

流感病毒感染中炎症小体的激活和调控机制

林裕贵¹, 李程颐¹, 李培群¹, 钟伟娟¹, 林春秀², 张增峰¹

摘要:炎症反应是宿主抗流感病毒感染的一个重要过程,它可以诱导产生抗病毒的炎症微环境以减少病毒的复制和扩散,同时参与对流感病毒的适应性免疫反应,在机体抗流感病毒感染过程中至关重要。然而,过度的炎症反应同时也是流感病毒重症感染、甚至死亡的主要因素。研究表明,炎症小体作为炎症反应的重要启动和调节分子,介导 IL-1 β 和 IL-18 的成熟和分泌并诱导了细胞焦亡,在流感病毒发病机制中起着重要的调节作用,因此,针对炎症小体的激活和调控也成为流感病毒治疗的一个新策略。

关键词:流感病毒;感染;炎症小体;激活;调控机制

中图分类号:R373.1

文献标识码:A

文章编号:1002-2694(2021)08-0741-07

Activation and regulation mechanisms of the inflammasome in influenza virus infection

LIN Yu-gui¹, LI Cheng-yi¹, LI Pei-qun¹, ZHONG Wei-juan¹, LIN Chun-xiu², ZHANG Zeng-feng¹

(1. Department of Microbiology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China;

2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The inflammatory response is an important process in the host defense against influenza virus infection, which can induce an antiviral inflammatory microenvironment, thus diminishing the replication and spread of the virus, and can participate in the adaptive immune response to the influenza virus. However, an excessive inflammatory response is also a major factor in severe influenza virus infection and even death. Studies have shown that the inflammasome, an important promoter and regulator of the inflammatory response, mediates the maturation and secretion of IL-1 β and IL-18, and induces pyroptosis, which plays an important regulatory role in the pathogenesis of influenza virus. Hence, the activation and regulation of the inflammasome has become a new strategy for influenza virus treatment.

Keywords: influenza virus; infection; inflammasome; activation; regulation mechanism

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No.31660041) and the Innovation Project of Guangxi Graduate Education (No.YCSW2020124)

Corresponding author: Zhang Zeng-feng, Email:zfzhangphd@163.com

流感是人类的主要传染病之一,除了人流感病毒易感人类外,动物流感病毒也频繁地跨越物种间的屏障向人类传播,严重威胁人类健康和公共卫生安全。研究表明,炎症小体是宿主抗流感病毒感染的重要机制之一,可以激活炎性半胱天冬酶

(Caspase)分子,介导促炎细胞因子 IL-1 β 和 IL-18 的分泌,参与机体的固有免疫和适应性免疫;但是炎症小体过度激活也会激发严重的炎症反应,导致组织器官免疫损伤,因此炎症小体的激活及其调控机制已经成为当前研究的热点。本文主要介绍流感病毒与炎症小体的研究进展,重点介绍流感病毒感染过程中涉及到炎症小体激活和调控的各种细胞和病毒因素,以期有助于流感病毒感染与宿主抗病毒免疫机制的研究。

国家自然科学基金项目(No.31660041)、广西研究生教育创新计划项目(No.YCSW2020124)联合资助

通讯作者:张增峰,Email:zfzhangphd@163.com;

ORCID:0000-0003-2850-1889

作者单位:1.广西医科大学微生物学教研室,南宁 530021;

2.江南大学食品学院,无锡 214122

1 流感病毒与宿主抗感染免疫概述

流感病毒属正粘病毒科,是一种呈球状或丝状的分节段、单股负链 RNA 病毒,根据核蛋白(Nucleoprotein, NP)和基质蛋白(Matrix protein, M)的抗原特性不同可分为甲(A)、乙(B)、丙(C)、丁(D)4种不同类型。其中,甲、乙、丙型流感病毒均能感染人,而最新发现的丁型流感病毒主要感染牛、猪等家畜,目前尚未发现其可感染人^[1]。流感病毒中,甲型流感病毒(Influenza A virus, IAV)宿主范围广、变异速度快、流行范围大、致病力强,因而对人类的危害最大。IAV 基因组由 8 个分节段的 RNA 组成,编码 11 种以上蛋白。根据病毒囊膜表面血凝素(Hemagglutinin, HA)和神经氨酸酶(Neuraminidase, NA)的抗原性差异,IAV 可进一步分为 18 种 HA 亚型(H1-H18)和 11 种 NA 亚型(N1-N11),在人类流行的主要有 H1N1、H2N2 和 H3N2 亚型。人流感病毒主要感染上呼吸道组织,但持续感染时可感染细支气管、肺泡等下呼吸道组织,从而引发病毒性肺炎;而禽流感病毒主要感染下呼吸道的肺泡^[2]。机体的抗感染免疫包括固有免疫和适应性免疫:固有免疫由物理屏障和各种吞噬细胞、自然杀伤细胞以及机体分泌的干扰素(IFNs)等组成,在流感病毒感染的早期启动并形成局部抗感染的免疫微环境;适应性免疫由 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞介导,主要依赖细胞毒性 T 淋巴细胞和中和抗体对被感染的细胞进行杀伤,在感染的中晚期联合固有免疫共同清除病毒。值得注意的是,机体免疫引起的过度炎症反应即“细胞因子风暴”(Cytokine storm)被认为是致病性流感病毒感染致死的主要原因^[3]。在这一过程中,炎症小体作为炎症反应的关键启动和调节分子发挥了重要作用。

