

核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3在冠状动脉粥样硬化性心脏病发病中作用的研究进展[★]

武汉科技大学医学院 王梅芳 杨国康¹ 郭凯文*, 武汉 430065

关键词 动脉粥样硬化; 冠状动脉; 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3

中图分类号 R541.4 **文献标识码** A **DOI** 10.11768/nkjwzzzz20210118

心血管疾病是我国居民死亡的主要原因^[1], 冠状动脉粥样硬化性心脏病(简称冠心病)是其中最主要的一种疾病。动脉粥样硬化是冠心病的潜在病因。炎症小体是一种可调控产生多种炎性细胞因子的大分子多聚蛋白复合物, 在动脉粥样硬化病变发生过程中发挥着重要作用。核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(nucleotide binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3)是目前国内外在研究动脉粥样硬化发生发展过程中最受关注的炎症小体类型。本文旨在探讨NLRP3炎症小体在冠心病发病机制中的作用。

NLRP3炎症小体及其激活途径

NLRP3炎症小体 炎症小体是细胞内识别病原相关分子模式(pathogen-related molecular patterns, PAMPs)和损伤相关分子模式(damage-related molecular patterns, DAMPs)的一类多聚蛋白复合物, 通常由核苷酸结合寡聚化结构域NOD样受体(nucleotide binding oligomerization domain NOD-like receptor, NLRs)蛋白之一、凋亡相关斑点样蛋白(ASC, 包含caspase募集域)和半胱氨酸蛋白酶Caspase-1三部分组成。根据NLRs蛋白的不同, 炎症小体可分为NLRP1、NLRP3、NLRP4、NLRP6、NLRP7、NLRP12及PYHIN家族的AIM2、IFI16等^[2]。其中, NLRP3炎症小体是研究得最多的炎症小体, 已被证明能够识别DAMPs, 并诱导多种疾病中的无菌性炎症反应。

NLRP3炎症小体的激活 与NLRP3炎症小体活化有关的常见上游机制包括K离子流出、溶酶体去稳定和线粒体ROS生成。NLRP3炎症小体的激活涉及两个信号通路。第一信号是通过TLR-核因

子-KB(NF-KB)途径激发pro-IL-1 β 的转录; 第二信号则是作用于嘌呤能受体通道P2X7, 该通道由受损细胞释放的胞外ATP激活, 在多种DAMPs共同作用下, 导致大量K离子外流和ROS释放, 最终激活NLRP3炎症小体^[3]。NLRP3炎症小体激活后可使无活性的Caspase-1前体转变成有活性的Caspase-1, 即IL-1 β 转换酶, 可激活IL-1 β 和IL-18前体, 促进其成熟、活化和分泌, 进而引发机体的炎症反应。同时, NLRP3炎症小体活化还可诱导Caspase-1依赖性细胞凋亡^[4]。激活的NLRP3炎症小体可识别多种DAMPs, 并诱导无菌性炎症反应, 这些DAMPs包括细胞外三磷酸腺苷(ATP)^[5]、磷酸钙晶体^[6]、胆固醇晶体^[7,8]、氧化的低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, 简称Ox-LDL)^[9]、 β -淀粉样蛋白^[10]、透明质酸^[11]和胰岛淀粉样多肽^[12]等。NLRP3炎症小体是诱导无菌性炎症反应的主要角色。

除此之外, 还有很多因素影响NLRP3炎症小体的激活^[13,14], 如溶酶体破裂、组织蛋白酶B释放、胆固醇晶体物质释放、ROS过度增加、ER应激、线粒体功能障碍及Ca离子信号传导等, 均可被激活的NLRP3炎症小体识别, 促进炎症性反应。总之, NLRP3炎症小体的活化是多种机制共同参与的结果。

