

DOI: 10.13376/j.cblls/2016033

文章编号: 1004-0374(2016)02-0248-10



郝慧民, 博士, 中国科学院武汉病毒研究所病毒学国家重点实验室研究员, 黏膜免疫学科组组长。毕业于武汉大学生物系。1998~2002 年在美国凯斯西保留地大学 (Case Western Reserve University) 医学院病理学系从事病毒特异 IgA 抗体在黏膜局部抑制麻疹病毒、艾滋病毒 (HIV) 感染的功能研究。2002 年加入田波院士领导的武汉大学现代病毒学研究中心。2006 年建立中国科学院武汉病毒研究所黏膜免疫学科组。研究方向: 黏膜 IgA 抗体在黏膜免疫防御中的抗病毒效应和机制, 及其在抗病毒单克隆抗体、黏膜疫苗研发中的应用。研究内容包括麻疹病毒、肠道病毒、呼吸道合胞病毒、艾滋病毒等重要 RNA 病毒的 IgA 单克隆抗体制备和抗病毒效应机制研究; 重组细菌鞭毛素蛋白黏膜佐剂的免疫识别机制和应用; 黏膜疫苗设计及其与黏膜上皮细胞相互作用的机制和效应。

## 黏膜上皮细胞: 病毒侵染与机体免疫的初始交汇点

郝慧民

(中国科学院武汉病毒研究所, 病毒学国家重点实验室黏膜免疫学科组, 武汉 430071)

**摘要:** 黏膜上皮细胞构成了包括呼吸道、消化道、泌尿生殖道在内的一个广阔的黏膜界面。黏膜上皮细胞、免疫细胞、免疫分子共同组成黏膜相关淋巴组织, 构成了一个完整的黏膜免疫防御系统。黏膜上皮细胞通常是病毒感染的初始靶细胞。大多数 DNA 和 RNA 病毒都能直接感染黏膜上皮细胞。黏膜上皮细胞在病毒复制过程中可通过各种模式识别受体感应病毒的病原相关分子模式, 从而识别病毒, 并启动固有免疫应答。近 10 年来, 巨噬细胞炎症小体和 caspase-1 信号通路激活及其相应的抗感染效应成为固有免疫研究一个热点。病原相关分子模式被巨噬细胞识别, 启动形成不同类型的炎症小体, 激活 caspase-1 信号通路, 诱导炎性细胞因子 IL-1 $\beta$  和 IL-18 产生, 造成细胞焦亡。对巨噬细胞炎症小体的研究, 加深了人们对固有免疫的理解, 促进了免疫识别、免疫信号转导、免疫应答、免疫调节、免疫病理等各个方面的研究。与固有免疫细胞一样, 黏膜上皮细胞具有自身特征性的模式识别受体表达和分布。黏膜上皮细胞通过模式识别受体识别病毒病原相关分子模式, 并激活 NF- $\kappa$ B 信号通路, 产生炎性细胞因子、I 型和 III 型干扰素, 实现快速的炎性应答和发挥抗病毒作用。黏膜上皮细胞的这种快速应答释放出的各类细胞因子共同招募、激活和协调固有免疫细胞发挥固有免疫应答, 并进一步调节、诱导特异性免疫细胞产生特异性抗体和 T 细胞应答。可见, 黏膜上皮细胞是病毒侵染与机体免疫的一个最初的重要交汇点。在这个初始交汇点, 黏膜上皮细胞不仅对局部黏膜免疫应答起作用, 而且对系统免疫应答起着决定性调节作用。然而, 黏膜上皮细胞对病原相关分子模式的识别以及相关炎症通路的激活尚处于启蒙时期。黏膜上皮细胞与炎症小体的关系值得进一步研究。新发现的 III 型干扰素及其在黏膜上皮细胞的独特表达分布, 以及其在固有免疫应答中的抗病毒功能近年逐渐得到关注, 详细机制需深入研究。此外, 黏膜上皮细胞还是黏膜免疫应答特异效应因子 IgA 抗体分泌和发挥功能的平台。IgA 特异性抗病毒功能, 尤其是 IgA 独特的上皮细胞内中和病毒复制的功能机制值得进一步探讨。现将概述病毒入侵黏膜上皮细胞并起始病毒复制过程, 以及黏膜上皮细胞识别病毒感染启动固有免疫应答, 调节特异免疫应答的研究进展, 并探讨部分研究的交叉前沿。

**关键词:** 黏膜上皮细胞; 病毒感染; 模式识别受体; 病原相关分子模式; 固有免疫应答; 干扰素; 黏膜免疫应答; IgA 抗体; 抗病毒机制

收稿日期: 2015-02-02

基金项目: 国家自然科学基金项目(30471584, 30670097, 31270207)

通信作者: E-mail: hmyan@wh.iov.cn

中图分类号: R373; R392.12 文献标志码: A

## Mucosal epithelial cell: the initial convergence of viral infection and host immunity

YAN Hui-Min

(Mucosal Immunity Research Group, State Key Laboratory of Virology, Wuhan Institute of Virology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430071, China)

**Abstract:** Mucosal epithelial cell composes a large mucosal physical interface in respiratory, gastrointestinal and genital tracts. Together with different immune cells and molecules, the mucosal epithelial cell comprises a so called mucosa-associated lymphoid tissue, which functions as a whole mucosal immune system to defend infection. The mucosal epithelial cell is usually the very initial target cell and is readily infected by a wide variety of DNA and RNA viruses. During viral replication, the mucosal epithelial cell can sense pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) of virus with a diverse range of pattern recognition receptors (PRRs), and detect virus infection to initiate innate immune response. In recent decade, inflammasome and caspase-1 pathway were investigated intensively in macrophage and attracted a lot of attention. Usually, inflammasome as a multi-protein molecular scaffold can be induced in macrophage after intracellular recognition of PAMPs. Then activation of inflammatory caspase-1 and the processing of proinflammatory cytokines of the IL-1 family may result in pyroptosis. This knowledge has been integrated into further study on innate immune recognition and signaling, immune response and regulation, as well as in immune pathology. Similar with immune cells, different mucosal epithelial cell expresses different combination of PRRs, which can recognize viral PAMPs and activate NF- $\kappa$ B pathway to produce proinflammatory cytokines, type I and III interferons for antiviral defense. Furthermore, the cytokines communicate with intraepithelial innate immune cells such as dendritic cells, NK cells and regulate specific antibody and T cell responses. Therefore, mucosal epithelial cell is an initial convergence of viral infection and host immunity, in which the mucosal epithelial cell not only plays roles in local defense against viral infection, but also plays diverse and multifaceted regulatory roles in systemic immune response. However, the study on the PAMPs recognition of the mucosal epithelial cell and activation of related pro-inflammatory pathway is still in its infancy. The characterization of inflammasome activation and type III interferon in mucosal epithelial cell for antiviral functions warrants further investigation. On the other hand, mucosal epithelial cell is also a platform for secretory IgA (S-IgA) antibody to exert multiple functions against viral infection. Especially, the detail mechanism of IgA intraepithelial neutralization is worth of study in depth. This review explores the recent advances made in our understanding of host viral interactions during viral replication in epithelial cell. Some frontier intersection in innate immune recognition and shaping response to viral infection in mucosal epithelial cell are discussed.

