

NLRP3 炎性小体与糖尿病肾病相关性研究进展

王晓宇 王秋月

摘要 炎性小体(inflammasome)是位于细胞内的蛋白质复合物,作为固有免疫的重要组成部分,在机体天然免疫及获得性免疫反应中发挥着重要作用。Nod样受体蛋白3(Nod-like receptor protein 3,NLRP3)炎性小体主要是由NLRP3、凋亡相关的斑点样蛋白(ASC)和天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-1(caspase-1)等相互结合而形成,调控白介素-1 β (IL-1 β)、白介素-18(IL-18)等细胞因子的成熟和分泌。近年发现NLRP3炎性小体的非正常活化及调控在糖尿病肾病的发生、发展过程中发挥重要作用。NLRP3炎性小体可能成为糖尿病肾病的潜在治疗靶点。

关键词 NLRP3 炎性小体 糖尿病肾病 炎性因子

中图分类号 R587.2

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.05.051

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病常见而且严重的慢性并发症之一,目前已成为终末期肾病的主要原因。其病理特点为肾小球基膜增厚,肾小球系膜外基质过度沉积,肾小球硬化以及肾小管间质纤维化。众多研究证明炎性反应参与了DN的发生与发展,并认为DN是一种炎症性疾病。近年来,研究发现NLRP3炎性小体的非正常活化及调控在多种疾病中发挥了关键作用,包括自身免疫性疾病、炎症性肠病、阿尔茨海默病、动脉粥样硬化症、2型糖尿病、肥胖症、痛风等。本文主要就NLRP3炎性小体的组成、激活模式及其与DN相关性进行综述。

一、NLRP3炎性小体简述

1. NLRP3炎性小体:固有免疫(innate immunity)是机体防御的第1道防线,通过模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)识别入侵的微生物以及体内的危险信号,PRRs主要分为两类:位于细胞膜上的Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)和位于细胞质内的Nod样受体(NOD-like receptor, NLR)^[1]。NLRP3炎性小体是目前研究最多NLR家族成员,NLRP3识别病原相关分子模式(PAMPs)或危险相关分子模式(DAMPs)后,通过凋亡相关斑点样蛋白(ASC)募集半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-1(caspase-1、IL-1 β 裂解酶)前体,形成炎性反应复合体,活化pro-caspase-1,进一步对IL-1 β 、IL-18等细胞因子的前体进行加工和剪接,从而促进

它们的成熟和分泌,调节免疫应答与炎性反应^[2]。

2. NLRP3炎性小体激活模式:许多病原微生物如病毒、真菌、细菌及其成分,体内代谢产物如高血糖、三磷酸腺苷(ATP)、单钠尿酸盐结晶、 β 淀粉样肽、细胞坏死产物、细胞外基质成分、损伤的线粒体、活性氧(reactive oxygen species, ROS)以及外源性刺激如二氧化硅、石棉等均可激活NLRP3炎性小体。NLRP3炎性小体激活机制尚未完全阐明,主要有3种激活模式:(1)溶酶体破坏模型:细胞吞噬某些结晶或颗粒物质如明矾、 β 淀粉样蛋白、二氧化硅等,溶酶体膜破坏,组织蛋白酶B(cathepsin B)被释放至胞质,从而活化NLRP3炎性小体,也有研究将组织蛋白酶B缺陷型巨噬细胞暴露于疟原虫色素、尿酸晶体、二氧化硅和明矾,并没有抑制NLRP3炎性小体激活,提示其他组织蛋白酶或途径激活NLRP3炎性小体^[3]。(2)半通道模型:细胞外ATP激活P2X7嘌呤型受体后,引起钾离子迅速外流,促进半通道蛋白Pannexin-1的招募及其在细胞膜上的孔道的开放,使胞外的NLRP3炎性小体激活剂进入细胞,进而激活NLRP3炎性小体^[4]。(3)ROS模型:细菌、病毒、ATP、晶体等均可引起ROS产生,使硫氧还蛋白相互作用性蛋白(TXNIP)从硫氧还蛋白(TRX)释放,从而激活NLRP3炎性小体,格列本脲可抑制高糖引起的TXNIP上调及NLRP3炎性小体激活^[5]。