2 炎症小体在流感病毒感染中的作用

2.1 炎症小体的保护性和损害性作用 炎症小体是由一类具有识别病原体或细胞应激信号功能的胞质模式识别受体(Pattern recognition receptors, PRRs)参与组装的多蛋白复合体^[4]。现已发现与流感病毒感染相关的炎症小体 PRRs 包括:NOD 样受体(NOD-like receptors, NLRs)家族的 NLRP3、AIM2 样受体(AIM2-like receptors, ALRs)家族的 AIM2、维甲酸诱导型基因 I(Retinoic acid-inducible gene I, RIG-I)以及粘病毒抵抗蛋白 A(Myxovirus Resistant Protein A, MxA)。流感病毒感染研究表明,炎症小体兼具保护性和损害性作用。研究发现,与野生型小鼠相比,NLRP3 炎症小体或 Caspase-1

缺陷小鼠的生存率显著下降^[5-7],在此过程中,NLRP3 炎症小体促进了小鼠感染后的肺部损伤修复^[5],同时通过调节 CD₄⁺、CD₈⁺ T 细胞以及 B 细胞介导的抗体生成而影响了适应性免疫^[6]。此外,在流感病毒感染早期使用 NLRP3 抑制剂 MCC950 处理可以使小鼠生存率下降,然而在感染中后期使用 MCC950 处理则可以提高小鼠的生存率,表明 NLRP3 炎症小体介导的炎症反应可能是影响流感病程的关键因素,在感染的不同阶段起到不同作用^[8]。但炎症小体在致病性流感病毒感染中的作用则倾向于损害性,如 1918 年的流感大流行毒株和高致病性 H5N1 禽流感病毒,在猴子模型中诱导了依赖于 NLRP3 炎症小体介导的细胞因子风暴,引发了强烈的肺部损伤^[9-10]。此外,AIM2 炎症小体在两个独立的小鼠模型研究中也分别表现出了保护性和损害性作用^[11-12]。总体而言,炎症小体在流感病毒感染中的作用是一把双刃剑,它所介导的炎症反应对机体正确启动固有免疫和适应性免疫都至关重要,但炎症小体的过度激活可能导致严重的免疫病理损伤,甚至诱发细胞因子风暴。因此,深入了解机体和病毒对炎症小体的激活和调控机制就显得非常重要。

2.2 炎症小体的结构和促炎机制 流感病毒激活的 NLRP3、AIM2、RIG-I 以及 MxA 炎症小体均属于经典模型,主要由感受器蛋白 PRRs、衔接蛋白凋亡相关的斑点样蛋白[Apoptosis associated speck-like protein containing CARD(a caspase activation and recruitment domain), ASC]和效应蛋白 Caspase-1 前体(Pro-Caspase-1)构成,PRRs 被刺激激活后,可以通过接头蛋白 ASC 上的 Caspase 募集结构域募集 Pro-Caspase-1,Pro-Caspase-1 随后自我裂解为具有活性的 Caspase-1,后者将 Pro-IL-1 β 和 Pro-IL-18 加工成为成熟的 IL-1 β 和 IL-18,从而诱导炎症反应^[4]。此外,炎症小体还能诱导一种严格依赖于 Gasdermin(GSDM)蛋白家族介导的细胞焦亡,分为人源或鼠源 Caspase-1 通过炎症小体介导的经典途径和人源 Caspase-4,5 或鼠源 Caspase-11 直接结合脂多糖(LPS)介导的非经典途径^[13]。经典途径中,焦亡的发生需要持续激活炎症小体,产生的 Caspase-1 除了裂解 Pro-IL-1 β 和 Pro-IL-18,还裂解 GSDMD 产生具有细胞膜毒性的 N 端结构域(GSDMD-N),从而导致细胞裂解和促炎因子释放^[14]。研究还发现,Caspase-3 在化疗药物的作用下,也能作为炎性 Caspase 裂解 GSDME 引发焦亡^[15]。

3 流感病毒介导炎症小体的激活机制

流感病毒激活炎症小体需要双重信号^[16]:第一信号是启动信号,主要依赖于 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs) 和 RIG-I 样受体(RIG-I-like receptors,RLRs),通过识别病毒 RNA 和分泌促炎因子激活核因子 κ B(NF- κ B) 信号通路,上调 Pro-IL-1 β 、Pro-IL-18 和炎症小体成分的转录表达;第二信号是组装信号,即炎症小体 PRRs 的激活,进而诱导炎症小体的组装活化。