**Key words:** mucosal epithelial cells; virus infection; pattern recognition receptors; pathogen-associated molecular pattern; innate immune response; interferon; mucosal immune response; IgA antibody; antiviral mechanism

各种各样的病原微生物大多经黏膜界面侵入人体, 因而黏膜的主要细胞构成——黏膜上皮细胞常常是病原微生物与人体相互作用最初始的细胞。黏膜上皮细胞在这个初始的相互作用中启动免疫识别和黏膜免疫应答, 形成包括黏膜上皮细胞物理屏障和相关黏膜免疫屏障在内的防御机制, 以有效抵抗各种病原微生物的入侵<sup>[1]</sup>。更重要的是, 在这个初始的相互作用过程中, 黏膜上皮细胞启动机体对病原微生物最早的免疫识别和免疫应答, 并发挥了

协调和指挥后续的免疫分子、免疫细胞乃至免疫器官应答的重要作用。本文将重点概述病毒入侵黏膜上皮细胞并起始病毒复制过程, 进而激活黏膜上皮细胞应答的相关固有免疫机制和当前研究前沿。

### 1 黏膜上皮细胞是黏膜的主体细胞构成和黏膜屏障功能的重要角色

黏膜上皮细胞 (mucosal epithelial cells) 通过细胞间的紧密连接 (tight junction) 构成了包括呼吸道、

消化道、泌尿生殖道在内的一个广阔的黏膜细胞界面。这个界面担负着各类黏膜组织相关的生理功能。例如,总表面积可超过 200 m<sup>2</sup> 的肠道黏膜,是机体吸收食物营养的重要界面,同时又是防止有害物和感染性病原微生物侵入体内的屏障。黏膜上皮细胞与黏膜固有层 (lamina propria) 的免疫细胞、免疫分子共同组成黏膜相关淋巴组织 (mucosal associated lymphoid tissue), 构成了一个完整的黏膜免疫防御系统。这个黏膜免疫防御系统为人们提供不间断的时间上和不同生理部位空间上的防护,有效阻断呼吸道空气源传播的病原微生物、胃肠道食源性和水源性病原微生物,以及泌尿生殖道性传播病原微生物的入侵。

黏膜这个人内部与外部世界沟通联系又相互分隔的广阔界面时时刻刻都在与外部环境相互作用着。在正常的生理活动中,人体黏膜表面也成为外界各种各样病原微生物侵入人体的主要途径。

黏膜界面具有良好的物理屏障功能。这一功能主要由相互紧密连接的黏膜上皮细胞担负。黏膜上皮细胞是一类具有极性特征的细胞。黏膜上皮细胞间通过这种紧密连接相连构成了一个选择性通透的膜结构,形成黏膜外部腔面 (luminal surface) 和黏膜内部基侧面 (basolateral surface)。

此外,黏膜上皮细胞腔面黏液层 (mucus layer) 包含的各种化学和生物分子成分,与黏膜上皮细胞共同发挥直接的固有免疫 (innate immunity) 防御功能。这些功能组分包括黏膜上皮细胞组成型表达和 (或) 诱导型表达的一系列具有抗微生物活性的分子,如溶菌酶 (lysozyme)、乳铁蛋白 (lactoferrin)、防御素 (defensin)、collectin、ficolin 等<sup>[2-3]</sup> 均是黏膜固有免疫防御的重要组成部分。

## 2 黏膜上皮细胞具有固有免疫识别和起始免疫应答的功能

经典免疫学对免疫识别的研究,重点在特异性 B 细胞、T 细胞的抗原识别和应答机制。固有免疫相关的识别和应答,则更多关注非特异性固有免疫细胞,包括单核/巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞 (DCs)、NK 细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞、B1 细胞、肥大细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞等。黏膜免疫相关的识别和应答也大多关注分布于黏膜固有层 (lamina propria) 的免疫细胞,如中性粒细胞、树突状细胞、巨噬细胞和  $\gamma\delta$ T 细胞。而较少关注和研究黏膜上皮细胞本身的免疫识别和应答功能。事实上,

无论呼吸道、消化道,还是泌尿生殖道黏膜相关的淋巴组织,从发生发育开始就不断与微生物发生相互作用,这种相互作用起始于黏膜上皮细胞。近年来的研究发现,这种黏膜上皮细胞与病原微生物的相互作用,从最开始就影响,甚至决定后续的微生物与机体的关系,这种关系将延伸到黏膜固有层免疫细胞的行为和作用,乃至影响到整个免疫系统的发育成熟和功能构成<sup>[1]</sup>。

黏膜上皮细胞不但表达分布许多适应其生理功能的载体分子,也表达分布着一系列固有免疫识别和免疫应答功能的分子。这些具有免疫识别功能的分子就是模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs)。目前已知的 PRRs 大概有 7 大类:包括 Toll-like receptors (TLR)、retinoic acid inducible gene I-like receptors (RLR)、nucleotide oligomerization domain-like receptors (NLR)、C-type lectin Receptors (CLR)、pentraxins、dectin 和 HIN200 家族<sup>[4]</sup>。这些 PRRs 不仅表达分布于各种特异性免疫细胞和固有免疫细胞,也广泛表达和分布于各种黏膜上皮细胞,但是人们对这 7 大类 PRRs 分子在黏膜上皮细胞中的表达、分化、分布以及功能特征的研究了解还很缺乏。

随着对 PRRs 研究的深入,尤其是对肠道黏膜免疫研究的快速发展,越来越多的研究开始关注黏膜上皮细胞与微生物之间的相互作用,以及黏膜上皮细胞与黏膜固有层免疫细胞之间的相互作用。近年来的研究揭示,黏膜上皮细胞在微生物与机体免疫相互作用中发挥着重要的引领作用<sup>[2,4-6]</sup>。