二、NLRP3炎性小体与糖尿病肾病

目前DN发病机制仍不确切,多数学者认为DN受代谢、遗传、血流动力学、氧化应激、炎症等因素影响,近期研究表明NLRP3炎性小体的激活也参与了DN的发生、发展。

基金项目:辽宁省科技攻关计划项目(2011225017);沈阳市科技攻关计划项目(F11-262-9-06)

作者单位:110001 沈阳,中国医科大学附属第一医院内分泌科

通讯作者:王秋月,电子信箱:wqyemu@163.com

1. IL-1 β 、IL-18 与糖尿病肾病: IL-1 β 、IL-18 是 NLRP3 炎性小体的下游效应因子, 均为白细胞介素-1 家族成员, 是重要的促炎细胞因子, 可引起局部和全身炎性反应, 这种炎性反应在控制感染时是必要的, 但在一些炎性疾病时又是有害的^[6]。这些炎性因子参与 DN 的发生和发展, 在 DN 大鼠模型, 肾脏 IL-1 表达增加, 并增加趋化因子及黏附因子的表达, 从而刺激系膜细胞增殖及细胞外基质产生而损伤肾脏, IL-1 也参与肾小球血流动力学紊乱及系膜细胞前列腺素的合成, IL-18 是诱导干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)产生的强效炎性因子, 可诱导趋化因子受体的表达, 同时, IL-18 可引起其他炎性因子的产生(包括 IL-1), 细胞间黏附分子-1(Intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)的上调^[7]。IL-18 可呈剂量依赖性诱导肾小管上皮细胞凋亡, α -平滑肌肌动蛋白表达, I型胶原、纤维连接蛋白(fibronectin, FN)的产生及单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)的分泌, 进而加重 DN 患者肾脏的炎性反应, 刺激肾小球系膜的肥大和增殖, 从而引起系膜外基质的扩张从而加重肾脏的损伤^[8]。

2. NLRP3 炎性小体与 DN 肾小球损伤: Shahzad 等^[9]研究发现在糖尿病患者肾小球内皮细胞、足细胞及糖尿病小鼠模型肾小球内皮细胞、足细胞均有 NLRP3 炎性小体激活, 为了证明 DN 小鼠模型肾小球硬化是由肾脏固有细胞或是骨髓来源细胞炎性小体的激活引起的, 该研究对 DN 小鼠移植敲除 NLRP3 或 caspase-1 表达的骨髓来源细胞发现无法保护 DN 小鼠, 而 NLRP3 缺陷型小鼠及 IL-1 受体拮抗剂均可保护 DN 小鼠模型, 提示肾脏固有细胞, 而不是骨髓来源细胞 NLRP3 炎性小体足以引发 DN。Gao 等^[10]研究证明高糖可以促进人足细胞及链脲佐菌素(STZ)诱导的 DN 小鼠模型 NLRP3 炎性小体的表达及激活, 沉默 NLRP3/ASC 基因或抑制 caspase-1 的活性均可阻止高糖诱导的足细胞 NLRP3 炎性小体激活和损伤, 沉默 TXNIP 基因可抑制高糖诱导的足细胞 NLRP3 炎性小体激活和损伤, TXNIP 参与介导 NLRP3 炎性小体的激活。由此可以看出 NLRP3 炎性小体可以引起 DN 患者的肾小球损伤。

3. NLRP3 炎性小体与 DN 肾小管损伤: Chen 等^[11]研究发现高糖可通过 ATP-P2X4 嘌呤型受体轴依赖细胞外 ATP 介导肾小管上皮细胞 NLRP3 炎性小体激活, 调控 IL-1 β 、IL-18 的成熟与分泌, 在糖

