



## 肺炎链球菌与宿主炎症小体的相互作用机制

徐冬怡<sup>1,2#</sup>, 蒋佳利<sup>1,2#</sup>, 方仁东<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>西南大学动物医学院, 动物健康与动物性食品安全国际合作联合实验室, 重庆 400715

<sup>2</sup>西南大学医学研究院免疫学研究中心, 重庆 402460

**摘要:**肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)是一种定植于上呼吸道的革兰阳性胞外菌, 是导致侵袭性肺炎的主要原因, 所致疾病具有较高的发病率和死亡率。炎症小体(inflammasome)是胞浆内重要的蛋白复合体, 在先天免疫应答过程中起着重要作用。大量研究表明, 肺炎链球菌感染可诱导宿主炎症小体的激活、半胱天冬酶 1 的活化和促炎性细胞因子的分泌。在长期选择压力的作用下, 肺炎链球菌的部分突变菌株可以逃避炎症小体的识别。本文就肺炎链球菌感染过程中炎症小体的激活、炎症小体在抗肺炎链球菌过程中的作用以及肺炎链球菌逃避宿主炎症小体识别的机制三方面对肺炎链球菌与炎症小体之间相互作用的研究进展进行综述。

**关键词:**肺炎链球菌, 炎症小体, 先天性免疫, 逃避策略

肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)是一种条件性致病的革兰阳性胞外菌, 经常定植于人上呼吸道器官的黏膜中。这种无症状定植在宿主免疫状态低下和强毒血清型感染时, 可能发展为侵袭性疾病, 如社区获得性肺炎、败血症、脑膜炎、中耳炎等。肺炎链球菌所引起的疾病有较高的死亡率, 在儿童患者中尤为突出, 每年死亡人数约计 120 万<sup>[1]</sup>。迄今为止, 根据关键毒力因子荚

膜多糖结构划分的肺炎链球菌血清型约有 98 种, 其中一些血清型的肺炎链球菌可以在鼻、咽部定植, 所引起的疾病具有较高的死亡率。其他血清型常常在侵袭性疾病中发现, 但其引起的疾病死亡率较低<sup>[2-3]</sup>。肺炎链球菌溶血素(pneumolysin, PLY)是胆固醇依赖性细胞毒素家族成员之一。大多数肺炎链球菌的 PLY 通过与胞膜上的胆固醇结合使细胞膜形成穿孔进而导致细胞溶解, 具有细

基金项目: 国家重点研发项目(2018YFD0500500); 重庆市科委专项(cstc2018jcsx-msybX0302); 中央高校基本科研业务费专项资金(XDJK2019B012); 重庆市北碚区科委项目(2018-20)

#共同第一作者。

\*通信作者。Tel/Fax: +86-23-68251255; E-mail: rdfang@swu.edu.cn

收稿日期: 2019-11-17; 修回日期: 2020-01-07; 网络出版日期: 2020-02-28

胞毒性<sup>[3]</sup>。PLY 在引发疾病中的关键性作用已在各种肺炎链球菌疾病模型中得到证实，它是肺炎链球菌引起机体先天免疫反应的成分之一<sup>[4]</sup>。

模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)可识别病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)的保守微生物组分，这是机体先天免疫系统的第一道屏障<sup>[5]</sup>。目前已经发现的 PRRs 家族有 5 类，包括 C 型凝集素受体(C-type lectin receptors, CLR)、RIG-I 样受体(RIG-I-like receptors, RLR)、Toll 样受体(Toll-like receptors, TLR)、NOD 样受体(NOD-like receptors, NLR)和 AIM2 样受体(AIM2-like receptors, ALR)家族，不同的 PRRs 分布在机体的不同部位，识别不同的 PAMPs，最终诱导机体产生免疫应答<sup>[6]</sup>。炎症小体是一种多蛋白复合物，由受体蛋白、衔接蛋白和效应蛋白组成<sup>[7]</sup>。炎症小体的受体蛋白大都属于 NLRs 家族和 ALRs 家族，根据受体蛋白组成的不同，目前研究较多的是 NLRP3、NLRP1、NLRC4、NLRP6 和 AIM2 炎症小体，NLRP2、NLRP7、NLRP12 等炎症小体也有报道<sup>[8]</sup>。PRRs 识别 PAMPs 后借助衔接蛋白凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC)来募集和激活半胱天冬酶 1 前体(pro-caspase-1)和/或半胱天冬酶 11 前体(pro-caspase-11)效应蛋白，并使 caspase-1 和/或 caspase-11 的前体切割为成熟形式并发挥作用<sup>[9]</sup>，进而调控细胞程序性死亡即细胞焦亡(pyroptosis)以及细胞因子 IL-1 $\beta$  和 IL-18 的成熟与分泌<sup>[10]</sup>。最新研究表明，gasdermin D(GSDMD)也是半胱天冬酶 1 的靶标之一，GSDMD 裂解后作用于胞膜形成 gasdermin 孔，最终导致膜的破裂并参与到细胞焦亡的过程中<sup>[11]</sup>。

越来越多的研究表明，肺炎链球菌入侵宿主后可引起不同炎症小体的活化，而不同炎症小体组分的缺失也会引起机体病程的改变。本文将结合本团队的相关研究工作，对肺炎链球菌感染过程中炎症小体的激活、炎症小体在宿主抗肺炎链球菌中的作用、肺炎链球菌对宿主炎症小体的逃避策略等相关研究进展进行综合阐述。

## 1 肺炎链球菌感染过程中炎症小体的激活

Tschopp 等首次提出，典型的炎症小体是细胞溶质蛋白复合物，它是募集和活化 pro-caspase-1 的平台<sup>[12]</sup>。而参与肺炎链球菌识别的 PRRs 主要为 NLRs 家族的 NLRP3 炎症小体和 ALRs 家族的 AIM2 炎症小体<sup>[6]</sup>，不同的炎症小体所识别的肺炎链球菌的配体各不相同。