2011 年度诺贝尔奖得主 Jules A. Hoffmann 和 Bruce A. Beutler 在 20 世纪 90 年代中期发现 TLR4 基因和功能的研究,开创了固有免疫研究的一个全新历史时期。最近 15 年来,固有免疫研究成为免疫学研究的最活跃领域。在此基础上提出的模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 和病原相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 的概念,大大拓展和加深了人们对固有免疫的认识。相继的研究还将此概念扩展到微生物相关分子模式 (microbe-associated molecular patterns, MAMPs)、损伤相关分子模式 (damage-associated molecular patterns, DAMPs)、危险相关分子模式 (danger-associated molecular patterns, DAMPs) 等,以用于解释更广义的宿主对非感染性微生物、共生微生物、组织细胞损伤、应激压力和细胞畸变等各种外源侵入、内源损伤或畸变的固有免疫识别和应答<sup>[7]</sup>。

模式识别受体的概念表明, 固有免疫也并非完全是非特异性的, 而是能在一定程度上区分识别自我和非自我。只是这类由种系基因编码的模式识别受体的数量有限(目前已知数量还小于 $10^2$ ), 完全不同于特异性免疫B细胞受体(BCR)和T细胞受体(TCR)的多基因编码和大量体细胞重排形成的大于 $10^{14}$ 的数量。鉴于PRRs的基因编码和功能特征, PRRs在所有细胞中不同程度地表达, 能够有限特异性地识别微生物生存必需的重要分子。PRRs既表达分布于细胞表面, 也表达分布于细胞质内, 还可以可溶性分子存在于血液和组织液中。

尽管PRRs能够组成型表达分布于所有细胞, 但从目前的一些研究看来, 不同细胞表达PRRs的组成特征以及各种PRRs的表达水平也不尽相同。其中, 有些PRRs也能在一定刺激下进行诱导型表达。可见, 不同的黏膜上皮细胞在细胞表面和细胞质中表达和分布着不同的PRRs的组合<sup>[8]</sup>。然而, 目前对不同部位的黏膜上皮细胞、在不同分化时间点表达各类不同PRRs的组成和表达水平等信息还缺乏系统全面的了解, 现有信息还是零散和局部的。因此, 亟待进一步系统全面了解消化道黏膜、呼吸道黏膜、泌尿生殖道黏膜上皮细胞PRRs表达分布特征和功能。解析不同黏膜上皮细胞中各种PRRs的自然分布, 阐明黏膜上皮细胞在自然进化过程中适应各个部位不同免疫识别和免疫应答需要而表达和分布各类PRRs的策略, 有助于进一步分析不同黏膜上皮细胞的免疫识别乃至免疫调节的功能特征。

## 2.1 消化道黏膜上皮细胞PRRs及其相关固有免疫应答分子

消化道黏膜上皮细胞研究大多集中于肠道上皮细胞(intestinal epithelial cells, IECs)。肠道是一个十分特殊的黏膜环境。在肠道这个体内黏膜环境下贮存着大量共生微生物菌群, 其中包括至少160种共生细菌, 菌总数高达 $10^{14}$ <sup>[5]</sup>。在这个黏膜界面, IEC时时刻刻都在与大量微生物个体本身, 以及微生物生长代谢过程中释放的代谢产物, 还有死亡细菌分解释放的细菌成分之间发生相互作用。近年来的研究还表明, 人体也贮存着一个巨大的病毒组(virome)<sup>[9]</sup>。越来越多的研究表明, IEC装备了各种PRRs, 包括多种TLR、NLR、RLR等。这些PRRs既分布于细胞表面, 也分布于细胞质中, 分别感受识别细胞外和细胞内的PAMPs。如分布在细胞表面的TLR4可感应识别细菌LPS、病毒外膜蛋白; TLR5可识别细菌鞭毛素蛋白; 而分布于细胞内的

TLR7/8则能识别细胞内的病毒ssRNA。这方面已有许多综述可供参考<sup>[8,10-11]</sup>。

肠道黏膜上皮细胞既具有调节黏膜屏障功能的作用, 又具有调节肠道稳态的作用。在调节肠道稳态过程中, 既要维持共生菌正常数量和种类的存活以及代谢, 又要监控检测可能的病原细菌的入侵, 并对入侵的病原菌做出适当的应答。适当的应答通常由IEC激活后分泌的各种细胞因子介导, 调节黏膜下免疫细胞的应答。这些细胞因子包括: 胸腺基质淋巴生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)、转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF $\beta$ )、IL-25、APRIL和B细胞激活因子(B cell-activating factor, BAFF)等。这些因子的表达和释放共同作用于各类免疫细胞, 包括专职性抗原提呈细胞, 如DCs、单核/巨噬细胞以及B细胞。其中包括两类新近确认的独特细胞: pre-DC来源的CD11c<sup>+</sup>CD103<sup>+</sup>DCs和单核细胞来源的CD11c<sup>low</sup>F4/80<sup>+</sup>CX<sub>3</sub>CR1<sup>hi</sup>肠道驻存巨噬细胞。CD11c<sup>+</sup>CD103<sup>+</sup>DCs是一种迁移性抗原提呈细胞, 一旦被IECs释放的细胞因子激活, 将携带抗原迁移至次级淋巴组织, 并提呈给特异免疫细胞。因此, CD11c<sup>+</sup>CD103<sup>+</sup>DCs接受IECs发出的信号, 然后传递给特异免疫细胞。而单核细胞来源的CX<sub>3</sub>CR1<sup>hi</sup>肠道驻存巨噬细胞则固定分布于黏膜下, 保持与IECs的物理性接触并发挥吞噬功能, 以清除病原微生物或移位的共生微生物。

IECs还能通过细胞因子介导作用于T细胞, 包括新发现的固有淋巴细胞(innate lymphoid cells, ILCs)。ILCs数量很少, 只分布于黏膜屏障表面, 包括肠道、肺和皮肤。目前研究表明, IECs在肠道免疫稳态维持中起重要作用。而ILCs也是受上皮细胞释放的免疫调节信号的调节。然而, IECs和ILCs之间的相互作用, 以及其对肠道免疫稳态和免疫防御功能的影响尚缺少系统研究, 将是未来一个重要的研究方向。

## 2.2 呼吸道黏膜上皮细胞的PRRs以及固有免疫应答分子

呼吸道可以分为上呼吸道和下呼吸道, 表面分布着不同类型的气道黏膜上皮细胞(airway epithelial cells, AECs)。其中, 上呼吸道上皮细胞主要有带有纤毛的假复层上皮细胞组成; 从上呼吸道至末端细支气管, 假复层上皮细胞逐渐变为单层上皮细胞, 且纤毛细胞、杯状细胞及基底细胞比例逐渐减少。在末端支气管处, 无纤毛的Clara细胞成为主要的呼吸道上皮细胞<sup>[12]</sup>。不同于IECs, AECs面对的是