尿病肾小管炎性反应中发挥重要作用。2型 DN 患者免疫组化结果显示肾小管上皮细胞 P2X4 和 NLRP3 表达水平显著升高。高糖可诱导人肾小管上皮细胞(HK-2 细胞)内 NLRP3、caspase-1、IL-1 β 的表达上调, Apyrase(eATP 水解酶)消耗掉细胞外 ATP, 能完全抑制高糖上调 NLRP3、caspase-1、IL-1 β , P2X4 siRNA 转染能显著抑制高糖引起的 NLRP3、caspase-1、IL-1 β 表达上调, 从而抑制肾小管炎性反应。

4. 抑制 NLRP3-caspase-1-IL-1 β /IL-18 轴延缓 DN 发生、发展: 代谢综合征的组分中血糖代谢异常、高血压、血脂代谢紊乱、肥胖、高尿酸血症都与早期 DN 的发生、发展密切相关, 研究表明高血糖、高血脂、肥胖、高尿酸血症均可诱导 NLRP3 炎性小体激活, 因此抑制 NLRP3 炎性小体激活是减轻上述肾损害因素、治疗 DN 的共同通路^[12~15]。STZ 诱导的合并高尿酸血症及血脂异常症的 DN 大鼠模型肾脏 NLRP3 表达增加, 榆皮素和别嘌醇可改善高尿酸血症和血脂异常, 通过抑制 NLRP3 炎性小体激活保护 DN 大鼠^[16]。高果糖浆 HFCS-55 诱导的高血糖、高血脂小鼠模型肾脏 NLRP3 表达上调, PPAR- δ 激动剂 GW0742 可减轻 DN 模型 NLRP3 炎性小体的激活, 下调髓过氧化物酶(MPO)活性、ICAM-1、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)在肾脏组织的表达及尿白蛋白^[17]。高果糖诱导的代谢综合征大鼠模型 NLRP3、ASC、caspase-1 在肾脏表达增加, NLRP3 炎性小体激活, 甜菜碱可通过抑制 NLRP3 炎性小体激活而不是核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)通路抑制肾脏促炎细胞因子^[18]。Fang 等^[19]利用牛磺熊去氧胆酸(TUDCA)降低内质网氧化应激, 可减轻 STZ 诱导的 DN 小鼠模型 NLRP3 炎性小体激活及尿白蛋白。血栓调节蛋白(THBD)是体内抗凝血系统中的重要因素, THBBD1 为血栓调节蛋白凝集素样结构域 1, Yang 等^[20]将 AAV-THBDD1(腺相关病毒-血栓调节蛋白凝集素样结构域 1)基因载入糖尿病 db/db 小鼠, AAV-THBDD1 处理的糖尿病小鼠血清及肾脏 ROS 下调, 肾脏转录因子红系衍生核因子相关因子-2(NF-E2 related factor 2, NRF2)核转位增加, NF- κ B 及 NLRP3 炎性小体活化被抑制, caspase-1、IL-1 β 的表达减少, 尿蛋白及肾功能好转。细胞外 ATP 激活 P2X 受体致钾离子外流可激活 NLRP3 炎性小体, P2X7 受体拮抗剂可抑制 NLRP3 炎性小体活化并下调 IL-1 β 、IL-18 水平。P2X7 受体拮抗剂治疗

炎症性肠病、类风湿性关节炎、慢性阻塞性肺疾病已进入临床试验。研究表明,IL-1 β 在2型糖尿病发病机制中发挥重要作用,并有临床试验证明阿那白滞素(IL-1受体拮抗剂)可降低2型糖尿病患者糖化血红蛋白、增加胰岛素的产生并降低系统性炎性标志物。Shahzad等^[9]应用阿那白滞素在DN小鼠模型发现可以保护甚至逆转DN,而线粒体ROS抑制剂MitoTempo对DN也有一定的保护作用。

