细胞焦亡及其在肿瘤疾病中的作用

陈逸钿¹, 苏良平¹, 丘晓奕¹, 吴桑晴², 黄炳培^{1*}

1. 中山大学孙逸仙纪念医院医学研究中心, 广东省恶性肿瘤表观遗传调控与基因调控重点实验室, 广州 510120;

2. 中山大学孙逸仙纪念医院耳鼻咽喉头颈外科, 广州 510120

* 联系人, E-mail: huangbp3@mail.sysu.edu.cn

收稿日期: 2020-04-25; 接受日期: 2020-05-12; 网络版发表日期: 2020-09-22

摘要 细胞焦亡是一种新发现的细胞死亡形式. 最新研究认为, 当病原体模式分子或机体危险信号分子被细胞识别时, 半胱天冬酶Caspase-1、Caspase-11(鼠)以及Caspase4/5(人)均可活化并切割Gasdermin D蛋白, 导致细胞膜孔形成、炎症因子释放, 并最终导致细胞裂解死亡. Gasdermin蛋白是细胞焦亡的唯一执行者, 因此, 细胞焦亡被定义为由Gasdermin蛋白介导的炎症形式的程序性细胞死亡. 早期研究阐明了细胞焦亡及相关蛋白在机体对抗感染过程中发挥的重要作用. 现在越来越多的研究认为, 细胞焦亡、相关蛋白及炎症因子可能在肿瘤疾病的发生发展中扮演重要角色. 本文回顾了细胞焦亡概念的演变发展过程, 总结了Gasdermin家族蛋白在激活细胞焦亡过程中的作用机制, 重点讨论了细胞焦亡、相关蛋白及炎症因子在许多疾病, 尤其是肿瘤中发挥的作用.

关键词 细胞焦亡, Gasdermin, GSDMD, Caspase, 膜孔形成, 肿瘤

细胞死亡研究领域是近30年科学研究中的一个热点问题, 有大量关于细胞死亡调控的研究论文获得发表. 细胞死亡对于机体的发育和组织稳态等生命过程具有关键性作用, 是生命研究中一个重要的基础性问题. 深刻理解细胞死亡非常有利于人们对生物生理和疾病病理过程的深入研究. 细胞死亡形式包括细胞坏死(necrocytosis)、细胞凋亡(apoptosis)、细胞自噬(autophagy)以及细胞焦亡(pyroptosis)等. 细胞焦亡是近年新发现的细胞死亡形式. 相比于其他细胞死亡形式, 细胞焦亡的发生速度更快, 可诱发机体强烈的炎症反应, 并和免疫调控密切相关. 细胞焦亡的鲜明特征引发了研究人员浓厚的兴趣. 焦亡与自身免疫性疾病、代谢疾病和肿瘤等疾病的发生发展的关系值得进一步深入

研究, 将是未来科学研究的一个热点.

1 细胞焦亡的定义

细胞焦亡是一种新发现的细胞死亡形式. 1986年, Friedlander^[1]发现, 利用炭疽致死毒素(anthrax lethal toxin)能够诱导鼠巨噬细胞发生快速地细胞裂解性死亡, 并伴随胞内物质非特异性泄漏. 囿于当时对细胞死亡形式的认知, 这种现象被误认为是细胞凋亡过程. 随后, 有研究报道志贺氏菌(*Shigella*)和沙门氏菌(*Salmonella*)等病原菌感染能够特异性依赖半胱天冬氨酸蛋白酶Caspase-1介导巨噬细胞裂解性死亡. 志贺氏菌介导巨噬细胞死亡的同时, 能导致白介素IL-1 β 释放, 并

引用格式: 陈逸钿, 苏良平, 丘晓奕, 等. 细胞焦亡及其在肿瘤疾病中的作用. 中国科学: 生命科学, 2020, 50: 1042–1054
Chen Y T, Su L P, Qiu X Y, et al. Molecular mechanism of pyroptosis and its role in cancer (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2020, 50: 1042–1054, doi: 10.1360/SSV-2020-0065

介导强烈的炎症反应^[2~4]。既往所认知的细胞凋亡由 Caspase-8、-9、-10 接受凋亡信号并由 Caspase-3、-6、-7 执行, 具有限制炎症反应、维持内环境稳态的经典特性, 明显不同于上述细胞死亡形式。2001 年, Cookson 和 Brennan^[5]首次用“Pyroptosis”来描述这种新的程序性细胞死亡形式(希腊语词根“pyro”原意为发热, 用以描述促炎症介质释放的特性, “ptosis”原意为凋零, 意指细胞死亡), 从而将这种具有促炎症反应和促细胞裂解特征的细胞死亡同其他细胞死亡形式区别开来^[6](表 1)。随着研究深入, 细胞焦亡的机制越来越明晰: 目前已明确 Gasdermin 家族蛋白是细胞焦亡的唯一执行者, 其 N 末端结构域的激活足以诱导细胞膜膜孔形成并导致焦亡发生, Caspase-1 的活化并不是细胞焦亡发生的必要条件^[7~13]。2018 年, 细胞死亡命名委员会(the Nomenclature Committee on Cell Death, NCCD)进一步修正了细胞焦亡的概念: 由 Gasdermin 家族蛋白介导的质膜膜孔形成的可控性细胞死亡, 经常但并不总因炎症性 Caspase 的活化而完成^[14](NCCD 定义了 12 种细胞死亡形式, 具体参见表 2)。

2 细胞焦亡的特征

细胞焦亡发生时, 细胞呈现充气球样, 出现轻微的 DNA 损伤和染色体浓缩, 胞核及细胞器保持完整, 胞膜脱离细胞骨架。最终细胞胀破、溶解。而细胞凋亡作为一种生理性、主动性、程序性的细胞死亡方式, 其形态学和细胞焦亡具有一定的差别: 表现出 DNA 规律降解形成梯带状、核膜破裂、胞膜完整等特点^[15~18](表 1)。

细胞焦亡通常由病原体感染、损伤等因素诱发,

伴随着强烈的促炎介质释放。机体可通过经典炎症小体激活途径(canonical inflammasome pathways)募集并激活 Caspase-1 蛋白, 或者通过非经典炎症小体激活途径(non-canonical inflammasome pathway)激活 Caspase-4/5/11 蛋白直接切割活化 Gasdermin D 蛋白, 导致膜孔形成、细胞死亡^[19]。细胞焦亡发生过程, 可伴随促炎因子释放、介导免疫反应, 在许多遗传病、自身炎症性疾病和肿瘤等疾病中扮演着重要的角色^[20,21]。

3 Gasdermin 家族蛋白

Gasdermin 蛋白在细胞焦亡发生过程发挥决定性作用。Gasdermin 一词是基于 Gasdermin A 蛋白在小鼠胃肠道(gastrointestinal tract)和皮肤上皮细胞(epithelium of the skin)中的特异性表达谱进行命名的。Gasdermin 蛋白(除 Pejvakin 蛋白)由两个不同的结构域组成, 分别包含 N 末端(GSDM NT)和 C 末端(GSDM CT)结构域, 二者通过一个柔性连接区连接。在缺少活化信号的情况下, GSDM CT 可以通过结合 GSDM NT 而抑制其活性, 一旦 GSDM NT 释放出来, 便能形成寡聚体、发挥打孔功能、诱导焦亡发生。Gasdermin 家族蛋白成员包括 Gasdermin A, Gasdermin B, Gasdermin C, Gasdermin D, Gasdermin E 和 Pejvakin。目前除 Pejvakin 蛋白, 其余 Gasdermin 蛋白均已明确具备诱导膜孔形成、细胞焦亡的活性^[21]。

