

细胞焦亡在口腔感染性疾病中的研究进展*

杨祺婧 张洪浦 岳 靓 李春艳**

吉林大学口腔医院修复科, 长春 130021

[摘要] 口腔微生物失调是口腔感染性疾病的初始因素, 但牙周组织的破坏程度由微生物与宿主免疫反应之间的相互作用决定。细胞焦亡作为重要的天然免疫反应, 在口腔感染性疾病的发生发展中发挥重要作用。本文对细胞焦亡的分子机制, 不同口腔微生物引起焦亡的通路及组织破坏的病理生理机制作一综述, 为防治口腔感染性疾病提供新思路。

[关键词] 细胞焦亡; 口腔感染性疾病; 牙周炎

doi: 10.3969/j.issn.1674-7593.2024.06.017

The Role of Pyroptosis in Oral Infectious Diseases: Current Research Progress

Yang Qijing, Zhang Hongpu, Yue Liang, Li Chunyan**

Department of Prosthodontics, School and Hospital of Stomatology, Jilin University, Changchun 130021

** Corresponding author: Li Chunyan, email: cyli@jlu.edu.cn

[Abstract] In oral infectious diseases, the imbalance of oral microorganisms is considered a primary factor, however, the extent of periodontal tissue destruction is determined by the interaction between microbiota and the host immune response. Pyroptosis, a crucial innate immune response, plays a significant role in the onset and progression of oral infectious diseases. This paper reviews the molecular mechanisms of pyroptosis, the pyroptosis pathways triggered by various oral microorganisms, and the pathophysiological mechanisms of tissue destruction. The aim is to offer novel insights for the prevention and treatment of oral infectious diseases.

[Key words] Pyroptosis; Oral infectious diseases; Periodontitis

程序性细胞死亡是指为了保持细胞环境稳定而自主控制的细胞死亡, 涉及一系列基因和蛋白的表达和调控^[1]。细胞焦亡是一种新发现的特殊的程序性细胞死亡, 主要由消皮素家族蛋白 (Gasdermin, GSDM) 调控, 其特征表现为细胞肿胀、膜孔形成和细胞内容物的释放, 包括白细胞介素-18 (Interleukin-18, IL-18) 和 IL-1 β , 与多种疾病的发生发展密切相关^[2]。细胞焦亡具有双重作用, 适当的焦亡有助于延缓感染进程, 但过度的细胞焦亡和通过膜孔释放的炎症因子可能导致难以修复的组织损伤, 引起炎症级联反应和免疫失衡。

口腔内存在多种微生物, 包括细菌、真菌和病毒, 这些微生物在口腔疾病中发挥免疫刺激作用。口腔感染性疾病主要由微生物群落失衡引起, 例如牙周炎、根尖周炎、口腔黏膜疾病和种植体周围炎等^[3]。微生物引起的细胞焦亡可能引发过度的炎症和免疫反应, 加重口腔感染。因此, 在口腔感染性疾病的发生及发展中, 细胞焦亡扮演着重要角色。本文就细胞焦亡的分子调控机制及其在口腔感染性疾病中的作用进行综述, 以期对口腔感染性疾病的治疗提供新方向。

1 细胞焦亡的分子机制

GSDM 是细胞焦亡的重要执行蛋白, 目前已知的焦亡机制主要分为由消皮素 D (Gasdermin-D, GSDMD)、消皮素 E (Gasdermin-E, GSDME) 和其他 GSDM 家族蛋白介导的途径, 同时也与含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 (CysteinyI aspartate specific proteinase, Caspase) 的调节有关。

1.1 GSDMD 介导的细胞焦亡

1.1.1 GSDMD 介导的经典途径 依赖 Caspase-1 的 GSDMD 介导的细胞焦亡称为经典途径的细胞焦亡, 这是最早被发现的焦亡途径^[4]。模式识别受体 (Pattern recognition receptor, PRR) 识别内源性和外源性的信号分子, 激发炎症小体的组装。目前, 与经典途径细胞焦亡相关的炎症小体有核苷酸结合寡聚化结构域富含亮氨酸重复序列的受体家族含 pyrin 结构域的蛋白 3 (Nucleotide-binding oligomeric domain leucine-rich repeat-containing receptors family pyrin domain-containing protein 3, NLRP3)、黑素瘤缺乏因子 2 (Absent in melanoma 2, AIM2) 和脓素等^[5]。在经典焦亡途径中, PRR 能直接或间接地通过含有凋亡相关斑点样蛋白 (Apoptosis associated speck like protein containing caspase re-

