡,主要刺激信号都与磷脂有关。铁死亡过程不仅与氨基酸、铁和多不饱和脂肪酸等参与的多种生物化学过程紧密相关,并且还受谷胱甘肽、NADPH和辅酶Q10等物质调节^[22]。铁死亡是由于缺乏膜脂修复酶——谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4),造成膜脂上ROS的积累所致,而这一积累过程需要铁离子的参与。发现几种物质在抑制或促进铁死亡发生比较有效^[22-24]。小分子erastin通过抑制质膜上的胱氨酸-谷氨酸交换体,降低了细胞对胱氨酸的获取,使得GPX4的底物——谷胱甘肽合成受阻,进而引发膜脂ROS的积累和铁死亡。(1S,3R)-RSL3能直接抑制GPX4,导致毒性的脂质氢过氧化物(L-OOH)积累,引发铁死亡。而liproxstatin-1、ferrostatin-1和铁螯合剂都能够抑制脂ROS的产生,有效地减轻或消除铁死亡对机体造成的伤害。另外,铁蛋白在体内可与铁离子结合储存铁。而在铁死亡发生过程中,核受体辅激活因子4(nuclear receptor coactivator 4, NCOA4)可诱导铁蛋白的选择性自噬(autophagy),从而增加游离铁的浓度,促进铁死亡。

1.5 自噬

自噬是在营养匮乏、缺氧、病原体感染和内质网应激等条件下,细胞将病原体、自身的胞质蛋白或细胞器包裹进囊泡,并与溶酶体融合,形成自噬溶酶体,以降解囊泡内容物,从而获取细胞代谢需要的能量以及实现细胞器的更新。根据包裹底物运送到溶酶体的方式不同,哺乳动物细胞的自噬可分为巨自噬(macroautophagy)、微自噬(microautophagy)和分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)。一般来讲,自噬指的就是巨自噬,也是研究最为广泛的。另外,根据识别特异性,自噬又分为选择性自噬和非选择性自噬。选择性自噬主要包括线粒体自噬(mitophagy)、过氧化物酶体自噬(pexophagy)和自噬侵染细菌的异体自噬(xenophagy)等,通过特异地清除细胞内损坏细胞器来维持细胞稳态。

营养缺乏引起的自噬被认为是自噬诱导中最为经典的方式,主要分六步进行:起始前(preinitiation)、起始(initiation)、延伸(elongation)、自噬小体形成(vesicle completion)、融合(fusion)、降解再利用(degradation and recycling)。LC3家族蛋白在自噬过程中起关键作用。

一般情况下,自噬并不是一种细胞死亡形式。在营养缺乏、某些化疗药物处理等下,自噬可以保护细胞免受死亡,然而在特定的发育过程中,自噬也可以导致细胞死亡,称为自噬依赖性细胞死亡,指细胞死亡过程必须依赖于自噬的发生^[25]。某些细胞死亡依赖于自噬的发生,表现为当敲除自噬关键蛋白时,细胞死亡会受到抑制。例如,在果蝇发育过程中,某些自噬关键 ATG 基因的敲除会抑制中肠组织的细胞死亡^[26]。

1.6 细胞衰老

细胞衰老(cellular senescence)是指随着时间的推移,细胞增殖与分化能力和生理功能逐渐发生衰退的变化过程,是不可逆的生命过程。严格地说,细胞衰老并不算一种细胞死亡方式,因为衰老的细胞并没有发生死亡。因为细胞衰老也会导致炎症发生,所以本综述也介绍一下细胞衰老诱导的炎症发生的最新研究进展。细胞衰老是指一种生理状态,细胞完全丧失增殖生长的能力,但仍保留生存和基础代谢的活性。衰老的细胞会被免疫系统清除,被新生的细胞替补。细胞衰老发生的内源性因素是DNA损伤、端粒功能异常、促有丝分裂信号、表观基因组破坏和氧化应激等,外源性因素包括慢性感染、肥胖、微生物菌群失调、饮食以及环境污染等^[27-30]。从形态上观察,衰老细胞呈现扁平化,细胞内有大量空泡产生,细胞以及细胞核体积都会变大,染色质的结构也会发生变化。通常可以在生化水平上对衰老进行检测鉴定:(1)溶酶体半乳糖苷酶(β -GAL)活性的增加;(2)周期蛋白激酶活性受到抑制,进而导致成视网膜细胞瘤蛋白(retinoblastoma, RB)家族磷酸化水平降低;(3)增殖标记缺少,比如Ki-67(MKI67);(4)由于端粒损伤而产生DNA损伤应答;(5)产生“衰老相关的异染色质聚集(senescence-associated heterochromatic foci, SAHF)”;(6)产生大量衰老相关分泌表型(senescence associated secretory phenotype, SASP)。

2 炎症发生

炎症是指在机体受到损伤或感染时发生的一系列由多种细胞、多种因子参与的复杂防御反应,常常首先发生在原发的具有血液循环系统的组织附近。炎症表征通常是皮肤肿胀、发热以及疼痛等。炎症包括急性炎症和慢性炎症。机体的炎症发生最