Gasdermin A(GSDMA, 也被称为 GSDM1/FKSG9), 其表达主要局限于人的食管、膀胱和皮肤的上皮细胞以及 T 淋巴细胞。小鼠 GSDMA1-3 的表达局限于表皮、毛囊和胃等。

Gasdermin B(GSDMB, 也被称为 GSDML/PP4052/

表 1 四种细胞死亡形式对比

Table 1 Comparison of the typical characteristics of different forms of cell death

	细胞焦亡	细胞凋亡	细胞自噬	细胞坏死
死亡形式	Gasdermin 蛋白介导的程序性死亡	I 型程序性坏死	II 型程序性坏死	无序且不可控的细胞死亡
诱因	病理性刺激	生理条件下的基因调控	病理性刺激或营养缺乏	理化刺激或病原体感染等
细胞膜	膜孔形成	胞膜内陷	完整	裂解
细胞核	完整	凝缩	与溶酶体融合	核固缩、碎裂
细胞器	完整/变形	完整	被自噬体吞噬	变形
DNA 降解	随机降解	梯带状降解	随机降解	随机降解
细胞形态	充气球样	细胞皱缩	新月形或杯状	细胞肿胀

表 2 12种细胞死亡形式的定义或特征

Table 2 Definition or characteristics of 12 forms of cell death

细胞死亡形式	定义/特征
自噬依赖性细胞死亡	由自噬(或其组成部分)介导的一种细胞死亡形式
Entotic cell death	一种细胞调节性死亡形式, 由溶酶体介导的对同类细胞的吞噬过程
外源性凋亡	胞外微环境的变动可由胞膜相关受体检测发现, 由Caspase-8/10介导活化Caspase-3并最终导致凋亡发生
铁死亡	由铁积累和脂质过氧化驱动的一种细胞调节性死亡形式, 可被铁螯合剂和亲脂性抗氧化剂抑制
免疫原性细胞死亡	具有免疫原性的细胞发生的细胞调节性死亡, 能够介导机体发生适应性免疫应答
内源性凋亡	由DNA损伤、缺氧和代谢应激等因素诱导的细胞凋亡
溶酶体依赖性细胞死亡	溶酶体膜透化后释放的水解酶(组织蛋白酶)或铁介导的一种细胞死亡形式
线粒体通透性转换驱动细胞坏死	亲环蛋白参与的、由线粒体通透性转换导致的一种细胞调节性死亡
NETotic cell death	由NET驱动的一种细胞调节性死亡形式, 受NADPH氧化酶介导的ROS产生和组蛋白瓜氨酸化的调节
坏死性凋亡	类似于细胞坏死的一种程序性细胞死亡形式, RIPK3激活MLKL是坏死性凋亡的关键调节通路
依赖性细胞死亡	PARP1依赖性细胞调节性死亡形式, 由氧化应激诱导的DNA损伤激活
焦亡	由Gasdermin家族蛋白介导的质膜膜孔形成的可控性细胞死亡, 经常但并不总因炎症性Caspase的活化而完成

PRO2521), 其主要表达在气道上皮以及部分消化器官如食道、胃、肝脏、小肠和结肠等组织中. Zhou等人^[22]发现, GSDMB蛋白可由颗粒酶A(Granzyme A, GZMA)直接切割活化、执行打孔功能.

Gasdermin C(GSDMC, 也被称为MLZE), 其表达仅限于食管、皮肤、脾脏和阴道.

Gasdermin D(GSDMD, 也被称为FKSG10/DFNA5L/GSDMDC1), 在不同的人类组织以及白细胞的不同亚群中广泛表达, 具有Caspase-1和Caspase-11(鼠)或Caspase-4/5(人)的切割位点. GSDMD可以通过机体经典炎症小体和非经典炎症小体激活途径, 在诱导膜孔形成、焦亡发生过程发挥关键作用^[7,10-12,23,24].

Gasdermin E(GSDME, 也被称为DFNA5/ICERE-1), 是进化上十分古老且保守的蛋白, 斑马鱼(*Brachydanio rerio*)中的GSDME蛋白与人中的有50%的相似性. 在人类脑、子宫内膜、胎盘和肠等组织中有表达. GSDME在早期被鉴定为与常染色体显性非综合征性听力丧失有关的基因, 深入研究发现, GSDME基因突变后, mRNA剪切时跳过第8个外显子, 产生了具有细胞毒性的截短蛋白, 进而对听力系统造成损害^[25,26]. GSDME可由Caspase-3切割活化, 并诱导细胞焦亡^[27].

4 Gasdermin蛋白激活途径

4.1 GSDMD经典炎症小体激活途径

炎症小体识别蛋白(inflammasome sensor protein)主要分为两个蛋白家族, 包括NOD样受体蛋白(如NLRP1, NLRP3, NAIP等)以及PYHIN蛋白(如Pyrin蛋白、AIM2/IFI16等), 能够识别病原体相关模式分子(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)、危险因素相关模式分子(damage-associated molecular patterns, DAMPs)等信号; 感知机体存在的感染、损伤等危险因素, 通过与同型或异型PYD/CARD(Caspase活化和招募结构域)相互作用, 招募含有Caspase募集结构域的衔接蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain, ASC), 进一步募集结合pro-Caspase 1构成炎症小体复合物(inflammasome complex). Caspase-1在炎症小体复合物中被活化、形成由大亚基P20和小亚基P10组成的异源二聚体, P10 N端发生特异性自剪切, 通过识别GSDM CT结构域形成酶-底物复合物^[28], 进一步切割GSDMD蛋白. 另外, Caspase-1通过识别四肽序列(xxxD序列特征, D为天冬氨酸, x为其他氨基酸), 进一步切割活化

pro-IL-1 β 和pro-IL-18. 切割活化的GSDMD NT发挥膜成孔效应, 促进成熟的IL-1 β 和IL-18释放, 导致细胞裂解^[29-33](图1).

4.2 GSDMD非经典炎症小体激活途径

来自革兰氏阴性菌的脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)能激活Caspase-11(鼠)或Caspase-4/5(人), 进而切割活化GSDMD蛋白, 形成的膜孔允许钾离子释放, 膜孔的形成导致细胞溶解; 同时, 钾流的形成促使NLRP3炎症小体复合物的成功构建, 进一步诱导Caspase-1的活化、IL-1 β /IL-18的成熟及释放^[13,33-37](图2).

4.3 其他Gasdermin蛋白激活途径

最近研究发现, 细胞毒性淋巴细胞中的丝氨酸蛋白酶GZMA可以经穿孔素进入靶细胞, 并通过切割活化的GSDMB蛋白诱导靶细胞发生焦亡. GSDMB蛋白是目前发现的唯一可以被GZMA切割活化的Gasdermin蛋白成员^[22].

在某些外部刺激下, SMAC模拟化合物或TAK1激酶抑制可以促进激酶受体相互作用蛋白1(receptor-in-

teracting protein, RIP1)依赖的Caspase-8激活复合物的组装. 活性Caspase-8能够进一步活化Caspase-3以驱动细胞凋亡, 同时活化的Caspase-3也可以切割GSDME以产生活性N-末端片段, 诱导细胞焦亡. 有研究报道, Caspase-3在部分介导DNA损伤的化疗药物诱导下, 能将更多细胞凋亡转变为细胞焦亡^[26]. 此外, Zhang等人^[38]发现, Granzyme B(GZMB)能同Caspase-3一样, 切割活化GSDME并诱导细胞焦亡的发生.