* 吉林省科学技术厅项目 (20220204128YY)

** 通讯作者: 李春艳, 电子邮箱 cyli@jlu.edu.cn

recruitment domain, ASC) 募集 Caspase-1 前体。随后, Caspase-1 前体被水解形成活化的 Caspase-1^[6]。一方面, Caspase-1 裂解 GSDMD 形成 GSDMD 的 N 端结构域 (GSDMD amino terminus, GSDMD-NT), 靶向细胞膜并形成膜孔, 最终导致细胞焦亡; 另一方面, IL-18 和 IL-1 β 前体被 Caspase-1 切割形成成熟的 IL-18 和 IL-1 β , 随后通过膜孔分泌至细胞外, 启动炎症级联反应^[7]。

1.1.2 GSDMD 介导的非经典途径 在非经典途径中, Caspase-4/5 或小鼠同源的 Caspase-11 能直接识别并与细胞内的脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 结合^[8]。活化的 Caspase-4/5/11 可直接与 GSDMD 作用, 形成 GSDMD-NT, 导致细胞焦亡^[9]。此外, 活化的 Caspase-4/5/11 还可激活钾离子通道 Pannexin-1, 使钾离子外流并释放 ATP, 触发 P₂X₇ 受体开放, 进而引起钙离子内流并触发 NLRP3 炎症小体激活, 最终激活 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 的经典焦亡途径^[10]。

1.2 GSDME 介导的细胞焦亡

GSDME 是一种将凋亡转化为焦亡的关键蛋白, 能被 Caspase-3 切割并特异性激活, 从而诱导细胞焦亡^[11]。化疗药物和铁激活的高水平活性氧能够通过 B 淋巴细胞瘤-2 基因拮抗因子/杀手 (B-cell lymphoma-2 antagonist/killer, BAK) /B 淋巴细胞瘤-2 基因相关 X 蛋白 (B-cell lymphoma-2 associated X-protein, BAX) -Caspase-3-GSDME 信号通路诱导细胞焦亡^[12]。细胞应激后, 线粒体外膜通透性增加, 细胞色素 c 被释放至细胞质中, 从而激活 Caspase-9, 进而切割 Caspase-3, 启动 Caspase 级联反应。GSDME 被活化的 Caspase-3 切割, 棕榈酰化形成 GSDME-NT, 进而诱导细胞焦亡。最新的研究表明, 颗粒酶 B (Granzyme B, GzmB) 能直接切割 GSDME, 说明 GSDME 介导的细胞焦亡可以不依赖于活化的 Caspase-3^[13]。

1.3 其他途径的细胞焦亡

GSDM-A/B/C/D/E 均具有膜穿孔活性, 能够诱导细胞焦亡。GSDMA 可作为链球菌热原外毒素 B (Streptococcal pyrogenic exotoxin B, SpeB) 的感受器和底物, 在感染过程中被特异性裂解, 形成 GSDMA-NT, 破坏酸性脂质膜, 诱导细胞焦亡^[14]。GSDMB 主要表达于气道和胃肠道上皮细胞、肝细胞、神经内分泌细胞、免疫细胞和不同的肿瘤细胞, 包括宫颈癌、乳腺癌和肝癌等^[15]。自然杀伤细胞或细胞毒性 T 淋巴细胞释放的颗粒酶 A (Granzyme A, GzmA) 可在第 244 位的赖氨酸处切割 GSDMB^[16]。GSDMB 的表达可被多种干扰素 (Interferon, IFN) 和肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α) 上调, 其中 IFN- γ 能广泛地上调多种细胞的 GSDMB 表达, 增加靶细胞被杀伤的敏感性。在肿瘤微环境的缺氧条件下, 信号传导转录激活蛋白 3 与程序性死亡受体配体 1 相互作