动脉粥样硬化的发生与NLRP3炎症小体的关系

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是一种由多种因素引起的慢性病理生理过程, 其病理变化基本分为5个时期, 即内膜水肿期、脂纹(fatty streak)期、纤维斑块期、粥样斑块期、继发改变(斑块破裂、血栓形成等)^[15]。迄今为止, AS发病机制尚不完全清楚, 可以明确的是, AS是一种长期的慢性进行性病理生理过程, 并且炎症反应贯穿于斑块形成的全过程。脂解素等减轻炎症反应的内源性介质(SPM)能够延缓斑块形成或缩小已形成斑块^[16], 提示了炎症反应在粥样硬化斑块形成中的重要作用。

[★]基金项目: 国家自然科学基金(No.31671092)

¹武汉科技大学附属汉阳医院

*通信作者: 郭凯文, E-mail: 516899347@qq.com

Sun 等^[17]研究证实,NLRP3 炎症小体中的 ASC 可募集 Caspase-1 并诱导其激活。Caspase-1 诱导 IL-1 β 和 IL-18 的分泌,促进脂质斑块的发展,并降低斑块的稳定性。Shi 等^[18]检测重度颈动脉粥样硬化而行颈动脉内膜剥脱术的患者外周血发现,单核细胞 NLRP3mRNA、Caspase-1mRNA、IL-1 β mRNA、IL-18mRNA 表达量及血浆 IL-1 β 、IL-18 水平均显著高于对照组,并且颈部超声 mean-IMT 与以上数据呈正相关。Zheng 等^[16]通过构建慢病毒载体的方法,敲低实验组小鼠体内 NLRP3 基因表达,以评估 NLRP3 炎症小体在 AS 中的作用,结果显示实验组促炎细胞因子明显少于对照组,这证明 NLRP3 炎症小体与体内炎症因子水平呈正相关。并且这种 RNA 干扰技术在减少促炎细胞因子的同时,也减少了血管内巨噬细胞向泡沫细胞的演变,进而减少了脂质的形成。因此推断,NLRP3 炎症小体可能在动脉粥样硬化过程中起着至关重要的作用。

AS 斑块是炎症过程和脂质代谢异常的结果,斑块形成是一个缓慢而渐进的过程^[19],从生命早期开始,通常直到成年期才出现临床症状。结晶胆固醇和 Ox-LDL 广泛参与斑块形成。OxLDL 与 CD36 结合并被巨噬细胞吞噬,大量 oxLDL 在巨噬细胞中积聚并使之成为泡沫细胞^[20,21]。AS 斑块实质上是泡沫细胞、免疫细胞、胆固醇晶体和平滑肌细胞(SMCs)的聚积体^[22]。斑块内的胆固醇结晶随着病程进展逐渐增加^[8,25,26]。如前所述,结晶胆固醇和 oxLDL 都属于 DAMPs,可引起 NLRP3 炎症小体活化,由此我们可以推断,NLRP3 炎症小体的活化可以导致脂质代谢异常,而脂质代谢异常又是导致 AS 斑块形成的直接原因,因此斑块形成过程和炎症过程便由此建立了某种联系。Duell 等^[8]以高胆固醇饮食喂养易患动脉粥样硬化的 Apo-E 缺乏症小鼠,发现许多小胆固醇晶体在早期就出现在动脉粥样硬化病变中的少量皮下免疫细胞中,研究同时还发现胆固醇晶体能够以 Caspase-1 依赖性方式强烈诱导与之共孵育的巨噬细胞裂解并释放 IL-1 β ,说明结晶胆固醇会导致小鼠免疫细胞中的 NLRP3 炎症小体活化。还有研究表明^[23,24],在 2 型糖尿病患者冠状动脉粥样硬化斑块中,存在大量的胆固醇结晶和巨噬细胞,胆固醇结晶使溶酶体膜通透性增加,组织蛋白酶 B 从溶酶体内流到细胞质,最终激活 NLRP3 炎症小体,产生大量 IL-1 β ,并且胆固醇结晶含量与 IL-1 β 产生的量呈正相关。综上所述,NLRP3 炎症小体在 AS 的形成过程中发挥着极