### 1.1 肺炎链球菌激活炎症小体

炎症小体的激活过程包括炎症小体识别肺炎链球菌以及 NF- $\kappa$ B 介导的 IL-1 $\beta$  前体的表达上调<sup>[13]</sup>。NLRP3 炎症小体对多种微生物和内源分子诱导的细胞紊乱均有反应<sup>[14-15]</sup>，很多研究证实肺炎链球菌的 PLY 可以引起 NLRP3 炎症小体的激活<sup>[16]</sup>。Shoma 等已证明，重组的 PLY 蛋白可以诱导巨噬细胞中 IL-18、IL-1 $\beta$  以及 IL-1 $\alpha$  的分泌<sup>[17]</sup>。本团队最近研究证实，在肺炎链球菌感染中性粒细胞过程中，PLY 参与 NLRP3 炎症小体的活化<sup>[18]</sup>。然而，肺炎链球菌 PLY 激活 NLRP3 炎症小体的具体机制尚未研究清楚，推测其可能为间接识别机制。在肺炎链球菌感染细胞的过程中，PLY 的成孔作用可导致溶酶体破裂和细菌 RNA 及其他内源性分子释放到胞质，因此 PLY 活化 NLRP3

炎症小体的确切机制可能涉及到钾离子外流、溶酶体破裂或 RNA 的激活等。Gupta 等证明, 化脓性链球菌的 RNA 为小鼠巨噬细胞中 NLRP3 炎症小体的直接激活剂<sup>[19]</sup>, 肺炎链球菌的 RNA 是否亦可激活 NLRP3 有待进一步研究。

多项研究表明, 在肺炎链球菌感染细胞的过程中, AIM2 能识别并结合肺炎链球菌的 dsDNA, 进而激活 AIM2 炎症小体的组装<sup>[20-21]</sup>。AIM2 识别释放到细胞质中的微生物 DNA, 由于肺炎链球菌是胞外寄生菌, 在宿主免疫过程中被巨噬细胞吞噬后会迅速死亡<sup>[22]</sup>, 因此, AIM2 识别肺炎链球菌还依赖于 PLY 的胞膜成孔作用和 LytA 的溶菌作用<sup>[22]</sup>。此外, TLR-9 也能识别肺炎链球菌的 DNA, 并通过细胞溶质感应器检测, 最后通过衔接分子 STING 发出信号<sup>[23]</sup>。这说明 AIM2 炎症小体可能还与其他 DNA 受体蛋白相关的信号通路存在交叉作用, 他们之间的相互作用机制还有待进一步的探索。

已有研究表明, 肺炎链球菌感染任何模式细胞均不会引起 NLRC4 炎症小体的激活<sup>[24]</sup>。但在 NLRP3 和 AIM2 炎症小体之外, 是否还有其他炎症小体参与肺炎链球菌的识别还有待进一步研究。Hara 等<sup>[25]</sup>研究表明在一些革兰阳性菌感染巨噬细胞时, NLRP6 介导的 caspase-11 作用于 caspase-1 的上游切割 IL-1 $\beta$  和 IL-18 的前体。NLRP6 炎症小体可通过识别一些革兰阳性菌的磷壁酸(lipoteichoic acid, LTA)形成复合物, 该复合物能够引起 ASC 的寡聚化进而诱导下游细胞因子的成熟与分泌。而肺炎链球菌感染是否诱导 NLRP6 炎症小体的激活有待进一步研究。

肺炎链球菌感染诱导炎症小体的激活可引起 caspase-1 的活化和下游细胞因子的分泌。本团队

已证明, 在 NLRP3<sup>-/-</sup>、AIM2<sup>-/-</sup>或 ASC<sup>-/-</sup>小鼠的腹腔巨噬细胞中, NLRP3、AIM2、ASC 缺失时会导致 caspase-1 的成熟形式减少及 IL-1 $\beta$ 、IL-18 的分泌水平显著降低<sup>[20]</sup>, 当 caspase-1 缺失时同样会引起 IL-1 $\beta$  和 IL-18 分泌量的下降<sup>[26]</sup>。在小鼠中性粒细胞<sup>[18]</sup>及人类中性粒细胞<sup>[27]</sup>中, 肺炎链球菌可以激活 NLRP3 炎症小体的组装, 使 caspase-1 活化并参与 IL-1 $\beta$  的成熟与分泌, 但 AIM2 炎症小体不参与该过程。在小胶质细胞、树突状细胞、人类单核细胞及小鼠单核细胞模型中均发现, 肺炎链球菌感染后 caspase-1 的活化呈 NLRP3 依赖性, 且诱导 IL-1 $\beta$  和 IL-18 的成熟与分泌<sup>[28-29]</sup> (图 1)。

## 1.2 肺炎链球菌诱导炎症小体激活的调控机制

在肺炎链球菌感染机体过程中, 炎症小体的活化受多方面的调控。一方面, 一些物质可以引起炎症小体的正调控。肺炎链球菌在感染巨噬细胞和中性粒细胞时, 会导致细胞内钾离子浓度降低即钾离子外流, 介导 ASC 寡聚化<sup>[30]</sup>。Syk 和 JNK 对炎症小体的激活也发挥着重要作用。本团队研究发现, 用 JNK 抑制剂(SP600125)及 Syk 抑制剂(R406)预处理的巨噬细胞在感染肺炎链球菌后 IL-1 $\beta$  的分泌量、ASC 寡聚化及 caspase-1 活化形式均显著降低, 证明 JNK、Syk 通过介导 ASC 寡聚化参与调控肺炎链球菌感染的巨噬细胞所诱导的炎症小体的活化<sup>[31]</sup>。本团队在中性粒细胞中发现, 仅有 JNK 参与肺炎链球菌感染后炎症小体的活化, Syk 没有参与, 且中性粒细胞中富含丝氨酸蛋白酶类, 该酶类同样可以调节 ASC 分子寡聚化<sup>[18]</sup>。NLRP3 炎症小体的启动需要脂肪酸的合成, Moon 等证明, 在 NLRP3 炎症小体激活过程中, NADPH 氧化酶 4(NOX4)依赖的脂肪酸氧化是 NLRP3 依赖的 ASC 寡聚化所必需的<sup>[32]</sup>。干扰素