初阶段表现为急速剧烈、短期终结的急性炎症,此时会造成组织破损。急性炎症反应的进展常包括一系列生化反应,涉及到破损部位的血管系统、免疫系统及受损部位的多种细胞。当急性炎症机制不能控制感染过程时,趋化因子的产生促进单核细胞、巨噬细胞和淋巴细胞募集到感染部位,这允许更复杂的免疫应答,并逐渐发展为慢性炎症以清除病原体。而当这个阶段结束后,受损组织就会倾向于被修复。急性炎症与慢性炎症最大区别就是炎症对组织侵害的时间长短不同,慢性炎症是炎症反应持续化的结果。一般认为,炎症是机体的一种天然免疫机制,炎症反应不足会导致病原体(如细菌)对机体的持续侵害;而慢性炎症又会引起一系列疾病,如枯草热、动脉粥样硬化、关节炎,甚至癌症。

机体主要通过模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)感知不同致炎因子从而引发并控制炎症发生发展,目前发现主要包括五种模式识别受体:Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)、NOD样受体(nucleotide-binding and oligomerization domain-like receptor, NLR)、PYHIN(pyrin and HIN domain-containing protein)、PKR(protein kinase R)和RLR(retinoic acid-inducible gene I-like receptor)^[31-32]。TLR是跨膜蛋白,在免疫或炎症细胞群中作用最显著,也可以在非免疫性结构细胞如上皮细胞膜上表达,识别侵入体内的微生物。TLR介导的信号传导可导致固有免疫细胞活化,表达和分泌多种称之为促炎症细胞因子,如TNF- α 、IL-12、IL-6等,诱导和扩大炎症的发生发展。另外,还可诱导共刺激分子(co-stimulatory molecule)表达,启动特异性免疫应答产生^[33-34]。NLR和PYHIN为胞质受体,识别胞内外源性病原微生物产物或内源性危险信号,起始多种包括炎症小体在内的多种蛋白复合物的组装,从而激活多条免疫相关信号通路,引发天然免疫反应。而PKR和RLR通过识别病毒病原体dsRNA促进IFN的分泌,实现抗病毒感染。

炎症发生中炎症小体的形成近年来成为了研究热点。NLR和PYHIN家族某些蛋白作为胞质受体参与了炎症小体的组装,目前发现主要有四种:NLRP1、NLRP3、NLRC4和PYHIN家族(AIM2)^[35-37]。NLRP3/AIM2与接头蛋白ASC(apoptosis associated speck-like protein containing a Caspase recruitment domain)通过PYD(pyrin domain)形成复合体,再通

过ASC的CARD结构域与Caspase-1前体相互作用, NLRP1/NLRC4则通过自己的CARD直接与Caspase-1结合, 完成炎性小体组装, 结果都激活了Caspase-1, 切割IL-1 β 和IL-18的前体形成有活性的IL-1 β 和IL-18, 并释放到胞外参与炎症发生。NLRP1主要识别胞壁酰二肽(muramyl dipeptide, MDP)和炭疽致死毒素(anthrax lethal toxin), NLRC4则主要感受细菌的鞭毛蛋白和III型分泌系统等成分, NAIPs也可以识别这些配体后激活并促进NLRC4的活化^[38-39]。AIM2主要识别细菌或病毒的dsDNA。其中, 最经典也最重要的是NLRP3炎症小体, 因为它可以识别PAMPs和DAMPs, 是机体固有免疫的重要组成部分。钾离子的外流、配体引发溶酶体破裂以及ROS的产生是目前对于NLRP3的激活定义的3个重要机制。NLRP3发生突变能够引发许多炎症性疾病, 如冷吡啉相关周期性综合征(cryopyrin-associated periodic syndrome, CAPS)。可见炎症发生与细胞死亡关系密切, 主要体现在: (1) 不同的细胞, 不同的死亡类型因为释放的物质不同, 所以引起的机体反应不同; (2) 炎症反应的发生伴随着细胞死亡, 细胞死亡后释放的各种因子对炎症的进程有着重要的影响。当细胞发生损伤或死亡产生DAMPs(damage-associated molecular pattern molecules)或PAMPs(pathogen-associated molecular patterns)时, 激活炎症信号通路, 释放炎症因子, 募集炎症细胞, 扩大炎症反应。

每种细胞死亡模式的发生都是环境特异性的。在个体发育过程中, 细胞碎片和其内容物的及时清除对于维持组织内稳态、组织修复和组织健康是至关重要的。反之则会引发病理性炎症性疾病发生。最常见的是系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE), 它是一种慢性系统性自身免疫性疾病, 影响多个器官系统, 如肺、肾、皮肤和中枢神经系统。一般来说, 急性炎症持续时间短, 是宿主对感染和过敏原的防御, 而慢性炎症持续时间长, 导致多种慢性疾病, 包括癌症、心血管疾病、神经退行性疾病、呼吸系统疾病发生发展。大多数慢性病的主要诱因是感染、肥胖、酒精、烟草、辐射、环境污染和饮食, 这些因素通过诱导炎症来诱发慢性病。另外, 在缺氧和酸性条件下可以激活NF- κ B和STAT3(signal transducer and activator of transcription 3)这些炎症转录因子, 更进一步促进癌细胞增殖、存活、侵袭、血管生成和转移。