其重要的作用。

冠心病的发病机制与 NLRP3 炎症小体

胡龙江等^[25]研究发现,NLRP3 炎症小体通过 ASC-Caspase-1-IL-1 β /IL-18 信号通路调控炎症因子的生成,参与心血管疾病的发生发展,在检测冠心病组患者的外周血单核细胞(PBMCs)中 NLRP3、ASC、Caspase-1 mRNA 的表达水平时,发现其含量均高于对照组,因此怀疑 NLRP3 导致 IL-1 β 和 IL-18 等炎性介质生成,继而通过下游的信号转导通路产生炎性瀑布反应,导致冠状动脉炎性损伤,从而导致了冠心病的发生发展。

Bando 等^[26]发现主动脉中 NLRP3 表达水平与总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)呈正相关,与高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)呈负相关。该研究结果表明,在患有 AS 患者的主动脉中,NLRP3 炎症小体过度表达,且其表达水平与冠状动脉病变严重程度密切相关。Sato 等^[27]也证实了在冠心病患者 PBMCs 内 NLRP3 水平升高,同时还评估了他汀类药物对细胞中 NLRP3 的作用。他汀类药物是一类羟甲基戊二酰辅酶 A(HMG-CoA)还原酶抑制剂,因其降脂作用显著、稳定、安全,故临床上已被广泛用于高脂血症治疗。目前又有大量临床研究发现,他汀类药物还有改善内皮功能、稳定斑块及抗 AS 的作用^[28]。李奕萍等^[29]研究表明,AS 患者经阿托伐他汀治疗后,血浆 IL-1 β 和 IL-18 等炎性因子水平显著下降,同时单核细胞来源的巨噬细胞中 NLRP3 炎症小体相关分子的表达也显著降低,这提示阿托伐他汀可能通过抑制 NLRP3 炎症小体的表达来减轻炎性反应,从而在 AS 的治疗中发挥作用。

NLRP3 炎症小体的干预

如前所述,NLRP3 炎症小体确实参与到了冠心病的发生发展过程中,并且有研究提出,靶向抑制 NLRP3 炎症小体或 IL-1 β 可能是治疗冠状动脉粥样硬化性心梗的潜在且有效的干预策略。目前已有一些 IL-1 阻断剂,如重组 IL-1RA、细胞因子陷阱及人源化 IL-1 β 单克隆抗体等,但尚未获得能特异性抑制 NLRP3 炎症小体活化的化合物^[29]。李娟等^[30]研究发现,冠心病不稳定型心绞痛患者在 PCI 术前口服尼可地尔,术后 24、48 h NLRP3 炎症小体和 IL-1 β 水平均低于对照组,说明该药物可以减轻术后炎症水平,减轻心肌损伤。他汀类药物具有降脂、抗炎、抗栓及改善内皮功能等作用^[31],其中,阿托伐他

汀是目前临床最常用于稳定和逆转斑块的药物之一,具有良好的抑制血栓形成和抗氧化功能,可有效减少氧化自由基对心肌细胞造成的损伤,进而发挥抗炎作用^[32]。马全鑫等^[33]研究发现,阿托伐他汀可以干预早期动脉粥样硬化大鼠体内 NLRP3 炎性小体的表达,并指出阿托伐他汀能明显降低 ox-LDL 水平,并下调 NLRP3 及相关炎症因子的表达,从而减轻 AS 的形成和发展。谭保平等^[34]研究发现,他汀类药物能降低 NLRP3 水平,减少炎症因子激活,并且该作用是独立于他汀类药物调脂作用之外的,提示阿托伐他汀可能通过下调 NLRP3 的表达,减轻 AS 过程中的炎性反应,从而在抗 AS 的进展中发挥重要作用。

