

## 综述

## NLRP3炎症小体在流感病毒感染中的作用

牛俊领<sup>1,2,3</sup> 陈明宽<sup>2</sup> 吴淑娴<sup>2</sup> 孟广勋<sup>2</sup> 徐存拴<sup>1,3\*</sup> 卢爱灵<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>河南师范大学生命科学学院, 新乡 453007; <sup>2</sup>中国科学院分子病毒与免疫学重点实验室, 中国科学院上海巴斯德研究所, 上海 200031; <sup>3</sup>河南省-科技部共建细胞分化调控重点实验室培育基地, 新乡 453007)

**摘要** NLRP3(NOD-, LRR, and pyrin domain-containing 3)炎症小体能够对多种病原体保守结构和内源性危险信号应答而活化Caspase-1, 介导促炎症细胞因子前体Pro-IL-1 $\beta$ 和Pro-IL-18的成熟与分泌, 启动免疫防御, 在抗微生物感染中发挥着重要作用。该文总结了流感病毒的结构与变异、细胞对流感病毒的识别、流感病毒感染过程中NLRP3炎症小体的活化与功能、流感病毒对免疫识别的逃逸等内容。

**关键词** 流感病毒; NLRP3; 炎症小体; 感染; 炎症

## Function of NLRP3 Inflammasome in Influenza Virus Infection

Niu Junling<sup>1,2,3</sup>, Chen Mingkuan<sup>2</sup>, Wu Shuxian<sup>2</sup>, Meng Guangxun<sup>2</sup>, Xu Cunshuan<sup>1,3\*</sup>, Lu Ailing<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>College of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China; <sup>2</sup>Key Laboratory of Molecular Virology and Immunology, Institute Pasteur of Shanghai, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China;

<sup>3</sup>State Key Cultivation Base for Cell Differentiation Regulation, Xinxiang 453007, China)

**Abstract** NLRP3 (NOD-, LRR, and pyrin domain-containing 3) inflammasome is activated by a diversity of conserved motifs from pathogens and endogenous danger signals, which results in Caspase-1 activation and triggers the maturation and secretion of pro-inflammatory cytokines such as Pro-IL-1 $\beta$  and Pro-IL-18 to engage immune defenses. This is an important immune mechanism in fighting microbial infections. In this review, we discussed the structure and mutation of influenza virus, cellular recognition of this virus, activation of the NLRP3 inflammasome by influenza virus, function of NLRP3 in combating influenza virus infection, as well as viral evasion from host immune responses.

**Keywords** influenza virus; NLRP3; inflammasome; infection; inflammation

流感病毒通过呼吸道进入肺部后, 首先遭遇黏膜分泌的黏液, 如果能顺利突破这层屏障, 则肺上皮细胞、巨噬细胞和树突状细胞就会受到入侵<sup>[1]</sup>。在流感病毒入侵及复制过程中, 细胞能识别流感病毒, 诱导天然免疫和适应性免疫以清除病毒。天然免疫中的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)和NLRP3(NOD-, LRR, and pyrin domain-containing 3)炎症小体在识别流感病毒中具有非常

重要的地位。本文简要介绍了流感病毒的结构和免疫逃逸, 重点介绍了细胞对流感病毒的识别及流感病毒感染中NLRP3炎症小体的活化与功能。

## 1 流感病毒的结构与变异

## 1.1 流感病毒的结构

流感病毒为单股负链RNA(single-stranded RNA, ssRNA)病毒, 属于正黏病毒科, 依据核蛋白

收稿日期: 2014-12-02 接受日期: 2015-01-19

国家自然科学基金(批准号: 31300712)和赛诺菲-安万特-中国科学院上海生命科学研究院优秀青年人才奖励基金资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0373-3326001, E-mail: cellkeylab@126.com; Tel: 021-54923102, E-mail: allu@ips.ac.cn

Received: December 2, 2014 Accepted: January 19, 2015

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31300712) and SA-SIBS Scholarship Program

\*Corresponding authors. Tel: +86-373-3326001, E-mail: cellkeylab@126.com; Tel: +86-21-54923102, E-mail: allu@ips.ac.cn