5 Gasdermin蛋白的成孔作用

Gasdermin蛋白通过NT端和CT端结构域之间相互作用, 保持自我抑制状态. 一旦自我抑制状态被破坏, GSDM NT将会出现显著的构象改变, 包括GSDM NT自身的 β 链和侧翼环折叠构成两个 β 发夹结构, 并进一步组装成四链双亲性 β 片层. GSDM NT构象的变化形成了寡聚界面, 通过靶向膜上带负电荷头部基团的磷脂(包括磷酸磷脂酰肌醇PIPS、磷脂酰丝氨酸PS等), 驱动GSDM NT膜孔的产生. 有研究认为, GSDM NT具备胞膜内侧磷脂的靶向性, 因此只能在细胞内部发挥

图1 GSDMD通过经典炎症小体激活途径介导细胞焦亡

Figure 1 GSDMD-mediated pyroptosis via the canonical inflammasome activation pathway

图2 GSDMD通过非经典炎症小体激活途径介导细胞焦亡。注: NLRP3: NOD样受体蛋白; PYD: pyrin结构域; CARD: 半胱天冬氨酸蛋白酶募集结构域

Figure 2 GSDMD-mediated pyroptosis via the non-canonical inflammasome activation pathway. Note: NLRP3: Nod-like receptor protein 3; PYD: pyrin domain; CARD: caspase activation and recruitment domain

作用, 细胞焦亡不会影响周围正常的细胞。另外, 研究人员通过提取焦亡细胞上清液、富集GSDM NT、细菌共培养后发现了细菌裂解, 因此认为GSDM NT可能可以直接杀伤细菌^[10,33,37,39,40]。

此外, 有研究发现, GSDM NT能够介导一种不发生细胞裂解的成孔现象, 即亚溶解孔的形成(lysis-independent pore formation/sub-lytic pore formation), 参与调控一系列细胞生物学行为。研究认为, 亚溶解孔作为一种较大的、非选择性通道, 除了参与调控 Ca^{2+} 、 K^{+} 等离子流, 也可能作为非常规蛋白外泌的重要途径^[21,33,35,41-45]。另外, 亚溶解孔可能是IL-1 β 和IL-18等炎性物质的非常规释放形式, 是控制焦亡炎症反应强度的补充机制^[46-48]。

Gasdermin孔的形成是否可逆, 目前仍存在争议。有研究认为, 细胞可能存在一套膜修复系统, 例如细胞利用ESCRT(endosomal sorting complexes required for transport)机制在 Ca^{2+} 流的辅助下通过囊泡释放途径快速修复膜孔。目前仍需更多研究证据进一步确认焦亡膜修复系统的存在^[19,49]。

6 细胞焦亡在许多疾病中扮演重要角色

细胞焦亡的发生对于机体是把双刃剑。适度的细胞焦亡是机体重要的免疫防御反应, 在抵御感染和内源性危险因素中发挥重要作用, 能快速清除各种病原微生物, 限制病菌生长, 加强机体免疫防御能力^[20,50-52]。有研究发现, 焦亡能发生在正在感染宿主细胞的细菌上(包括大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)等), 同时破坏细菌和宿主细胞, 但是周围未被感染的细胞则毫发无伤^[33,37]。然而, 焦亡发生的同时释放了大量的炎性细胞因子, 包括IL-1 β 、IL-18等, 因此过度的焦亡可能诱导大量炎性细胞的浸润, 导致强烈的炎症反应, 比如GSDMD蛋白介导细胞焦亡过度发生时, 机体可能出现败血症等严重不良反应^[21,53]。

除了感染性疾病, 细胞焦亡还广泛参与代谢性疾病、动脉粥样硬化以及肿瘤等疾病的发生发展^[53]。

细胞焦亡可能参与某些代谢性疾病的发生。胰岛素分泌减少、胰岛素抵抗是糖尿病的重要发病机制,

而肥胖则是糖尿病发病的危险因素。有研究验证了细胞焦亡在胰岛素抵抗上发挥的作用: 研究者认为, 脂肪浸润可以作为一种危险信号被炎症小体识别蛋白(如NLRP3)识别, 引发胰岛周围巨噬细胞发生焦亡并伴随大量炎症因子释放(包括IL-1 β); 炎症因子的浸润进一步导致胰岛B细胞损伤, 从而引起胰岛素分泌障碍、胰岛素抵抗等问题^[54,55]。此外, 研究还发现细胞焦亡和糖尿病性心脏病的密切关系: 高血糖可诱导活性氧的产生增加, 进而上调NF- κ B和TXNIP蛋白表达水平, 随后NLRP3表达上调并在TXNIP的协助下活化Caspase-1, 从而导致细胞焦亡。活化的GSDM NT能诱导心肌细胞膜孔形成、细胞裂解, IL-1 β 和IL-18等炎症介质释放并募集炎症细胞聚集, 增强炎症反应, 从而引发糖尿病性心脏病^[56]。

炎症反应是启动和驱动动脉粥样硬化的主要因素, 细胞焦亡可能在其发展过程发挥作用。有研究认为, 高血脂、氧化修饰的低密度脂蛋白的刺激可以导致Caspase-1活化, 进而介导巨噬细胞焦亡的发生; 随后强烈的炎症反应进一步导致炎症细胞浸润、纤维组织增生钙化、粥样硬化斑块的形成, 最终引发动脉粥样硬化、心脑血管疾病^[57-63]。

此外, 许多炎症性疾病的发生发展和细胞焦亡关系密切。有研究报道, 发生在气道上皮的GSDMB剪接异构体与哮喘风险低密切相关^[64,65]。此外, 也有研究发现, Gasdermin蛋白与克罗恩病、溃疡性结肠炎等炎症性肠病易感性密切相关^[66,67]。

7 细胞焦亡与肿瘤发生发展的关系

与免疫沉默的细胞凋亡不同, 细胞焦亡发生过程中多种危险信号分子和细胞因子被激活释放, 并伴随强烈炎症反应以及免疫系统的激活。随着研究深入, 细胞焦亡和肿瘤免疫微环境、肿瘤进展与预后的关系得到越来越多的关注和研究。例如, Wei等人^[68]发现, NLRP3炎症小体识别蛋白的表达和肝细胞肝癌患者的临床、病理分期呈负相关, 肝癌组织中NLRP3表达低下。Dupaul-Chicoine等人^[69]利用Nlrp3^{-/-}和caspase-1^{-/-}小鼠动物模型研究发现, 相比于对照组小鼠, 敲除了细胞焦亡炎症小体复合物相关基因的小鼠更容易诱导出现结肠癌病变, 这提示细胞焦亡及其伴随的炎症因子、相关蛋白可能在肿瘤的发生发展中发

挥重要作用。

7.1 IL-1 β 和肿瘤疾病

细胞焦亡时会释放出大量炎症介质, 其中包含IL-1 β 。目前有大量研究探讨了IL-1 β 和肿瘤发生发展的相关性。

首先, 大多数研究认为, IL-1 β 在促进肿瘤细胞增殖、浸润侵袭和肿瘤转移过程中发挥重要作用。Kaplanov等人^[70]发现, 阻断IL-1 β 后, 乳腺癌组织中CD8⁺淋巴细胞随之激活并导致肿瘤生长受限。对于骨肿瘤, Hu等人^[71]发现, IL-1 β 可通过NF- κ B/miR-506/Jagged1信号通路促进骨肉瘤细胞的增殖; Liu等人^[72]则认为, IL-1 β 主要通过miR-376c/TGF- α 信号通路发挥促增殖作用。此外, IL-1 β 可能在上皮间充质转换(epithelial-mesenchymal transition, EMT)过程发挥作用。Wang等人^[73]报道在胃癌细胞中, IL-1 β 通过上调Fibronectin, Vimentin, Snail, MMP2, MMP9以及下调 β -catenin, E-cadherin, 在EMT过程中发挥重要作用。Li等人^[74]亦报道在结直肠癌肿瘤细胞中, IL-1 β 通过上调Vimentin、下调E-cadherin, 促使EMT发生。