结论和展望

NLRP3 在冠状动脉粥样硬化的发生发展中起到关键性作用,NLRP3 炎症小体可以被胆固醇晶体、oxLDL 等物质激活,激活的炎症小体中的 ASC 可募集 Caspase-1 并诱导其激活,Caspase-1 诱导 IL-1 β 和 IL-18 的分泌,诱导无菌性炎症反应,促进脂质斑块的发展,最终导致了冠心病的形成。因此,靶向抑制 NLRP3 炎性小体或 IL-1 β 可能是治疗冠状动脉粥样硬化性心梗的潜在且有效的干预策略。虽然目前没有 NLRP3 炎性小体抑制剂,但尼可地尔及他汀类药物都是通过降低胆固醇、NLRP3 及炎症因子水平从改善冠心病患者的临床症状及预后。未来我们可以积极发掘通过调控 NLRP3 炎性小体的活化和效应来逆转 AS 进展,以及维持斑块稳定性的新策略和药物新靶点,从而为冠心病的预防和治疗带来新的希望。

参考文献

- 胡盛寿,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告2018》概要[J]. 中国循环杂志,2019,34(3):209-220.
- Li HB,Zhao MJ. Biochemical analysis between common type and critical type of COVID-19 and clinical value of neutrophil/lymphocyte ratio[J]. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao,2020,40(7):965-971.
- Giovanni Zito,Marco Buscetta. Cellular Models and Assays to Study NLRP3 Inflammasome Biology [J]. Molecular sciences, 2020, 21(12):4294.
- Zhao CY, Zhao W. NLRP3 Inflammasome-A Key Player in Antiviral Responses[J]. Front Immunol,2020,11(2):211.
- Monika Biasizzo,Nataša Kopitar-Jerala. Interplay Between NLRP3 Inflammasome and Autophagy[J]. Front Immunol. 2020,11:591803.
- YunJeong Choi ,Ji Hyun Yoo. Calcium-Phosphate Crystals Promote RANKL Expression via the Downregulation of DUSP1[J]. Mol Cells, 2019,42(2):183-188.
- Pazúr B, Ea HK,Narayan S, et al. Basic calcium phosphate crystals induce monocyte/macrophage IL-1 β secretion through the NLRP3 inflammasome in vitro[J]. J Immunol,2011,186(4):2495-502.
- Duewell P,Kono H,Rayner KJ,et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals[J]. Nature,2010,464(7293):1357-1361.
- Rajam? ki K,Lappalainen J, O? rni K,et al. Cholesterol crystals activate the NLRP3 inflammasome in human macrophages: a novel link between cholesterol metabolism and inflammation [J]. PLoS One, 2010,5(7):e11765.
- 杨之雪,唐成林,李小宏,等. 电针调控 SAMP8 小鼠血脑屏障增强盐酸多奈哌齐对 β -淀粉样蛋白的清除[J]. 针刺研究. 2020,45(4):281-286.
- Yamasaki K,Muto J,Taylor KR,et al. NLRP3/cryopyrin is necessary for interleukin-1beta (IL-1beta) release in response to hyaluronan, an endogenous trigger of inflammation in response to injury. J Biol Chem,2009,284(19):12762-12771.
- Masters SL,Dunne A,Subramanian SL,et al. Activation of the NLRP3 inflammasome by islet amyloid polypeptide provides a mechanism for enhanced IL-1 β in type 2 diabetes[J]. Nat Immunol,2010,11(10):897-904.
- Karasawa T. Role of NLRP3 inflammasomes in atherosclerosis [J]. Atheroscler Thromb,2017,24(5):443-451.
- Venkat Giri,Magupalli,Roberto Negro,et al. HDAC6 mediates an aggregates-like mechanism for NLRP3 and pyrin inflammasome activation [J]. Science,2020,369(6510):eaas8995.
- 成长,Thomas Levy. 冠状动脉粥样硬化病因病理及功能医学临床干预探讨[J]. 肿瘤代谢与营养电子杂志,2019:6(3):365-369.
- Zheng F,Xing S,Gong Z,et al. Silence of NLRP3 suppresses atherosclerosis and stabilizes plaques in apolipoprotein E-deficient mice [J]. Mediators Inflamm,2014,507208.
- Sun Y,Liu Y. Atorvastatin inhibits renal inflammatory response induced by calcium oxalate crystals via inhibiting the activation of TLR4/NF- κ B and NLRP3 inflammasome [J]. Iubmb Life, 2020, 72(5):1065-1074.
- Shi X,Xie WL,Kong WW,et al. Expression of the NLRP3 inflammasome in carotid atherosclerosis [J]. J Stroke Cerebrovasc Dis,2015,24(11):2455-2466.
- Yang S,Yuan H. Macrophage polarization in atherosclerosis [J]. Clin Chim Acta,2020,501(2):142-146.
- Hoseini Z,Sepahvand F,Rashidi B,et al. NLRP3 Inflammasome: Its Regulation and Involvement in Atherosclerosis [J]. J Cell Physiol, 2018,233(3):2116-2132.
- Zhang YQ,Wang L. Up-regulated miR-106b inhibits ox-LDL-induced endothelial cell apoptosis in atherosclerosis [J]. Braz J Med Biol Res, 2020,53(3):e8960.
- Tatyana Kuznetsova,Koen HM Prange,et al. Transcriptional and epigenetic regulation of macrophages in atherosclerosis [J]. Nat Rev Cardiol,2020,17(4):216-228.