网络出版时间: 2015-03-23 16:13

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150323.1613.001.html>

(nucleoprotein, NP)及基质蛋白(matrix protein, M)抗原性的不同分为A型、B型和C型。A型流感病毒(influenza A virus, IAV)颗粒结构由内而外依次为核壳、基质蛋白和包膜。包膜来源于宿主细胞膜,包膜内嵌有血凝素(haemagglutinin, HA)、神经氨酸酶(neuraminidase, NA)和离子通道型基质蛋白M2(matrix protein 2), HA与NA的比例通常在4:1至5:1之间变动<sup>[2]</sup>。病毒的HA识别并结合宿主细胞表面的唾液酸(sialic acid, SA)受体,通过受体介导的胞吞作用,质膜内陷脱落形成胞吞泡(endocytic vesicle)。神经氨酸酶也叫唾液酸酶,在子代病毒逃离被感染细胞时发挥作用。病毒包膜内侧紧贴的是病毒颗粒中最丰富的蛋白——基质蛋白M1(matrix protein 1),起到保护病毒核心、维持空间结构的作用。核心由基因组、核蛋白和RNA聚合酶复合体(RNA polymerase complex)构成,基因组由8条ssRNA构成,每一条ssRNA都与核蛋白相互缠绕并与RNA聚合酶复合体结合,RNA聚合酶复合体由蛋白PB1(polymerase basic protein 1)、PB2(polymerase basic protein 2)和PA(polymerase acidic protein)构成并负责病毒RNA的转录和复制<sup>[2]</sup>。在被感染的细胞中,IAV还编码一种非结构蛋白NS1(non-structural protein 1),对病毒逃逸宿主免疫反应至关重要。A型流感病毒颗粒模式结构见图1。

## 1.2 流感病毒的变异

根据HA及NA抗原性的不同,A型流感病毒又分为不同的亚型,如H1N1、H7N9。目前已发现18种HA和11种NA<sup>[3]</sup>,理论上可组成198种亚型。每种亚型的基因组都处于不断的漂变(antigenic drift)和变换(antigenic shift)之中,漂变是亚型内的基因突变,使得机体曾经产生的特异性抗体的效果减弱,引起季节性的流感;变换是不同亚型的病毒同时感染同一细胞时,亚型之间的基因组片段发生重排(reassortment)导致新亚型的出现,因机体从未接触过新出现的亚型,容易引起全球性流行<sup>[4-5]</sup>。

## 2 宿主对流感病毒的识别和流感病毒的免疫逃逸

### 2.1 宿主免疫系统对流感病毒的识别

流感病毒在入侵机体形成感染的同时也被机体免疫系统识别,依次诱导天然免疫和适应性免疫。天然免疫细胞通过模式识别受体识别病毒本身的或

病毒感染过程中产生的病原相关分子模式(pathogen associated molecular patterns, PAMPs),启动下游信号通路,实现对病毒的控制和快速清除。识别病毒的PRRs包括TLRs(toll-like receptors)、RLRs(RIG-I-like receptors)、NLRs(NOD-like receptors)等,这些PRRs介导的天然免疫保护反应包括促炎症性细胞因子、趋化因子的分泌,招募NK、单核/巨噬细胞、嗜中性粒细胞到达感染部位,杀伤和吞噬被病毒感染的细胞等,清除病毒的这些过程会引起炎症、发热、厌食等现象。适应性免疫反应的发生没有天然免疫系统这么快,但特异性强,主要是通过抗原提呈细胞携带病毒抗原到达引流淋巴结激活Naïve CD4<sup>+</sup> T细胞增殖和分化,T细胞受体(T cell receptor, TCR)和B细胞受体(B cell receptor, BCR)特异性识别抗原表位(epitope),最终由效应T细胞和抗体清除病毒。细胞对流感病毒的识别见图2。

2.1.1 胞浆内受体对流感病毒的识别 流感病毒颗粒吸附到细胞表面,HA-SA介导质膜内陷脱落形成胞吞泡,位于膜间隙中的HA构象发生改变插入胞吞泡膜,介导病毒包膜与胞吞泡膜发生融合,连通病毒基因组和细胞质基质,将病毒核心释放入核,在细胞核内流感病毒开始转录和复制。RNA解旋酶RIG-I(retinoic acid-inducible gene I)识别病毒复制过程中产生的5'端无帽三磷酸化的ssRNA<sup>[10]</sup>,通过线粒体抗病毒信号蛋白(mitochondrial antiviral signaling protein, MAVS)的介导,诱导依赖于NF- $\kappa$ B(nuclear factor-kappa B)的促炎症因子的表达以及依赖于IRF3(IFN-regulatory factor 3)的I型干扰素(type I interferon, IFN1)、干扰素刺激基因(IFN-stimulated genes, ISGs)的表达<sup>[15]</sup>;在流感病毒感染的肺上皮细胞中,RIG-I识别病毒RNA后激活NLRP3炎症小体或通过产生的I型干扰素正反馈给RIG-I激活NLRP3炎症小体<sup>[17]</sup>;病毒复制过程中产生的M2离子通道蛋白转出高尔基体腔中的质子致使细胞质基质离子失衡,触发NLRP3炎症小体的活化<sup>[13]</sup>。流感病毒感染起始丝/苏氨酸蛋白激酶RIP1(receptor-interacting protein 1)和RIP3(receptor-interacting protein 3)组装成复合体,该复合体促进动力相关蛋白DRP1(dynamain-related protein 1)活化,活化的DRP1转移到线粒体,驱使线粒体损伤、ROS(reactive oxygen species)产生和NLRP3炎症小体活化<sup>[18]</sup>。