一个相对少菌和无菌的环境,但是不停的呼吸过程让 AECs 时刻与外环境和携带的各种微生物发生着直接的相互作用。因此,在行使呼吸生理功能的同时,AECs 形成一个物理屏障以阻挡各种可能的病原微生物入侵。更重要的是,AECs 在最初的病原微生物识别和固有免疫应答中具有不可或缺的作用。这种识别主要就是通过 AECs 表达分布的 PRRs 发挥功能。

PRRs,包括 TLRs 和 NLRs,普遍表达于 AECs<sup>[13]</sup>。呼吸道结构细胞(包括 AECs)的 TLR 信号通路激活对于促进黏膜免疫应答十分重要<sup>[13-16]</sup>。AECs 表达多种 TLRs,包括 TLR2 和 TLR4,TLR4 可被 LPS、呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)、吸烟以及炎性细胞因子等激活<sup>[17-19]</sup>。AECs 也表达 RIG-I 和 TLR3,识别和检测呼吸道病毒性病原的核酸<sup>[20-24]</sup>。AECs 还表达 NLRs NOD1 和 NOD2 等,与病原清除有关<sup>[25]</sup>。但有关 AECs 的 NLR 激活和信号通路还了解很少。可以预见的是,AECs 的 TLRs、NLRs 和蛋白酶激活受体(proteinase-activated receptor, PARs)是通过协同作用介导上皮细胞的固有免疫应答<sup>[26-27]</sup>。AECs 的各种 PRRs 同样协同识别和应答 DAMPs,如细胞坏死后释放的 HMGB1 (high-mobility group box 1)、ATP、尿酸,以及慢性感染产生的异常代谢物等。AECs 在识别 PAMPs 或 DAMPs 后表达释放的细胞因子和趋化因子则进一步影响专职免疫细胞的募集和激活,并调节肺的炎性应答<sup>[28]</sup>。

总之,AECs 在识别呼吸道 PAMPs 和 DAMPs,启动激活应答信号通路,以及调节免疫细胞的免疫应答和防御功能中起着十分关键的作用<sup>[29]</sup>。

### 2.3 泌尿生殖道黏膜上皮细胞 PRRs 以及固有免疫应答分子

泌尿生殖道组成了人体黏膜内环境的一个重要部分。泌尿生殖道黏膜由于男女性别差异而在黏膜上皮细胞组成和功能特征上有所不同。女性生殖道包括输卵管、子宫、内宫颈器官的上部黏膜,主要由单层柱状上皮细胞组成;自外宫颈到阴道的下部黏膜则主要由复层鳞状上皮细胞组成。男性生殖道黏膜主要由复层柱状上皮细胞和非角质化复层鳞状上皮细胞组成<sup>[30-31]</sup>。

生殖道黏膜上皮细胞(genital epithelial cells, GECs)具有一般黏膜相关特性之外,为适应其生殖功能进化出一些特殊的免疫相关功能特征。生殖道黏膜相关免疫功能特征很大程度上受生殖生理周期

激素影响。因此,生殖道黏膜相关免疫具有一些独特的免疫识别和免疫应答机制。生殖道驻存着不同于肠道和呼吸道的共生微生物菌群,面对的是不同于肠道和呼吸道的各种性传播病原微生物。因而,GECs 需要装备适应其免疫防御功能的独特固有免疫识别机制。

GECs 可表达 TLRs 1~9,也能表达 NOD1 和 NOD2 等一系列 PRRs<sup>[30-32]</sup>,如 TLRs 介导的 GECs 激活可产生 IL-6、IL-8、TNF- $\alpha$ 、MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$  以及  $\beta$ -趋化因子等<sup>[33]</sup>。GECs 也能对各种细菌和病毒感染直接做出应答<sup>[34]</sup>,如 GECs 被激活表达 I 型干扰素,并通过诱导抗病毒分子 APOBEC3G 发挥抑制 HIV 复制的作用<sup>[35]</sup>。目前,对生殖道不同部位 GECs 的 TLRs 表达谱已有一些了解<sup>[36-37]</sup>。这些信息说明,GECs 与 IECs、AECs 一样装备了各类 PRRs,能应对各种可能病原微生物的识别和应答。GECs 具有不同的 PRRs 组合,在识别不同性传播病原微生物时激活不同的通路和细胞因子应答谱。这种独特的应答谱将指挥和调节后续专职免疫细胞的募集和应答。有研究表明,HIV-1 gp120 蛋白可以直接被 GECs 表面 TLR2 和 TLR4 受体识别,并介导激活固有免疫应答<sup>[38-39]</sup>。可见,针对特定性传播疾病病原进行 GECs 免疫识别和应答谱的系统生物学研究具有重要意义。这类系统生物学全方位信息将更全面地揭示某种细菌或病毒感染生殖道黏膜的过程、免疫应答和有效防御机制。

### 3 黏膜上皮细胞是病毒起始复制建立感染的初始靶细胞

微生物要侵入机体,它首先必须结合在上皮细胞上或穿越上皮细胞。AECs 形成一个气体进出的管道,成为空气传播的病原微生物入侵通道和起始感染的靶细胞。IECs 形成的饮食管道,则成为食源和水源病原微生物的入侵通道和感染部位。GECs 构成生殖通道,是性传播病原微生物的侵入通道和建立感染的初始地方。

病毒侵入体内,首先要完成复制才能建立稳定感染并扩散到身体其他部位。黏膜上皮细胞很容易被各种 RNA 和 DNA 病毒感染。大多数 RNA 病毒都在细胞质中复制,而 DNA 病毒复制需在细胞核进行。因此,黏膜上皮细胞通常最先与病毒相遇,是被病毒感染的初始靶细胞,如麻疹病毒(measles virus)、呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)、流感病毒(influenza virus)等主要通过呼吸

道先感染 AECs。轮状病毒 (rotavirus)、诺如病毒 (Norovirus, NV) 主要通过消化道最先感染 IECs。人乳头瘤病毒 (human papilloma virus, HPV)、艾滋病病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 则通过生殖道与 GECs 相互作用, 突破生殖道黏膜屏障感染靶细胞。很多通过黏膜表面感染的重要病毒性病原, 如流感病毒、腺病毒、副流感病毒、呼吸道合胞病毒、麻疹病毒、轮状病毒等都是最初在黏膜发生感染即可致病并需要就医治疗。婴儿出生后最初 6 个月期间, 其黏膜大多就已经历过多种病毒感染。

黏膜上皮细胞是一种具有极性特征的细胞, 这种极性一方面适应其生理功能, 支持其选择性进行物质摄入和输出; 另一方面适应其免疫防御功能, 构成内外有别的一个特殊屏障。因此, 黏膜上皮细胞的许多结构组分也呈极性分布, 病毒入侵需要的受体也就可能具有极性分布。这样不同病毒感染黏膜上皮细胞也具有极性特征, 如水疱性口炎病毒 (vesicular stomatitis virus, VSV) 只能通过极化上皮细胞的基侧面感染和包装成熟<sup>[13]</sup>。病毒感染细胞后释放新包装的病毒粒子也具有极性选择, 如麻疹病毒主要释放到极化黏膜上皮细胞的腔面。