此外, 不少研究认为, IL-1 β 和化疗耐药性的发生密切相关。Zhang等人^[75]认为, IL-1 β 通过靶向IL-1R相关激酶4(IL-1 receptor associated kinase 4, IRAK4), 在胰腺导管细胞癌的吉西他滨耐药过程中发挥重要作用。Jiménez-Garduño等人^[76]报道, IL-1 β 能通过下调雌激素ER- α 诱导乳腺癌他莫昔芬耐药发生。Mendoza-Rodríguez等人^[77]研究发现, IL-1 β 通过上调BIRC3表达, 诱导乳腺癌阿霉素耐药的发生。

7.2 IL-18和肿瘤疾病

细胞焦亡时释放大量炎症介质, 除了IL-1 β , 也包含IL-18。目前关于IL-18在肿瘤发生发展中发挥的作用存在较大的争议。

有研究认为, IL-18在抗肿瘤免疫方面具有重要作用。IL-18可能是通过上调CD8⁺ T细胞、自然杀伤细胞(natural killer cells, NK)活性, 调控肿瘤浸润性T细胞的水平, 促进IFN- γ 抗肿瘤活性, 从而发挥抗肿瘤免疫作用的^[78,79]。

部分研究人员对IL-18的抗肿瘤活性持相反意见。Ko等人^[80]认为, 对于急性粒细胞白血病, IL-18可能通

过提高环氧化酶2(cyclooxygenase, COX2)水平进而抑制癌细胞凋亡, 促进肿瘤发展、影响患者预后。Li等人^[81]研究发现, 在口腔鳞状细胞癌中, IL-18通过Wnt/ β -catenin信号通路促进EMT发生。

此外, 亦有研究发现, IL-18可能在肿瘤化疗耐药性方面发挥作用。例如, 在胰腺导管细胞癌患者血清中, 吉西他滨耐药组的患者IL-18水平相对更高, 具体机理有待进一步探讨^[82]。

7.3 GSDMD蛋白在肿瘤发生发展中的作用

目前大多数研究认为, GSDMD蛋白对肿瘤增殖、侵袭活动发挥抑制作用。Orita等人^[83]利用30例结肠癌手术标本进行组织切片、免疫组化分析发现, GSDMD在正常组织或癌旁组织中高表达, 而在结肠癌组织中则低表达或不表达。另外有研究利用胃癌细胞系和相关动物模型得到相同的结论: GSDMD蛋白在胃癌细胞中处于低表达水平^[84,85]。Wang等人^[86]发现, 胃癌细胞低水平的GSDMD蛋白可能和细胞周期S/G2转换加速相关, 并由此促进胃癌细胞的增殖。既往已知部分microRNAs(miRNAs)具有类似肿瘤抑癌基因的作用, 具有抑制肿瘤增殖、侵袭转移等活性。近来有研究认为, miRNAs可能是通过介导调控细胞焦亡发挥抗肿瘤功能。Wang等人^[87]在“老药新用”研究中发现, 降糖药二甲双胍(Metformin)可以通过miR-497/PELP1/GSDMD通路诱导食管鳞癌细胞发生焦亡, 发挥抗肿瘤特性。既往研究认为, Val-boroPro (Talabostat, PT-100)是非选择性的丝氨酸蛋白酶抑制剂, 具有激活机体固有免疫反应的能力, 可能具备调控肿瘤生长的特性。Johnson等人^[88]在此基础上发现, 丝氨酸蛋白酶抑制剂DPP8/9能通过CARD8/Caspase-1/GSDMD通路诱导细胞焦亡发生, 从而对急性髓性白血病发挥抑癌作用^[89]。

此外, 许多研究报道了GSDMD蛋白在多种肿瘤中发挥抗肿瘤活性, 包括乳腺癌、口腔鳞状细胞癌、卵巢癌、神经鞘瘤等。Pizato等人^[90]发现, docosahexaenoic acid(DHA)能通过NF- κ B/Caspase/GSDMD/IL-1 β 通路诱导细胞焦亡发生, 抑制乳腺癌细胞增殖。Draganov等人^[91]发现, 伊维菌素(ivermectin)介导P2X₄/P2X₇受体过表达、ATP释放并诱导Caspase-1激活、乳腺癌细胞焦亡发生。Yue等人^[92]发现, 花青素(anthocyanin)能通过促进NLRP3/Caspase-1/GSDMD/IL-1 β 通路, 激

活口腔鳞癌细胞发生焦亡, 抑制肿瘤细胞的增殖和侵袭能力, 发挥抗肿瘤特性。Qiao等人^[93]研究发现, 在上皮性卵巢癌中, α -NETA介导Caspase-4/GSDMD通路, 诱导癌细胞焦亡, 进而逆转肿瘤耐药性。在周围神经肿瘤, 比如神经鞘瘤中GSDMD蛋白也可以发挥抗肿瘤功能^[94]。

然而, 不同于上述对恶性肿瘤的抑制效应, 有报道认为GSDMD蛋白也可以发挥促肿瘤生长的效应, 这可能和肿瘤类别密切相关^[53]。比如, 对于肺鳞状细胞癌, GSDMD的高表达可能发挥抑制肿瘤发生发展的作用, 与肺鳞状细胞癌的预后不良呈负相关; 与之相反, GSDMD蛋白在肺腺癌中可能发挥促进肿瘤发生发展的作用。Gao等人^[95]研究发现, 相比于癌旁组织, 癌组织中GSDMD蛋白表达水平明显更高。临床资料统计发现, GSDMD蛋白高表达水平和患者的不良预后呈正相关关系, GSDMD高表达者, 肿瘤TNM (tumor, node, metastasis)分期更晚、肿瘤增长体积更大。研究同时发现, 当GSDMD的表达下调之后, 肿瘤细胞EGFR/Akt信号通路也受到抑制, 进而抑制肿瘤细胞的增殖、侵袭能力。GSDMD蛋白在肿瘤发生发展过程发挥的具体作用需要更进一步的研究探讨。

7.4 GSDME蛋白在肿瘤发生发展中的作用

GSDME蛋白对肿瘤发生发展的影响同样值得关注。越来越多的研究证明, GSDME蛋白参与调控多种肿瘤的发生发展, 与肿瘤患者的预后密切相关。有研究发现, 相比癌旁细胞, 肝癌细胞中Caspase-1, IL-1 β 和IL-18的表达水平更低, GSDME蛋白表达水平明显下调, 而一旦GSDME蛋白表达上调则能够观察到肝癌细胞的增殖活动受到明显抑制^[96-98]。Wang等人^[26]研究发现, 相比于正常组织, 肿瘤组织中的GSDME mRNA甲基化水平更高, GSDME表达水平更低, 利用脱甲基药物Distamine联合化疗药物能够显示出更好的抗肿瘤效果。

许多化疗药物可以通过激活Caspase-3介导细胞凋亡达到杀伤肿瘤细胞的目的^[99], 但许多肿瘤细胞存在细胞凋亡障碍, 因而出现化疗耐药性, 影响肿瘤治疗效果。近年越来越多的研究认为, 细胞焦亡可能参与介导化疗药物杀伤肿瘤细胞, 影响肿瘤细胞化疗耐药性。Shi等人^[100]通过低表达乳腺癌MCF-7细胞的