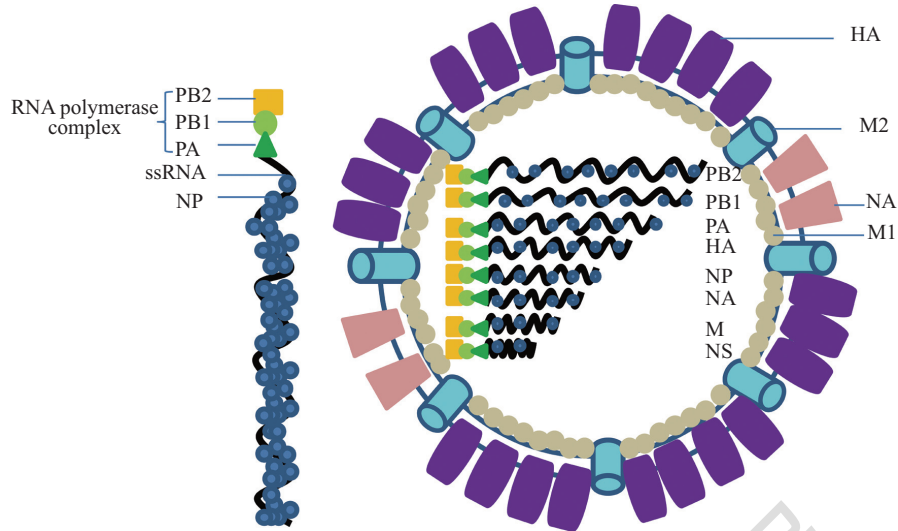


图1 A型流感病毒结构模式图(根据参考文献[2]修改)

Fig.1 Schematic of an influenza A virus (modified from reference [2])