#### 4 黏膜上皮细胞是病毒侵染与机体免疫的初始交汇处

病毒缺少完整的酶系统, 没有自身合成的原料和能量, 也没有核糖体, 是一种专性寄生的生命形式。病毒一旦侵入黏膜上皮细胞, 就必须利用靶细胞内的各种细胞机器进行病毒复制 (replication), 通过自我复制实现增殖。因此, 病毒侵入、复制、感染的整个过程, 必须依赖宿主细胞。典型的病毒复制周期包括吸附、穿入、脱壳、生物合成及装配释放等 5 个过程。自病毒吸附发生就开始了病毒与细胞的相互作用, 此后不断发生一系列的相互作用。病毒粒子和细胞双方随着相互作用的进程而不断发生着变化, 如病毒表面结构成分与细胞表面受体作用和结合、受体复合物变构、细胞膜结构改变; 细胞发生胞饮, 细胞膜内陷形成膜性囊泡; 病毒脱壳、经胞饮进入细胞、衣壳被溶酶体酶降解、病毒 RNA 释放到胞浆中; 病毒核酸复制、病毒蛋白质合成; 细胞中出现病毒 DNA、RNA、病毒蛋白; 细胞中出现许多新装配的病毒粒子; 宿主细胞膜出芽、释放病毒。这些过程一旦完成, 病毒就可建立稳定和系统感染。如果这些过程半途被细胞阻止, 就说明细胞成功抑制了病毒复制, 有效阻止了病毒的扩散

和建立系统感染。因此, 每一个过程的相互作用都体现了细胞与病毒之间针锋相对的较量和你死我活的斗争。由此可见, 黏膜上皮细胞往往是机体与病毒战斗的第一战场。

细胞要实现有效的抗病毒效应, 必须要具备识别可能入侵的病毒, 对病毒做出有效的应答和行动, 并向临近细胞发出预警信号等方面的能力。细胞快速识别病毒是决定后续应答和行动的关键。

研究表明, 黏膜上皮细胞可以通过 TLRs、RLRs 或 NLRs 等各种 PRRs 快速感应出现在细胞表面, 或者进入细胞, 或者在细胞内新合成的病毒 PAMPs。这些 PAMPs 包括病毒的外膜结构蛋白、非结构蛋白, 病毒的双链 RNA (dsRNA)、单链 RNA (ssRNA), 病毒的双链 DNA (ssDNA)、单链 DNA (ssDNA) 等<sup>[3]</sup>。根据感应到的病毒 PAMPs 特征, 黏膜上皮细胞识别并判断病毒类型, 并激活相应的信号通路, 快速启动细胞固有免疫应答。这种快速的细胞固有免疫应答的一个核心就是黏膜上皮细胞 NF- $\kappa$ B 信号通路激活、I 型干扰素 (type I IFNs) 转录表达<sup>[40]</sup>。

I 型干扰素应答是病毒感染黏膜上皮细胞后引起各种细胞信号通路激活, 并产生抗病毒效应的重要标志。尽管有证据表明 I 型干扰素有组成型表达, 但绝大部分是经诱导后从头转录和翻译的。I 型干扰素包括 IFN- $\alpha$  和 IFN- $\beta$  两种。IFN- $\alpha$  和 IFN- $\beta$  具有明显不同的生物学和物理化学特征, 但相互具有很多重叠的功能和共同的受体。I 型干扰素能提高抗病毒识别因子和抗病毒效应因子表达, 以抑制病毒复制和感染临近细胞。干扰素调节的炎性细胞因子包括 TNF- $\alpha$ 、IL-1 和 IL-6。这些细胞因子能激活临近的上皮细胞、巨噬细胞、DCs 等, 引发局部炎性细胞因子的级联放大, 加强抗病毒效应<sup>[3]</sup>。

病毒则进化出各种蛋白质成分和机制, 极力抑制细胞的干扰素通路激活和应答。病毒通常有 4 种不同的抑制细胞干扰素应答的策略: (1) 抑制细胞基因表达; (2) 隔离干扰素通路中的某个必需分子; (3) 水解酶切固有免疫组分; 或 (4) 利用蛋白酶体降解干扰素通路重要组分<sup>[41]</sup>。目前研究发现, 病毒能够拮抗干扰素通路的各个步骤。已经有近 50% 的病毒的干扰素拮抗基因和蛋白质被确认。其中三分之一的病毒能抑制干扰素通路两个以上的步骤。可见, 病毒具备干扰素抑制机制的必要性和普遍性。RNA 病毒相对具有较保守的干扰素通路抑制组分。这可能源于 RNA 病毒较小的基因组和较少数量的

基因限制,如麻疹病毒采用重叠基因 P、V、C 分别抑制干扰素通路不同步骤<sup>[42-44]</sup>。病毒拮抗干扰素通路的基因既有结构基因,也有非结构基因。探明重要病毒的干扰素拮抗基因对于发现抗病毒新靶标、研发抗病毒药物具有重要指导意义。这方面的研究仍然是病毒学、免疫学领域的热点<sup>[41,45]</sup>。

实际上,大多数病毒入侵和感染都能被黏膜上皮细胞有效识别和防御,病毒复制被终止于黏膜上皮细胞。这种情况下,机体不会出现明显病理症状或出现轻微症状,并很快痊愈。这种有效防御的实现主要是干扰素通路的有效激活和抗病毒效应发挥。

在 I 型和 II 型干扰素发现并得到深入研究后,20 世纪初又新发现了 III 型干扰素 (type III IFN) IFN- $\lambda$  及其受体 IFNLR1<sup>[46-47]</sup>。不同于 I 型干扰素在有核细胞都能表达,III 型干扰素主要在黏膜上皮细胞、浆细胞源性树突状细胞 (plasmacytoid dendritic cells, pDCs) 表达并发挥功能<sup>[45]</sup>。近年来,III 型干扰素在黏膜上皮细胞中激活表达并发挥独特的抗病毒功能,得到越来越多关注和研究<sup>[48-49]</sup>。这开启了干扰素抗病毒研究的一个新领域。这个领域将与黏膜上皮细胞的固有免疫功能紧密相连,也启示人们 III 型干扰素通路激活可能在黏膜上皮细胞抗病毒识别和应答中具有独特的作用机制和功效,值得密切关注并开展研究。