(interferons, IFNs)作为一类具有免疫调节及抗肿瘤功能的因子,在肺炎链球菌感染宿主时也发挥着不可或缺的作用<sup>[33]</sup>。早在1986年就发现,IFN可调控肺炎链球菌对宿主的感染<sup>[34]</sup>。本团队前期利用IFNAR1<sup>-/-</sup>动物模型证明,I型IFN的信号传导对于肺炎链球菌感染所引起的AIM2的上调及IL-18的分泌是必需的,但这一过程不影响巨噬细

胞摄取和杀死肺炎链球菌,且I型IFN不会引起NLRP3表达的上调<sup>[35]</sup>(图1)。

另一方面,相关文献已经报道了几种可以负性调节炎症小体的物质,例如几丁质酶3样蛋白1(Chi311)是由肺炎链球菌诱导所产生的一种保守的几丁质样蛋白原型。有研究表明,Chi311通过抑制caspase-1依赖型巨噬细胞焦亡来增强巨噬细

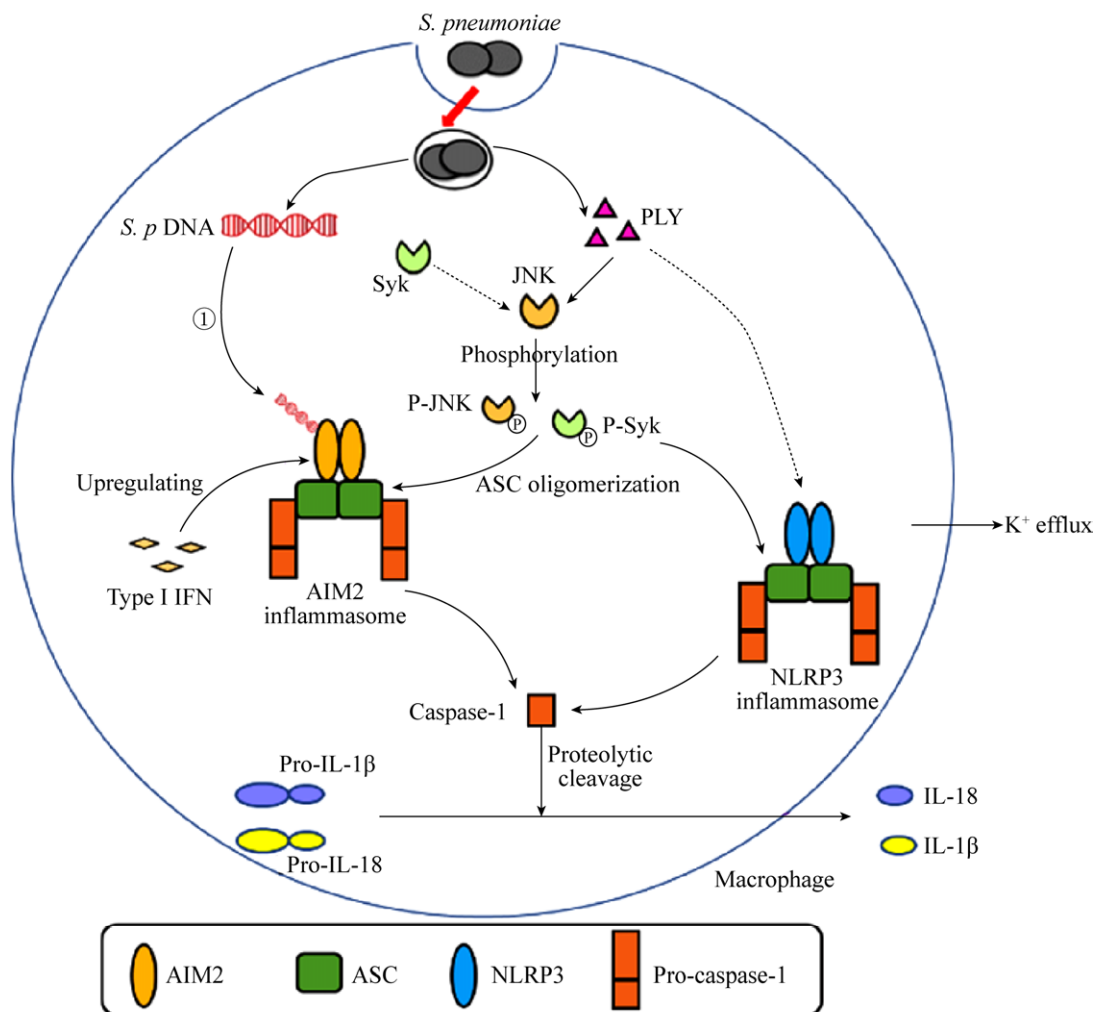


图1. 肺炎链球菌感染诱导炎症小体激活的机制

Figure 1. Mechanism underlying inflammasome activation induced by *S. pneumoniae* infection. ① *Streptococcus pneumoniae* DNA spills from phagosomes into cytoplasm and activates AIM2 inflammasome; ② Pneumolysin and K<sup>+</sup> efflux activate NLRP3 inflammasome; ③ Activation of AIM2 and NLRP3 inflammasomes cause cleavage of caspase-1 from precursor to its mature form; ④ Pro-IL-1 $\beta$  and pro-IL-18 are cleaved by activated caspase-1 into bioactive form and secreted.