3 程序性死亡与炎症发生

早期的研究表明, 坏死性的细胞死亡会促进炎症发生, 而凋亡细胞会被吞噬细胞清除, 不会引起炎症发生。例如, 近期研究发现, 凋亡过程中Caspase介导的质膜上pannexin 1通道的开放会释放一些代谢产物诱导周围细胞的基因编程, 抑制炎症发生, 并促进伤口愈合^[40]。但是在某些情况下, 凋亡过程中, 会伴随炎症因子的释放, 从而引发机体炎症发生, 并且在一定的生理环境下, 来自凋亡细胞的抗原也会触发有效的免疫应答。另外, 其他程序性死亡的方式都与炎症发生有着密切的关系(图1和图2)。

3.1 凋亡与炎症发生

总体来说, 细胞在受到内源或外源刺激下引发的凋亡不会伴随炎症发生和免疫应答。这主要有两方面原因, 一是凋亡过程中大量Caspase的级联激活会切割MAVS/cGAS/IRF3(mitochondrial antiviral signalling/cyclic GMP-AMP synthase/interferon regulatory factor 3)等炎症通路相关蛋白^[41], 二是Caspase能抑制炎症蛋白质的翻译和一些炎症因子的分泌^[42], 从而抑制炎症反应。然而, Caspase对于抑制炎症发生是非常重要的, 但却不是必需的。有研究表明, 一种核糖核酸外切酶1(polyribonucleotide nucleotidyl transferase 1, PNPT1)在MOMP(BAK/BAX介导)下从线粒体内外膜间释放, 切割表达炎症相关蛋白的mRNA和线粒体dsRNA, 防止炎症发生^[43]。另外, 发生MOMP并有损伤的线粒体可以及时发生自噬以清除伤害。

目前, 线粒体MOMP除了介导凋亡发生外, 在特定情况下也导致炎症发生发展。近来研究发现, 在缺少活性的Caspase时, MOMP可导致依赖mtDNA的天然免疫cGAS/STING(stimulator of interferon genes)炎症通路激活, 释放IFN- β 。凋亡走向炎症的过程中, 刚开始线粒体膜上BAX/BAK蛋白量很少, 细胞色素c(cytochrome c)释放, 之后大量BAX/BAK寡聚体附着于线粒体外膜上, 形成大的孔道, 线粒体内膜也隆起, 丧失完整性, 可使mtDNA释放, 而引发炎症通路^[44]。另外, MOMP下释放到胞质的mtDNA还能在抗原递呈细胞内被TLR9和天然免疫有关的免疫细胞内NLRP3炎症小体识别并结合, 前者活化NF- κ B释放干扰素, 后者导致IL-18和IL-1 β 的释放。在凋亡期间, Caspase-3/7可介导mtDNA的降解, 从而阻止其与cGAS的相互作用, 抑制mtDNA诱导的cGAS/STING信号, 导致凋亡“免疫沉默”。后来发现,