近 10 年来,炎症小体 (inflammasome) 成为固有免疫研究的另一个重要热点方向。PAMPs 被识别形成不同类型的炎症小体,激活 Caspase-1 信号通路,诱导炎性细胞因子 IL-1 $\beta$  和 IL-18 产生,造成细胞焦亡 (pyroptosis)。这一固有免疫过程的广泛研究,大大加深了人们对固有免疫机制的理解,有力促进了免疫识别、免疫信号转导、免疫应答、免疫调节、免疫病理等各个方面的研究<sup>[49-50]</sup>。不过,这方面大多数研究聚焦在巨噬细胞、DCs 等免疫细胞<sup>[51-54]</sup>。最近研究表明,不同于巨噬细胞炎症小体通路激活,黏膜上皮细胞能以更多元的 PRRs 途径识别细菌 PAMPs,激活非经典的炎症小体 (noncanonical inflammasome) 通路<sup>[55-56]</sup>,实现有效免疫防御。但是,病毒感染黏膜上皮细胞与经典或非经典炎症小体形成和激活机制还研究很少<sup>[57]</sup>,有待进一步关注和研究。

综上所述,黏膜上皮细胞是病毒侵染与机体免疫的一个最初的重要交汇处。在这里,病毒与黏膜上皮细胞相互作用,黏膜上皮细胞通过 PRRs 识别

病毒 PAMPs 并相应激活 NF- $\kappa$ B 信号通路、产生炎性细胞因子、I 型和 III 型干扰素,实现快速的炎性应答和发挥抗病毒作用。黏膜上皮细胞的快速应答释放出的各类细胞因子共同招募、激活和协调固有免疫细胞 (巨噬细胞、DCs、粒细胞等) 发挥固有免疫应答,并进一步指挥、诱导特异性免疫细胞 (B 细胞、T 细胞) 产生特异性抗体和 T 细胞免疫应答<sup>[3-4,10,58]</sup>。

由此可见,黏膜上皮细胞是协调免疫分子、免疫细胞,乃至免疫器官应答的一个前敌总指挥。

## 5 黏膜上皮细胞是 S-IgA 抗体发挥抗病毒感染功能的重要平台

黏膜上皮细胞除了物理和化学的非特异屏障功能外,更重要的是作为黏膜局部免疫的重要细胞场所,发挥黏膜组织相关的固有免疫和特异免疫学防御功能。

黏膜局部免疫对病毒侵染的特异免疫防御效应表现为分泌特异性免疫球蛋白 A,即 S-IgA。S-IgA 抗体是黏膜组织分泌液中最主要的免疫球蛋白,也是人体产生最多的免疫球蛋白类型,担负着人体黏膜局部表面特异性的保护功能<sup>[1]</sup>。以多种病毒,如仙台病毒、流感病毒、麻疹病毒为模型,已经证明 S-IgA 抗体具有独特的抗病毒感染机制<sup>[59]</sup>: (1) 在黏膜上皮细胞外,即黏膜腔面 (luminal) 防止病毒的附着,通过免疫排斥 (immune exclusion) 这一机制阻止病毒的侵入; (2) IgA 通过多聚免疫球蛋白受体 (pIgR) 介导的黏膜上皮细胞转运过程,在上皮细胞内与复制过程中的病毒各种组分相互作用,以细胞内中和 (intracellular neutralization) 的机制,抑制病毒的复制; (3) 在黏膜上皮细胞下,即黏膜基层 (lamina propria) 与病毒粒子结合,利用免疫清除 (immune excretion) 机制将病毒排除出体外<sup>[60-65]</sup>。可见,病毒特异的 IgA 抗体在黏膜免疫抗病毒感染中起着重要的作用。

黏膜上皮细胞内中和效应是 IgA 抗体不同于 IgG 的一个独特功能。IgA 通过多聚免疫球蛋白受体 (polymeric immunoglobulin receptor, pIgR) 介导能进入黏膜上皮细胞。而大多数病毒,尤其是 RNA 病毒感染的起始靶细胞主要是黏膜上皮细胞。因此,IgA 就可能在黏膜上皮细胞内靶向病毒复制的各个过程和各种重要成分,干扰和抑制病毒复制。这样,黏膜上皮细胞就成为 IgA 抗体发挥独特的抗病毒感染功能的重要平台。

2011年, Zhou等<sup>[65]</sup>研究证明, IgA不但能在上皮细胞内与病毒表面抗原作用从而抑制病毒复制, 也能与病毒非表面抗原作用抑制病毒复制。IgA这种细胞内中和机制赋予IgA抗体独特的抗病毒效能, 具有重要的应用前景。深入研究阐明IgA细胞内中和机制, 以黏膜上皮细胞这个重要交汇点作为切入点, 研究了解IgA抗体与黏膜上皮细胞、病毒以及抗病毒免疫应答之间的相互作用关系, 将为人们进一步认识病毒感染早期与机体免疫相互作用过程和机制提供更前沿的视野, 具有重要的理论意义。

此外, 对病毒、黏膜上皮细胞、固有免疫、特异免疫之间相互作用关系的研究了解, 极大推动了各种利用黏膜上皮细胞介导的免疫应用, 如基于TLR配体的黏膜佐剂、口服或鼻腔接种的黏膜疫苗、局部用药的杀微生物制剂、黏膜IgA抗体药物等技术近年来迅速发展, 成为未来生物医药技术发展和应用的新方向。

## 6 结语

黏膜免疫(mucosal immunity)与生俱来, 为人们提供持续不断的黏膜局部免疫保护。黏膜免疫学(mucosal immunology)则是在20世纪中叶对肠道微生物及肠道免疫的研究中逐渐发展起来的免疫学分支学科<sup>[1]</sup>。尤其是在肠道发现了产生IgA型免疫球蛋白的浆细胞之后<sup>[66-68]</sup>, 黏膜免疫学研究得以快速发展, 并逐渐延伸到免疫学乃至生命科学的各个方面<sup>[1]</sup>。随着对IgA抗体产生、分泌, 以及抗感染功能机制研究的不断深入, 黏膜免疫对生命健康的重要性越来越突出。国际上黏膜免疫学研究队伍也不断壮大, 黏膜免疫学作为重要的免疫学分支学科发展也越来越快。2008年国际黏膜免疫学学会(Society for Mucosal Immunology)还专门创刊了《黏膜免疫学》(*Mucosal Immunology*)专业杂志, 与自然出版集团(Nature Publishing Group)共同发行。当前, 黏膜免疫学与免疫学一起快速发展同行并进。然而, 中国本土黏膜免疫学方向的研究团队还很少, 黏膜免疫学领域的研究还很薄弱, 亟待加强。从国家层面给予政策导向上的鼓励和支持将有力促进这个重要研究方向在中国的发展壮大。以黏膜上皮细胞这个感染和免疫的重要交汇点作为切入点研究病毒感染、细胞和免疫的相互关系, 将为人们进一步认识病毒感染早期与机体免疫相互作用过程和机制提供更前沿的视野。这个研究方向的发展进步也将极大

