

炎症复合体与流感病毒感染

赵京霞^{1,2,3} 郭玉红^{1,3} 刘卫红^{1,2,3} 刘清泉^{1,2,3}

(1 中医感染性疾病基础研究北京市重点实验室,北京,100010; 2 北京市中医研究所,北京,100010;

3 首都医科大学附属北京中医医院,北京,100010)

摘要 炎症复合体可识别和感受多种微生物产物及细胞内自身代谢性应激而活化胱天蛋白酶,诱导白介素-1 β 、白介素-18、白介素-33 等促炎性反应细胞因子的分泌及多种炎症递质的释放,在抗流感病毒感染过程中发挥着重要作用。这可能为调控流感病毒介导的免疫反应提供新的作用靶点。

关键词 炎症复合体;流感

Inflammasome and Influenza Virus Infection

Zhao Jingxia^{1,2,3}, Guo Yuhong^{1,3}, Liu Weihong^{1,2,3}, Liu Qingquan^{1,2,3}

(1 Beijing Key Laboratory of basic research with Traditional Chinese Medicine on infectious diseases, Beijing 100010, China;

2 Beijing Institute of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100010, China; 3 Beijing Hospital of Traditional

Chinese Medicine, affiliated with Capital Medical University, Beijing 100010, China)

Abstract Inflammasome is activated by a diversity of pathogens and endogenous danger signals, which results in Caspase-1 activation and secretion of pro-inflammatory cytokines such as IL-1 β , IL-18 and IL-33. The activation of inflammasome has being recognized as a key player and potential therapeutic target in fighting influenza virus infections.

Key Words Inflammasome; Influenza virus infections

中图分类号:R392.32 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2015.10.004

流行性感冒病毒(Influenza Virus),简称为流感病毒,属于正粘病毒科,其遗传物质为分节段的单股负链 RNA。依据核蛋白及基质蛋白抗原性的不同分为 A 型、B 型和 C 型。最为常见的流感病毒为 A 型流感病毒,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 等。每种亚型的基因组都处于不断的漂变和变换之中,使得机体曾经产生的特异性抗体的效果减弱,引起季节性的流感或世界大流行。

流感病毒通过呼吸道进入肺部后,如果能顺利突破黏膜分泌的黏液,则肺上皮细胞、巨噬细胞和树突状细胞就会受到入侵^[1]。流感病毒的感染和复制主要发生在机体这些细胞,从而引起机体局部炎症和全身性反应。在流感病毒入侵及复制过程中,机体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。天然免疫系统作为机体的第一道保护屏障,能够通过模式识别受体(PRRs)识别病原相关分子模式(PAMP)和损伤相关分子模式(DAMP),进而激活下游信号转导通路,引起炎症反应及诱导机体产生有效的适应性免疫应答,实现对病毒的控制和快速清除^[2]。其中炎症复合体作为重要的模式识别受体在天然免疫反应中发挥着至关重要的作用,本文重点介绍炎症复合体在流感病毒感染过程中的作用。

1 炎症复合体简介

炎症复合体(Inflammasome)是一种多蛋白复合体,分子量约 700 kD,此概念由 Tschopp 研究小组于 2002 年首次提出^[3]。炎症复合体可识别和感受多种微生物产物及细胞内自身代谢性应激,各种信号的刺激均能活化胱天蛋白酶(cysteineylaspartate-specific protease, caspase),诱导白介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-18、IL-33 等促炎性反应细胞因子的分泌及多种炎症递质的释放^[4]。炎症复合体不仅作为天然免疫的主要成员快速识别病原体,调节免疫应答和炎症反应,其活化对机体获得性免疫反应也具有重要调控作用,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^[5],对多种临床疾病的发生、发展具有重要意义。

炎症复合体主要由模式识别受体(即核心蛋白)、接头分子 ASC(Apoptosis Associated Speck-like

Protein Containing, CARD) 和效应分子 Caspase-1 组成。根据模式识别受体(即核心蛋白)的不同,炎症复合体主要分为 3 大类:1)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 Inhibitorprotein, NAIP)等。2) AIM2 炎症复合体,与含有 NLR 家族成员的其他炎症复合体不同,其含有 HIN200 家族的 AIM2 蛋白,由 AIM2、ASC 和 caspase-1 组成。3)新近发现的 RIG-I 炎症复合体属于 RIG-I 样受体家族^[6]。目前已发现的炎症复合体有 NLRP1、AIM-2、NLRP3、NLRC4、NLRP6、NLRP7、NLRP12 和 RIG-I 等^[7]。

炎症复合体核心蛋白在受到外源性和内源性危险信号刺激后,通过招募 ASC 和 pro-caspase-1,完成炎症复合物的装配和寡聚化^[8],寡聚化使 pro-caspase-1 实现空间距离的接近,进而自身切割形成成熟的 caspase-1^[9],caspase-1 负责将无活性 IL-1 β 前体剪切为成熟 IL-1 β ,并且 caspase-1 也能水解 pro-IL-18 和 pro-IL-33 等促炎性反应细胞因子,使其成为有活性的 IL-18 和 IL-33,从而引起炎症反应,介导多种感染性疾病的病生理过程^[10]。