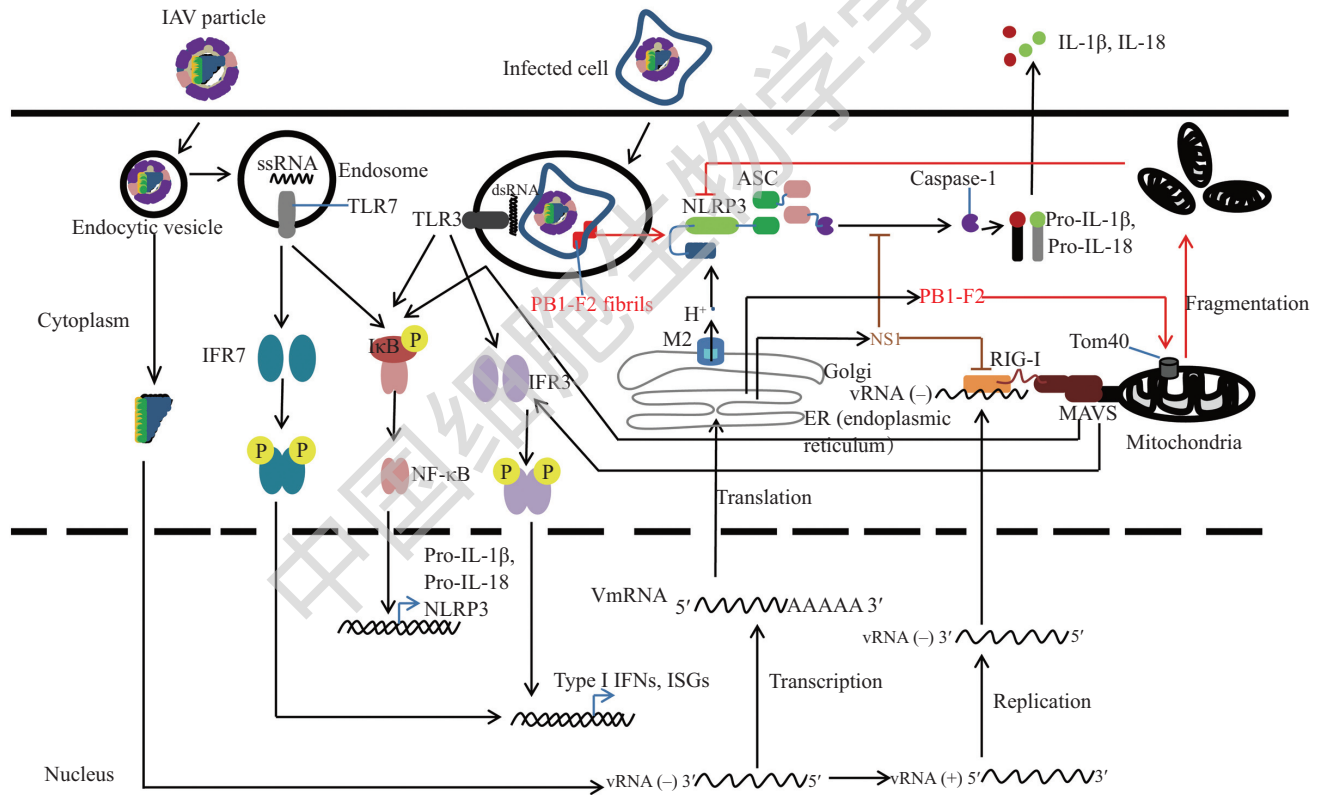


图2 细胞对A型流感病毒的识别(根据参考文献[6-16]修改)

Fig.2 Recognition of influenza A virus by host cell (modified from references [6-16])

2.1.2 胞内体中受体对流感病毒的识别 胞吞泡向胞内体(endosome)迁移, 迁移到胞内体的胞吞泡将病毒颗粒送入胞内体, 病毒颗粒在胞内体中酸解, ssRNA被定位于胞内体膜上的TLR7识别, 诱导依赖于NF-κB的促炎症因子的表达以及依赖于IRF7(IFN-regulatory factor 7)的 IFN $\alpha$ 、ISGs的表达<sup>[7,15]</sup>。

2.1.3 吞噬体中受体对流感病毒的识别 流感病毒感染的细胞被巨噬细胞吞噬, 形成吞噬体(phagosome)。吞噬体中的TLR3识别双链RNA(double-stranded RNA, dsRNA), 诱导依赖于NF-κB的促炎症因子的表达以及依赖于IRF3的 IFN $\alpha$ 、ISGs的表达<sup>[9,11,15]</sup>。另外, 吞噬体中流感病毒



来源的高分子量PB1-F2(PB1-F2 fibrils)触发吞噬细胞NLRP3炎症小体的装配、Caspase-1活化、IL-1 $\beta$ 和IL-18的成熟<sup>[14-15]</sup>。

## 2.2 流感病毒的免疫逃逸

在机体通过免疫反应清除病毒的同时,流感病毒也在设法抑制机体的抗感染免疫反应。流感病毒的包膜蛋白HA和NA不断发生突变,逃逸已经建立起来的抗体的中和作用;流感病毒PR8通过NS1蛋白N端结构域抑制Caspase-1活化,从而抑制IL-1 $\beta$ 及IL-18的成熟<sup>[8]</sup>;NS1通过与RIG-I形成复合体抑制I型干扰素的诱导<sup>[6,10,12]</sup>;PB1-F2通过线粒体外膜转位因子Tom40在线粒体中累积,降低内膜电势、加速线粒体片段化,从而抑制RIG-I介导的信号通路和NLRP3活化<sup>[16]</sup>;高致病性禽流感病毒(highly pathogenic avian influenza virus, HPAIV) H5N1通过激活人单核细胞ROR $\alpha$ (Rar-related orphan receptor alpha),抑制NF- $\kappa$ B信号通路,从而封闭依赖于NF- $\kappa$ B的基因表达<sup>[19]</sup>。