促进中国免疫学与细胞生物学、微生物学、病毒学、疫苗学等多学科的交叉融合。

## [参 考 文 献]

- [1] Mestecky J. *Mucosal immunology*[M]. 3rd ed. Amsterdam; Boston: Elsevier Academic Press, 2005
- [2] Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat Rev Immunol*, 2003, 3: 710-20
- [3] Fitch PM, Henderson P, Schwarze J. Respiratory and gastrointestinal epithelial modulation of the immune response during viral infection. *Innate Immun*, 2012, 18: 179-89
- [4] Swamy M, Jamora C, Havran W, et al. Epithelial decision makers: in search of the 'epimmunome'. *Nat Immunol*, 2010, 11: 656-65
- [5] Wells JM, Rossi O, Meijerink M, et al. Epithelial crosstalk at the microbiota-mucosal interface. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 4607-14
- [6] Reynolds JM, Dong C. Toll-like receptor regulation of effector T lymphocyte function. *Trends Immunol*, 2013, 34: 511-9
- [7] Vance RE, Isberg RR, Portnoy DA. Patterns of pathogenesis: discrimination of pathogenic and nonpathogenic microbes by the innate immune system. *Cell Host Microbe*, 2009, 6: 10-21
- [8] Abreu MT. Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10: 131-44
- [9] Virgin HW. The virome in mammalian physiology and disease. *Cell*, 2014, 157: 142-50
- [10] Peterson LW, Artis D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14: 141-53
- [11] Eckmann L. Sensor molecules in intestinal innate immunity against bacterial infections. *Curr Opin Gastroenterol*, 2006, 22: 95-101
- [12] Ganesan S, Comstock AT, Sajjan US. Barrier function of airway tract epithelium. *Tissue Barriers*, 2013, 1: e24997
- [13] Lambrecht BN, Hammad H. The airway epithelium in asthma. *Nat Med*, 2012, 18: 684-92
- [14] Cleaver JO, You D, Michaud DR, et al. Lung epithelial cells are essential effectors of inducible resistance to pneumonia. *Mucosal Immunol*, 2014, 7: 78-88
- [15] Van Maele L, Fougere D, Janot L, et al. Airway structural cells regulate TLR5-mediated mucosal adjuvant activity. *Mucosal Immunol*, 2014, 7: 489-500
- [16] Hammad H, Chieppa M, Perros F, et al. House dust mite allergen induces asthma via Toll-like receptor 4 triggering of airway structural cells. *Nat Med*, 2009, 15: 410-6
- [17] Armstrong L, Medford AR, Uppington KM, et al. Expression of functional toll-like receptor-2 and -4 on alveolar epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2004, 31: 241-5
- [18] Monick MM, Yarovinsky TO, Powers LS, et al. Respiratory syncytial virus up-regulates TLR4 and sensitizes airway epithelial cells to endotoxin. *J Biol*

- Chem, 2003, 278: 53035-44
- [19] Pace E, Ferraro M, Siena L, et al. Cigarette smoke increases Toll-like receptor 4 and modifies lipopolysaccharide-mediated responses in airway epithelial cells. *Immunology*, 2008, 124: 401-11
- [20] Wang Q, Nagarkar DR, Bowman ER, et al. Role of double-stranded RNA pattern recognition receptors in rhinovirus-induced airway epithelial cell responses. *J Immunol*, 2009, 183: 6989-97
- [21] Bertolusso R, Tian B, Zhao Y, et al. Dynamic cross talk model of the epithelial innate immune response to double-stranded RNA stimulation: coordinated dynamics emerging from cell-level noise. *PLoS One*, 2014, 9: e93396
- [22] Groskreutz DJ, Monick MM, Powers LS, et al. Respiratory syncytial virus induces TLR3 protein and protein kinase R, leading to increased double-stranded RNA responsiveness in airway epithelial cells. *J Immunol*, 2006, 176: 1733-40
- [23] Le Goffic R, Pothlichet J, Vitour D, et al. Cutting Edge: influenza A virus activates TLR3-dependent inflammatory and RIG-I-dependent antiviral responses in human lung epithelial cells. *J Immunol*, 2007, 178: 3368-72
- [24] Shornick LP, Wells AG, Zhang Y, et al. Airway epithelial versus immune cell Stat1 function for innate defense against respiratory viral infection. *J Immunol*, 2008, 180: 3319-28
- [25] Uehara A, Fujimoto Y, Fukase K, et al. Various human epithelial cells express functional Toll-like receptors, NOD1 and NOD2 to produce anti-microbial peptides, but not proinflammatory cytokines. *Mol Immunol*, 2007, 44: 3100-11
- [26] Nhu QM, Shirey K, Teijaro JR, et al. Novel signaling interactions between proteinase-activated receptor 2 and Toll-like receptors *in vitro* and *in vivo*. *Mucosal Immunol*, 2010, 3: 29-39
- [27] Gieseler F, Ungefroren H, Settmacher U, et al. Proteinase-activated receptors (PARs) - focus on receptor-receptor-interactions and their physiological and pathophysiological impact. *Cell Commun Signal*, 2013, 11: 86
- [28] Parker D, Prince A. Type I interferon response to extracellular bacteria in the airway epithelium. *Trends Immunol*, 2011, 32: 582-8
- [29] Whitsett JA, Alenghat T. Respiratory epithelial cells orchestrate pulmonary innate immunity. *Nat Immunol*, 2014, 16: 27-35
- [30] Nguyen PV, Kafka JK, Ferreira VH, et al. Innate and adaptive immune responses in male and female reproductive tracts in homeostasis and following HIV infection. *Cell Mol Immunol*, 2014, 11: 410-27
- [31] Blaskewicz CD, Pudney J, Anderson DJ. Structure and function of intercellular junctions in human cervical and vaginal mucosal epithelia. *Biol Rep*, 2011, 85: 97-104
- [32] Wira CR, Fahey JV, Sentman CL, et al. Innate and adaptive immunity in female genital tract: cellular responses and interactions. *Immunol Rev*, 2005, 206: 306-35
- [33] Schaefer TM, Desouza K, Fahey JV, et al. Toll-like receptor (TLR) expression and TLR-mediated cytokine/chemokine production by human uterine epithelial cells. *Immunology*, 2004, 112: 428-36
- [34] Ferreira VH, Nazli A, Khan G, et al. Endometrial epithelial cell responses to coinfecting viral and bacterial pathogens in the genital tract can activate the HIV-1 LTR in an NF- $\kappa$ B- and AP-1-dependent manner. *J Infect Dis*, 2011, 204: 299-308
- [35] Chen K, Huang J, Zhang C, et al.  $\alpha$  interferon potently enhances the anti-human immunodeficiency virus type 1 activity of APOBEC3G in resting primary CD4 T cells. *J Virol*, 2006, 80: 7645-57
- [36] Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4: 499-511
- [37] Pudney J, Anderson DJ. Expression of toll-like receptors in genital tract tissues from normal and HIV-infected men. *Am J Reprod Immunol*, 2011, 65: 28-43
- [38] Nazli A, Kafka JK, Ferreira VH, et al. HIV-1 gp120 induces TLR2- and TLR4-mediated innate immune activation in human female genital epithelium. *J Immunol*, 2013, 191: 4246-58
- [39] Kaushic C. HIV-1 infection in the female reproductive tract: role of interactions between HIV-1 and genital epithelial cells. *Am J Reprod Immunol*, 2011, 65: 253-60
- [40] Pasparakis M. Role of NF- $\kappa$ B in epithelial biology. *Immunol Rev*, 2012, 246: 346-58
- [41] Versteeg GA, Garcia-Sastre A. Viral tricks to grid-lock the type I interferon system. *Curr Opin Microbiol*, 2010, 13: 508-16
- [42] Andrejeva J, Childs KS, Young DF, et al. The V proteins of paramyxoviruses bind the IFN-inducible RNA helicase, mda-5, and inhibit its activation of the IFN- $\beta$  promoter. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 17264-9
- [43] Nakatsu Y, Takeda M, Ohno S, et al. Measles virus circumvents the host interferon response by different actions of the C and V proteins. *J Virol*, 2008, 82: 8296-306
- [44] Caignard G, Guerbois M, Labernardiere JL, et al. Measles virus V protein blocks Jak1-mediated phosphorylation of STAT1 to escape IFN- $\alpha/\beta$  signaling. *Virology*, 2007, 368: 351-62
- [45] Durbin RK, Kotenko SV, Durbin JE. Interferon induction and function at the mucosal surface. *Immunol Rev*, 2013, 255: 25-39
- [46] Kotenko SV, Gallagher G, Baurin VV, et al. IFN- $\lambda$ s mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex. *Nat Immunol*, 2003, 4: 69-77
- [47] Kotenko SV. IFN- $\lambda$ s. *Curr Opin Immunol*, 2011, 23: 583-90
- [48] Sommereyns C, Paul S, Staeheli P, et al. IFN- $\lambda$  (IFN- $\lambda$ ) is expressed in a tissue-dependent fashion and primarily acts on epithelial cells *in vivo*. *PLoS Pathog*, 2008, 4: e1000017
- [49] Mordstein M, Neugebauer E, Ditt V, et al.  $\lambda$  interferon renders epithelial cells of the respiratory and gastrointestinal tracts resistant to viral infections. *J Virol*, 2010, 84: 5670-7