3.1 TLRs 的激活 人体中的 TLRs 包括 TLR1-10,其中 TLR3 和 TLR7/8(高度同源)可以分别感知流感病毒感染所产生的复制中间体双链 RNA(Double-stranded RNA, dsRNA)和单链 RNA(Single-Stranded RNA, ssRNA),并分别通过含 TIR 结构域诱导 β 干扰素的接头蛋白(TIR-domain-containing adaptor inducing interferon- β , TRIF)和髓样分化因子 88(Myeloid differentiation factor protein 88, MyD88)途径介导抗病毒免疫反应^[17]。不同细胞感染流感病毒后通过不同类型的 TLRs 激活炎症小体,例如小鼠骨髓来源巨噬细胞(BMMs)主要依靠 TLR7 来激活^[18],而正常人支气管上皮细胞(Normal human bronchial epithelium, NHBE)主要依靠 TLR3 和 RIG-I^[19]。这可能与 TLRs 在不同细胞中的分布差异有关,NHBE 中分布有 TLR1-6,而 TLR7 几乎不表达^[20]。TLR1、TLR2、TLR4、TLR5、TLR6 和 TLR9 则可以识别脂肽或肽聚糖、LPS、鞭毛蛋白以及含有未甲基化 CpG 的 DNA 序列(CpG-DNA)等多种细菌成分^[17],其对共生菌群的识别也是炎症小体激活的第一信号的重要来源。感染流感病毒的小鼠经口服抗生素治疗后能抑制 NLRP3 炎症小体的激活,减少 Pro-IL-1 β mRNA、Pro-IL-18mRNA 的转录以及 IL-1 β 、IL-18 的表达,而在使用不同类型的 TLRs 激活剂聚肌胞苷酸(Polyinosinic polycytidylic acid, Poly I:C)、LPS、鞭毛蛋白、CpG-DNA 后能不同程度地恢复小鼠的免疫损伤^[21]。肠道菌群对呼吸道抗流感病毒免疫也至关重要,完好的肠道菌群可上调小鼠 TLR7 信号通路,进而促进呼吸道中炎症小体的激活,减轻流感病毒对呼吸道黏膜的损伤^[22]。在流感病毒合并肺炎链球菌感染的小鼠模型中,肺炎链球菌可以激活 TLR2,与流感病毒协同作用于 NLRP3 炎症小体的激活^[23]。此外,有研究发现流感病毒的功能 RNA 蛋白复合物可激活 TLR10,并介导细胞因子和 β -干扰素的生成^[24]。

3.2 RLRs 的激活 RLRs 是胞质中一类可以识别

异己 RNA 的 RNA 解旋酶,成员主要包括 RIG-I、黑色素瘤分化相关基因 5(Melanoma differentiation-associated gene 5, MDA5)和遗传学与生理学实验室蛋白 2(Laboratory of genetics and physiology 2, LGP2)。RIG-I 和 MDA5 识别不同类型的 RNA,RIG-I 识别短链(<300 bp)dsRNA 和病毒的含 5'端三磷酸基团修饰的 ssRNA(5'PPP-ssRNA),MDA5 则识别长链($>1\ 000$ bp)dsRNA^[25]。RIG-I 和 MDA5 在识别出异己 RNA 后,通过结合下游线粒体抗病毒信号蛋白(Mitochondrial antiviral signaling adaptor, MAVS)激活 NF- κ B 和干扰素调节因子(Interferon regulatory factor, IRF)IRF3/7 信号通路,诱导细胞因子和 IFNs 的表达,产生抗病毒效应^[25]。LGP2 则通过结合 RIG-I、MDA5 起到免疫调节作用^[26],或协助 RIG-I、MDA5 与 RNA 的组装^[27]。有研究发现 MDA5 也参与了流感病毒感染的先天免疫应答,但其机制尚不明确^[28]。此外,RIG-I 还具有炎症小体感受器的作用。研究发现,RIG-I 是流感病毒感染人原代肺上皮细胞及 NHBE 细胞过程中主要的炎症小体激活因子,IL-1 β 的分泌主要依赖于 RIG-I,而非 NLRP3;免疫共沉淀试验进一步发现,与正常肺上皮细胞或 NHBE 细胞相比,流感病毒感染的细胞内 RIG-I/Caspase1 和 RIG-I/ASC 复合体明显增加,表明 RIG-I 可独立组装成 RIG-I 炎症小体^[19]。

