亮点

炎症坏死和白介素 1 分泌的执行官: GSDMD

孟广勋, 王洪斌

中国科学院上海巴斯德研究所, 天然免疫研究组, 上海 200031

E-mail: gxmeng@ips.ac.cn

收稿日期: 2015-09-28; 接受日期: 2015-09-30; 网络版发表日期: 2015-09-30

doi: 10.1360/N052015-00303

Caspases 是半胱氨酸蛋白酶, 根据功能差异, 这些 Caspases 分别属于凋亡 Caspase 或炎性 Caspase. 炎性 Caspase 包括人类 (*Homo sapiens*) 的 Caspase-1, Caspase-4, Caspase-5 和小鼠 (*Mus musculus*) 的 Caspase-1, Caspase-11^[1]. 高等动物的炎性 Caspases 主要表达于天然免疫细胞和部分组织细胞中, 对病原感染或危险信号分子刺激产生应答, 引起细胞的炎症坏死 (pyroptosis) 及细胞因子白介素 1 beta (interleukin-1 beta, IL-1 β) 和白介素 18 的分泌等炎症反应. Caspase-1 是最早被发现的 Caspase 家族成员, 早在 20 世纪 80 年代末就被发现可以诱导白介素 1 beta 的成熟和细胞死亡^[1-2]. 后续的研究发现, Caspase-1 的激活是由炎症小体 (inflammasome) 这种蛋白复合物在感知病原感染等刺激后启动的^[3-4]. 炎症小体的发现大大加深了人们对白介素 1 beta 等重要炎性细胞因子的成熟与分泌机制的理解, 是近年来天然免疫领域最重要的研究进展. 另外, 人的 Caspase-4/5 和小鼠的 Caspase-11 可以在细胞内作为受体结合细菌脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS; 内毒素) 而介导炎症坏死^[5]. 这些炎性 Caspases 在内毒素休克和细菌诱导的败血症以及其他多种疾病中都发挥着重要的作用^[6], 但长期以来人们对这组 Caspases 活化后究竟如何导致细胞的炎症坏死这一问题完全不了解.

最近, 北京生命科学研究所以邵峰及其团队^[7]发现了炎性 Caspases 诱导细胞炎症坏死的机制, 论文发

表在 2015 年 9 月 16 日的 *Nature* 上 (article). 在这项最新的研究中, 邵峰教授领导其团队成员利用 CRISPR (clustered regularly interspaced palindromic repeat)-Cas9 基因组编辑技术, 在小鼠巨噬细胞中针对 Caspase-1 和 Caspase-11 介导的炎症坏死通路进行了全基因组范围的筛选, 鉴定到了一个名为 Gasdermin D (GSDMD) 的蛋白. 通过在小鼠或人的细胞中敲除 GSDMD, 他们发现 GSDMD 的缺失可以完全抑制多种已知炎症小体 (Caspase-1 通路) 和胞内脂多糖 (Caspase-4/5/11 通路) 引起的炎症坏死. 另外, GSDMD 缺失后并不影响抑制 Caspase-1 本身的激活及其对白介素 1 beta 前体的切割, 但是切割后成熟的白介素 1 beta 却不能分泌到细胞外. 该结果提示 GSDMD 在炎性 Caspases 的下游发挥作用, 且对成熟白介素 1 beta 的分泌是必需的. 但 GSDMD 介导的炎症坏死与白介素 1 beta 的分泌之间是否有因果联系目前还不清楚 (图 1).

他们的进一步研究发现, GSDMD 是炎性 Caspases 的共有底物, 而凋亡 Caspases 不能切割 GSDMD. 另外, 只有正常的 GSDMD, 而不是那些不能被炎性 Caspases 切割的 GSDMD 突变体回补到 GSDMD 敲除的细胞才能介导炎症坏死的发生, 说明 GSDMD 被炎性 Caspases 切割后才能引起炎症坏死. 确实, 邵峰团队的后续实验证明, GSDMD 被切割后产生的 N 端结构域可以引发炎症坏死, 说明其 C 端结构域在细胞静息状态下会抑制其 N 端结构域, 从

引用格式: 孟广勋, 王洪斌. 炎症坏死和白介素 1 分泌的执行官: GSDMD. 中国科学: 生命科学, 2015, 45: 1262-1263

Meng G X, Wang H B. GSDMD has been identified as a critical executor for pyroptosis and interleukin-1beta secretion. SCIENTIA SINICA Vitae, 2015, 45: 1262-1263, doi: 10.1360/N052015-00303

