

NLRP3 炎症小体调节创伤后炎症反应的作用

李冬冬, 周敏杰, 朱晓光, 仲伟喜, 封启明

(上海交通大学附属第六人民医院急诊医学科, 上海 200233)

【摘要】 创伤在造成机体原发损伤的同时, 诱发炎症反应, 对机体产生继发性损伤。炎症小体通过影响促炎细胞因子的裂解及其成熟、释放来调节炎症反应。NLRP3 炎症小体能活化半胱氨酸天冬氨酸酶-1 (Caspase-1), 并引起白细胞介素(IL-1 β 、IL-18)等促炎细胞因子的分泌, 参与机体抵抗病原体的免疫应答。本文就 NLRP3 炎症小体在创伤诱发的炎症反应中的作用的研究进展做一综述。

【关键词】 NLRP3; 炎症小体; 创伤

【中图分类号】 R641 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2017)09-1455-03

Role of NLRP3 inflammasome in regulating inflammation after injury. Li Dong-dong, ZHOU Min-jie, ZHU Xiao-guang, ZHONG Wei-xi, FENG Qi-ming. Department of Emergency Medicine, Shanghai Jiao Tong University Affiliated Sixth People's Hospital, Shanghai 200233, CHINA

【Abstract】 Trauma can not only cause primary damage to the injured body, but also result in the secondary damage to the same body by inducing the inflammatory response. The inflammasome can regulate inflammation by influencing the lysis and releases of proinflammatory cytokines. The NOD-, LRR, and pyrin domain-containing 3 (NLRP3) inflammasome activates the cysteine aspartase-1 (Caspase-1), causes the secretion of proinflammatory cytokines, such as interleukin (IL-1 β , and IL-18), which involved in the immune response to resist pathogens in the body. Here we review the role of the NLRP3 inflammasome in inflammation after injury.

【Key words】 NOD-, LRR, and pyrin domain-containing 3 (NLRP3); Inflammasome; Trauma

创伤是 45 岁以下人群的首要死因。WHO 报告 2000 年创伤造成的死亡人数约 500 万, 约占全球死亡总人口的 9%^[1]。创伤诱发机体释放多种炎症介质, 引起炎症反应^[2]。正常的炎症反应有利于组织修复, 过度的炎症反应可导致器官衰竭、组织损伤和全身灌注不足。过度的炎症反应通过释放大量的活性氧、趋化因子和促炎因子(IL-6、IL-12、IL-18 等)引起机体继发性损伤^[3]。

2002 年, Martinon 发现了能够影响炎症反应状态的蛋白复合体, 并命名为炎症小体^[4]。炎症小体由受体蛋白、凋亡相关斑点样蛋白 ASC 和效应分子前半胱氨酸天冬氨酸特异蛋白酶 1 (pro-caspase-1) 三部分构成。炎症小体的受体蛋白包括 NOD 样受体家族的 NLRP1、NLRP3、IPAF 及 HIN-200 家族的细胞质 DNA 传感器黑色素瘤缺乏因子 2 (AIM2)。NLRP3 炎症小体是 NOD 样受体家族中的一种炎症小体, NLRP3 炎症小体是目前研究最热的炎症小体。

1 NLRP3 炎症小体的组成

NLRP3 炎症小体由 NOD 样受体家族中的 NLRP3 受体蛋白、凋亡相关斑点样蛋白 ASC 和效应分子前半胱氨酸天冬氨酸特异蛋白酶 1 (pro-caspase-1) 三部分构成^[5]。NLRs 是位于细胞质中的一种模式识别受体

(PRRs), 能够识别微生物保守序列即病原相关分子模式(PAMPs)^[6]。NOD 样受体蛋白(NLRPs)在人类中已发现 22 种分子, 然而小鼠的受体蛋白种类比人类还要多, 小鼠中至少有 34 种分子^[7]。NLRPs 的结构由三部分组成, C 端富含亮氨酸重复序列(LRRs 结构), 在配体识别中起重要作用。中间是 NOD 结构域, 在受体蛋白激活过程中介导自身寡聚化; N 末端是效应结构域, 已知主要存在四种 N 端结构域, 即 CARD 结构域、PYD 结构域、BIR 结构域和转录激活结构域^[8]。