- [50] Bergsbaken T, Fink SL, Cookson BT. Pyroptosis: host cell death and inflammation. *Nat Rev Microbiol*, 2009, 7: 99-109
- [51] Kupz A, Guarda G, Gebhardt T, et al. NLRC4 inflammasomes in dendritic cells regulate noncognate effector function by memory CD8(+) T cells. *Nat Immunol*, 2012, 13: 162-9
- [52] Lightfield KL, Persson J, Brubaker SW, et al. Critical function for Naip5 in inflammasome activation by a conserved carboxy-terminal domain of flagellin. *Nat Immunol*, 2008, 9: 1171-8
- [53] Barlan AU, Griffin TM, McGuire KA, et al. Adenovirus membrane penetration activates the NLRP3 inflammasome. *J Virol*, 2011, 85: 146-55
- [54] Wang X, Jiang W, Yan Y, et al. RNA viruses promote activation of the NLRP3 inflammasome through a RIP1-RIP3-DRP1 signaling pathway. *Nat Immunol*, 2014, 15: 1126-33
- [55] Kayagaki N, Wong MT, Stowe IB, et al. Noncanonical inflammasome activation by intracellular LPS independent of TLR4. *Science*, 2013, 341: 1246-9
- [56] Knodler LA, Crowley SM, Sham HP, et al. Noncanonical inflammasome activation of caspase-4/caspase-11 mediates epithelial defenses against enteric bacterial pathogens. *Cell Host Microbe*, 2014, 16: 249-56
- [57] 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. *PLoS Pathog*, 2013, 9: e1003256
- [58] Hussell T, Goulding J. Structured regulation of inflammation during respiratory viral infection. *Lancet Infect Dis*, 2010, 10: 360-6
- [59] Lamm ME. Interaction of antigens and antibodies at mucosal surfaces. *Annu Rev Microbiol*, 1997, 51: 311-40
- [60] Mazanec MB, Nedrud JG, Kaetzel CS, et al. A three-tiered view of the role of IgA in mucosal defense. *Immunol Today*, 1993, 14: 430-5
- [61] Mazanec MB, Kaetzel CS, Lamm ME, et al. Intracellular neutralization of Sendai and influenza viruses by IgA monoclonal antibodies. *Adv Exp Med Biol*, 1995, 371A: 651-4
- [62] Yan H, Lamm ME, Bjorling E, et al. Multiple functions of immunoglobulin A in mucosal defense against viruses: an *in vitro* measles virus model. *J Virol*, 2002, 76: 10972-9
- [63] Feng N, Lawton JA, Gilbert J, et al. Inhibition of rotavirus replication by a non-neutralizing, rotavirus VP6-specific IgA mAb. *J Clin Invest*, 2002, 109: 1203-13
- [64] Huang YT, Wright A, Gao X, et al. Intraepithelial cell neutralization of HIV-1 replication by IgA. *J Immunol*, 2005, 174: 4828-35
- [65] Zhou D, Zhang Y, Li Q, et al. Matrix protein-specific IgA antibody inhibits measles virus replication by intracellular neutralization. *J Virol*, 2011, 85: 11090-7
- [66] Crabbe PA, Carbonara AO, Heremans JF. The normal human intestinal mucosa as a major source of plasma cells containing  $\gamma$ -a-immunoglobulin. *Lab Invest*, 1965, 14: 235-48
- [67] Crandall RB, Cebra JJ, Crandall CA. The relative proportions of IgG-, IgA- and IgM-containing cells in rabbit tissues during experimental trichinosis. *Immunology*, 1967, 12: 147-58
- [68] Pierce NF, Gowans JL. Cellular kinetics of the intestinal immune response to cholera toxoid in rats. *J Exp Med*, 1975, 142: 1550-63