胞的杀伤能力, 与野生型对照组相比, 肺炎链球菌感染 Chi311 缺失小鼠会表现出过度的肺损伤、炎症和出血, 但 NLRP3、IL-1 $\beta$  及 IL-18 分泌量均升高, 表明 Chi311 可以通过抑制 NLRP3 炎症小体的活化, 避免炎性细胞因子的过表达, 达到保护机体的作用<sup>[36]</sup>。在肺炎链球菌自身分泌的负性调节炎症小体的因子中, 过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)可抑制炎症小体, 进而削弱免疫系统并导致肺炎<sup>[37]</sup>, 而活性氧(ROS)在炎症小体中的作用目前还有较大争议<sup>[38]</sup>。

## 2 炎症小体在抗肺炎链球菌中的作用

当肺炎链球菌感染宿主时, 会发生肺炎、脑膜炎等症状, 很多学者也探究了炎症小体在肺炎链球菌感染不同动物模型中所发挥的不同作用。首先本团队早期发现, NLRP3<sup>-/-</sup>、ASC<sup>-/-</sup>动物显示出对肺炎链球菌的高度敏感性, 且肺炎链球菌在肺部的细菌定植量明显增高, 肺部出现更加明显的病理现象, 死亡率也显著升高, 同时一些细胞因子如 IL-1 $\beta$ 、IL-18 的分泌水平会降低<sup>[21]</sup>。随后本团队又发现, AIM2 缺陷型动物也具有与 NLRP3<sup>-/-</sup>、ASC<sup>-/-</sup>动物相似的结果<sup>[39]</sup>。但在肺炎链球菌脑膜炎中, NLRP3 炎症小体不具有宿主保护作用。感染肺炎链球菌的 ASC<sup>-/-</sup>动物的颅内压显著低于野生型动物, 且 NLRP3<sup>-/-</sup>、ASC<sup>-/-</sup>动物的病理及临床评分都优于野生型动物<sup>[40]</sup>。在该动物模型中发现, 炎症小体对脑膜炎病程的推进作用是由于 IL-18 的产生可诱导 IFN- $\gamma$  的分泌, 是 II 型 IFN 在影响病情的发展<sup>[41]</sup>。在脑脊液中的炎症相关细胞因子与肺炎链球菌脑膜炎的并发症及不良预后有关, 相关炎症小体组分的缺失也会使炎症现象大幅下降<sup>[42-43]</sup>。有研究发现, IL-1 $\beta$ 、IL-18

缺陷型小鼠比野生型小鼠更易患肺炎链球菌肺炎<sup>[44]</sup>。此外 IL-1 的产生对于肺炎链球菌在上呼吸道定植模型中的细菌限制和传播至关重要, 但 IL-1 并没有参与机体的适应性免疫应答, 且炎症小体-IL-1 $\beta$  途径在肺炎链球菌感染过程中的保护作用可能部分取决于中性粒细胞和/或巨噬细胞的募集<sup>[45]</sup>。

在肺泡上皮细胞中, 肺炎链球菌感染的 NLRP3<sup>-/-</sup>动物中受损的肺屏障功能与测试时间点的 IL-1 $\beta$  和 IL-18 分泌水平降低无关, 且 caspase-1、IL-1 $\beta$  和 IL-18 缺失的小鼠单层肺泡上皮细胞在 PLY 处理后未显示出屏障功能障碍加重的现象, 表明 NLRP3 在保护肺炎链球菌感染的肺上皮细胞屏障功能不依赖 ASC、caspase-1、IL-1 $\beta$  和 IL-18<sup>[46]</sup>。本团队最新研究表明, caspase-1/11<sup>-/-</sup>动物的生存曲线、肺炎链球菌细菌定植量及肺部病理变化与野生型动物相比没有明显差异, 且 ASC 和 NLRP3 可通过涉及 STAT6-SPDEF 途径的非依赖炎症小体的机制促进气道黏膜的先天免疫, 说明 NLRP3 可以通过多种途径保护宿主免受肺炎链球菌的侵害。在感染过程中, ASC 和 NLRP3 维持转录因子 SPDEF 的表达, 这可以促进黏膜防御基因如 Tff2、Reg3 $\gamma$ 、Bpifal 的表达。而 STAT6 作为 SPDEF 表达的关键调节因子, 它的激活也依赖于 ASC 和 NLRP3<sup>[47]</sup> (图 2)。这个发现揭示了 NLRP3 的 caspase-1 非依赖性作用新机制, 将有助于控制微生物感染, 同时为气道黏膜中先天免疫稳态的深入研究奠定基础。综上所述, NLRP3 可通过多种机制保护宿主不受肺炎链球菌的侵害。

总之, 以上研究表明炎症小体一般情况下可以协助机体的其他免疫反应抵御肺炎链球菌的感染, 在先天免疫中发挥着重要的作用。但是在不

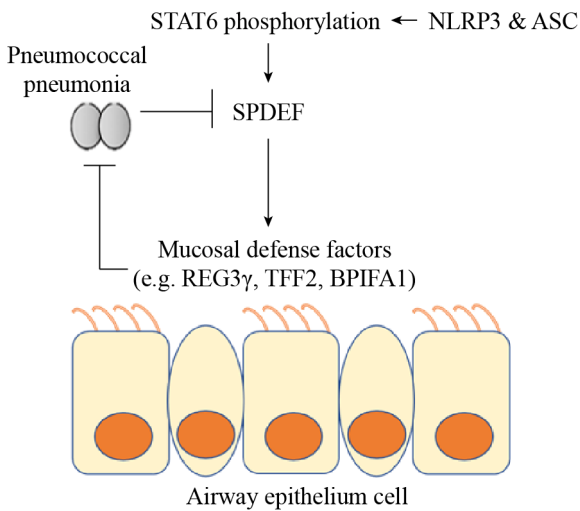


图 2. NLRP3 通过 caspase-1 非依赖途径保护宿主抗肺炎链球菌感染的机制

Figure 2. NLRP3 protects the host against *S. pneumoniae* infection through a caspase-1-independent mechanism. NLRP3 and ASC maintain the production of the transcription factor SPDEF by inducing the phosphorylation of STAT6, and promoting the expression of mucosal defense genes such as Tff2, Reg3γ and Bpifal, and protecting the host against *S. pneumoniae*. The whole process is independent of the role of caspase-1.