## 3 NLRP3炎症小体在流感病毒感染中的功能

### 3.1 炎症小体简介

抗感染免疫是机体免疫系统识别和清除病原体的一系列生理性、病理性免疫应答的总和。宿主抗感染需要适度的炎症反应,这样既有利于清除病原体,又可避免炎症反应造成伤害。炎症小体(inflammasomes)是由模式识别受体、接头分子ASC[apoptosis associated speck-like protein containing CARD(a caspase activation and recruitment domain)]和效应分子Caspase-1组成的多蛋白复合体。参与构成炎症小体的模式识别受体目前已知的有NOD样受体(NLRs)和AIM-2(absent in melanoma 2)样受体(AIM-2 like receptor ALRs)两大家族,已发现的炎症小体有NLRP1、AIM-2、NLRP3、NLRC4、NLRP6、NLRP7和NLRP12等<sup>[20]</sup>,识别病原体的保守结构和内源性危险信号,即病原相关分子模式(PAMPs)和危险相关分子模式(danger associated molecular patterns, DAMPs)。其中,NLRP3炎症小体在流感病毒感染中能被流感病毒相关分子模式激活,扮演着重要的角色。NLRP3蛋白位于细胞质中,是天然免疫中的重要分子,在活化之前,NLRP3通过与泛素连接酶相关蛋白SGT-1和热休克蛋白HSP90结合,处于自我抑制状态<sup>[21]</sup>。NLRP3被激活后,发生

自身寡聚化并通过接头蛋白ASC招募Caspase-1前体,装配成NLRP3炎症小体,介导Caspase-1的活化、促炎症因子IL-1 $\beta$ 和IL-18的成熟与分泌<sup>[22-25]</sup>。

### 3.2 NLRP3炎症小体与流感病毒感染

3.2.1 NLRP3对生存率和病毒清除的影响 在流感病毒感染研究中,NLRP3炎症小体对小鼠生存率的影响不一致。亚致死剂量PR8感染WT、NLRP3<sup>-/-</sup>、Caspase-1<sup>-/-</sup>和ASC<sup>-/-</sup>小鼠,生存率分别为70%、20%(或40%)、40%和30%<sup>[26-27]</sup>;尼日利亚菌素(nigericin)具有增强NLRP3活性的作用,流感病毒感染时尼日利亚菌素处理对15~16个月龄的BALB/c小鼠有保护作用<sup>[28]</sup>。但也有研究表明,在抗流感病毒感染的保护性免疫中并不需要NLRP3,而需要ASC、Caspase-1和IL-1R1<sup>[29]</sup>。NLRP3在清除流感病毒中的作用研究也不一致。病毒感染后第7 d,NLRP3<sup>-/-</sup>小鼠清除病毒明显不利<sup>[26]</sup>;病毒感染第6 d,NLRP3<sup>-/-</sup>小鼠与WT小鼠病毒载量无明显差别<sup>[27]</sup>。

3.2.2 NLRP3对细胞因子和细胞浸润的影响 据研究报告,在感染流感病毒后第3 d,NLRP3<sup>-/-</sup>小鼠肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)中的IL-1 $\beta$ 水平低于WT小鼠,而MIP2(macrophage inflammatory protein-2)、CXCL1[chemokine(C-X-C motif) ligand 1]、TNF $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ )、IL-6水平有的低于WT,有的与WT无差别<sup>[26-27,29]</sup>。另外,Allen等<sup>[26]</sup>和Thomas等<sup>[27]</sup>的研究结果显示,NLRP3<sup>-/-</sup>、Caspase-1<sup>-/-</sup>小鼠单核/巨噬细胞和嗜中性粒细胞肺部浸润显著减少,而Ichinohe等<sup>[29]</sup>的研究结果显示,NLRP3<sup>-/-</sup>小鼠嗜中性粒细胞浸润多于WT。当然,不同研究组所获得的数据不同,也可能是因为滴鼻感染并不能保证病毒摄入的一致性<sup>[30]</sup>。

3.2.3 NLRP3与肺损伤修复 NLRP3在病毒引起肺损伤后的修复中起着重要的作用。A型流感病毒感染小鼠后第3 d,NLRP3<sup>-/-</sup>小鼠呈现局部细支气管上皮细胞坏死,并且血纤维蛋白、嗜中性粒细胞、巨噬细胞及坏死的上皮细胞阻塞细支气管,而WT小鼠的细支气管几乎不受影响;与第3 d相一致,感染后第11 d,NLRP3<sup>-/-</sup>小鼠及Caspase-1<sup>-/-</sup>小鼠肺泡壁内侧及肺间质中出现大量的胶原蛋白沉积甚至阻塞肺泡,而WT小鼠只是在肺泡壁内侧出现少量的胶原蛋白沉积<sup>[27]</sup>。