2 NLRP3 炎症小体的激活

NLRP3 炎症小体在许多疾病中发挥着重要作用, 例如 II 型糖尿病、动脉粥样硬化症、阿尔海默茨病等。IL-1 β 是 NLRP3 炎症小体介导的 II 型糖尿病的重要致病因子。糖尿病患者 NLRP3 炎症小体的激活以及循环系统中炎症因子 IL-1 β 、IL-18 升高, 提示 NLRP3 炎症小体是 II 型糖尿病发生发展的危险因素^[9-10]。虽然动脉粥样硬化症^[11]和阿尔海默茨等^[12]疾病分属于不同的病种, 但是 NLRP3 炎症小体导致这些疾病的共同通路就是炎症反应。目前已经明确 NLRP3 炎症小体的激活需要两类信号: 第一类信号是通过相互作用的各种损伤相关分子模式/病原相关分子模式和细胞因子, 如 TNF- α 的 Toll 样受体, 导致 IL-1 β 和 IL-18 前体和炎性

基金项目: 国家临床重点专科建设项目基金(编号: 2013-554)

通讯作者: 封启明。E-mail: fengqiming04@126.com

组件转录上调,并形成正反馈^[13];第二类信号可以由大量高度多样化的分子提供,并导致炎症组件的组装,其中包括细胞内蛋白质凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis associated speck Eke protein, ASC)、caspase-1 和 NALP^[14]。通过激活多个信号通路活化 NLRP3 炎症小体。NLRP3 炎症小体的激活导致了蛋白酶 Caspase-1 的裂解和激活,随后 IL-1 β 和 IL-18 前体裂解为成熟的 IL-1 β 和 IL-18 并分泌出细胞。这些细胞因子在炎症级联反应的相对早期,导致干扰素 α (TNF α)和干扰素 γ (IFN γ)的产生。因此,作为炎症反应的核心,NLRP3 炎症小体可能为多种炎症性疾病的治疗提供新的靶点。

3 NLRP3炎症小体在创伤诱发的炎症反应中的作用

在急诊急救中,机械通气是最常应用的抢救措施。由此导致的肺创伤依然存在。研究发现实验鼠基因表达的改变与 NLRP3 炎症小体具有相关性。在体外模型中,IL-1 α 、IL-1 的受体在基因表达上发生显著改变。并且在体内模型中,IL-18、IL-1 的受体以及 IL-1 β 都发现有显著性改变^[15]。这些基因表达的改变证实了 NLRP3 炎症小体在肺创伤导致的炎症反应中发挥作用。此外,有研究已经证实机械通气能激活 NLRP3 炎症小体,依靠 Caspase-1 和 TLR4 机制引起小鼠肺泡中巨噬细胞增加并释放 IL-1 β ,在巨噬细胞中 NLRP3 炎症小体能促进 IL-18 成熟和分泌。肺泡中巨噬细胞的增加和 IL-1 β 、IL-18 的成熟和分泌,进一步说明了 NLRP3 炎症小体在机械通气性肺创伤导致的炎症反应中发挥重要作用^[16]。与此同时 Xiang 等^[17]研究发现创伤后的缺血性休克可致肺血管内皮细胞损伤。HMGB1 作用于 TLR4 和 TLR2 以及 RAGE 受体激活内皮细胞 NAD(P)H 氧化酶,产生活性氧,致使肺血管内皮细胞产生炎症反应。通过反馈调节作用,活性氧可促进硫氧还蛋白相互作用蛋白(TXNIP)与 NLRP3 相互作用,从而激活炎症小体和促进 IL-1 的释放。因此 NLRP3 炎症小体可能在肺创伤的炎症反应中起着至关重要的作用。

肝脏遭受创伤后,不可避免的导致肝组织缺血再灌注。缺血再灌注导致肝损伤包含两个阶段。首先缺血引起氧化应激反应导致肝细胞处于亚致死状态,其次炎症反应的扩散能加剧肝组织再灌注导致的损伤。研究人员敲除了小鼠的 NLRP3 和 Caspase-1 基因,实验组小鼠 IL-1 β 的表达较对照组明显减少,并且肝组织得到了显著的保护^[18]。肝组织缺血再灌注后,激活了 NLRP3 炎症小体,NLRP3 炎症小体的活化导致了 Caspase-1 的激活从而促进 IL-1 β 和 IL-18 的成熟和释放。另一项研究也发现 NLRP3、Caspase-1 缺乏的小鼠和应用了 Caspase-1 抑制剂的小鼠中 IL-1 β 和