3.3 NLRP3 的激活 NLRP3 炎症小体是现已知激活剂类型最多样化的炎症小体,可以识别各种病原体以及内源性分子引发的多种细胞损伤信号而激活,如细胞体积改变、溶酶体破裂、活性氧(Reactive oxygen species, ROS)或线粒体 DNA(Mitochondrial DNA, mtDNA)、K⁺外流以及 Ca²⁺离子信号升高^[29]。研究表明,流感病毒也能有效地激活 NLRP3 炎症小体,主要通过以下机制:1)病毒 RNA 激活:研究发现,流感病毒感染或转染病毒 RNA 到小鼠或人源巨噬细胞,以及将纯化的病毒 RNA 或 RNA 类似物 Poly I:C 直接注射到小鼠腹腔,都能诱导依赖于 NLRP3 的 IL-1 β 分泌并引起炎症反应,这表明流感病毒可以直接激活 NLRP3 炎症小体^[30];但单纯转染病毒 RNA 时,NLRP3 炎症小体的激活程度要低于病毒感染^[6],提示 NLRP3 炎症小体的激活还与其它病毒感染因素有关。2)线粒体激活:线粒体活性氧(Mitochondrial reactive oxygen species, mtROS)是 NLRP3 炎症小体激活的一种机制,但研究发现流感病毒并不依赖 mtROS 来激活 NLRP3 炎症小体,而是通过 NLRP3 和 MA-

VS 以线粒体膜电位依赖的方式与线粒体融合蛋白 2(Mitofusin2, Mfn2)结合而激活^[31];但 mtROS 可能参与了相关过程, 小鼠感染流感病毒后使用 mtROS 抑制剂可以减轻气道和肺部的炎症反应, 并降低其气道 IL-1 β 的表达^[32]。3) PB1-F2(Polymerase basic protein 1-F2, PB1-F2)激活: PB1-F2 蛋白是流感病毒表达的一种毒力因子, 研究发现高分子量的 PB1-F2 蛋白聚合物能诱导 NLRP3 炎症小体的形成, 暴露在 PB1-F2 蛋白或感染表达 PB1-F2 蛋白的 IAV 都能引起小鼠强烈的炎症反应^[33]。此外, PB1-F2 蛋白具有靶向线粒体的序列, 来自致病性 H7N9 禽流感病毒的 PB1-F2 蛋白可以定位在线粒体上并诱导 mtROS 生成, 从而激活 NLRP3 炎症小体^[34]。4) 基质蛋白 2(Matrix protein 2, M2)激活: 流感病毒 M2 蛋白是一种具有离子通道活性的膜蛋白, 当病毒复制时主要表达于细胞的膜系统。研究发现, M2 蛋白可以通过在高尔基体反面网状结构上转出质子^[18]或在细胞膜上介导 K⁺外流^[35], 引起细胞内离子浓度紊乱, 激活 NLRP3 炎症小体。

5) Z-DNA 结合蛋白 1(Z-DNA-Binding Protein 1,

ZBP1)激活: ZBP1 是一种由 IFNs 诱导产生的多功能感受器, 可以识别细胞内的 DNA 和 RNA。最新研究发现, ZBP1 还可以识别流感病毒的 NP 和聚合酶碱性蛋白 1(Polymerase basic protein 1, PB1), 在流感病毒感染时通过两个受体相互作用蛋白同型结构域(RIP homotypic interaction motif, RHIM)募集 RIP 激酶(RIPK1)RIPK1 和 RIPK3 介导不同的细胞死亡方式, ZBP1-RIPK1 诱导细胞凋亡或坏死性凋亡, 而 ZBP1-RIPK3 激活 NLRP3 炎症小体诱导细胞焦亡^[36]。RIPK1-RIPK3 复合体还能激活动力蛋白相关蛋白 1(Dynamin-related protein 1, DRR1), 并迁移向线粒体, 导致线粒体损伤和 NLRP3 炎症小体的激活^[37]。(6) 2'-5'寡聚腺苷酸合成酶/核糖核酸酶 L(2'-5' oligoadenylate synthetase/RnaseL, OAS/RnaseL)激活: OAS 酶是 IFNs 诱导的抗病毒蛋白, 能催化 ATP 合成 2'-5'寡聚腺苷酸, 激活 RnaseL 对流感病毒 ssRNA 的酶切活性, 产生的 RNA 裂解产物再通过 DHX33 解旋酶和 MAVS 激活 NLRP3 炎症小体^[38]。见图 1。