### 3.2.4 IL-18和IL-1 $\beta$ 在流感病毒感染中的作用

NLRP3炎症小体下游细胞因子IL-1 $\beta$ 和IL-18在抗流

感病毒感染中的作用也被研究过。病毒感染早期, *IL-18*<sup>-/-</sup>小鼠INF $\gamma$ 显著低于WT, 病毒载量显著高于WT, NK细胞介导的细胞毒作用明显减弱, 嗜中性粒细胞浸润增加, 感染后期体液免疫和细胞免疫不受IL-18的影响, 这些结果暗示, IL-18通过增强NK细胞的细胞毒作用控制病毒复制而增加生存率<sup>[31]</sup>; 而另一篇文章指出, IL-18与INF $\gamma$ 的产生及小鼠生存率无关, 也不利于病毒清除和生存小鼠的体重恢复, 同时*IL-18*<sup>-/-</sup>小鼠嗜中性粒细胞浸润减少<sup>[32]</sup>。与WT小鼠相比, *IL-1RI*<sup>-/-</sup>小鼠死亡率显著增加, 嗜中性粒细胞浸润显著减少, IgM反应显著减弱, CD4<sup>+</sup> T细胞的活化及迁移入肺受挫, 病毒载量高, 病毒特异性的IgG、IgA及CTL反应不受影响, 这些结果暗示, IL-1介导嗜中性粒细胞和CD4<sup>+</sup> T细胞的招募入肺及IgM的产生<sup>[33]</sup>。

**3.2.5 共生菌群在流感病毒感染中的作用** 宿主的共生菌群参与多种免疫保护反应, 在抗流感病毒感染中有着重要的作用。新霉素敏感菌群持续性地为*Pro-IL-1 $\beta$* 和*Pro-IL-18* mRNAs的表达提供信号, 流感病毒感染时参与肺部保护性免疫反应<sup>[34-35]</sup>。在未受流感病毒感染状态下, 共生菌群持续刺激TLR7(toll-like receptor 7)、*MyD88*(myeloid differentiation primary response gene 88)、*IRAK4*(interleukin-1 receptor-associated kinase 4)、*TRAF6*(TNF receptor-associated factor 6)和*NF- $\kappa$ B* mRNAs的表达, 当受到流感病毒感染时, TLR7信号通路起保护作用<sup>[36]</sup>。

## 4 总结与展望

在流感病毒侵入细胞时, 人流感病毒和禽流感病毒对细胞表面受体结构的嗜性不同, 雪貂气管分化的原代上皮细胞培养实验发现, 有纤毛细胞表面主要是 $\alpha$ -2,6连接形式的唾液酸, 无纤毛细胞表面的唾液酸则是 $\alpha$ -2,3连接形式, 并且人流感病毒主要感染有纤毛的细胞并在其内高效复制, 而禽流感病毒H5N1则在无纤毛细胞内高效复制<sup>[37]</sup>。子代病毒在离开细胞时, 病毒HA会被细胞膜上的SA结合而不利于病毒的逃离, 此时的NA催化SA水解以帮助病毒粒子逃离被感染的细胞, 再去感染新的细胞, 但是, 在病毒侵染宿主细胞时, NA并没有水解SA终止受体SA介导的胞吞作用, 这其中的机制对于抑制病毒侵入细胞具有重要的指导作用。

NLRP3炎症小体在抗流感病毒感染中的角色

是有争议的, 但更倾向于具有保护作用, 这种保护作用的发挥需要两个信号。第一信号已知有信号通路ssRNA-TLR7-NF- $\kappa$ B、dsRNA-TLR3-NF- $\kappa$ B、5'端无帽三磷酸RNA-RIG-I-NF- $\kappa$ B和共生菌群PAMPs-TLR7-NF- $\kappa$ B; 第二信号已知有M2离子通道导致的细胞质基质离子浓度失衡及高分子量PB1-F2的刺激。对于dsRNA-TLR3-NF- $\kappa$ B信号通路, 已知病毒感染的细胞内并不产生dsRNA<sup>[10]</sup>, 找到吞噬体中dsRNA的来源是个值得研究的问题。

NLRP3炎症小体的活化已提出三种模型, 分别为钾离子外流模型、溶酶体破坏模型和活性氧模型。流感病毒激活NLRP3炎症小体与这些活化模型之间的具体联系以及NS1对NLRP3炎症小体功能发挥的抑制机制, 都还需要进一步研究, 这可以为调控NLRP3介导的炎症反应提供新的靶点。