GSDME, 对比发现, 低表达GSDME会降低MCF-7细胞对紫杉醇药物的敏感性, 即在MCF-7细胞中紫杉醇药物可能主要是依赖焦亡途径发挥化疗药物杀伤肿瘤细胞的作用, 一旦GSDME表达下调、细胞焦亡途径受到抑制, MCF-7细胞对紫杉醇化疗耐药性就会增强. 此外有研究报道, 上调GSDME蛋白表达水平后, 化疗药物5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)能够促使更多的胃癌细胞发生焦亡, 从而提高5-Fu的疗效^[27]. Chen等人^[101]发现, 杂环酮衍生物L61H10能够介导调控GSDME表达, 诱导肺癌细胞发生焦亡. 同样的情况也可以在接受顺铂治疗的肺癌细胞^[102]、接受阿霉素和放线菌素D治疗的神经母细胞瘤和黑色素瘤中观察到^[26]. 另有研究认为, GSDME蛋白能诱导细胞凋亡转变为细胞焦亡, 从而增强化疗药物杀伤肿瘤细胞的能力^[26,27]. Yu等人^[103]发现, 在黑色素瘤细胞中, 阿霉素能诱导肿瘤细胞凋亡, 而一旦抑制eEF-2K的表达, 阿霉素能通过激活GSDME蛋白诱导细胞凋亡向细胞焦亡的转变, 这一发现提示了GSDME蛋白介导的细胞焦亡在肿瘤治疗中的潜在应用价值.

此外, 有研究表明, GSDME蛋白的表达水平可能和化疗药物引起的毒副作用相关. 临床上广泛使用的导致DNA损伤的抗肿瘤化疗药物主要是通过线粒体通路激活Caspase-3, 诱导肿瘤细胞发生凋亡^[99,104-107]. Wang等人^[26]研究发现, Caspase-3能通过切割活化GSDME蛋白导致膜孔形成, 将化疗诱导的细胞凋亡转变为细胞焦亡. 人体许多正常细胞可以高水平表达GSDME蛋白, 但是在多种肿瘤细胞中GSDME由于甲基化修饰处于转录抑制状态. 他们发现, 敲除GSDME (GSDME^{-/-})的小鼠接受顺铂腹腔注射治疗后, 出现组织损伤、体重下降的情况相比GSDME野生型小鼠明显好转. 因此, 该团队认为, 许多常规化疗药物能激活Caspase-3, 进而通过GSDME蛋白诱导肿瘤周围正常细胞发生焦亡, 并引发正常组织炎症损伤; 正常组织中发生的细胞焦亡可能是病人化疗出现不良反应的重要原因. Yu和He^[108]利用GSDME^{-/-}小鼠模型亦得到相同结论: 相比于GSDME^{-/-}小鼠, 接受顺铂或5-FU腹腔注射的GSDME^{+/+}小鼠出现了更加严重的肠道炎症反应; 接受顺铂或博来霉素治疗的GSDME^{+/+}小鼠出现了明显的肺部损伤. 以上研究提示, GSDME介导的细胞焦亡可能是导致正常组织炎症损伤、引发部分化疗毒副作用的重要原因, 通过调控GSDME表达水平可能是

控制部分化疗不良副作用的有效手段.

7.5 Gasdermin蛋白介导调控肿瘤免疫微环境

细胞焦亡产生强大的促炎症效应提示其可能在肿瘤免疫微环境调控中发挥作用. Wang等人^[109]建立了一个生物正交化学系统, 该系统可以协助活化的Gasdermin蛋白选择性进入小鼠肿瘤细胞中. 该研究表明, 低于15%的肿瘤细胞发生焦亡便足以清除整个原位种植的4T1乳腺肿瘤, 并证实此抗肿瘤活性和肿瘤免疫反应增强相关. Xi等人^[110]研究发现, 在免疫突触附近GSDMD和颗粒酶B存在共定位现象, 并且当肿瘤组织中GSDMD表达缺陷时可伴随出现CD8⁺ T淋巴细胞数量和活性明显下降的现象, GSDMD蛋白可能在细胞毒性T淋巴细胞发挥杀伤肿瘤细胞过程中发挥重要作用. 既往研究认为, NK细胞主要通过细胞凋亡发挥清除肿瘤细胞的作用. Zhang等人^[38]最新研究证实了Gasdermin蛋白介导的细胞焦亡在NK细胞发挥抗肿瘤功能过程中发挥的关键作用: 来自NK细胞的颗粒酶Granzyme B具备和Caspase-3相同的切割位点, 能够直接切割GSDME, 激活癌细胞发生焦亡, 而细胞焦亡的发生进一步激活抗肿瘤的免疫效应, 抑制肿瘤生长. 另外, Zhou等人^[22]研究发现, 细胞毒性淋巴细胞, 如毒性T淋巴细胞、NK细胞等, 其丝氨酸蛋白酶Granzyme A可以经穿孔素进入靶细胞, 进一步水解活化GSDMB并诱导靶细胞发生焦亡; 并且发现GSDMB存在组织特异性表达, 并在消化系统上皮细胞源肿瘤细胞中高表达, 通过GSDMB诱导细胞焦亡将增强抗肿瘤免疫活性. 该实验进一步验证了细胞焦亡在肿瘤免疫治疗中的潜力.

8 展望

既往人们对于细胞程序性死亡的研究主要集中在细胞凋亡, 而对细胞焦亡知之甚少. 细胞焦亡是最近受到广泛关注的一种细胞程序性死亡形式, 在感染、免疫炎症性疾病中发挥的作用受到越来越多的重视. 此外, 细胞焦亡在肿瘤的发生发展中可能发挥着不可小觑的作用, 因此不少研究者将其视为未来肿瘤研究领域的重点和热点. 然而, 目前人们对于细胞焦亡的了解仍较表浅, 相关研究亟需进一步开展. 比如, 人们对

于其他Gasdermin蛋白家族成员(如Gasdermin C)的了解十分匮乏,对GSDMD介导的促肿瘤或抑制肿瘤的具体作用机制的了解仍十分有限,同时,关于GSDME介导细胞凋亡转变细胞焦亡的具体机制仍不清楚。此外,结合现有研究结果,细胞焦亡可能对肿瘤发生、进展具有双重效应:一方面细胞焦亡能显著影响免疫相关信号级联反应的发生,进一步塑造炎性微环境,这可能有利于肿瘤的发生;另一方面,细胞焦亡本身能导致肿瘤细胞坏死,并能通过影响细胞EMT过程、介导调控肿瘤微环境、影响化疗耐药性等效应,从而

发挥抗肿瘤功能。

目前人们对于细胞焦亡的研究和了解仅仅是冰山一角。部分体外研究结果展现了细胞焦亡对肿瘤细胞生存的影响力及抗肿瘤潜能,比如联合应用Distamine(提高GSDME表达水平)能对抗肿瘤细胞化疗耐药性,提升化疗药物抗肿瘤效果。细胞焦亡及Gasdermin蛋白家族成员有望成为未来肿瘤、炎症、免疫等研究领域的核心参与者。对细胞焦亡的深入研究将有助于人们更深入地理解许多疾病发生发展。细胞焦亡及相关蛋白有望成为有效的药理学靶点。