同的活化部位可能也会对宿主产生不利的后果,有助于加剧炎症反应,引起组织更严重的病理变化。

### 3 肺炎链球菌逃避宿主炎症小体识别的机制

在漫长的选择进化中,宿主炎症小体的作用会对病原体产生选择压力,使病原体产生抑制炎症小体作用的自我保护机制<sup>[7]</sup>。肺炎链球菌的关键性毒力因子 PLY 对宿主细胞具有细胞毒性,可抑制呼吸道上皮细胞的纤毛痉挛,激活经典的补体系统,并刺激炎症小体从而影响机体的免疫系统,同时还可参与生物被膜的形成和引发组织损伤<sup>[4]</sup>,

在增强肺炎链球菌侵袭力的同时引起宿主损伤<sup>[3]</sup>。研究表明,在人类树突状细胞中 PLY 的表达可帮助细菌逃避模式识别,抑制树突状细胞中细胞因子的产生<sup>[48]</sup>。

PLY 的氨基酸序列最初被认为在肺炎链球菌的所有血清型中都是相对保守的,随着时间的推移,其序列变化不大<sup>[49]</sup>。但是由于选择压力,肺炎链球菌能产生突变。临床上一些重要的肺炎链球菌菌株,如新发现的血清 1 型 MLST306 菌株,由于其与肺炎胸腔积液和脓胸有关,再加上它们与小型或封闭社区的疾病暴发有关,因而成为最常见的侵袭性肺炎链球菌之一<sup>[50]</sup>。Kirkham 等<sup>[51]</sup>在 1 型 ST306 分离株中首次发现了等位基因 5。有趣的是,ST306 表达非细胞溶解性 PLY 突变体,该分离株中非溶血性 PLY 仍可显著增加肺炎链球菌的毒力<sup>[52]</sup>,并保持其与含胆固醇膜及寡聚体结合的能力,但它不具有成孔作用<sup>[51]</sup>。Fatykhova 等<sup>[53]</sup>发现,表达肺炎链球菌 PLY 等位基因 5 的菌株确实可以逃避炎症小体的识别,如血清型 1 ST306、ST228、ST617 等和血清型 8 的 ST53、ST578、ST835、ST1110 和 ST1722 等<sup>[52]</sup>。用 ST306 或 ST53 感染人类单核细胞和小鼠骨髓来源巨噬细胞,发现与其他肺炎链球菌感染所引起的强烈反应相比,PLY 等位基因 5 只能诱导少量 IL-1β 的产生<sup>[29]</sup>。非溶血性 PLY 的表达可能使血清型 1 细菌对宿主的损害较小,有助于解释为什么血清 1 型肺炎链球菌感染与其他肺炎链球菌感染所引起的疾病相比具有较低的病死率<sup>[54]</sup>,并且与侵入性肺炎球菌疾病的暴发有关<sup>[55]</sup>。由此可以推测,具有 PLY 等位基因 5 的菌株对肺炎链球菌导致的炎症小体依赖的免疫逃逸机制可能有助于它们进入宿主无菌部位并增强对宿主侵袭性的感染能力,

例如 MLST306 与其他肺炎链球菌相比,其在鼻咽部定植的时间可能会延长<sup>[56]</sup>。值得注意的是,溶血性 PLY 的表达还是 STING 依赖途径通过 NOD2 和 DNA 检测肺炎链球菌肽聚糖所必需的<sup>[57]</sup>。因此,逃避这些途径的识别也可能增加血清型 1 肺炎链球菌的相对特异性。总之,不同血清型的肺炎链球菌激活 NLRP3 炎症小体的能力有差异,并且重要的血清 1 型和 8 型菌株可通过这种先天免疫传感机制逃避识别<sup>[53]</sup>。

## 4 小结

宿主炎症小体是机体免疫系统感知潜在病原微生物的关键参与者,近年来成为研究热点。综上所述,大多数肺炎链球菌感染机体能引起 NLRP3、AIM2 炎症小体的激活<sup>[58]</sup>,但是肺炎链球菌直接激活 NLRP3 炎症小体的作用分子目前尚不清楚,推测可能为肺炎链球菌 RNA,该过程是否还有其他炎症小体的参与还有待进一步研究。在长期进化过程中,一些肺炎链球菌菌株可通过 PLY 非溶血性突变体逃避炎症小体的免疫检测<sup>[59]</sup>。以后可能还会发现更多肺炎链球菌对炎症小体的逃避机制。了解这些机制对疾病的预防和控制有着重要意义。在体内感染肺炎链球菌的情况下,NLRP3 和 ASC 通过 caspase-1 非依赖的途径诱导宿主防御因子抗感染的现象是一个重要发现,但是这些宿主防御因子 Tff2、Reg3 $\gamma$ 、Bpifal 等是如何抗肺炎链球菌感染的?是否还受其他因素的调控?其详细机制还有待进一步研究。未来,这些基础研究工作的突破将有望对肺炎链球菌感染引起的相关疾病的预防和治疗,包括疫苗研制、药物靶标选择等提供新的思路。

## 参考文献

- [1] van der Poll T, Opal SM. Pathogenesis, treatment, and prevention of pneumococcal pneumonia. *The Lancet*, 2009, 374(9700): 1543–1556.
- [2] Koppe U, Suttorp N, Opitz B. Recognition of *Streptococcus pneumoniae* by the innate immune system. *Cellular Microbiology*, 2012, 14(4): 460–466.
- [3] Mitchell AM, Mitchell TJ. *Streptococcus pneumoniae*: virulence factors and variation. *Clinical Microbiology and Infection*, 2010, 16(5): 411–418.
- [4] Shak JR, Ludewick HP, Howery KE, Sakai F, Yi H, Harvey RM, Paton JC, Klugman KP, Vidal JE. Novel role for the *Streptococcus pneumoniae* toxin pneumolysin in the assembly of biofilms. *mBio*, 2013, 4(5): 00655-13.
- [5] Lamkanfi M, Dixit VM. Mechanisms and functions of inflammasomes. *Cell*, 2014, 157(5): 1013–1022.
- [6] Man SM, Kanneganti TD. Regulation of inflammasome activation. *Immunological Reviews*, 2015, 265(1): 6–21.
- [7] Brewer SM, Brubaker SW, Monack DM. Host inflammasome defense mechanisms and bacterial pathogen evasion strategies. *Current Opinion in Immunology*, 2019, 60: 63–70.
- [8] Lupfer C, Kanneganti TD. Unsolved mysteries in NLR biology. *Frontiers in Immunology*, 2013, 4: 285.
- [9] Broz P. Recognition of intracellular bacteria by inflammasomes. *Microbiology Spectrum*, 2019, 7(2), doi: 10.1128/microbiolspec.BAI-0003-2019.
- [10] Kayagaki N, Warming S, Lamkanfi M, Vande Walle L, Louie S, Dong J, Newton K, Qu Y, Liu JF, Heldens S, Zhang J, Lee WP, Roose-Girma M, Dixit VM. Non-canonical inflammasome activation targets caspase-11. *Nature*, 2011, 479(7371): 117–121.
- [11] Shin S, Brodsky IE. The inflammasome: Learning from bacterial evasion strategies. *Seminars in Immunology*, 2015, 27(2): 102–110.
- [12] Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: A molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL- $\beta$ . *Molecular Cell*, 2002, 10(2): 417–426.
- [13] Bauernfeind FG, Horvath G, Stutz A, Alnemri ES, MacDonald K, Speert D, Fernandes-Alnemri T, Wu JH, Monks BG, Fitzgerald KA, Hornung V, Latz E. Cutting edge: NF- $\kappa$ B activating pattern recognition and cytokine receptors license NLRP3 inflammasome activation by regulating