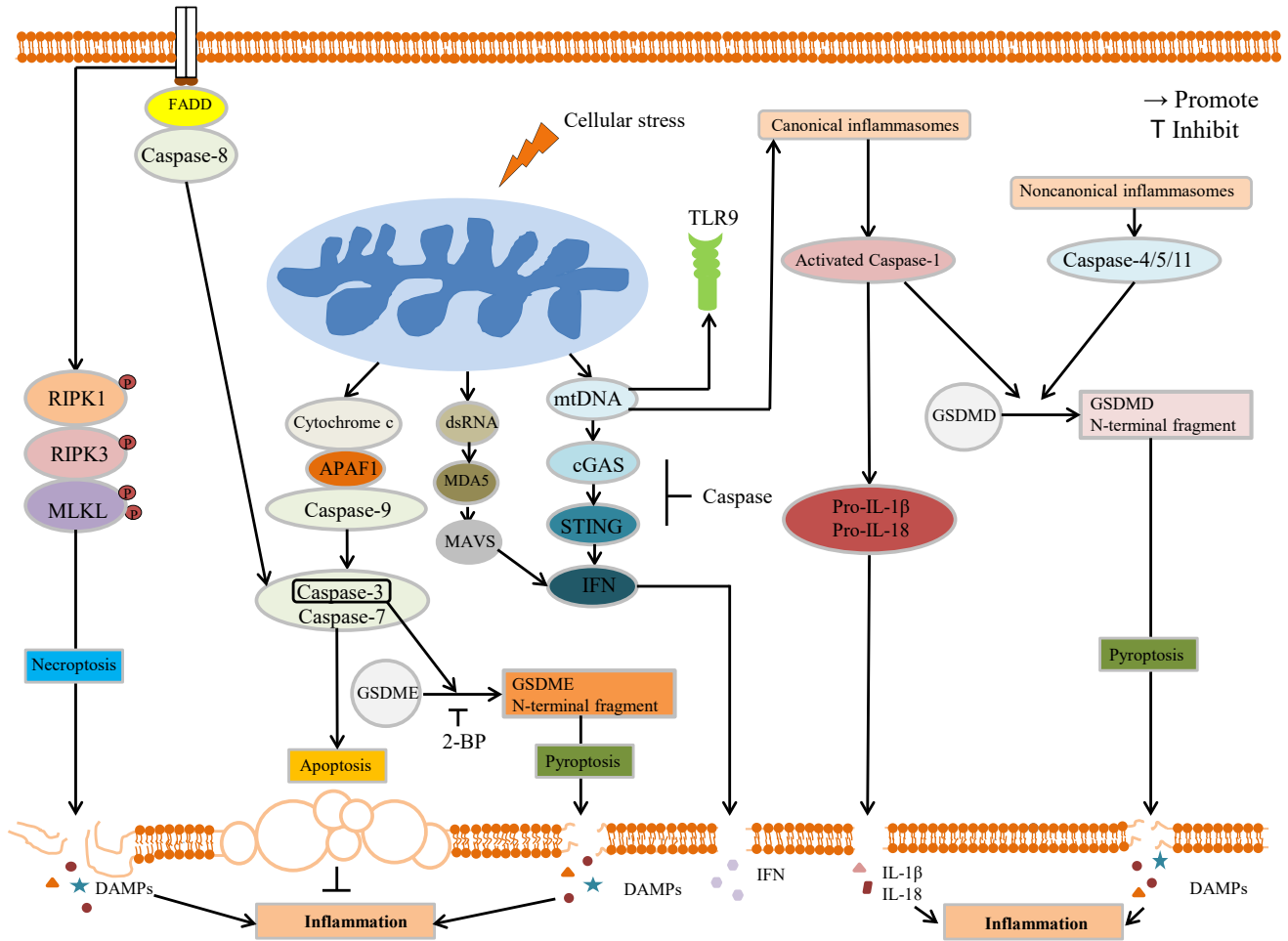


图1 凋亡、坏死性凋亡、焦亡与炎症发生

Fig.1 Apoptosis, necroptosis, pyroptosis and inflammation

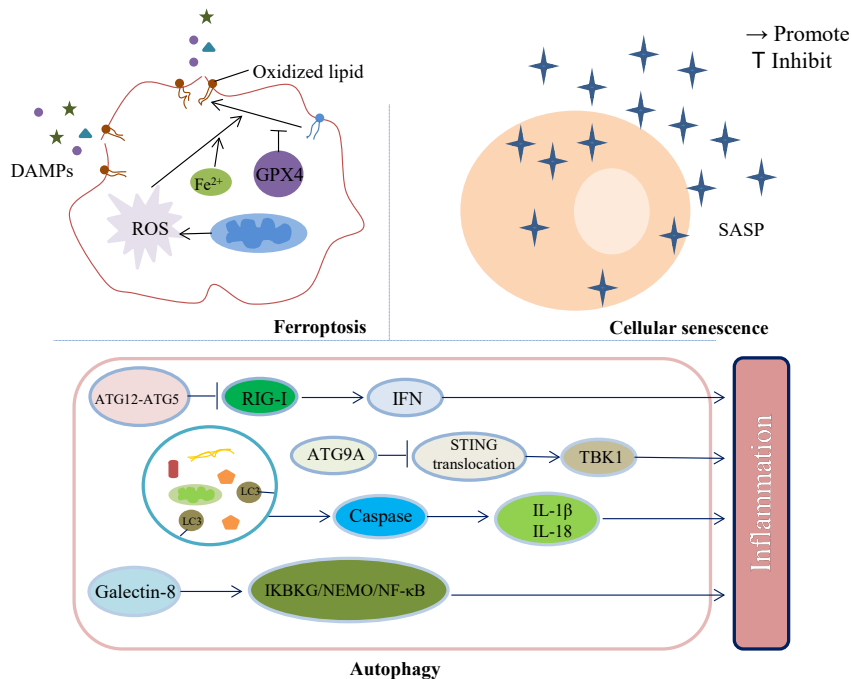


图2 铁死亡、细胞衰老、自噬与炎症发生

Fig.2 Ferroptosis, cellular senescence, autophagy and inflammation

mtDNA释放与HIV、SLE等经典炎症发生相关。在Caspase缺乏情况下, MOMP还能够引起凋亡蛋白抑制剂(inhibitors of apoptosis proteins, IAPs)的下调, 从而导致NIK(NF- κ B inducing kinase)的表达上调, 炎症发生^[45]。当线粒体发生不完全MOMP时, 线粒体会高度糖酵解, 并通过线粒体自噬的方式挽救自己, 使细胞存活。当线粒体发生有限的MOMP时, 少量的Caspase活化导致的dsDNA损伤(包括外源细菌和病毒)和mtDNA的释放不足以引起凋亡的发生, 而是通过激活cGAS/STING炎性通路, 引发天然免疫, 保护机体不受伤害。当降解RNA的组分PNPT1被抑制, 线粒体dsRNA则通过MOMP与接头分子MDA5结合, 激活MAVS寡聚化, 从而活化NF- κ B和IRF3, 合成并分泌干扰素。