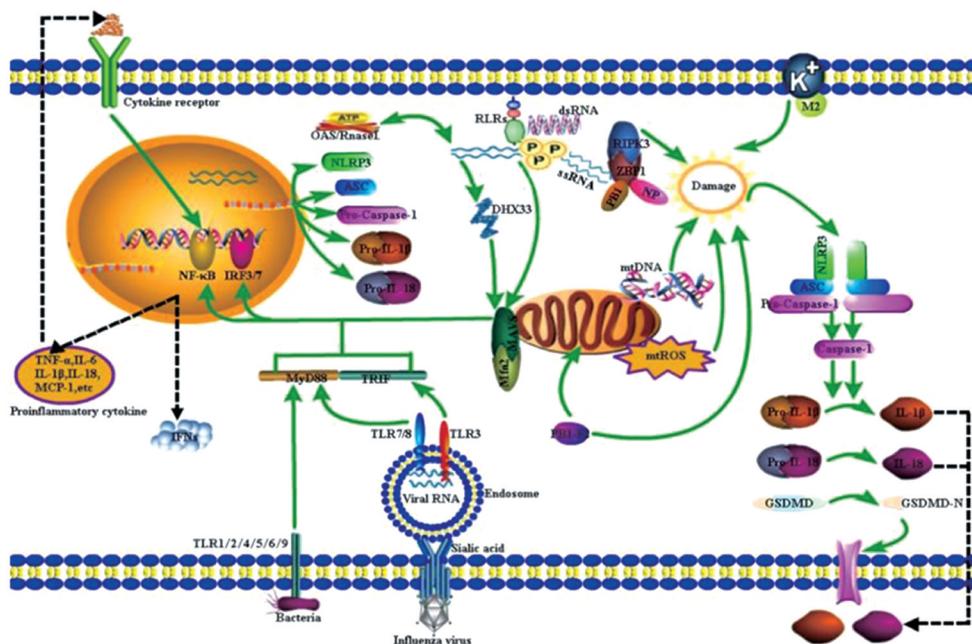


图 1 流感病毒感染中 NLRP3 炎症小体的激活机制

Fig.1 Activation mechanisms of the NLRP3 inflammasome in influenza virus infection

3.4 MxA 的激活 MxA 是 IFNI 诱导产生的一种广谱抗病毒蛋白, 最新研究发现 MxA 在呼吸道上皮细胞中能识别流感病毒 NP, 并通过 GTP 酶结构域与 ASC 结合, 从而作为一个炎症小体感受器发挥作用, 用 MxA 转基因小鼠感染 IAV 后, 发现 MxA

能在感染早期引起呼吸道上皮细胞的快速炎症反应, 促进早期肺内 IL-1 β 生成和粒细胞募集^[39]。

3.5 AIM2 的激活 AIM2 是一种胞质感应器, 能识别来自病毒、细菌或自身细胞损伤的 dsDNA, 在固有免疫反应中起着重要作用。研究表明, 感染流

感病毒的细胞可在死亡裂解后释放出自身 dsDNA,从而激活 AIM2 炎症小体^[11-12]。

4 机体对炎症小体的调控和流感病毒的免疫逃逸

4.1 机体对炎症小体的调控 炎症小体受机体正、负两个方向的调控,使机体既能有效清除病毒,又避免了免疫病理损伤。炎症小体正调控机制中,主要是 RIG-I-IFNs 通路:流感病毒感染激活 RIG-I 引发 IFN-I 反应,而 IFN-I 与干扰素受体 1(Interferon alpha/beta receptor 1, IFNAR1)结合后,能激发 RIG-I、TLR3 和 NLRP3 的表达,RIG-I 激发后进一步促进 IFN-I 的表达,形成 NLRP3 炎症小体和 RIG-I 激活的正反馈途径^[19];此外,IFNs 能诱导上文提到的 ZBP1 和 OAS/RnaseL 的表达和激活,进而激活 NLRP3 炎症小体。但必须强调的是,IFNs 也具有负调控炎症小体的作用,因为其能有效抑制病毒复制,从而缩短炎症时间和发生范围。炎症小体负调控机制中,主要是线粒体自噬:线粒体自噬是一种重要的自我调节机制,它能将损伤的线粒体通过自噬体转运到溶酶体内进行降解,从而有利于维持细胞的稳态。研究发现,NOD2-RIPK2 信号途径能够激活启动线粒体自噬的关键分子 UNC-51 样激酶 1(Unc-51 like autophagy activating kinase 1, ULK1),从而清除损伤的线粒体;而敲除 RIPK2 或 ULK1 后,细胞的线粒体自噬功能降低,导致线粒体超氧化物增加而激活 NLRP3 炎症小体^[40]。

4.2 流感病毒对炎症小体的免疫逃逸 当宿主与流感病毒在漫长的共同进化中发展出通过炎症小体清除病毒的机制时,病毒也进化出了可以逃逸炎症小体作用的机制。1)PB1-F2:研究发现,PB1-F2 蛋白的长度差异可影响炎症小体的激活,大部分致病性毒株表达的全长型 PB1-F2 蛋白可通过线粒体外膜转位因子 40(Translocase of the outer membrane 40, TOM40)向线粒体内膜空间转移,PB1-F2 蛋白的积累可减少线粒体内壁碎片的生成,从而抑制 NLRP3 炎症小体的激活^[41]。2)非结构蛋白 1(Non-structural protein 1, NS1):流感病毒 NS1 蛋白对 IFNs 具有拮抗作用,它可以与 IFNs 途径中的病毒 RNA、RIG-I、TRIM(Tripartite motif, TRIM)蛋白 TRIM25、切割与多聚腺苷酸化特异因子 30 kDa 亚基(CPSF30)等不同成分相互作用,从而抑制宿主 IFNs 反应^[42]。NS1 蛋白还可以抑制 NF-κB 通路,使 ProIL-1β mRNA 和 ProIL-18 mRNA 的表达降低,以及通过其 RNA 结合区和 TRIM25 结合区靶向作用于 NLRP3 产生抑制效应^[43-44]。