血清 PCT 水平还可用于评估细菌感染的风险,判断抗感染疗效和指导抗菌药物的合理使用。Bouadma 等^[9]推荐使用 PCT 水平动态监测指导抗生素的治疗: < 0.25 ng/mL, 强烈不推荐使用抗生素; 0.25 ~ 0.5 ng/mL, 不推荐使用抗生素; 0.5 ~ 1 ng/mL, 推荐使用抗生素; ≥ 11 ng/mL, 提示细菌感染的可能性很大, 强烈推荐使用抗生素治疗。研究发现 PCT 值下降至峰值的 80% 以下时, 可以考虑停用抗生素治疗^[10]。

PCT 作为感染性疾病的诊断指标, 具有敏感度高、特异性好的优点。但是, PCT 也不能作为细菌感染的唯一检测指标, 仍需联合其他炎症指标以及病原学等检查进行准确有效的判断。

参考文献

- Schuetz P, Bretscher C, Bernasconi L, et al. Overview of procalcitonin assays and procalcitonin-guided protocols for the management of patients with infections and sepsis [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2017, 17(6): 593-601.
 - Wirz Y, Meier MA, Bouadma L, et al. Effect of procalcitonin-guided antibiotic treatment on clinical outcomes in intensive care unit patients with infection and sepsis patients: a patient-level meta-analysis of randomized trials [J]. *Crit Care*, 2018, 22(1): 191.
 - Chol JJ, Mearthy MW. Novel applications for serum procalcitonin testing in clinical practice [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2018, 18(1): 27-34.
 - 黄丹. 可溶性髓系细胞触发受体-1、降钙素原及超敏反应蛋白在脓毒血症诊断中的价值[J]. *内科急危重症杂志*, 2017, 23(1): 32-34.
 - 杨扬, 王宋平. 降钙素原的临床应用及研究进展[J]. *国际呼吸杂志*, 2016, 36(6): 471-474.
 - Esposito S, Bianchini S, Gambino M, et al. Measurement of lipocalin-2 and syndecan-4 levels to differentiate bacterial from viral infection in children with community-acquired pneumonia [J]. *BMC Pulm Med*, 2016, 16(1): 1-8.
 - Schuetz P, Birkhahn R, Sherwin R, et al. Serial Procalcitonin Predicts Mortality in Severe Sepsis Patients: Results From the Multicenter Procalcitonin Monitoring Sepsis (MOSES) Study [J]. *Crit Care Med*, 2017, 45(5): 781-789.
 - Magrini L, Travaglio F, Marino R, et al. Procalcitonin variations after Emergency Department admission are highly predictive of hospital mortality in patients with acute infectious diseases [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2013, Suppl 1: 133-142.
 - Bouadma L, Luyt CE, Tubach F, et al. Use of procalcitonin to reduce patients' exposure to antibiotics in intensive care units (PRORATA trail): a multicenter randomized controlled trial [J]. *Lancet*, 2010, 375(9713): 463-474.