用, 增强 GSDMC 的表达。同时, 在 TNF- α 刺激下, Caspase-8 特异性地切割 GSDMC, 引起细胞焦亡^[17]。此外, GSDMC 也可被 Caspase-6 裂解, 但细胞焦亡是否发生在活性氧和 DNA 损伤等 Caspase-6 活化的微环境中仍需要进一步研究。

2 细胞焦亡与口腔感染性疾病

口腔是一个多种微生物共存的复杂生态环境, 口腔微生物的稳态影响口腔健康。一旦口腔微生物失衡, 致病菌可引起多种口腔感染性疾病, 例如牙周炎、牙髓炎、根尖周感染以及口腔黏膜病等。口腔致病菌诱导的细胞焦亡引发的炎症级联反应及过度免疫, 可加速炎症进展。

2.1 细胞焦亡与牙周炎

牙周炎是一种慢性感染性疾病, 由牙菌斑和多种因素相互作用引起。牙菌斑是牙周炎的启动因子, 与宿主细胞相互作用并释放炎症介质。牙龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*, *P. gingivalis*) 和齿垢密螺旋体 (*Treponema denticola*, *T. denticola*) 常见于牙周病患者的龈下微生物群, 其中, 牙龈卟啉单胞菌是牙周病的主要致病菌。

在牙龈卟啉单胞菌及代谢产物的刺激下, 牙周组织中的免疫细胞、牙龈成纤维细胞和牙龈上皮细胞等基质细胞均可通过不同途径发生细胞焦亡, 从而导致上皮屏障破坏, 炎症浸润和骨流失, 加剧牙周炎。大量研究证实, 牙龈卟啉单胞菌及其外膜囊泡 (Outer membrane vesicles, OMVs) 可通过 NLRP3 或 AIM2 等炎症小体在巨噬细胞或单核细胞中激活 Caspase-1, 促进具有成孔活性的 GSDMD-NT 形成, 导致焦亡和细胞内容物释放^[18]。此外, 牙龈卟啉单胞菌也可诱导牙周基质细胞发生焦亡。在牙龈成纤维细胞中, 牙龈卟啉单胞菌可激活 NLRP6 炎症小体并诱导细胞焦亡, 释放 IL-1 β 和 IL-18^[19]。牙龈卟啉单胞菌的 LPS 可诱导 NLRP3 炎症小体和 Caspase-1 活化, 并引起 IL-1 β 释放, 导致牙周膜成纤维细胞迁移障碍。然而, 牙周膜成纤维细胞炎症因子的释放是否伴有细胞焦亡尚不清楚。此外, 牙龈卟啉单胞菌还可诱导牙周膜干细胞发生 Caspase-4 依赖的细胞焦亡, 进而促进破骨细胞的生成, 加速骨质流失^[20]。

齿垢密螺旋体是一种革兰阴性厌氧菌, 在成熟牙菌斑中占比较高。在巨噬细胞中, 齿垢密螺旋体的表面蛋白 Td92 与细胞膜整合素 $\alpha 5 \beta 1$ 直接作用, 引起 ATP 释放和钾离子外流, 激活 NLRP3 炎症小体, 促进 IL-1 β 分泌, 最终加剧牙周炎症^[21]。此外, Td92 还可通过活化的组织蛋白酶 G 激活 Caspase-4 并诱导人牙周成纤维细胞发生 GSDMD 介导的焦亡^[22]。

2.2 细胞焦亡与根尖周炎

牙髓腔原本是一个封闭的无菌环境, 但在医源性或病理性因素的刺激下, 微生物进入开放的牙髓腔导致牙髓感染。一旦感染的牙髓未得到及

时治疗, 细菌及其代谢产物会进一步扩散至根尖周组织, 进而引起根尖周组织发生病理改变, 导致根尖周炎。根据根尖周炎与治疗的关系可分为原发性和继发性根尖周炎。具核梭杆菌 (*Fusobacterium nucleatum*, *F. nucleatum*) 在原发感染的根管中占主导地位, 而持续性或继发性的根内感染与粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis*, *E. faecalis*) 相关。