5 展望和总结

截至目前,大量研究肯定了流感病毒感染中炎症小体的重要作用,尤其是在急性或重症流感的不同阶段,炎症小体可能倾向于保护性或损伤性作用,这使得调控炎症小体可能成为一种潜在的流感治疗策略。据报道,在小鼠模型上已开展了大量相关研究,除了上文中的 MCC950,还包括预防移植排斥药物西罗莫司^[45],P2X7(Purinergic 2X7, P2X7)受体抑制剂丙磺舒和 AZ11645373^[46]等。其它研究也揭示了炎症小体相关的激活和调控因子,如缺氧诱导因子-2α 激活的长链非编码 RNA-NEAT1 通过作用于 Caspase-1 促进炎症小体的激活^[47];NIMA(Never in mitosis gene A, NIMA)相关蛋白激酶 7 被证明是激活 NLRP3 炎症小体的关键上游蛋白^[48];波形蛋白促进炎症小体的激活并与急性肺损伤中的炎症和纤维化有关^[49];TRIM30 通过调节 ROS 负性调控 NLRP3 炎症小体的激活^[50];AIM2 炎症小体诱导细胞膜形成孔隙,进而引起 K⁺外排,触发 NLRP3 的非常规激活^[51]等。但这些研究都不涉及流感病毒,因此这些激活和调控因子在流感病毒感染中的作用还有待明确。总之,进一步了解炎症小体的激活和调控机制,可以加强我们对炎症小体抗流感病毒感染作用的认识,并有助于开发流感治疗的新策略。

利益冲突:无

引用本文格式:林裕贵,李程颐,李培群,等.流感病毒感染中炎症小体的激活和调控机制[J].中国人兽共患病学报,2021,37(8):741-747. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2021.00.084

参考文献:

- [1] Liu R, Sheng Z, Huang C, et al. Influenza D virus[J]. Curr Opin Virol, 2020, 44: 154-161. DOI: 10.1016/j.coviro.2020.08.004
- [2] 张增峰,樊晓晖,陈晓燕,等.禽流感病毒 H9N2 在人肺组织的复制[J].病毒学报,2013,29(2):206-210. DOI: 10.13242/j.cnki.bingduxuebao.002366
- [3] Liu Q, Zhou YH, Yang ZQ. The cytokine storm of severe influenza and development of immunomodulatory therapy[J]. Cell Mol Immunol, 2016, 13(1): 3-10. DOI: 10.1038/cmi.2015.74
- [4] Xue Y, 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
- [5] Thomas PG, Dash P, Aldridge 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, 2013, 38(6): 1121-1133.