3.2 坏死性凋亡与炎症发生

在死亡受体通路激活后, 当Caspase-8活性被抑制时, 细胞则由凋亡变为坏死^[46]。RIPK1和RIPK3负责传递死亡信号, 募集并活化MLKL, 引发坏死性凋亡, 坏死的细胞会向周围释放其内容物, 这些内容物会作为DAMPs刺激周围细胞发生炎症反应, 激活机体免疫应答。MLKL依赖的程序性坏死在小鼠胚胎发育、免疫系统稳态平衡以及炎症反应的分子调控中起关键作用。这种死亡方式与许多疾病如视网膜脱落、动脉粥样硬化和肝损伤及肝炎(酒精或非酒精性脂肪肝引起)发生有关; 还会加重克罗恩氏病(Crohn's disease)、溃疡性或过敏性结肠炎患儿病症。与坏死性凋亡不同, 当没有吞噬细胞存在, 凋亡细胞不能被吞噬, 无法及时清除时, 则会很快发生自行降解, 胞膜破裂、胞浆外泄等引发炎症反应, 出现类似坏死的特征, 这一过程也被称为继发性坏死。

3.3 焦亡与炎症发生

焦亡是机体重要的免疫反应, 适度的焦亡可清除致病微生物, 刺激适应性免疫应答并增强宿主存活, 而过度的焦亡则会导致机体疾病的发生。目前发现, 焦亡广泛参与肿瘤、感染性疾病、代谢性疾病、神经系统疾病等的发生发展。

焦亡相关蛋白GSDMD主要在免疫细胞中表达。当“危险者”入侵时, 细胞即刻作出免疫应答, 并伴随焦亡发生, 分泌炎症因子发出信号, 激活机体的防御功能。而在机体的正常细胞中, 也会有GSDME蛋白表达。化疗药物则会诱导表达GSDME的细胞产生焦亡, 而敲除GSDME则会阻断焦亡的进程。当

敲除GSDME的健康小鼠接受化疗药物后, 其经历的有害副作用, 如组织损伤和体重减轻等, 与野生型小鼠对比则会显著减轻。研究表明, GSDME介导的焦亡在抗肿瘤的免疫机制过程中起重要作用^[47-48]。相比之下, GSDME蛋白在大多数类型的癌细胞中不表达。因此, 肿瘤病人化疗后副作用的产生跟病人体内正常焦亡的发生有密切关系, 对临床肿瘤病人治疗后的炎症的控制具有关键的指导意义。在许多不表达或低水平表达GSDME蛋白的癌细胞中, GSDME基因的启动子区域被甲基化, 处于转录抑制状态。用DNA甲基化酶抑制剂地西他滨处理, 则会促进GSDME蛋白的表达, 提高化疗药物对癌细胞的杀伤力^[49]。Caspase-3长期以来被认为是凋亡发生的标志, 而如今则与焦亡的发生联系在一起。研究表明, Caspase-8可以导致GSDMD蛋白的切割, 诱导焦亡^[50]。这些证据表明, 这几种Caspase的活化参与焦亡发展的重要过程, 对于提高化疗药物抗肿瘤免疫活性, 降低副作用, 提供了重要的研发思路。

3.4 铁死亡与炎症发生

铁死亡与肿瘤抑制、抗病毒免疫反应等多种生理和病理过程有关。细胞发生铁死亡后释放大量激活天然免疫的因子, 如DAMPs等。发现酯氧化酶(lipoxygenase, LOX)和环氧化酶(cyclooxygenase, COX)敏化的铁死亡组织中, 花生四烯酸代谢通过LOX和COX两种途径导致炎性介质释放并调控免疫细胞分化^[51]。但是这些DAMPs释放的机制还不清楚。临床上, 肿瘤病人在放疗后会对肠壁造成损伤, 严重时会导致脓毒症, 而这种损伤就是由于肠壁细胞发生铁死亡引发的^[52]。因此, 使用合适的铁死亡抑制剂对病人治疗后的恢复大有裨益。站在药物研发的角度, 根据肿瘤细胞ROS积累的特征, 我们可以开发药物促进其铁死亡, 以清除有害的癌细胞、病毒感染的细胞等。

3.5 自噬与炎症发生

一般认为, 自噬是一种抗炎机制。自噬间接抑制炎症, 防止线粒体或一些细胞器损伤和不完整引起炎症反应。炎症小体成分是自噬降解的底物。当线粒体发生去极化和MOMP情况下, 产生的ROS和mtDNA会激活NLRP3炎症小体, 引发炎症, II型干扰素IFN γ 则通过激活DAPK1(death-associated protein kinase 1), 磷酸化并激活BECN1, 作用于自噬的上游调节自噬系统^[53]。线粒体自噬的发生能够特异识别

并及时清除这些炎性信号,包括炎性小体复合物及各个组装部分(Caspase-1除外),阻止炎症发生。自噬与炎症发生过程此消彼长。自噬相关蛋白ATG12-ATG5复合物能够阻断RIG-1信号传导,抑制I型干扰素产生。MAVS是线粒体中发现的第一个与先天免疫相关的蛋白质。自噬的缺失也通过增加MAVS水平增加线粒体积累来扩大RIG-1样受体信号传导。其次,ATG9A负向调控内质网相关STING的运输并抑制TBK1的活化^[54-55]。线粒体自噬也可以通过调控mtDNA-STING通路抑制炎症,在线粒体自噬的受体Parkin或PINK1缺失的小鼠中,由剧烈运动引起的炎症大大增加,并显示出mtDNA突变体的聚集^[56]。自噬可防止过度炎性反应造成的组织损伤,保证了在受到外来伤害时自噬和免疫炎性反应间的平衡。