参考文献

- 1 Friedlander A M. Macrophages are sensitive to anthrax lethal toxin through an acid-dependent process. *J Biol Chem*, 1986, 261: 7123–7126
- 2 Brennan M A, Cookson B T. Salmonella induces macrophage death by caspase-1-dependent necrosis. *Mol Microbiol*, 2000, 38: 31–40
- 3 Hilbi H, Moss J E, Hersh D, et al. *Shigella*-induced apoptosis is dependent on caspase-1 which binds to IpaB. *J Biol Chem*, 1998, 273: 32895–32900
- 4 Zychlinsky A, Fitting C, Cavaillon J M, et al. Interleukin 1 is released by murine macrophages during apoptosis induced by *Shigella flexneri*. *J Clin Invest*, 1994, 94: 1328–1332
- 5 Cookson B T, Brennan M A. Pro-inflammatory programmed cell death. *Trends Microbiol*, 2001, 9: 113–114
- 6 D'Arcy M S. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biol Int*, 2019, 43: 582–592
- 7 Shi J, Zhao Y, Wang K, et al. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature*, 2015, 526: 660–665
- 8 Ding J, Wang K, Liu W, et al. Pore-forming activity and structural autoinhibition of the gasdermin family. *Nature*, 2016, 535: 111–116
- 9 Shi J, Gao W, Shao F. Pyroptosis: Gasdermin-mediated programmed necrotic cell death. *Trends Biochem Sci*, 2017, 42: 245–254
- 10 Liu X, Zhang Z, Ruan J, et al. Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores. *Nature*, 2016, 535: 153–158
- 11 Chen X, He W T, Hu L, et al. Pyroptosis is driven by non-selective gasdermin-D pore and its morphology is different from MLKL channel-mediated necroptosis. *Cell Res*, 2016, 26: 1007–1020
- 12 Sborgi L, Rühl S, Mulvihill E, et al. GSDMD membrane pore formation constitutes the mechanism of pyroptotic cell death. *EMBO J*, 2016, 35: 1766–1778
- 13 He W, Wan H, Hu L, et al. Gasdermin D is an executor of pyroptosis and required for interleukin-1 β secretion. *Cell Res*, 2015, 25: 1285–1298
- 14 Galluzzi L, Vitale I, Aaronson S A, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ*, 2018, 25: 486–541
- 15 Zhang Y, Chen X, Gueydan C, et al. Plasma membrane changes during programmed cell deaths. *Cell Res*, 2018, 28: 9–21
- 16 Kerr J F R, Wyllie A H, Currie A R. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*, 1972, 26: 239–257
- 17 Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol*, 2007, 35: 495–516
- 18 Degterev A, Yuan J. Expansion and evolution of cell death programmes. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9: 378–390
- 19 Rühl S, Shkarina K, Demarco B, et al. ESCRT-dependent membrane repair negatively regulates pyroptosis downstream of GSDMD activation. *Science*, 2018, 362: 956–960
- 20 Jorgensen I, Rayamajhi M, Miao E A. Programmed cell death as a defence against infection. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17: 151–164
- 21 Broz P, Pelegrín P, Shao F. The gasdermins, a protein family executing cell death and inflammation. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20: 143–157
- 22 Zhou Z, He H, Wang K, et al. Granzyme A from cytotoxic lymphocytes cleaves GSDMB to trigger pyroptosis in target cells. *Science*, 2020, 368: eaaz7548

- 23 Katoh M, Katoh M. Identification and characterization of human DFNA5L, mouse Dfna5L, and rat Dfna5L genes in silico. *Int J Oncol*, 2004, 25: 765–770
- 24 Rieckmann J C, Geiger R, Hornburg D, et al. Social network architecture of human immune cells unveiled by quantitative proteomics. *Nat Immunol*, 2017, 18: 583–593
- 25 Rogers C, Fernandes-Alnemri T, Mayes L, et al. Cleavage of DFNA5 by caspase-3 during apoptosis mediates progression to secondary necrotic/pyroptotic cell death. *Nat Commun*, 2017, 8: 14128
- 26 Wang Y, Gao W, Shi X, et al. Chemotherapy drugs induce pyroptosis through caspase-3 cleavage of a gasdermin. *Nature*, 2017, 547: 99–103
- 27 Wang Y, Yin B, Li D, et al. GSDME mediates caspase-3-dependent pyroptosis in gastric cancer. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495: 1418–1425
- 28 Wang K, Sun Q, Zhong X, et al. Structural mechanism for GSDMD targeting by autoprocessed caspases in pyroptosis. *Cell*, 2020, 180: 941–955.e20
- 29 Srinivasula S M, Poyet J L, Razmara M, et al. The PYRIN-CARD protein ASC is an activating adaptor for caspase-1. *J Biol Chem*, 2002, 277: 21119–21122
- 30 Malik A, Kanneganti T D. Inflammasome activation and assembly at a glance. *J Cell Sci*, 2017, 130: 3955–3963
- 31 de Torre-Minguela C, Mesa Del Castillo P, Pelegrín P. The NLRP3 and pyrin inflammasomes: implications in the pathophysiology of autoinflammatory diseases. *Front Immunol*, 2017, 8: 43
- 32 Davis B K, Wen H, Ting J P Y. The inflammasome NLRs in immunity, inflammation, and associated diseases. *Annu Rev Immunol*, 2011, 29: 707–735
- 33 Rühl S, Broz P. Caspase-11 activates a canonical NLRP3 inflammasome by promoting K⁺ efflux. *Eur J Immunol*, 2015, 45: 2927–2936
- 34 Shi J, Zhao Y, Wang Y, et al. Inflammatory caspases are innate immune receptors for intracellular LPS. *Nature*, 2014, 514: 187–192
- 35 Kayagaki N, Warming S, Lamkanfi M, et al. Non-canonical inflammasome activation targets caspase-11. *Nature*, 2011, 479: 117–121
- 36 Sarhan J, Liu B C, Muendlein H I, et al. Caspase-8 induces cleavage of gasdermin D to elicit pyroptosis during *Yersinia* infection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115: E10888
- 37 Kayagaki N, Stowe I B, Lee B L, et al. Caspase-11 cleaves gasdermin D for non-canonical inflammasome signalling. *Nature*, 2015, 526: 666–671
- 38 Zhang Z, Zhang Y, Xia S, et al. Gasdermin E suppresses tumour growth by activating anti-tumour immunity. *Nature*, 2020, 579: 415–420
- 39 van Meer G, Voelker D R, Feigenson G W. Membrane lipids: where they are and how they behave. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9: 112–124
- 40 Leventis P A, Grinstein S. The distribution and function of phosphatidylserine in cellular membranes. *Annu Rev Biophys*, 2010, 39: 407–427
- 41 Cunha L D, Silva A L N, Ribeiro J M, et al. AIM2 engages active but unprocessed Caspase-1 to induce noncanonical activation of the NLRP3 inflammasome. *Cell Rep*, 2017, 20: 794–805
- 42 Rubartelli A, Cozzolino F, Talio M, et al. A novel secretory pathway for interleukin-1 beta, a protein lacking a signal sequence. *EMBO J*, 1990, 9: 1503–1510
- 43 Andrei C, Dazzi C, Lotti L, et al. The secretory route of the leaderless protein interleukin 1β involves exocytosis of endolysosome-related vesicles. *Mol Biol Cell*, 1999, 10: 1463–1475
- 44 MacKenzie A, Wilson H L, Kiss-Toth E, et al. Rapid secretion of interleukin-1β by microvesicle shedding. *Immunity*, 2001, 15: 825–835
- 45 Mitra S, Sarkar A. Microparticulate P2X7 and GSDM-D mediated regulation of functional IL-1β release. *Purinerg Signal*, 2019, 15: 119–123
- 46 Evavold C L, Ruan J, Tan Y, et al. The pore-forming protein Gasdermin D regulates interleukin-1 secretion from living macrophages. *Immunity*, 2018, 48: 35–44.e6
- 47 Heilig R, Dick M S, Sborgi L, et al. The Gasdermin-D pore acts as a conduit for IL-1β secretion in mice. *Eur J Immunol*, 2018, 48: 584–592
- 48 Zanoni I, Tan Y, Di Gioia M, et al. An endogenous caspase-11 ligand elicits interleukin-1 release from living dendritic cells. *Science*, 2016, 352: 1232–1236
- 49 Schoenauer R, Atanassoff A P, Wolfmeier H, et al. P2X7 receptors mediate resistance to toxin-induced cell lysis. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1843: 915–922
- 50 Miao E A, Leaf I A, Treuting P M, et al. Caspase-1-induced pyroptosis is an innate immune effector mechanism against intracellular bacteria. *Nat Immunol*, 2010, 11: 1136–1142
- 51 Aachoui Y, Leaf I A, Hagar J A, et al. Caspase-11 protects against bacteria that escape the vacuole. *Science*, 2013, 339: 975–978