2 炎症复合体与流感病毒感染

流感病毒被认为是最具代表性的 NLRP3 炎症复合体激活剂。研究表明,流感病毒可诱导野生型小鼠来源的骨髓巨噬细胞或树突细胞 caspase-1 的成熟、IL-1 β 的分泌以及肺泡灌洗液中 IL-1 β 显著升高,而在 Nalp3 $^{-/-}$ 、ASC $^{-/-}$ 、caspase-1 $^{-/-}$ 小鼠中未发现相应的变化^[11-13]。并且,小鼠通过滴鼻感染流感病毒后,肺组织中 NLRP3 炎症复合体所有组成部分的表达均显著升高^[14]。流感病毒可能主要通过其病毒的 RNA 及非结构蛋白 PB1-F2 激活 NLRP3 炎症复合体。流感病毒 RNA 转染野生型小鼠骨髓巨噬细胞可显著上调 IL-1 β 的表达,而来源于 Nalp3 $^{-/-}$ 、ASC $^{-/-}$ 、caspase-1 $^{-/-}$ 3 种基因缺失小鼠的巨噬细胞在受到相应刺激时,IL-1 β 分泌水平未见明显波动^[6]。PB1-F2 缺失的突变病毒感染小鼠后,肺泡灌洗液 IL-1 β 含量与正常病毒感染相比显著降低^[15]。以上研究提示,流感病毒感染后,病毒非结构蛋白 PB1-F2 在吞噬体内的聚集可进一步激活 NLRP3 炎症复合体,促进 IL-1 β 的分泌及释放。

在流感病毒感染研究中,NLRP3 炎症复合体对小鼠生存率的影响不一致。亚致死剂量流感病毒 PR8 感染 WT、Nalp3 $^{-/-}$ 、ASC $^{-/-}$ 、caspase-1 $^{-/-}$ 小鼠,生存率分别为 70%、20%、40% 和 30%^[13-14];研究证实尼日利亚菌素(nigericin)具有增强 NLRP3 活性的作用,流感病毒感染时,尼日利亚菌素的处理对 15 ~ 16 个月龄的 BALB/c 小鼠有保护作用^[16]。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^[12]。

Thomas PG 研究团队发现,流感病毒感染小鼠后第 3 天,Nalp3 $^{-/-}$ 小鼠呈现局部细支气管上皮细胞坏死及嗜中性粒细胞、巨噬细胞浸润,而 WT 小鼠的细支气管几乎不受影响;感染后第 11 天,Nalp3 $^{-/-}$ 小鼠及 caspase-1 $^{-/-}$ 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^[13]。本研究证实,NLRP3 在病毒引起肺损伤后的修复中起着重要的作用。

另有研究表明,流感病毒可引起 RIG-I 炎症复合体的激活及下游 Caspase-3 和 IL-18 的分泌^[17]。而来源于 RIG-I $^{-/-}$ 小鼠细胞感染流感病毒后,I 型 IFN 的分泌能力下降^[18]。Pothlichet 等^[19]发现,在肺支气管上皮细胞中,流感病毒通过 RIG-I/线粒体抗病毒途径诱导 I 型 IFN 的分泌,而 I 型 IFN 又可上调 RIG-I 炎症复合体的表达。由此可见,RIG-I 炎症复合体主要通过 I 型 IFN 的分泌及合成环路调节机体流感病毒感染后的免疫反应。

3 总结

目前对 NLRP3 炎症复合体和流感病毒感染的研究较多,其余炎症复合体在流感病毒感染过程中的作用尚有待明确。虽然炎症复合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^[20],这可能为调控流感病毒介导的免疫反应提供新的治疗靶点。

参考文献

- [1] Owen DM, Gale M Jr. Fighting the flu with inflammasome signaling [J]. Immunity, 2009, 30(4): 476-478.
- [2] Thomas R, Madani R, Worthington T, et al. The usefulness of P-POS-SUM score in patients undergoing elective liver resection for benign disease, metastatic colorectal cancer and non-colorectal cancer [J]. Hepatogastroenterology, 2012, 59(120): 2421-2427.
- [3] Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta [J]. Mol Cell, 2002, 10(2): 417-426.
- [4] Guo H, Callaway JB, Ting JP. Inflammasomes: mechanism of action,