 - Schuetz P, Beishuizen A, Broyles M, et al. Procalcitonin (PCT)-guided antibiotic stewardship: an international experts consensus on optimized clinical use [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2019, 57(9): 1308-1318.
- (2020-04-02 收稿 2020-08-16 修回)
-
- (上接第 67 页)
- 胡龙江, 周音频, 吕湛, 等. NLRP3 炎性小体与 2 型糖尿病及冠心病并发症的关系[J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2015, 9(23): 136-138.
 - Rajamaki K, Lappalainen J. Cholesterol crystals activate the NLRP3 in inflammasome in human macrophages: a novel link between cholesterol metabolism and in inflammasome activation [J]. *PLoS One*, 2010, 5(7): e11765.
 - 胡龙江, 周音频, 曹运兰, 等. NLRP3 炎性小体对冠心病患者血浆 IL-1 β 、IL-18、TGF- β 水平的影响[J]. *重庆医学*, 2018, 47(26): 3394-3397.
 - Bando S, Fukuda D, Soeki T, et al. Expression of NLRP3 in subcutaneous adipose tissue is associated with coronary atherosclerosis [J]. *Atherosclerosis*, 2015, 242(2): 407-414.
 - Satoh M, Tabuchi T, Itoh T, Nakamura M. NLRP3 in inflammasome activation in coronary artery disease: results from prospective and randomized study of treatment with atorvastatin or rosuvastatin [J]. *Clin Sci*, 2014, 126(3): 233-241.
 - Wang J, Wang AR, Zhang MJ, et al. Effects of atorvastatin on serum High-sensitive C-reactive protein and total cholesterol levels in asian patients with atrial fibrillation [J]. *Am J Ther*, 2017, 24(1): e20-e29.
 - 李奕萍, 王红琴, 王健, 等. 阿托伐他汀抑制动脉粥样硬化患者 NLRP3 炎性体途径的研究[J]. *浙江医学*, 2019, 41(17): 1848-1852.
 - 李娟, 莫凡睿, 颜玉鸾, 等. 尼可地尔在经皮冠状动脉介入治疗中对 NLRP3 炎性小体的干预作用[J]. *东南大学学报(医学版)*, 2018, 37(3): 420-423.
 - 程光辉, 谢芳, 黄尾平, 等. 强化辛伐他汀对急性冠脉综合征合并慢性肾功能不全患者肾功能的影响[J]. *内科急危重症杂志*, 2020, 26(1): 25-28.
 - Sardar P, Chatterjee S, Kundu A, et al. Long term outcomes in patients with left main coronary artery disease treated with either percutaneous coronary intervention or bypass surgery - evidence from a meta-analysis [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2016; 67(13): 105.
 - 马全鑫, 杨钦钦, 陆晔枫, 等. NLRP3 炎症小体在早期动脉粥样硬化 ZDF 大鼠中的表达及阿托伐他汀的干预[J]. *中国比较医学杂志*, 2015, 25(2): 1-6.
 - 谭保平, 谢文超, 莫凡睿, 等. 阿托伐他汀对老年急性冠状动脉综合征患者血清 Nod 样受体蛋白 3 的影响[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2019, 21(6): 587-590.
- (2020-07-22 收稿 2021-01-25 修回)