- 52 Cervantes J, Nagata T, Uchijima M, et al. Intracytosolic *Listeria monocytogenes* induces cell death through caspase-1 activation in murine macrophages. *Cell Microbiol*, 2008, 10: 41–52
- 53 Strowig T, Henao-Mejia J, Elinav E, et al. Inflammasomes in health and disease. *Nature*, 2012, 481: 278–286
- 54 Dinarello C A, Donath M Y, Mandrup-Poulsen T. Role of IL-1 β in type 2 diabetes. *Curr Opin Endocrinol Diab Obes*, 2010, 17: 314–321
- 55 Lamkanfi M, Mueller J L, Vitari A C, et al. Glyburide inhibits the Cryopyrin/Nalp3 inflammasome. *J Cell Biol*, 2009, 187: 61–70
- 56 Luo B, Huang F, Liu Y, et al. NLRP3 inflammasome as a molecular marker in diabetic cardiomyopathy. *Front Physiol*, 2017, 8: 519
- 57 Xu Y J, Zheng L, Hu Y W, et al. Pyroptosis and its relationship to atherosclerosis. *Clinica Chim Acta*, 2018, 476: 28–37
- 58 Duewell P, Kono H, Rayner K J, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. *Nature*, 2010, 464: 1357–1361
- 59 Ridker P M, Everett B M, Thuren T, et al. Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease. *N Engl J Med*, 2017, 377: 1119–1131
- 60 Ridker P M, MacFadyen J G, Thuren T, et al. Effect of interleukin-1 β inhibition with canakinumab on incident lung cancer in patients with atherosclerosis: exploratory results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*, 2017, 390: 1833–1842
- 61 Sheedy F J, Grebe A, Rayner K J, et al. CD36 coordinates NLRP3 inflammasome activation by facilitating intracellular nucleation of soluble ligands into particulate ligands in sterile inflammation. *Nat Immunol*, 2013, 14: 812–820
- 62 Chi H, Messas E, Levine R A, et al. Interleukin-1 receptor signaling mediates atherosclerosis associated with bacterial exposure and/or a high-fat diet in a murine apolipoprotein E heterozygote model. *Circulation*, 2004, 110: 1678–1685
- 63 Isoda K, Ohsuzu F. The effect of interleukin-1 receptor antagonist on arteries and cholesterol metabolism. *J Atheroscler Thromb*, 2006, 13: 21–30
- 64 Panganiban R A, Sun M, Dahlin A, et al. A functional splice variant associated with decreased asthma risk abolishes the ability of gasdermin B to induce epithelial cell pyroptosis. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 142: 1469–1478.e2
- 65 Verlaan D J, Berlivet S, Hunninghake G M, et al. Allele-specific chromatin remodeling in the ZPBP2/GSDMB/ORMDL3 locus associated with the risk of asthma and autoimmune disease. *Am J Hum Genet*, 2009, 85: 377–393
- 66 Soderman J, Berglund L, Almer S. Gene expression-genotype analysis implicates *GSDMA*, *GSDMB*, and *LRR3C* as contributors to inflammatory bowel disease susceptibility. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 834805
- 67 Zaki M H, Lamkanfi M, Kanneganti T D. The Nlrp3 inflammasome: contributions to intestinal homeostasis. *Trends Immunol*, 2011, 32: 171–179
- 68 Wei Q, Mu K, Li T, et al. Deregulation of the NLRP3 inflammasome in hepatic parenchymal cells during liver cancer progression. *Lab Invest*, 2014, 94: 52–62
- 69 Dupaul-Chicoine J, Yeretssian G, Doiron K, et al. Control of intestinal homeostasis, colitis, and colitis-associated colorectal cancer by the inflammatory caspases. *Immunity*, 2010, 32: 367–378
- 70 Kaplanov I, Carmi Y, Kornetsky R, et al. Blocking IL-1 β reverses the immunosuppression in mouse breast cancer and synergizes with anti-PD-1 for tumor abrogation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116: 1361–1369
- 71 Hu M, Yuan X, Liu Y, et al. IL-1 β -induced NF- κ B activation down-regulates miR-506 expression to promotes osteosarcoma cell growth through JAG1. *Biomed Pharmacother*, 2017, 95: 1147–1155
- 72 Liu B, Zhou Y, Chen X, et al. IL-1 β -mediated NF- κ B signaling augments the osteosarcoma cell growth through modulating miR-376c/TGFA axis. *Die Pharm*, 2017, 72: 419–424
- 73 Wang X, Wang B, Xie J, et al. Melatonin inhibits epithelial-to-mesenchymal transition in gastric cancer cells via attenuation of IL-1 β /NF- κ B/MMP2/MMP9 signaling. *Int J Mol Med*, 2018, 42: 2221–2228
- 74 Li T, Zhu J, Zuo S, et al. 1,25(OH) $_2$ D $_3$ attenuates IL-1 β -induced epithelial-to-mesenchymal transition through inhibiting the expression of lncTCF7. *oncol res*, 2019, 27: 739–750
- 75 Zhang D, Li L, Jiang H, et al. Tumor-stroma IL1 β -IRAK4 feedforward circuitry drives tumor fibrosis, chemoresistance, and poor prognosis in pancreatic cancer. *Cancer Res*, 2018, 78: 1700–1712
- 76 Jiménez-Garduño A M, Mendoza-Rodríguez M G, Urrutia-Cabrera D, et al. IL-1 β induced methylation of the estrogen receptor ER α gene correlates with EMT and chemoresistance in breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 490: 780–785
- 77 Mendoza-Rodríguez M, Arévalo Romero H, Fuentes-Pananá E M, et al. IL-1 β induces up-regulation of *BIRC3*, a gene involved in