- role in disease, and therapeutics [J]. *Nat Med*, 2015, 21 (7): 677-687.
- [5] Watanabe H, Gehrke S, Contassot E, et al. Danger signaling through the inflammasome acts as a master switch between tolerance and sensitization [J]. *J Immunol*, 2008, 180 (9): 5826-5832.
- [6] I-Yin Chen, Takeshi Ichinohe. Response of host inflammasomes to viral infection [J]. *Trends microbiol*, 2015, 23 (1): 55-63.
- [7] Broderick L, de Nardo D, Franklin BS, et al. The inflammasome and autoinflammatory syndromes [J]. *Annu Rev Pathol*, 2015, 10: 395-424.
- [8] Wu Y, Ren J, Zhou B, et al. Gene silencing of non-obese diabetic receptor family (NLRP3) protects against the sepsis-induced hyper-bile acidemia in a rat model [J]. *Clin Exp Immunol*, 2015, 179 (2): 277-293.
- [9] 李青, 汪昌宁, 宋亚玲. NALP3 炎性体与相关疾病的研究进展 [J]. *牙体牙髓牙周病学杂志*, 2011, 21 (6): 355-359.
- [10] Negash AA, Ramos HJ, Crochet N, et al. IL-1 β production through the NLRP3 inflammasome by hepatic macrophages links hepatitis C virus infection with liver inflammation and disease [J]. *PLoS Pathog*, 2013, 9: e1003330.
- [11] Kanneganti TD, Body-Malapel M, Amer A, et al. Critical role for cryopyrin/Nalp3 in activation of caspase-1 in response to viral infection and double-stranded RNA [J]. *J. Biol. Chem*, 2006, 281 (48): 36560-36568.
- [12] Ichinohe T, Lee HK, Ogura Y, et al. Inflammasome recognition of influenza virus is essential for adaptive immune responses [J]. *J. Exp. Med*, 2009, 206 (1): 79-87.
- [13] Thomas PG, Dash P, Aldridge JR Jr, et al. The intracellular sensor NLRP3 mediates key innate and healing responses to influenza A virus via the regulation of caspase-1 [J]. *Immunity*, 2009, 30 (4): 566-575.
- [14] Allen IC, Scull MA, Moore CB, et al. The NLRP3 inflammasome mediates in vivo innate immunity to influenza A virus through recognition of viral RNA [J]. *Immunity*, 2009, 30 (4): 556-565.
- [15] McAuley JL, Tate MD, MacKenzie-Kludas CJ, et al. Activation of the NLRP3 inflammasome by IAV virulence protein PB1-F2 contributes to severe pathophysiology and disease [J]. *PLoS Pathog*, 2013, 9 (5): e1003392.
- [16] Stout-Delgado HW, Vaughan SE, Shirali AC, et al. Impaired NLRP3 inflammasome function in elderly mice during influenza infection is rescued by treatment with nigericin [J]. *J Immunol*, 2012, 188 (6): 2815-2824.
- [17] Kato H, Takeuchi O, Sato S, et al. Differential roles of MDA5 and RIG-I helicases in the recognition of RNA viruses [J]. *Nature*, 2006, 441 (7089): 101-105.
- [18] Rintahaka J, Wiik D, Kovanen PE, et al. Cytosolic antiviral RNA recognition pathway activates caspases 1 and 3 [J]. *J. Immunol*, 2008, 180: 1749-1757.
- [19] Pothlichet J, Meunier I, Davis BK, et al. Type I IFN triggers RIG-I/TLR3/NLRP3-dependent inflammasome activation in influenza A virus infected cells [J]. *PLoS Pathog*, 2013, 9 (4): e1003256.
- [20] 牛俊领, 陈明宽, 吴淑娴, 等. NLRP3 炎症小体在流感病毒感染中的作用 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2015, 37 (4): 547-552.
- (2015-10-08 收稿 责任编辑: 洪志强)
- (上接第 1479 页)
- [36] Teijaro JR. The Role of Cytokine Responses During Influenza Virus Pathogenesis and Potential Therapeutic Options [J]. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 2015, 386: 3-22.
- [37] Perrone LA, Plowden JK, García-Sastre A, et al. H5N1 and 1918 pandemic influenza virus infection results in early and excessive infiltration of macrophages and neutrophils in the lungs of mice [J]. *PLoS Pathog*, 2008, 4 (8): e1000115.
- [38] Pang IK, Pillai PS, Iwasaki A. Efficient influenza A virus replication in the respiratory tract requires signals from TLR7 and RIG-I [J]. *Proc Nat Acad Sci U. S. A.*, 2013, 110 (34): 13910-13915.
- [39] Tumpey TM, García-Sastre A, Taubenberger JK, et al. Pathogenicity of influenza viruses with genes from the 1918 pandemic virus: functional roles of alveolar macrophages and neutrophils in limiting virus replication and mortality in mice [J]. *J Virol*, 2005, 79 (23): 14933-14944.
- [40] Tate MD, Pickett DL, van Rooijen N, et al. Critical role of airway-macrophages in modulating disease severity during influenza virus infection of mice [J]. *J Virol*, 2010, 84 (15): 7569-7580.
- [41] Brandes M, Klauschen F, Kuchen, et al. A systems analysis identifies a feedforward inflammatory circuit leading to lethal influenza infection [J]. *Cell*, 2013, 154 (1): 197-212.
- [42] Hartmann BM, Thakar J, Albrecht RA, et al. Human Dendritic Cell Response Signatures Distinguish 1918, Pandemic, and Seasonal H1N1 Influenza Viruses [J]. *J Virol*, 2015, 89 (20): 190-205.
- [43] Aldridge JR Jr, Moseley CE, Boltz DA, et al. TNF/ iNOS -producing dendritic cells are the necessary evil of lethal influenza virus infection [J]. *Proc Nat Acad Sci U. S. A.*, 2009, 106 (13): 5306-5311.
- (2015-10-08 收稿 责任编辑: 洪志强)