IL-18 的水平低于对照组。与此同时在实验鼠中通过 RNA 发夹沉默 NLRP3 基因,沉默 NLRP3 基因后 NLRP3 炎症小体无法被激活,从而减少 IL-1 β 、IL-18、TNF- α 、IL-6 的释放,对肝组织起到保护作用^[19]。然而 Sun 等^[20]研究发现缺血性休克复苏时,Caspase-1 的激活对肝脏起保护作用,并通过调节 beclin 1 抑制剂的表达来控制氧化应激反应。笔者认为可能由于创伤后检测时间上的差异,导致实验结果的不同。

脑是机体生命活动的控制中心,颅脑创伤对机体的损伤更为严重。实验发现颅脑损伤后可激活 NLRP3 炎症小体,从而增加 IL-1 的表达,加剧了颅脑损伤后的炎症反应^[21]。同样地 Liu 等^[22]检测到在颅脑创伤模型兔中,随着时间推移,ASC 和 Caspase 1 以及 IL-1 β 、IL-18 表达逐渐增加,这些数据进一步证实了颅脑创伤后,有 NLRP3 炎症小体的表达,促进了颅脑损伤后的炎症反应。颅脑损伤后不可控的炎症反应可造成脑缺血,进而发生脑坏死。

4 NLRP3炎症小体在创伤后继发性炎症反应中的作用

随着急救系统的大幅度完善,创伤后死亡率得到了明显的降低,然而入院后创伤并发症如血栓、脓毒血症、多器官功能衰竭(MODS)等,已成为创伤患者中最常见和最严重的并发症^[23]。

Gao 等^[24]研究发现机体创伤后发生脓毒血症时,Sirt 1 可以抑制 NLRP3 炎症小体激活,抑制肺组织和肾组织产生炎症,从而减轻机体的炎症反应,避免发生多器官功能衰竭。Wang 等^[25]研究证实通过 CORM-2 释放的 CO 能抑制 NLRP3 炎症小体的激活,从而减轻脓毒血症导致的急性肾损伤。但是 CO 抑制创伤后炎症小体活性的机制有待于进一步研究。在创伤小鼠模型中,NO 可以抑制 NLRP3 炎症小体的激活,避免发生脓毒血症和感染性休克,从而减轻炎症反应。Mao 等^[23]证实 NO 不但抑制小鼠巨噬细胞中 NLRP3 炎症小体的激活,而且人外周血巨噬细胞和单核细胞中的 NLRP3 炎症小体也可以被抑制。机体创伤后组蛋白显著增加,细胞外的组蛋白能够激活 T 样受体和 NLRP3 炎症小体从而促进血栓的形成^[26]。

综上所述,炎症小体在机体创伤后的原发损伤及其继发性损伤的炎症反应中起着重要作用。同时这也为我们在创伤后控制炎症反应开启了一条新思路。尽管 NLRP3 炎症小体的聚集和激活机制还不是十分的完善,但是已经有充分的证据表明 NLRP3 炎症小体在机体创伤后的原发损伤及其继发性损伤的炎症反应中发挥着重要的作用。如果能准确把握时机给予正确的处理措施,阻断 NLRP3 炎症小体激活,从而避免过量细胞因子的产生,将可达到减轻炎症反

应、遏制恶性循环的目的,有望为机体创伤后的治疗提供新方法。虽然我们对 NLRP3 炎症小体已经有了初步的理解和认识,但是未来的研究和学习方向更应该着重于三个方面:NLRP3 炎症小体的聚集和激活机制,NLRP3 炎症小体在炎症反应中的作用以及机体创伤后原发损伤及其继发性损伤的治疗和预后。