- 2009, 30 (4): 566-575. DOI: 10.1016/j.jimmuni.2009.02.006
- [6] 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. DOI: 10.1084/jem.20081667
- [7] 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. DOI: 10.1016/j.jimmuni.2009.02.005
- [8] Tate MD, Ong JDH, Dowling JK, et al. Reassessing the role of the NLRP3 inflammasome during pathogenic influenza A virus infection via temporal inhibition[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 27912. DOI: 10.1038/srep27912
- [9] Baskin CR, Bielefeldt-Ohmann H, Tumpey TM, et al. Early and sustained innate immune response defines pathology and death in nonhuman primates infected by highly pathogenic influenza virus[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106 (9): 3455-3460. DOI: 10.1073/pnas.0813234106
- [10] Cilloniz C, Shinya K, Peng X, et al. Lethal influenza virus infection in macaques is associated with early dysregulation of inflammatory related genes[J]. *PLoS Pathog*, 2009, 5 (10): e1000604. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000604
- [11] Schattgen SA, Gao G, Kurt-Jones EA, et al. Cutting edge: DNA in the lung microenvironment during influenza virus infection tempers inflammation by engaging the DNA sensor AIM2[J]. *J Immunol*, 2016, 196 (1): 29-33. DOI: 10.4049/jimmunol.1501048
- [12] Zhang H, Luo J, Alcorn JF, et al. AIM2 inflammasome is critical for influenza-induced lung injury and mortality[J]. *J Immunol*, 2017, 198 (11): 4383-4393. DOI: 10.4049/jimmunol.1600714
- [13] Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, 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. DOI: 10.1038/s41418-017-0012-4
- [14] Liu X, Zhang Z, Ruan J, et al. Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores[J]. *Nature*, 2016, 535 (7610): 153-158. DOI: 10.1038/nature18629
- [15] 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. DOI: 10.1038/nature22393
- [16] Iwasaki A, Pillai PS. Innate immunity to influenza virus infection[J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14 (5): 315-328. DOI: 10.1038/nri3665
- [17] Fitzgerald KA, Kagan JC. Toll-like Receptors and the Control of Immunity[J]. *Cell*, 2020, 180 (6): 1044-1066. DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.041
- [18] Ichinohe T, Pang IK, Iwasaki A. Influenza virus activates inflammasomes via its intracellular M2 ion channel[J]. *Nat Immunol*, 2010, 11 (5): 404-410. DOI: 10.1038/ni.1861
- [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. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003256
- [20] Lehmann R, Muller MM, Klässert TE, et al. Differential regulation of the transcriptomic and secretomic landscape of sensor and effector functions of human airway epithelial cells[J]. *Mucosal Immunol*, 2018, 11 (3): 627-642. DOI: 10.1038/mi.2017.100
- [21] Ichinohe T, Pang K, Kumamoto Y, et al. Microbiota regulates immune defense against respiratory tract influenza A virus infection[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108 (13): 5354-5359. DOI: 10.1073/pnas.1019378108
- [22] Wu S, Jiang ZY, Sun YF, et al. Microbiota regulates the TLR7 signaling pathway against respiratory tract influenza A virus infection[J]. *Curr Microbiol*, 2013, 67 (4): 414-422. DOI: 10.1007/s00284-013-0380-z
- [23] Rodriguez AE, Bogart C, Gilbert CM, et al. Enhanced IL-1 β production is mediated by a TLR2-MYD88-NLRP3 signaling axis during coinfection with influenza A virus and *Streptococcus pneumoniae*[J]. *PLoS One*, 2019, 14 (2): e0212236. DOI: 10.1371/journal.pone.0212236
- [24] Lee SM, Kok KH, Jaume M, et al. Toll-like receptor 10 is involved in induction of innate immune responses to influenza virus infection[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111 (10): 3793-3798. DOI: 10.1073/pnas.1324266111
- [25] Reikine S, Nguyen JB, Modis Y. Pattern Recognition and Signaling Mechanisms of RIG-I and MDA5[J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 342. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00342
- [26] Satoh T, Kato H, Kumagai Y, et al. LGP2 is a positive regulator of RIG-I- and MDA5-mediated antiviral responses[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107 (4): 1512-1517. DOI: 10.1073/pnas.0912986107
- [27] Bruns AM, Leser GP, Lamb RA, et al. The innate immune sensor LGP2 activates antiviral signaling by regulating MDA5-RNA interaction and filament assembly[J]. *Mol Cell*, 2014, 55 (5): 771-781. DOI: 10.1016/j.molcel.2014.07.003
- [28] Benitez AA, Panis M, Xue J, et al. *In vivo* RNAi screening identifies MDA5 as a significant contributor to the cellular defense against influenza a virus[J]. *Cell Rep*, 2015, 11 (11): 1714-1726. DOI: 10.1016/j.celrep.2015.05.032
- [29] Malik A, Kanneganti TD. Inflammasome activation and assembly at a glance[J]. *J Cell Sci*, 2017, 130 (23): 3955-3963. DOI: 10.1242/jcs.207365
- [30] 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. DOI: 10.1074/jbc.M607594200
- [31] Ichinohe T, Yamazaki T, Koshiba T, et al. Mitochondrial protein mitofusin 2 is required for NLRP3 inflammasome activation after RNA virus infection[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(44):17963-17968. DOI: 10.1073/pnas.1312571110
- [32] To EE, Erlich JR, Liang F, et al. Mitochondrial reactive oxygen species contribute to pathological inflammation during influenza a virus infection in mice[J]. *Antioxid Redox Signal*,