具核梭杆菌是一种革兰阴性专性厌氧菌, 广泛存在于感染的根管和其他口腔感染性疾病中。当牙龈上皮细胞识别到具核梭杆菌后, Caspase-1 被激活, 导致 IL-1 β 分泌, 进一步加剧炎症反应^[23]。具核梭杆菌还可在巨噬细胞中引起 NLRP3 炎症小体活化和 IL-1 β 的分泌。被具核梭杆菌感染的巨噬细胞的核苷结合寡聚化结构域样受体 4 (Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor 4, NLRP4) 炎症小体及其下游的 Caspase-1/GSDMD 通路被激活, 导致细胞焦亡, 并伴随 IL-1 β 的表达和释放^[24]。此外, 当巨噬细胞与具核梭杆菌共培养时, Z-DNA 结合蛋白 1 (Z-DNA binding protein 1, ZBP1) 活化并使 Caspase-3 表达增加, 引发 GSDME 介导的细胞焦亡^[25]。具核梭杆菌诱导的巨噬细胞死亡不仅局限于细胞焦亡, 还包括凋亡和坏死性凋亡。

粪肠球菌是治疗失败的牙髓腔内最常检出的细菌之一, 其定植于深部的牙本质小管中。通过激活 Caspase-1 和 NLRP3 炎症小体诱导巨噬细胞发生 GSDMD 介导的细胞焦亡, 这一过程涉及 P₂X₇ 受体的开放和钾离子外流。粪肠球菌在根管内能够长期存活, 因此, 除引起细胞焦亡和炎症外, 是否影响成骨细胞也备受关注。体外实验研究表明, 粪肠球菌显著抑制成骨细胞增殖并通过 NLRP3/Caspase-1 途径诱导成骨细胞焦亡^[26]。然而, 何种 GSDM 参与成骨细胞焦亡仍不清楚。因此, 粪肠球菌不利于根尖周围组织的愈合与重建, 而调控粪肠球菌诱导的焦亡有望解决持续性根尖周炎。

2.3 细胞焦亡与口腔黏膜病

口腔菌群与黏膜免疫屏障之间的失衡和交互作用导致口腔黏膜病的发生。口腔黏膜感染性疾病包括单纯疱疹、带状疱疹、手足口病、口腔念珠菌病、口腔结核和口腔炎等。这些口腔黏膜感染性疾病与特定的口腔微生物有关, 如白色念珠菌、疱疹病毒和结核分枝杆菌。这些口腔黏膜菌群的紊乱不仅会影响免疫细胞的功能, 还会损害黏膜上皮的完整性和屏障功能。

疱疹病毒是 DNA 病毒的一个大家族, 与口腔黏膜疾病相关的主要包括 α 疱疹病毒中的单纯疱疹病毒 1 型 (Herpes simplex virus-1, HSV-1) 和水痘-带状疱疹病毒 (Varicella-zoster virus, VZV)。HSV-1 或 VZV 感染后, 口腔黏膜和口周皮肤出现成簇水疱伴疼痛, 导致黏膜和皮肤损伤。在巨噬

细胞中, HSV-1 首先激活 AIM2, 随后驱动 Caspase-1 活化, 导致细胞焦亡及 IL-18 和 IL-1 β 释放^[27]。此外, VZV 可能通过内质网应激激活 GSDMD 介导的细胞焦亡, 抑制细胞焦亡可缓解带状疱疹症状^[28]。实际上, 上皮细胞是病毒更常见的宿主, 然而, 关于疱疹病毒是否能引起上皮细胞焦亡的研究尚未见报道。