## 参考文献 (References)

- Owen DM, Gale M Jr. Fighting the flu with inflammasome signaling. *Immunity* 2009; 30(4): 476-8.
- Subbarao K, Joseph T. Scientific barriers to developing vaccines against avian influenza viruses. *Nat Rev Immunol* 2007; 7(4): 267-78.
- Tong S, Zhu X, Li Y, Shi M, Zhang J, Bourgeois M, et al. New world bats harbor diverse influenza A viruses. *PLoS Pathog* 2013; 9(10): e1003657.
- Horimoto T, Kawaoka Y. Pandemic threat posed by avian influenza A viruses. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14(1): 129-49.
- Tscherne DM, García-Sastre A. Virulence determinants of pandemic influenza viruses. *J Clin Invest* 2011; 121(1): 6-13.
- Diebold SS, Montoya M, Unger H, Alexopoulou L, Roy P, Haswell LE, et al. Viral infection switches non-plasmacytoid dendritic cells into high interferon producers. *Nature* 2003; 424(6946): 324-8.
- Diebold SS, Kaisho T, Hemmi H, Akira S, Reis e Sousa C. Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA. *Science* 2004; 303(5663): 1529-31.
- Stasakova J, Ferko B, Kittel C, Sereinig S, Romanova J, Katinger H, et al. Influenza A mutant viruses with altered NS1 protein function provoke caspase-1 activation in primary human macrophages, resulting in fast apoptosis and release of high levels of interleukins 1 $\beta$  and 18. *J Gen Virol* 2005; 86(Pt 1): 185-95.
- Le Goffic R, Balloy V, Lagranderie M, Alexopoulou L, Escriou N, Flavell R, et al. Detrimental contribution of the Toll-like receptor (TLR)3 to influenza A virus-induced acute pneumonia. *PLoS Pathog* 2006; 2(6): e53.
- Pichlmair A, Schulz O, Tan CP, Naslund TI, Liljestrom P, Weber F, et al. RIG-I-mediated antiviral responses to single-stranded RNA bearing 5'-phosphates. *Science* 2006; 314(5801): 997-1001.
- Le Goffic R, Pothlichet J, Vitour D, Fujita T, Meurs E, Chignard M, et al. Cutting Edge: Influenza A virus activates TLR3-