- 2020, 32 (13): 929-942. DOI: 10.1089/ars.2019.7727
- [33] 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. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003392
- [34] Pinar A, Dowling JK, Bitto NJ, et al. PB1-F2 peptide derived from avian influenza a virus H7N9 induces inflammation via activation of the NLRP3 inflammasome[J]. J Biol Chem, 2017, 292 (3): 826-836. DOI: 10.1074/jbc.M116.756379
- [35] Fernandez MV, Miller E, Krammer F, et al. Ion efflux and influenza infection trigger NLRP3 inflammasome signaling in human dendritic cells[J]. J Leukoc Biol, 2016, 99 (5): 723-734. DOI: 10.1189/jlb.3A0614-313RRR
- [36] Kuriakose T, Man SM, Malireddi RK, et al. ZBP1/DAI is an innate sensor of influenza virus triggering the NLRP3 inflammasome and programmed cell death pathways[J]. Sci Immunol, 2016, 1(2): aag2045. DOI: 10.1126/sciimmunol.aag2045
- [37] Wang X, Jiang W, Yan Y, et al. RNA viruses promote activation of the NLRP3 inflammasome through a RIP1-RIP3-DRP1 signaling pathway[J]. Nat Immunol, 2014, 15 (12): 1126-1133. DOI: 10.1038/ni.3015
- [38] Chakrabarti A, Banerjee S, Franchi L, et al. RNase L activates the NLRP3 inflammasome during viral infections[J]. Cell Host Microbe, 2015, 17 (4): 466-477. DOI: 10.1016/j.chom.2015.02.010
- [39] Lee S, Ishitsuka A, Noguchi M, et al. Influenza restriction factor MxA functions as inflammasome sensor in the respiratory epithelium[J]. Sci Immunol, 2019, 4 (40): aag4643. DOI: 10.1126/sciimmunol.aau4643
- [40] Lupfer C, Thomas PG, Anand PK, et al. Receptor interacting protein kinase 2-mediated mitophagy regulates inflammasome activation during virus infection[J]. Nat Immunol, 2013, 14 (5): 480-488. DOI: 10.1038/ni.2563
- [41] Yoshizumi T, Ichinohe T, Sasaki O, et al. Influenza A virus protein PB1-F2 translocates into mitochondria via Tom40 channels and impairs innate immunity[J]. Nat Commun, 2014, 5: 4713. DOI: 10.1038/ncomms5713
- [42] Rosario-Ferreira N, Preto AJ, Melo R, et al. The central role of non-structural protein 1 (NS1) in influenza biology and infection[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21 (4): 1511. DOI: 10.3390/ijms21041511
- [43] Chung WC, Kang HR, Yoon H, et al. Influenza a virus NS1 protein inhibits the NLRP3 inflammasome[J]. PLoS One, 2015, 10 (5): e0126456. DOI: 10.1371/journal.pone.0200624
- [44] Moriyama M, Chen IY, Kawaguchi A, et al. The RNA- and TRIM25-Binding domains of influenza virus NS1 protein are essential for suppression of NLRP3 inflammasome-mediated interleukin-1beta secretion[J]. J Virol, 2016, 90 (8): 4105-4114. DOI: 10.1128/JVI.00120-16
- [45] Jia X, Liu B, Bao L, et al. Delayed oseltamivir plus sirolimus treatment attenuates H1N1 virus-induced severe lung injury correlated with repressed NLRP3 inflammasome activation and inflammatory cell infiltration [J]. PLoS Pathog, 2018, 14 (11): e1007428. DOI: 10.1371/journal.ppat.1007428
- [46] Rosli S, Kirby FJ, Lawlor KE, et al. Repurposing drugs targeting the P2X7 receptor to limit hyperinflammation and disease during influenza virus infection[J]. Br J Pharmacol, 2019, 176 (19): 3834-3844. DOI: 10.1111/bph.14787
- [47] Zhang P, Cao L, Zhou R, et al. The lncRNA Neat1 promotes activation of inflammasomes in macrophages[J]. Nat Commun, 2019, 10 (1): 1495. DOI: 10.1038/s41467-019-09482-6
- [48] He Y, Zeng MY, Yang D, et al. NEK7 is an essential mediator of NLRP3 activation downstream of potassium efflux[J]. Nature, 2016, 530 (7590): 354-357. DOI: 10.1038/nature16959
- [49] Dos Santos G, Rogel MR, Baker MA, et al. Vimentin regulates activation of the NLRP3 inflammasome[J]. Nat Commun, 2015, 6: 6574. DOI: 10.1038/ncomms7574
- [50] Hu Y, Mao K, Zeng Y, et al. Tripartite-motif protein 30 negatively regulates NLRP3 inflammasome activation by modulating reactive oxygen species production[J]. J Immunol, 2010, 185 (12): 7699-7705. DOI: 10.4049/jimmunol.1001099
- [51] Cunha LD, Silva ALN, Ribeiro JM, et al. AIM2 engages active but unprocessed caspase-1 to induce noncanonical activation of the NLRP3 inflammasome[J]. Cell Rep, 2017, 20 (4): 794-805. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.06.086

收稿日期:2021-01-13 编辑:王晓欢

(上接第 740 页)

- [49] Campos IB, Cardoso CP, Fratelli F, et al. Process intensification for production of *Streptococcus pneumoniae* whole-cell vaccine [J]. Biotechnol Bioeng, 2020, 117 (6): 1661-1672. DOI: 10.1002/bit.27307
- [50] Jwa MY, Jeong S, Ko EB, et al. Gamma-irradiation of *Streptococcus pneumoniae* for the use as an immunogenic whole cell vaccine [J]. J Microbiol, 2018, 56 (8): 579-585. DOI: 10.1007/s12275-018-8347-1
- [51] Mohammadzadeh M, Mamishi S, Pourakbari B, et al. Recent

approaches in whole cell pneumococcal vaccine development: a review study [J]. Iran J Microbiol, 2017, 9(6): 381-388.

- [52] Goncalves VM, Dias WO, Campos IB, et al. Development of a whole cell pneumococcal vaccine: BPL inactivation, cGMP production, and stability [J]. Vaccine, 2014, 32(9): 1113-1120. DOI: 10.1016/j.vaccine.2013.10.091
- [53] 周志男,孙美平.儿童链球菌性肺炎流行病学研究[J].世界临床药物,2011,32(12):713-716.

收稿日期:2021-01-26 编辑:王晓欢