白色念珠菌是一种机会致病性真菌, 是口腔念珠菌病中最具代表性的微生物。白色念珠菌在巨噬细胞中能激活多种炎症小体, 如 NLRP3 和 NLRP4, 导致 IL-18 和 IL-1 β 的分泌。白色念珠菌诱导 GSDMD 介导的细胞焦亡有助于白色念珠菌从巨噬细胞中逃逸, 引发剧烈的炎症反应。因此, GSDMD 可能是口腔念珠菌病潜在的治疗靶点。体内实验结果表明, 在白色念珠菌感染的早期阶段, NLRP3 炎症小体活化触发 Caspase-1 依赖性的细胞焦亡, 导致巨噬细胞膜完整性的丧失和炎症因子的释放^[29]。在进一步的研究中 Z-DNA 和 ZBP1 被鉴定为白色念珠菌感染的顶端感受器。在 ZBP1 缺陷的巨噬细胞中, Caspase-1 的活化和 GSDMD 的裂解减少, 细胞焦亡受到抑制^[30]。辅助性 17 型 T 细胞识别白色念珠菌后, NLRP3、Caspase-8 和 Caspase-3 被级联激活, 触发 GSDME 介导的细胞焦亡, 导致 IL-1 α 释放。因此, 白色念珠菌诱导细胞焦亡的机制并不只局限于 GSDMD, 而深入的机制研究将有利于确定口腔念珠菌病的治疗靶点。

3 结语与展望

口腔感染性疾病涉及复杂的微生物环境及宿主免疫, 而细胞焦亡在口腔感染性疾病中发挥重要作用。多种口腔微生物可诱导不同的组织细胞发生 GSDMD 或 GSDME 介导的细胞焦亡。然而, 对于口腔感染性疾病中细胞焦亡的研究仍然有限, 是否存在其他细胞程序性死亡的串扰有待确认, 此外, GSDM 在口腔组织中表达的广谱研究也相对缺乏。因此, 未来仍需对细胞焦亡机制进行深入研究, 可能为口腔感染性疾病的治疗和新药的开发提供新靶点和优化策略。

参考文献

- [1] Lockshin R A. Programmed cell death 50 (and beyond) [J]. *Cell Death Differ*, 2016, 23 (1): 10–17.
- [2] 胡欣欣, 郭兆安. 细胞焦亡在糖尿病肾病发生发展中的研究进展 [J]. *国际老年医学杂志*, 2023, 44 (5): 617–620.
Hu X X, Guo Z A. Research progress of pyroptosis in diabetes nephropathy pathogenesis and development [J]. *Int J Geriatr*, 2023, 44 (5): 617–620.
- [3] Lamont R J, Koo H, Hajishengallis G. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2018, 16 (12): 745–759.
- [4] Xia X, Wang X, Cheng Z, et al. The role of pyroptosis in cancer: pro-cancer or pro-“host”? [J]. *Cell Death*