自噬除了上述对炎症的负向控制之外,也可以正向调控炎症发生,MAVS可作为接头蛋白,使定位于线粒体的NLRP3活化。研究发现,饥饿诱导的非经典自噬可以促进Caspase的活化以及IL-1 β 和IL-18的分泌。使用自噬抑制剂氯喹处理后,IL-1 β 的分泌减少,并且敲除自噬相关LC3基因也会出现同样的现象^[57]。半乳糖凝集素(一组胞质凝集素)在内膜损伤的检测中发挥作用,最近的研究已经将galectin-8置于自噬和炎症的中心地位^[58-59]。首先,galectin-8除了促进自噬过程外,还激活IKBK/NEMO和NF- κ B,从而引发炎症^[58]。其次,galectin-8参与溶酶体损坏IL-1 β 的分泌反应^[59]。这些研究揭示了细胞内半乳糖凝集素对细胞外促炎细胞因子激活和传递起到重要作用。

3.6 细胞衰老与炎症发生

衰老细胞一般会引起机体长期炎症发生,显著特征是通过多方面的衰老相关的分泌表型阻碍细胞增殖和发育,通过增加细胞分泌促炎细胞因子、趋化因子和其他促炎分子,如IL-6、IL-8、GRO α 和TGF- β 等,它们以自分泌的方式与它们各自的受体相互作用以维持细胞处于衰老阶段并可能对炎症细胞或先天免疫效应物发挥旁分泌作用^[60-61]。该表型的衰老细胞增加,进而可以促进多种慢性疾病发生,包括胰岛素抵抗、肺动脉高血压、慢性阻塞性肺病、肺气肿、阿尔茨海默病和帕金森病、黄斑变性、骨关节炎和癌症等^[62-64]。

4 总结与展望

近年来,随着对细胞死亡的分子机制研究,多

种新的细胞死亡方式被发现。然而不同细胞死亡对于周围细胞、微环境及免疫细胞的影响及其机制仍需进一步研究。临床上许多患者治疗愈后不良,经常伴随炎症发生,目前对于炎症发生的认知还不足,一般会使用广谱抗炎药,但效果并不理想。本综述总结了许多细胞在受到内外环境压力因素下会发生不同的死亡方式,有些死亡方式会引起炎症发生,并与许多急性或者慢性炎症的疾病发生有关。了解细胞程序性死亡与炎症发生的关系及机制,还将有助于开发靶向的抑制剂,并联合抗炎药的使用,将可能达到质变的效果,在临床上对于病人的预后恢复至关重要。同时,对于肿瘤病人治疗后出现的免疫低下的情况,凋亡会在一定程度抑制抗肿瘤免疫,因此,适当地采用不同手段诱导其他细胞死亡方式,激活炎症发生及抗肿瘤免疫,可以刺激机体免疫系统的机能。

参考文献 (References)

- [1] BRUMATTI G, SALMANIDIS M, EKERT P G. Crossing paths: interactions between the cell death machinery and growth factor survival signals [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2010, 67(10): 1619-30.
- [2] CORREIA C, LEE S H, MENG X W, et al. Emerging understanding of Bcl-2 biology: implications for neoplastic progression and treatment [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1853(7): 1658-71.
- [3] WILSON N S, DIXIT V, ASHKENAZI A. Death receptor signal transducers: nodes of coordination in immune signaling networks [J]. *Nat Immunol*, 2009, 10(4): 348-55.
- [4] WANG L, YANG J K, KABALEESWARAN V, et al. The Fas-FADD death domain complex structure reveals the basis of DISC assembly and disease mutations [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 17(11): 1324-9.
- [5] EARNSHAW W C, MARTINS L M, KAUFMANN S H. Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis [J]. *Annu Rev Biochem*, 1999, 68: 383-424.
- [6] NICHOLSON D W, ALI A, THORNBERRY N A, et al. Identification and inhibition of the ICE/CED-3 protease necessary for mammalian apoptosis [J]. *Nature*, 1995, 376(6535): 37-43.
- [7] NICHOLSON D W. Caspase structure, proteolytic substrates, and function during apoptotic cell death [J]. *Cell Death Differ*, 1999, 6(11): 1028-42.
- [8] MARTINON F, TSCHOPP J. Inflammatory caspases: linking an intracellular innate immune system to autoinflammatory diseases [J]. *Cell*, 2004, 117(5): 561-74.
- [9] MCILWAIN D R, BERGER T, MAK T W. Caspase functions in cell death and disease [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5(4): a008656.
- [10] ZHOU W, YUAN J. Necroptosis in health and diseases [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2014, 35: 14-23.
- [11] AMIN P, FLOREZ M, NAJAFOV A, et al. Regulation of a distinct activated RIPK1 intermediate bridging complex I and complex II in TNF α -mediated apoptosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,