- NLRP3 expression. *Journal of Immunology*, 2009, 183(2): 787–791.
- [14] Halle A, Hornung V, Petzold GC, Stewart CR, Monks BG, Reinheckel T, Fitzgerald KA, Latz E, Moore KJ, Golenbock DT. The NALP3 inflammasome is involved in the innate immune response to amyloid- $\beta$ . *Nature Immunology*, 2008, 9(8): 857–865.
- [15] Hornung V, Bauernfeind F, Halle A, Samstad EO, Kono H, Rock KL, Fitzgerald KA, Latz E. Silica crystals and aluminum salts activate the NALP3 inflammasome through phagosomal destabilization. *Nature Immunology*, 2008, 9(8): 847–856.
- [16] Hassane M, Demon D, Soulard D, Fontaine J, Keller LE, Patin EC, Porte R, Prinz I, Ryffel B, Kadioglu A, Veening JW, Sirard JC, Faveeuw C, Lamkanfi M, Trottein F, Paget C. Neutrophilic NLRP3 inflammasome-dependent IL-1 $\beta$  secretion regulates the  $\gamma\delta$ T17 cell response in respiratory bacterial infections. *Mucosal Immunology*, 2017, 10(4): 1056–1068.
- [17] Shoma S, Tsuchiya K, Kawamura I, Nomura T, Hara H, Uchiyama R, Daim S, Mitsuyama M. Critical involvement of pneumolysin in production of interleukin-1 $\alpha$  and caspase-1-dependent cytokines in infection with *Streptococcus pneumoniae* in vitro: a novel function of pneumolysin in caspase-1 activation. *Infection and Immunity*, 2008, 76(4): 1547–1557.
- [18] Zhang TJ, Du HH, Feng SW, Wu R, Chen TT, Jiang JL, Peng YY, Ye C, Fang RD. NLRP3/ASC/Caspase-1 axis and serine protease activity are involved in neutrophil IL-1 $\beta$  processing during *Streptococcus pneumoniae* infection. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2019, 513(3): 675–680.
- [19] Gupta R, Ghosh S, Monks B, DeOliveira RB, Tzeng TC, Kalantari P, Nandy A, Bhattacharjee B, Chan J, Ferreira F, Rathinam V, Sharma S, Lien E, Silverman N, Fitzgerald K, Firon A, Trieu-Cuot P, Henneke P, Golenbock DT. RNA and  $\beta$ -hemolysin of group B *Streptococcus* induce interleukin-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ) by activating NLRP3 inflammasomes in mouse macrophages. *Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289(20): 13701–13705.
- [20] Fang RD, Tsuchiya K, Kawamura I, Shen YN, Hara H, Sakai S, Yamamoto T, Fernandes-Alnemri T, Yang RL, Hernandez-Cuellar E, Dewamitta SR, Xu YT, Qu HX, Alnemri ES, Mitsuyama M. Critical roles of ASC inflammasomes in caspase-1 activation and host innate resistance to *Streptococcus pneumoniae* infection. *Journal of Immunology*, 2011, 187(9): 4890–4899.
- [21] Rabes A, Suttorp N, Opitz B. Inflammasomes in pneumococcal infection: Innate immune sensing and bacterial evasion strategies//Backert S. Inflammasome Signaling and Bacterial Infections. Cham: Springer, 2016.
- [22] Zhao WT, Pan F, Wang BJ, Wang C, Sun Y, Zhang TD, Shi YY, Zhang H. Epidemiology characteristics of *Streptococcus pneumoniae* from children with pneumonia in Shanghai: A retrospective study. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2019, 9: 258.
- [23] Koppe U, Högner K, Doehn JM, Müller HC, Witzentrath M, Gutbier B, Bauer S, Pribyl T, Hammerschmidt S, Lohmeyer J, Suttorp N, Herold S, Opitz B. *Streptococcus pneumoniae* stimulates a STING- and IFN regulatory factor 3-dependent type I IFN production in macrophages, which regulates RANTES production in macrophages, cocultured alveolar epithelial cells, and mouse lungs. *Journal of Immunology*, 2012, 188(2): 811–817.
- [24] Karthikeyan RS, Priya JL, Leal SM Jr, Toska J, Rietsch A, Prajna V, Pearlman E, Lalitha P. Host response and bacterial virulence factor expression in *Pseudomonas aeruginosa* and *Streptococcus pneumoniae* corneal ulcers. *PLoS One*, 2013, 8(6): e64867.
- [25] Hara H, Seregin SS, Yang DH, Fukase K, Chamaillard M, Alnemri ES, Inohara N, Chen GY, Núñez G. The NLRP6 inflammasome recognizes lipoteichoic acid and regulates gram-positive pathogen infection. *Cell*, 2018, 175(6): 1651–1664.e14.
- [26] McNeela EA, Burke A, Neill DR, Baxter C, Fernandes VE, Ferreira D, Smeaton S, El-Rachkidy R, McLoughlin RM, Mori A, Moran B, Fitzgerald KA, Tschopp J, Pétrilli V, Andrew PW, Kadioglu A, Lavelle EC. Pneumolysin activates the NLRP3 inflammasome and promotes proinflammatory cytokines independently of TLR4. *PLoS Pathogens*, 2010, 6(11): e1001191.
- [27] Karmakar M, Katsnelson M, Malak HA, Greene NG, Howell