参考文献

- [1] 罗学宏. 急诊医学(全国高等学校医学规划教材)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2008: 363-390.
- [2] Lord JM, Midwinter MJ, Chen YF, et al. The systemic immune response to trauma: an overview of pathophysiology and treatment [J]. *Lancet*, 2014, 384(9952): 1455-1465.
- [3] Darlington DN, Gonzales MD, Craig T, et al. Trauma-induced coagulopathy is associated with a complex inflammatory response in the rat [J]. *Shock*, 2015, 44 Suppl 1: 129-137.
- [4] Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta [J]. *Mol Cell*, 2002, 10(2): 417-426.
- [5] Wei M, Wang L, Wu T, et al. NLRP3 activation was regulated by DNA methylation modification during *Mycobacterium tuberculosis* infection [J]. *Biomed Research International*, 2016, 2016: 4323281.
- [6] Ichinohe T, Pang IK, Iwasaki A. Influenza virus activates inflammasomes via its intracellular M2 ion channel [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(5): 404-410.
- [7] Wewers MD, Sarkar A. P2X(7) receptor and macrophage function [J]. *Purinergic Signal*, 2009, 5(2): 189-195.
- [8] Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes [J]. *Cell*, 2010, 140(6): 821-832.
- [9] Ajithkumar K, Vijayan P, Nazeem PA. Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study [J]. *Diabetes*, 2003, 52(3): 812-817.
- [10] Vandanmagsar B, Youm YH, Ravussin A, et al. The NALP3/NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced autoinflammation and insulin resistance [J]. *Nature Medicine*, 2011, 17(2): 179-188.
- [11] Paramel VG, Folkersen L, Strawbridge RJ, et al. NLRP3 inflammasome expression and activation in human atherosclerosis [J]. *Journal of the American Heart Association*, 2016, 5(5): e003031.
- [12] Tan MS, Yu JT, Jiang T, et al. The NLRP3 inflammasome in Alzheimer's disease [J]. *Molecular Neurobiology*, 2013, 48(3): 875-882.
- [13] Juliana C, Fernandes-Alnemri T, Kang S, et al. Non-transcriptional priming and deubiquitination regulate NLRP3 inflammasome activation [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(43): 36617-36622.
- [14] Strowig T, Henao-Mejia J, Elinav E, et al. Inflammasomes in health and disease [J]. *Nature*, 2012, 481(7381): 278-286.
- [15] Dolinay T, Kim YS, Howrylak J, et al. Inflammasome-regulated cytokines are critical mediators of acute lung injury [J]. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine*, 2012, 185(11): 1225-1234.
- [16] Wu J, Yan Z, Schwartz DE, et al. Activation of NLRP3 inflammasome in alveolar macrophages contributes to mechanical stretch-induced lung inflammation and injury [J]. *Journal of Immunology*, 2013, 190(7): 102.
- [17] Xiang M, Shi X, Li Y, et al. Hemorrhagic shock activation of NLRP3 inflammasome in lung endothelial cells [J]. *Journal of Immunology*, 2011, 187(9): 4809-4817.
- [18] Huang H, Chen HW, Evankovich J, et al. Histones activate the NLRP3 inflammasome in Kupffer cells during sterile inflammatory liver injury [J]. *J Immunol*, 2013, 191(5): 2665-2679.
- [19] Zhu P, Duan L, Chen J, et al. Gene silencing of NALP3 protects against liver ischemia-reperfusion injury in mice [J]. *Hum Gene Ther*, 2011, 22(7): 853-864.
- [20] Sun Q, Gao W, Loughran P, et al. Caspase-1 activation is protective against hepatocyte cell death by up-regulating beclin1 and mitochondrial autophagy in the setting of redox stress [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2013, 288(22): 15947-15958.
- [21] Savage CD, Lopez-Castejon G, Denes A, et al. NLRP3-inflammasome activating DAMPs stimulate an inflammatory response in glia in the absence of priming which contributes to brain inflammation after injury [J]. *Frontiers in Immunology*, 2012, 3: 288.
- [22] Liu HD, Li W, Chen ZR, et al. Expression of the NLRP3 inflammasome in cerebral cortex after traumatic brain injury in a rat model [J]. *Neurochemical Research*, 2013, 38(10): 2072-2083.
- [23] Mao K, Chen S, Chen M, et al. Nitric oxide suppresses NLRP3 inflammasome activation and protects against LPS-induced septic shock [J]. *Cell Res*, 2013, 23(2): 201-212.
- [24] Gao R, Ma Z, Hu Y, et al. Sirt1 restrains lung inflammasome activation in a murine model of sepsis [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2015, 308(8): 847-853.
- [25] Wang P, Huang J, Li Y, et al. Exogenous carbon monoxide decreases sepsis-induced acute kidney injury and inhibits NLRP3 inflammasome activation in rats [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(9): 20595-20608.
- [26] Allam R, Kumar SVR, Darisipudi MN, et al. Extracellular histones in tissue injury and inflammation [J]. *Journal of Molecular Medicine*, 2014, 92(5): 465-472.

(收稿日期: 2016-07-29)