- 2018, 115(26): E5944-53.
- [12] HSU H, HUANG J, SHU H B, et al. TNF-dependent recruitment of the protein kinase RIP to the TNF receptor-1 signaling complex [J]. *Immunity*, 1996, 4(4): 387-96.
- [13] BERTRAND M J, MILUTINOVIC S, DICKSON K M, et al. cIAP1 and cIAP2 facilitate cancer cell survival by functioning as E3 ligases that promote RIP1 ubiquitination [J]. *Mol Cell*, 2008, 30(6): 689-700.
- [14] DONDELINGER Y, DECLERCQ W, MONTESSUIT S, et al. MLKL compromises plasma membrane integrity by binding to phosphatidylinositol phosphates [J]. *Cell Rep*, 2014, 7(4): 971-81.
- [15] SU L, QUADE B, WANG H, et al. A plug release mechanism for membrane permeation by MLKL [J]. *Structure*, 2014, 22(10): 1489-500.
- [16] WANG H, SUN L, SU L, et al. Mixed lineage kinase domain-like protein MLKL causes necrotic membrane disruption upon phosphorylation by RIP3 [J]. *Mol Cell*, 2014, 54(1): 133-46.
- [17] FRITSCH M, G N THER S D, SCHWARZER R, et al. Caspase-8 is the molecular switch for apoptosis, necroptosis and pyroptosis [J]. *Nature*, 2019, 575(7784): 683-7.
- [18] NEWTON K, WICKLIFFE K E, MALTZMAN A, et al. Activity of caspase-8 determines plasticity between cell death pathways [J]. *Nature*, 2019, 575(7784): 679-82.
- [19] YUAN J, SHAHAM S, LEDOUX S, et al. The *C. elegans* cell death gene *ced-3* encodes a protein similar to mammalian interleukin-1 beta-converting enzyme [J]. *Cell*, 1993, 75(4): 641-52.
- [20] YANG J, ZHAO Y, SHAO F. Non-canonical activation of inflammatory caspases by cytosolic LPS in innate immunity [J]. *Curr Opin Immunol*, 2015, 32: 78-83.
- [21] HU L, CHEN M, CHEN X, et al. Chemotherapy-induced pyroptosis is mediated by BAK/BAX-caspase-3-GSDME pathway and inhibited by 2-bromopalmitate [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(4): 281.
- [22] STOCKWELL B R, FRIEDMANN ANGELI J P, BAYIR H, et al. Ferroptosis: a regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease [J]. *Cell*, 2017, 171(2): 273-85.
- [23] LIANG C, ZHANG X, et al. Recent progress in ferroptosis inducers for cancer therapy [J]. *Adv Mater*, 2019, 31(51): e1904197.
- [24] HASSANNIA B, VANDENABEELE P, VANDEN BERGHE T. Targeting ferroptosis to iron out cancer [J]. *Cancer Cell*, 2019, 35(6): 830-49.
- [25] GALLUZZI L, VITALE I, AARONSON S A, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018 [J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(3): 486-541.
- [26] DENTON D, SHRAVAGE B, SIMIN R, et al. Autophagy, not apoptosis, is essential for midgut cell death in *Drosophila* [J]. *Curr Biol*, 2009, 19(20): 1741-6.
- [27] EFFROS R B. The silent war of CMV in aging and HIV infection [J]. *Mech Ageing Dev*, 2016, 158: 46-52.
- [28] STOUT M B, JUSTICE J N, NICKLAS B J, et al. Physiological aging: links among adipose tissue dysfunction, diabetes, and frailty [J]. *Physiology (Bethesda)*, 2017, 32(1): 9-19.
- [29] FRANCESCHI C, GARAGNANI P, PARINI P, et al. Inflammaging: a new immune-metabolic viewpoint for age-related diseases [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 14(10): 576-90.
- [30] ZITVOGEL L, PIETROCOLA F, KROEMER G. Nutrition, inflammation and cancer [J]. *Nat Immunol*, 2017, 18(8): 843-50.
- [31] LEE M S, KIM Y J. Signaling pathways downstream of pattern-recognition receptors and their cross talk [J]. *Annu Rev Biochem*, 2007, 76: 447-80.
- [32] CARUSO R, WARNER N, INOHARA N, et al. NOD1 and NOD2: signaling, host defense, and inflammatory disease [J]. *Immunity*, 2014, 41(6): 898-908.
- [33] MCDERMOTT A J, HUFFNAGLE G B. The microbiome and regulation of mucosal immunity [J]. *Immunology*, 2014, 142(1): 24-31.
- [34] ABREU M T. Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function [J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(2): 131-44.
- [35] SCHRODER K, TSCHOPP J. The inflammasomes [J]. *Cell*, 2010, 140(6): 821-32.
- [36] LAGE S L, LONGO C, BRANCO L M, et al. Emerging concepts about NAIP/NLRC4 inflammasomes [J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 309.
- [37] LAMKANFI M, DIXIT V M. Mechanisms and functions of inflammasomes [J]. *Cell*, 2014, 157(5): 1013-22.
- [38] HU Z, YAN C, LIU P, et al. Crystal structure of NLRC4 reveals its autoinhibition mechanism [J]. *Science*, 2013, 341(6142): 172-5.
- [39] HU Z, ZHOU Q, ZHANG C, et al. Structural and biochemical basis for induced self-propagation of NLRC4 [J]. *Science*, 2015, 350(6259): 399-404.
- [40] MEDINA C B, MEHROTRA P, ARANDJELOVIC S, et al. Metabolites released from apoptotic cells act as tissue messengers [J]. *Nature*, 2020, 580(7801): 130-5.
- [41] NING X, WANG Y, JING M, et al. Apoptotic caspases suppress type I interferon production via the cleavage of cGAS, MAVS, and IRF3 [J]. *Mol Cell*, 2019, 74(1): 19-31, e7.
- [42] JULIEN O, WELLS J A. Caspases and their substrates [J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(8): 1380-9.
- [43] LIU X, FU R, PAN Y, et al. PNPT1 release from mitochondria during apoptosis triggers decay of poly(A) RNAs [J]. *Cell*, 2018, 174(1): 187-201, e12.
- [44] MCARTHUR K, WHITEHEAD L W, et al. BAK/BAX macropores facilitate mitochondrial herniation and mtDNA efflux during apoptosis [J]. *Science*, 2018, 359(6378): eaao6047.
- [45] GIAMPAZOLIAS E, ZUNINO B, DHAYADE S, et al. Mitochondrial permeabilization engages NF- κ B-dependent anti-tumour activity under caspase deficiency [J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(9): 1116-29.
- [46] ZHANG X, FAN C, ZHANG H, et al. MLKL and FADD are critical for suppressing progressive lymphoproliferative disease and activating the NLRP3 inflammasome [J]. *Cell Rep*, 2016, 16(12): 3247-59.
- [47] ZHANG Z, ZHANG Y, XIA S, et al. Gasdermin E suppresses tumour growth by activating anti-tumour immunity [J]. *Nature*, 2020, 579(7799): 415-20.
- [48] WANG Q, WANG Y, DING J, et al. A bioorthogonal system reveals antitumour immune function of pyroptosis [J]. *Nature*, 2020, 579(7799): 421-6.
- [49] WANG Y, GAO W, SHI X, et al. Chemotherapy drugs induce pyroptosis through caspase-3 cleavage of a gasdermin [J]. *Nature*, 2017, 547(7661): 99-103.