- Dis, 2019, 10 (9): 650.
- [5] Martinon F, Pétrilli V, Mayor A, et al. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome [J]. *Nature*, 2006, 440 (7081): 237–241.
- [6] Broz P, Dixit V M. Inflammasomes: mechanism of assembly, regulation and signalling [J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16 (7): 407–420.
- [7] Malik A, Kanneganti T D. Inflammasome activation and assembly at a glance [J]. *J Cell Sci*, 2017, 130 (23): 3955–3963.
- [8] Deng M, Tang Y, Li W, et al. The endotoxin delivery protein HMGB1 mediates caspase-11-dependent lethality in sepsis [J]. *Immunity*, 2018, 49 (4): 740–753. e7.
- [9] Aglietti R A, Estevez A, Gupta A, et al. GsdmD p30 elicited by caspase-11 during pyroptosis forms pores in membranes [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113 (28): 7858–7863.
- [10] Pelegrin P. P2X7 receptor and the NLRP3 inflammasome: partners in crime [J]. *Biochem Pharmacol*, 2021, 187: 114385.
- [11] 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.
- [12] Bhat A A, Thapa R, Afzal O, et al. The pyroptotic role of Caspase-3/GSDME signalling pathway among various cancer: a review [J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 242 (Pt 2): 124832.
- [13] Zhang Z, Zhang Y, Xia S, et al. Gasdermin E suppresses tumour growth by activating anti-tumour immunity [J]. *Nature*, 2020, 579 (7799): 415–420.
- [14] Deng W, Bai Y, Deng F, et al. Streptococcal pyrogenic exotoxin B cleaves GSDMA and triggers pyroptosis [J]. *Nature*, 2022, 602 (7897): 496–502.
- [15] Das S, Miller M, Beppu A K, et al. GSDMB induces an asthma phenotype characterized by increased airway responsiveness and remodeling without lung inflammation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113 (46): 13132–13137.
- [16] Zhou Z, He H, Wang K, et al. Granzyme A from cytotoxic lymphocytes cleaves GSDMB to trigger pyroptosis in target cells [J]. *Science*, 2020, 368 (6494): eaaz7548 [pii].
- [17] Hou J, Zhao R, Xia W, et al. PD-L1-mediated gasdermin C expression switches apoptosis to pyroptosis in cancer cells and facilitates tumour necrosis [J]. *Nat Cell Biol*, 2020, 22 (10): 1264–1275.
- [18] Fleetwood A J, Lee M, Singleton W, et al. Metabolic remodeling, inflammasome activation, and pyroptosis in macrophages stimulated by *Porphyromonas gingivalis* and its outer membrane vesicles [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2017, 7: 351.
- [19] Liu W, Liu J, Wang W, et al. NLRP6 induces pyroptosis by activation of caspase-1 in gingival fibroblasts [J]. *J Dent Res*, 2018, 97 (12): 1391–1398.
- [20] Chen Q, Liu X, Wang D, et al. Periodontal inflammation-triggered by periodontal ligament stem cell pyroptosis exacerbates periodontitis [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 663037.
- [21] Jun H K, Lee S H, Lee H R, et al. Integrin $\alpha 5 \beta 1$ activates the NLRP3 inflammasome by direct interaction with a bacterial surface protein [J]. *Immunity*, 2012, 36 (5): 755–768.
- [22] Jun H K, Jung Y J, Ji S, et al. Caspase-4 activation by a bacterial surface protein is mediated by cathepsin G in human gingival fibroblasts [J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25 (2): 380–391.
- [23] Bui F Q, Johnson L, Roberts J, et al. *Fusobacterium nucleatum* infection of gingival epithelial cells leads to NLRP3 inflammasome-dependent secretion of IL-1 β and the danger signals ASC and HMGB1 [J]. *Cell Microbiol*, 2016, 18 (7): 970–981.
- [24] Jiang W, Deng Z, Zhao W. NLR4 plays a regulatory role in *F. nucleatum*-induced pyroptosis in macrophages [J]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 2022, 42 (10): 1560–1565.
- [25] Liu H, Liu Y, Fan W, et al. *Fusobacterium nucleatum* triggers proinflammatory cell death via Z-DNA binding protein 1 in apical periodontitis [J]. *Cell Commun Signal*, 2022, 20 (1): 196.
- [26] Ran S, Chu M, Gu S, et al. *Enterococcus faecalis* induces apoptosis and pyroptosis of human osteoblastic MG63 cells via the NLRP3 inflammasome [J]. *Int Endod J*, 2019, 52 (1): 44–53.
- [27] Lee S, Karki R, Wang Y, et al. AIM2 forms a complex with pyrin and ZBP1 to drive PANoptosis and host defence [J]. *Nature*, 2021, 597 (7876): 415–419.
- [28] Zhu Y, Zhang S, Wu Y, et al. P2X7 receptor antagonist BBG inhibits endoplasmic reticulum stress and pyroptosis to alleviate postherpetic neuralgia [J]. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476 (9): 3461–3468.
- [29] Kasper L, König A, Koenig P A, et al. The fungal peptide toxin candidalysin activates the NLRP3 inflammasome and causes cytolysis in mononuclear phagocytes [J]. *Nat Commun*, 2018, 9 (1): 4260.
- [30] Banoth B, Tuladhar S, Karki R, et al. ZBP1 promotes fungi-induced inflammasome activation and pyroptosis, apoptosis, and necroptosis (PANoptosis) [J]. *J Biol Chem*, 2020, 295 (52): 18276–18283.