图1 GSDMD 介导炎症坏死与白介素 1 beta 的分泌
(网络版彩图)

细胞内炎症小体(NLRP3/NLRC4/AIM2)激活后通过接头蛋白 ASC 介导 Caspase-1 的激活,活化的 Caspase-1 介导 pro-IL-1beta 和 GSDMD 的切割,GSDMD 的抑制性 C-末端被切除后,活化的 N 末端 N-GSDMD 介导成熟 IL-1beta 的分泌和炎症坏死(pyroptosis)过程.另一方面,胞内 LPS(intracellular LPS)能够直接结合和活化 Caspase-11(Caspase-4, Caspase-5),后者也能够切割活化 GSDMD 介导炎症坏死. Inflammasome stimuli: 能够激活炎症小体的多种物质,如 ATP, DNA, 细菌毒素等

而使 GSDMD 处于无活性的状态.另外, GSDMA3 的 N 端结构域也可以引发细胞的炎症坏死,暗示 Gasdermin 家族的蛋白都有可能引发炎症坏死.这样炎症坏死被重新定义为“Gasdermin 依赖的程序性细胞死亡”^[7].

无独有偶, *Nature* 同期发表的另一篇文章也发现 GSDMD 被 Caspase-4/5/11 切割后引起炎症坏死和白

介素 1 beta 分泌^[8].但值得注意的是, Dixit 及其团队的数据显示在 Pam3CSK4 预刺激的细胞被三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)处理 2 h 的条件下 GSDMD 参与 NLRP3-Caspase-1 介导的炎症坏死,但 ATP 处理 8 或 16 h 条件下 GSDMD 就不是必需的了,其中的原因还有待揭示.另外, Dixit 实验室发现 GSDMD 的缺失影响到了 Caspase-1 的活化,并认为这是由于 NLRP3 炎症小体的激活缺陷所致,但这部分研究并没有直接比较 GSDMD 蛋白在正常或 NLRP3 缺失细胞中是否会引起 Caspase-1 活化的差别^[8].在研究炎症坏死时, Dixit 及其团队用 Pam3-CSK4 预刺激 6 h 然后转染脂多糖 16 h 后观察细胞死亡;而邵峰及其团队不对细胞进行预刺激,直接利用高效的脂多糖电转体系电转 2 h 后检测.这些实验细节的差异很可能会导致信号通路激活的差别,相信他们后续的研究会对这些信号进一步揭示;但无论如何, GSDMD 被炎性 Caspase 切割后导致细胞死亡是毋庸置疑的(图 1).

总之,以上最新研究发现了炎性 Caspase 的新底物 GSDMD,并证明该蛋白的切割对于细胞的炎症坏死既是必要的又是充分的,从而首次深入揭示了炎性 Caspase 诱导细胞炎症坏死和白介素 1 beta 分泌的关键分子机制.当然, GSDMD 如何调控炎症坏死还有待深入研究,但邵峰等学者的这些发现已经把程序性细胞坏死以及炎症小体的研究向前推进了非常重要的一步,也为多种炎症相关疾病的控制提供了一个全新的药物靶点,具有非常重要的理论意义和潜在的转化价值.

参考文献

- 1 Yazdi A S, Guarda G, D'Ombain M C, et al. Inflammatory caspases in innate immunity and inflammation. *J Innate Immun*, 2010, 2: 228–237
- 2 Black R A, Kronheim S R, Merriam J E, et al. A pre-aspartate-specific protease from human leukocytes that cleaves pro-interleukin-1 beta. *J Biol Chem*, 1989, 264: 5323–5326
- 3 Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Mol Cell*, 2002, 10: 417–426
- 4 Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes. *Cell*, 2010, 140: 821–832
- 5 Shi J, Zhao Y, Wang Y, et al. Inflammatory caspases are innate immune receptors for intracellular LPS. *Nature*, 2014, 514: 187–192
- 6 Kayagaki N, Wong M T, Stowe I B, et al. Noncanonical inflammasome activation by intracellular LPS independent of TLR4. *Science*, 2013, 341: 1246–1249
- 7 Shi J, Zhao Y, Wang K, et al. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature*, 2015, doi: 10.1038/nature15514
- 8 Kayagaki N, Stowe I B, Lee B L, et al. Caspase-11 cleaves gasdermin D for non-canonical inflammasome signaling. *Nature*, 2015, doi: 10.1038/nature15541