- SJ, Hise AG, Camilli A, Kadioglu A, Dubyak GR, Pearlman E. Neutrophil IL-1 $\beta$  processing induced by pneumolysin is mediated by the NLRP3/ASC inflammasome and caspase-1 activation and is dependent on K<sup>+</sup> efflux. *Journal of Immunology*, 2015, 194(4): 1763–1775.
- [28] Koedel U, Frankenberg T, Kirschnek S, Obermaier B, Hacker H, Paul R, Häcker G. Apoptosis is essential for neutrophil functional shutdown and determines tissue damage in experimental pneumococcal meningitis. *PLoS Pathogens*, 2009, 5(5): e1000461.
- [29] Witzenth M, Pache F, Lorenz D, Koppe U, Gutbier B, Tabeling C, Reppe K, Meixenberger K, Dorhoi A, Ma JT, Holmes A, Trendelenburg G, Heimesaat MM, Bereswill S, van der Linden M, Tschopp J, Mitchell TJ, Suttrop N, Opitz B. The NLRP3 inflammasome is differentially activated by pneumolysin variants and contributes to host defense in pneumococcal pneumonia. *Journal of Immunology*, 2011, 187(1): 434–440.
- [30] Muñoz-Planillo R, Kuffa P, Martínez-Colón G, Smith BL, Rajendiran TM, Núñez G. K<sup>+</sup> efflux is the common trigger of NLRP3 inflammasome activation by bacterial toxins and particulate matter. *Immunity*, 2013, 38(6): 1142–1153.
- [31] Feng SW, Huang QY, Ye C, Wu R, Lei GH, Jiang JL, Chen TT, Peng YY, Fang RD. Syk and JNK signaling pathways are involved in inflammasome activation in macrophages infected with *Streptococcus pneumoniae*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, 507(1/4): 217–222.
- [32] Moon JS, Nakahira K, Chung KP, DeNicola GM, Koo MJ, Pabón MA, Rooney KT, Yoon JH, Ryter SW, Stout-Delgado H, Choi AMK. NOX4-dependent fatty acid oxidation promotes NLRP3 inflammasome activation in macrophages. *Nature Medicine*, 2016, 22(9): 1002–1012.
- [33] Parker D. Impact of type I and III interferons on respiratory superinfections due to multidrug-resistant pathogens. *Journal of Infectious Diseases*, 2017, 215(S1): S58–S63.
- [34] Weigent DA, Huff TL, Peterson JW, Stanton GJ, Baron S. Role of interferon in streptococcal infection in the mouse. *Microbial Pathogenesis*, 1986, 1(4): 399–407.
- [35] Fang RD, Hara H, Sakai S, Hernandez-Cuellar E, Mitsuyama M, Kawamura I, Tsuchiya K. Type I interferon signaling regulates activation of the absent in melanoma 2 inflammasome during *Streptococcus pneumoniae* infection. *Infection and Immunity*, 2014, 82(6): 2310–2317.
- [36] Dela Cruz CS, Liu W, He CH, Jacoby A, Gornitzky A, Ma B, Flavell R, Lee CG, Elias JA. Chitinase 3-like-1 promotes *Streptococcus pneumoniae* killing and augments host tolerance to lung antibacterial responses. *Cell Host & Microbe*, 2012, 12(1): 34–46.
- [37] Erttmann SF, Gekara NO. Hydrogen peroxide release by bacteria suppresses inflammasome-dependent innate immunity. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 3493.
- [38] Bauernfeind F, Bartok E, Rieger A, Franchi L, Núñez G, Hornung V. Cutting edge: reactive oxygen species inhibitors block priming, but not activation, of the NLRP3 inflammasome. *Journal of Immunology*, 2011, 187(2): 613–617.
- [39] Feng SW, Chen TT, Lei GH, Hou FQ, Jiang JL, Huang QY, Peng YY, Ye C, Hu DL, Fang RD. Absent in melanoma 2 inflammasome is required for host defence against *Streptococcus pneumoniae* infection. *Innate Immunity*, 2019, 25(7): 412–419.
- [40] Hoegen T, Tremel N, Klein M, Angele B, Wagner H, Kirschning C, Pfister HW, Fontana A, Hammerschmidt S, Koedel U. The NLRP3 inflammasome contributes to brain injury in pneumococcal meningitis and is activated through ATP-dependent lysosomal cathepsin B release. *Journal of Immunology*, 2011, 187(10): 5440–5451.
- [41] Zwijnenburg PJ, van der Poll T, Florquin S, Akira S, Takeda K, Roord JJ, van Furth AM. Interleukin-18 gene-deficient mice show enhanced defense and reduced inflammation during pneumococcal meningitis. *Journal of Neuroimmunology*, 2003, 138(1/2): 31–37.
- [42] Geldhoff M, Mook-Kanamori BB, Brouwer MC, Troost D, Leemans JC, Flavell RA, Van der Ende A, Van der Poll T, Van de Beek D. Inflammasome activation mediates inflammation and outcome in humans and mice with pneumococcal meningitis. *BMC Infectious Diseases*, 2013, 13(1): 358.
- [43] Mitchell AJ, Yau B, McQuillan JA, Ball HJ, Too LK, Abtin A, Hertzog P, Leib SL, Jones CA, Gerega SK, Weninger W, Hunt NH. Inflammasome-dependent IFN- $\gamma$  drives