- dependent inflammatory and RIG-I-dependent antiviral responses in human lung epithelial cells. *J Immunol* 2007; 178(6): 3368-72.
- 12 Opitz B, Rejaibi A, Dauber B, Eckhard J, Vinzing M, Schmeck B, *et al.* IFN beta induction by influenza A virus is mediated by RIG-I which is regulated by the viral NS1 protein. *Cell Microbiol* 2007; 9(4): 930-8.
- 13 Ichinohe T, Pang IK, Iwasaki A. Influenza virus activates inflammasomes via its intracellular M2 ion channel. *Nat Immunol* 2010; 11(5): 404-10.
- 14 McAuley JL, Tate MD, MacKenzie-Kludas CJ, Pinar A, Zeng W, Stutz A, *et al.* Activation of the NLRP3 inflammasome by IAV virulence protein PB1-F2 contributes to severe pathophysiology and disease. *PLoS Pathog* 2013; 9(5): e1003392.
- 15 Iwasaki A, Pillai PS. Innate immunity to influenza virus infection. *Nat Rev Immunol* 2014; 14(5): 315-28.
- 16 Yoshizumi T, Ichinohe T, Sasaki O, Otera H, Kawabata S, Mihara K, *et al.* Influenza A virus protein PB1-F2 translocates into mitochondria via Tom40 channels and impairs innate immunity. *Nat Commun* 2014; 5: 4713.
- 17 Pothlichet J, Meunier I, Davis BK, Ting JP, Skamene E, von Messling V, *et al.* Type I IFN triggers RIG-I/TLR3/NLRP3-dependent inflammasome activation in influenza A virus infected cells. *PLoS Pathog* 2013; 9(4): e1003256.
- 18 Wang X, Jiang W, Yan Y, Gong T, Han J, Tian Z, *et al.* RNA viruses promote activation of the NLRP3 inflammasome through a RIP1-RIP3-DRP1 signaling pathway. *Nat Immunol* 2014; 15(12): 1126-33.
- 19 Friesenhagen J, Viemann D, Borgeling Y, Schmolke M, Spiekermann C, Kirschnek S, *et al.* Highly pathogenic influenza viruses inhibit inflammatory response in monocytes via activation of rar-related orphan receptor RORalpha. *J Innate Immun* 2013; 5(5): 505-18.
- 20 Broderick L, de Nardo D, Franklin BS, Hoffman HM, Latz E. The inflammasome and autoinflammatory syndromes. *Annu Rev Pathol* 2015; 10: 395-424.
- 21 Mayor A, Martinon F, de Smedt T, Petrilli V, Tschopp J. A crucial function of SGT1 and HSP90 in inflammasome activity links mammalian and plant innate immune responses. *Nat Immunol* 2007; 8(5): 497-503.
- 22 Fernandes-Alnemri T, Wu J, Yu JW, Datta P, Miller B, Jankowski W, *et al.* The pyroptosome: A supramolecular assembly of ASC dimers mediating inflammatory cell death via caspase-1 activation. *Cell Death Differ* 2007; 14(9): 1590-604.
- 23 Lu A, Magupalli VG, Ruan J, Yin Q, Atianand MK, Vos MR, *et al.* Unified polymerization mechanism for the assembly of ASC-dependent inflammasomes. *Cell* 2014; 156(6): 1193-206.
- 24 Srinivasula SM, Poyet JL, Razmara M, Datta P, Zhang ZJ, Alnemri ES. The PYRIN-CARD protein ASC is an activating adaptor for caspase-1. *J Biol Chem* 2002; 277(24): 21119-22.
- 25 Keller M, Ruegg A, Werner S, Beer HD. Active caspase-1 is a regulator of unconventional protein secretion. *Cell* 2008; 132(5): 818-31.
- 26 Allen IC, Scull MA, Moore CB, Holl EK, McElvania-TeKippe E, Taxman DJ, *et al.* The NLRP3 inflammasome mediates in vivo innate immunity to influenza A virus through recognition of viral RNA. *Immunity* 2009; 30(4): 556-65.
- 27 Thomas PG, Dash P, Aldridge JR Jr, Ellebedy AH, Reynolds C, Funk AJ, *et al.* The intracellular sensor NLRP3 mediates key innate and healing responses to influenza A virus via the regulation of caspase-1. *Immunity* 2009; 30(4): 566-75.
- 28 Stout-Delgado HW, Vaughan SE, Shirali AC, Jaramillo RJ, Harrod KS. Impaired NLRP3 inflammasome function in elderly mice during influenza infection is rescued by treatment with nigericin. *J Immunol* 2012; 188(6): 2815-24.
- 29 Ichinohe T, Lee HK, Ogura Y, Flavell R, Iwasaki A. Inflammasome recognition of influenza virus is essential for adaptive immune responses. *J Exp Med* 2009; 206(1): 79-87.
- 30 Morales-Nebreda L, Chi M, Lecuona E, Chandel NS, Dada LA, Ridge K, *et al.* Intratracheal administration of influenza virus is superior to intranasal administration as a model of acute lung injury. *J Virol Methods* 2014; 209: 116-20.
- 31 Liu B. Interleukin-18 improves the early defence system against influenza virus infection by augmenting natural killer cell-mediated cytotoxicity. *J Gen Virol* 2004; 85(2): 423-8.
- 32 van Der Sluijs KF, van Elden LJ, Arens R, Nijhuis M, Schuurman R, Florquin S, *et al.* Enhanced viral clearance in interleukin-18 gene-deficient mice after pulmonary infection with influenza A virus. *Immunology* 2005; 114(1): 112-20.
- 33 Schmitz N, Kurrer M, Bachmann MF, Kopf M. Interleukin-1 is responsible for acute lung immunopathology but increases survival of respiratory influenza virus infection. *J Virol* 2005; 79(10): 6441-8.
- 34 Ichinohe T, Pang IK, Kumamoto Y, Peaper DR, Ho JH, Murray TS, *et al.* Microbiota regulates immune defense against respiratory tract influenza A virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(13): 5354-9.
- 35 Wilks J, Golovkina T. Influence of microbiota on viral infections. *PLoS Pathog* 2012; 8(5): e1002681.
- 36 Wu S, Jiang ZY, Sun YF, Yu B, Chen J, Dai CQ, *et al.* Microbiota regulates the TLR7 signaling pathway against respiratory tract influenza A virus infection. *Curr Microbiol* 2013; 67(4): 414-22.
- 37 Zeng H, Goldsmith CS, Maines TR, Belser JA, Gustin KM, Pekosz A, *et al.* Tropism and infectivity of influenza virus, including highly pathogenic avian H5N1 virus, in ferret tracheal differentiated primary epithelial cell cultures. *J Virol* 2013; 87(5): 2597-607.