- [50] GRAM A M, BOOTY L M, BRYANT C E. Chopping GSDMD: caspase-8 has joined the team of pyroptosis-mediating caspases [J]. *EMBO J*, 2019, 38(10): e102065.
- [51] YANG W, WANG X, XU L, et al. LOX inhibitor HOEC interfered arachidonic acid metabolic flux in collagen-induced arthritis rats [J]. *Am J Transl Res*, 2018, 10(8): 2542-54.
- [52] HUANG Z, EPPERLY M, WATKINS S C, et al. Necrostatin-1 rescues mice from lethal irradiation [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016; 1862(4): 850-6.
- [53] ZALCKVAR E, BERISSI H, MIZRACHY L, et al. DAP-kinase-mediated phosphorylation on the BH3 domain of beclin 1 promotes dissociation of beclin 1 from Bcl-XL and induction of autophagy [J]. *EMBO Rep*, 2009, 10(3): 285-92.
- [54] JOUNAI N, TAKESHITA F, KOBAYAMA K, et al. The Atg5 Atg12 conjugate associates with innate antiviral immune responses [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(35): 14050-5.
- [55] TAL M C, SASAI M, LEE H K, et al. Absence of autophagy results in reactive oxygen species-dependent amplification of RLR signaling [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(8): 2770-5.
- [56] SLITER D A, MARTINEZ J, HAO L, et al. Parkin and PINK1 mitigate STING-induced inflammation [J]. *Nature*, 2018, 561(7722): 258-62.
- [57] WANG L J, HUANG H Y, HUANG M P, et al. The microtubule-associated protein EB1 links AIM2 inflammasomes with autophagy-dependent secretion [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(42): 29322-33.
- [58] NOAD J, VON DER MALSBERG A, PATHE C, et al. LUBAC-synthesized linear ubiquitin chains restrict cytosol-invading bacteria by activating autophagy and NF- κ B [J]. *Nat Microbiol*, 2017, 2: 17063.
- [59] KIMURA T, JIA J, KUMAR S, et al. Dedicated SNAREs and specialized TRIM cargo receptors mediate secretory autophagy [J]. *EMBO J*, 2017, 36(1): 42-60.
- [60] BARTEK J, HODNY Z, LUKAS J. Cytokine loops driving senescence [J]. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(8): 887-9.
- [61] FRANCESCHI C, CAPRI M, MONTI D, et al. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans [J]. *Mech Ageing Dev*, 2007, 128(1): 92-105.
- [62] ZHU Y, ARMSTRONG J L, TCHKONIA T, et al. Cellular senescence and the senescent secretory phenotype in age-related chronic diseases [J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2014, 17(4): 324-8.
- [63] KENNEDY B K, BERGER S L, BRUNET A, et al. Geroscience: linking aging to chronic disease [J]. *Cell*, 2014, 159(4): 709-13.
- [64] BAKER D J, PETERSEN R C. Cellular senescence in brain aging and neurodegenerative diseases: evidence and perspectives [J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(4): 1208-16.