- pathogenesis in *Streptococcus pneumoniae* meningitis. *Journal of Immunology*, 2012, 189(10): 4970–4980.
- [44] Lauw FN, Branger J, Florquin S, Speelman P, van Deventer SJ, Akira S, van der Poll T. IL-18 improves the early antimicrobial host response to pneumococcal pneumonia. *Journal of Immunology*, 2002, 168(1): 372–378.
- [45] Lemon JK, Miller MR, Weiser JN. Sensing of interleukin-1 cytokines during *Streptococcus pneumoniae* colonization contributes to macrophage recruitment and bacterial clearance. *Infection and Immunity*, 2015, 83(8): 3204–3212.
- [46] Kostadinova E, Chaput C, Gutbier B, Lippmann J, Sander LE, Mitchell TJ, Suttorp N, Witzenzath M, Opitz B. NLRP3 protects alveolar barrier integrity by an inflammasome-independent increase of epithelial cell adherence. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 30943.
- [47] Fang RD, Uchiyama R, Sakai S, Hara H, Tsutsui H, Suda T, Mitsuyama M, Kawamura I, Tsuchiya K. ASC and NLRP3 maintain innate immune homeostasis in the airway through an inflammasome-independent mechanism. *Mucosal Immunology*, 2019, 12(5): 1092–1103.
- [48] Littmann M, Albiger B, Frentzen A, Normark S, Henriques-Normark B, Plant L. *Streptococcus pneumoniae* evades human dendritic cell surveillance by pneumolysin expression. *EMBO Molecular Medicine*, 2009, 1(4): 211–222.
- [49] Mitchell TJ, Mendez F, Paton JC, Andrew PW, Boulnois GJ. Comparison of pneumolysin genes and proteins from *Streptococcus pneumoniae* types 1 and 2. *Nucleic Acids Research*, 1990, 18(13): 4010.
- [50] Hausdorff WP, Feikin DR, Klugman KP. Epidemiological differences among pneumococcal serotypes. *Lancet Infectious Diseases*, 2005, 5(2): 83–93.
- [51] Kirkham LAS, Jefferies JM, Kerr AR, Yu J, Clarke SC, Andrew S, Mitchell TJ. Identification of invasive serotype 1 pneumococcal isolates that express nonhemolytic pneumolysin. *Journal of Clinical Microbiology*, 2006, 44(1): 151–159.
- [52] Jefferies JMC, Johnston CHG, Kirkham LAS, Cowan GJM, Ross KS, Smith A, Clarke SC, Brueggemann AB, George RC, Pichon B, Pluschke G, Pfluger V, Mitchell TJ. Presence of nonhemolytic pneumolysin in serotypes of *Streptococcus pneumoniae* associated with disease outbreaks. *Journal of Infectious Diseases*, 2007, 196(6): 936–944.
- [53] Fatykhova D, Rabes A, Machnik C, Guruprasad K, Pache F, Berg J, Toennies M, Bauer TT, Schneider P, Schimek M, Eggeling S, Mitchell TJ, Mitchell AM, Hilker R, Hain T, Suttorp N, Hippenstiel S, Hocke AC, Opitz B. Serotype 1 and 8 pneumococci evade sensing by inflammasomes in human lung tissue. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0137108.
- [54] Weinberger DM, Harboe ZB, Sanders EAM, Ndiritu M, Klugman KP, Rückinger S, Dagan R, Adegbola R, Cutts F, Johnson HL, O'Brien KL. Association of serotype with risk of death due to pneumococcal pneumonia: a meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases*, 2010, 51(6): 692–699.
- [55] Le Hello S, Watson M, Levy M, Marcon S, Brown M, Yvon JF, Missotte I, Garin B. Invasive serotype 1 *Streptococcus pneumoniae* outbreaks in the South Pacific from 2000 to 2007. *Journal of Clinical Microbiology*, 2010, 48(8): 2968–2971.
- [56] Sandgren A, Sjöström K, Olsson Liljequist B, Christensson B, Samuelsson A, Kronvall G, Henriques NB. Effect of clonal and serotype-specific properties on the invasive capacity of *Streptococcus pneumoniae*. *Journal of Infectious Diseases*, 2004, 189(5): 785–796.
- [57] Davis KM, Nakamura S, Weiser JN. Nod2 sensing of lysozyme-digested peptidoglycan promotes macrophage recruitment and clearance of *S. pneumoniae* colonization in mice. *Journal of Clinical Investigation*, 2011, 121(9): 3666–3676.
- [58] Cole J, Aberdein J, Jubrail J, Dockrell DH. The role of macrophages in the innate immune response to *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*: mechanisms and contrasts. *Advances in Microbial Physiology*, 2014, 65: 125–202.
- [59] Maltez VI, Miao EA. Reassessing the evolutionary importance of inflammasomes. *Journal of Immunology*, 2016, 196(3): 956–962.

# Mechanisms underlying the interaction between *Streptococcus pneumoniae* and host inflammasomes

Dongyi Xu<sup>1,2#</sup>, Jiali Jiang<sup>1,2#</sup>, Rendong Fang<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> Joint International Research Laboratory of Animal Health and Animal Food Safety, College of Veterinary Medicine, Southwest University, Chongqing 400715, China

<sup>2</sup> Immunology Research Center, Medical Research Institute, Southwest University, Chongqing 402460, China

**Abstract:** *Streptococcus pneumoniae* is a Gram-positive extracellular bacterium colonized in the upper respiratory tract, and the main cause of invasive pneumonia with high morbidity and mortality. Inflammasomes are multi-protein complexes located in the cytosol and critical in innate immune responses. Numerous studies have shown that *S. pneumoniae* infection can induce the assembling of inflammasomes, activation of caspase-1 and secretion of pro-inflammatory cytokines. Under the long-term selection pressure, *S. pneumoniae* evolves with some mutations to escape inflammasome recognition. In this review, mechanisms on the interactions between *S. pneumoniae* and host inflammasomes, including the induction and active role of inflammasomes during *S. pneumoniae* infection, and the evasion strategy of *S. pneumoniae* against inflammasome recognition are summarized.

**Keywords:** *Streptococcus pneumoniae*, inflammasomes, innate immunity, evasion strategy

(本文责编: 张晓丽)

---

Supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFD0500500), by the Chongqing Science & Technology Commission (cstc2018jscx-msybX0302), by the Fundamental Research Funds for the Central Universities (XDJK2019B012) and by the Beibei Science & Technology Commission (2018-20)

<sup>#</sup>Those authors contributed equally to this work.

\*Corresponding author. Tel/Fax: +86-23-68251255; E-mail: rdfang@swu.edu.cn

Received: 17 November 2019; Revised: 7 January 2020; Published online: 28 February 2020