- chemoresistance to doxorubicin in breast cancer cells. *Cancer Lett*, 2017, 390: 39–44
- 78 Kaplanski G. Interleukin-18: Biological properties and role in disease pathogenesis. *Immunol Rev*, 2018, 281: 138–153
- 79 Wawrocki S, Druszczyńska M, Kowalewicz-Kulbat M, et al. Interleukin 18 (IL-18) as a target for immune intervention. *Acta Biochim Pol*, 2016, 63: 59–63
- 80 Ko C Y, Wang W L, Li C F, et al. IL-18-induced interaction between IMP3 and HuR contributes to *COX-2* mRNA stabilization in acute myeloid leukemia. *J Leukocyte Biol*, 2016, 99: 131–141
- 81 Li Y, Xu Z, Li J, et al. Interleukin-18 expression in oral squamous cell carcinoma: its role in tumor cell migration and invasion, and growth of tumor cell xenografts. *FEBS Open Bio*, 2018, 8: 1953–1963
- 82 Usul Afsar Ç, Karabulut M, Karabulut S, et al. Circulating interleukin-18 (IL-18) is a predictor of response to gemcitabine based chemotherapy in patients with pancreatic adenocarcinoma. *J Infect Chemother*, 2017, 23: 196–200
- 83 Orita H, Tanaka S, Watanabe S, et al. The efficacy of *Gasdermin* gene family for tumor marker in colorectal cancer. *Cancer Res*, 2015, 75: 3424–3424
- 84 Qiu S, Liu J, Xing F. ‘Hints’ in the killer protein gasdermin D: unveiling the secrets of gasdermins driving cell death. *Cell Death Differ*, 2017, 24: 588–596
- 85 Saeki N, Usui T, Aoyagi K, et al. Distinctive expression and function of four *GSDM* family genes (*GSDMA-D*) in normal and malignant upper gastrointestinal epithelium. *Genes Chromosom Cancer*, 2009, 48: 261–271
- 86 Wang W J, Chen D, Jiang M Z, et al. Downregulation of gasdermin D promotes gastric cancer proliferation by regulating cell cycle-related proteins. *J Digest Dis*, 2018, 19: 74–83
- 87 Wang L, Li K, Lin X, et al. Metformin induces human esophageal carcinoma cell pyroptosis by targeting the miR-497/PELP1 axis. *Cancer Lett*, 2019, 450: 22–31
- 88 Johnson D C, Taabazuing C Y, Okondo M C, et al. DPP8/DPP9 inhibitor-induced pyroptosis for treatment of acute myeloid leukemia. *Nat Med*, 2018, 24: 1151–1156
- 89 Okondo M C, Johnson D C, Sridharan R, et al. DPP8 and DPP9 inhibition induces pro-caspase-1-dependent monocyte and macrophage pyroptosis. *Nat Chem Biol*, 2017, 13: 46–53
- 90 Pizato N, Luzete B C, Kiffer L F M V, et al. Omega-3 docosahexaenoic acid induces pyroptosis cell death in triple-negative breast cancer cells. *Sci Rep*, 2018, 8: 1952
- 91 Draganov D, Gopalakrishna-Pillai S, Chen Y R, et al. Modulation of P2X4/P2X7/Pannexin-1 sensitivity to extracellular ATP via Ivermectin induces a non-apoptotic and inflammatory form of cancer cell death. *Sci Rep*, 2015, 5: 16222
- 92 Yue E, Tuguzbaeva G, Chen X, et al. Anthocyanin is involved in the activation of pyroptosis in oral squamous cell carcinoma. *Phytomedicine*, 2019, 56: 286–294
- 93 Qiao L, Wu X, Zhang J, et al. α -NETA induces pyroptosis of epithelial ovarian cancer cells through the GSDMD/caspase-4 pathway. *FASEB J*, 2019, 33: 12760–12767
- 94 Ahmed S G, Abdelnabi A, Doha M, et al. Schwannoma gene therapy by adeno-associated virus delivery of the pore-forming protein Gasdermin-D. *Cancer Gene Ther*, 2019, 26: 259–267
- 95 Gao J, Qiu X, Xi G, et al. Downregulation of GSDMD attenuates tumor proliferation via the intrinsic mitochondrial apoptotic pathway and inhibition of EGFR/Akt signaling and predicts a good prognosis in non-small cell lung cancer. *Oncol Rep*, 2018, 40: 1971–1984
- 96 Wang C J, Tang L, Shen D W, et al. The expression and regulation of DFNA5 in human hepatocellular carcinoma DFNA5 in hepatocellular carcinoma. *Mol Biol Rep*, 2013, 40: 6525–6531
- 97 Chen Y F, Qi H Y, Wu F L. Euxanthone exhibits anti-proliferative and anti-invasive activities in hepatocellular carcinoma by inducing pyroptosis: preliminary results. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22: 8186–8196
- 98 Chu Q, Jiang Y, Zhang W, et al. Pyroptosis is involved in the pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*, 2016, 7: 84658–84665
- 99 Fulda S. Targeting apoptosis for anticancer therapy. *Semin Cancer Biol*, 2015, 31: 84–88
- 100 Shi Y, Ren J J, Liang C, et al. GSDME influences sensitivity of breast cancer MCF-7 cells to paclitaxel by regulating cell pyroptosis (in Chinese). *Chin J Cancer Biother*, 2019, 26: 146–151 [石瑛, 任静静, 梁晨, 等. GSDME通过调控细胞焦亡影响乳腺癌MCF-7细胞对紫杉醇的敏感性. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26: 146–151]

- 101 Chen L, Weng B, Li H, et al. A thiopyran derivative with low murine toxicity with therapeutic potential on lung cancer acting through a NF- κ B mediated apoptosis-to-pyroptosis switch. *Apoptosis*, 2019, 24: 74–82
- 102 Zhang C C, Li C G, Wang Y F, et al. Chemotherapeutic paclitaxel and cisplatin differentially induce pyroptosis in A549 lung cancer cells via caspase-3/GSDME activation. *Apoptosis*, 2019, 24: 312–325
- 103 Yu P, Wang H Y, Tian M, et al. Eukaryotic elongation factor-2 kinase regulates the cross-talk between autophagy and pyroptosis in doxorubicin-treated human melanoma cells *in vitro*. *Acta Pharmacol Sin*, 2019, 40: 1237–1244
- 104 Rohn J L, Noteborn M H M. The viral death effector Apoptin reveals tumor-specific processes. *Apoptosis*, 2004, 9: 315–322
- 105 Philchenkov A, Zavelevich M, Krocak T J, et al. Caspases and cancer: mechanisms of inactivation and new treatment modalities. *Exp Oncol*, 2004, 26: 82–97
- 106 Yamabe K, Shimizu S, Ito T, et al. Cancer gene therapy using a pro-apoptotic gene, caspase-3. *Gene Ther*, 1999, 6: 1952–1959
- 107 Fisher D E. Apoptosis in cancer therapy: crossing the threshold. *Cell*, 1994, 78: 539–542
- 108 Yu X, He S. GSDME as an executioner of chemotherapy-induced cell death. *Sci China Life Sci*, 2017, 60: 1291–1294
- 109 Wang Q, Wang Y, Ding J, et al. A bioorthogonal system reveals antitumour immune function of pyroptosis. *Nature*, 2020, 579: 421–426
- 110 Xi G, Gao J, Wan B, et al. GSDMD is required for effector CD8⁺ T cell responses to lung cancer cells. *Int Immunopharmacol*, 2019, 74: 105713

Molecular mechanism of pyroptosis and its role in cancer

CHEN YiTian¹, SU LiangPing¹, QIU XiaoYi¹, WU SangQing² & WONG Ping-Pui¹

1 Guangdong Provincial Key Laboratory of Malignant Tumor Epigenetics and Gene Regulation, Medical Research Center, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China;

2 Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Sun Yat-sen Memorial Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou, 510120 China

Pyroptosis is a newly discovered form of cell death that occurs when pathogen-associated molecular patterns or endogenous danger signals are recognized by cells. In response to these signals, human caspase-1/4/5 or murine caspase-11 are activated and cleave Gasdermin D, leading to the formation of cell membrane pores, release of inflammatory factors, and eventually cell death. Gasdermin D is the sole executor of pyroptosis, which is therefore defined as an inflammatory form of programmed cell death mediated by Gasdermin D. Earlier studies on pyroptosis shed light on the roles of pyroptosis and its related proteins involved in mediating the body's defense against infection. Accumulating evidence suggests that pyroptosis, in addition to inflammatory factors, also plays a pivotal role in cancer development and progression. This article reviews the evolution and development of the concept of pyroptosis from a historical perspective and summarizes the role of the Gasdermin family of proteins in modulating pyroptosis. In addition, it details the emerging evidence that pyroptosis, its related proteins, and inflammatory factors may be drivers of diseases, particularly cancer.

pyroptosis, Gasdermin, GSDMD, Caspase, membrane pore formation, tumor

doi: [10.1360/SSV-2020-0065](https://doi.org/10.1360/SSV-2020-0065)