三、展望

NLRP3炎性小体是近年来的研究热点,其组成已基本明确,但其组装、激活及调控机制尚需深入研究,在DN的动物和人类试验中提示NLRP3炎性小体是DN新的治疗靶点,但目前治疗研究仍仅限于P2X7受体拮抗剂、caspase-1抑制剂及IL-1途径,NLRP3炎性小体的靶向治疗研究较少,进一步深入研究其信号通路相关分子机制,有望为DN早期预防、诊断及治疗提供更多理论依据及新靶点。

参考文献

- 1 Schroder K, Tschoopp J. The inflammasomes [J]. Cell, 2010, 140(6): 821–832
- 2 Franchi L, Eigenbrod T, Muñoz – Planillo R. The inflammasome: a caspase-1 – activation platform that regulates immune responses and disease pathogenesis [J]. Nat Immunol, 2009, 10(3): 241–247
- 3 Lamkanfi M, Dixit VM. Inflammasomes and their roles in health and disease [J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2012, 28(10): 137–161
- 4 Schroder K, Zhou RB, Tschoopp J. The NLRP3 inflammasome: a sensor for metabolic danger? [J]. Science, 2010, 327(5963): 296–300
- 5 Zhou R, Tardivel A, Thorens B, et al. Thioredoxin – interacting protein links oxidative stress to inflammasome activation [J]. Nat Immunol, 2010, 11(2): 136–140
- 6 Gabay C, Lamacchia C, Palmer G. IL-1 pathways in inflammation and human diseases [J]. Nat Rev Rheumatol, 2010, 6(4): 232–241
- 7 Navarro – González JF, Mora – Fernández C. The role of inflammatory cytokines in diabetic nephropathy [J]. J Am Soc Nephrol, 2008, 19(3): 433–442
- 8 Liang D, Liu HF, Yao CW, et al. Effects of interleukin 18 on injury and activation of human proximal tubular epithelial cells [J]. Nephrology, 2007, 12(1): 53–61
- 9 Shahzad K, Bock F, Dong W, et al. Nlrp3 – inflammasome activation in non – myeloid derived cells aggravates diabetic nephropathy [J]. Kidney Int, 2015, 87(1): 74–84
- 10 Gao P, Meng XF, Su H, et al. Thioredoxin – interacting protein mediates NALP3 inflammasome activation in podocytes during diabetic nephropathy [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2014, 1843(11): 2448–2460
- 11 Chen KH, Zhang JG, Zhang WW, et al. ATP – P2X4 signaling mediates NLRP3 inflammasome activation: A novel pathway of diabetic nephropathy [J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2013, 45(5): 932–943
- 12 Lee HM, Kim JJ, Kim HJ, et al. Up – regulated NLRP3 inflammasome activation in patients with type 2 diabetes [J]. Diabetes, 2013, 62(1): 194–204
- 13 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
- 14 Boini KM, Xia M, Abais JM, et al. Activation of inflammasomes in podocyte injury of mice on the high fat diet: effects of ASC gene deletion and silencing [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2014, 1843(5): 836–845
- 15 Gasse P, Riteau N, Charron S, et al. Uric acid is a danger signal activating NALP3 inflammasome in lung injury inflammation and fibrosis [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2009, 179(10): 903–913
- 16 Wang C, Pan Y, Zhang QY, et al. Quercetin and allopurinol ameliorate kidney injury in STZ – treated rats with regulation of renal NLRP3 inflammasome activation and lipid accumulation [J]. PLoS One, 2012, 7(6): e38285
- 17 Collino M, Benetti E, Rogazzo M, et al. Reversal of the deleterious effects of chronic dietary HFCS – 55 intake by PPAR – δagonism correlates with impaired NLRP3 inflammasome activation [J]. Biochemical Pharmacology, 2013, 85(2): 257–264
- 18 Fan CY, Wang MX, Ge CX, et al. Betaine supplementation protects against high – fructose – induced renal injury in rats [J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2014, 25(3): 353–362
- 19 Fang L, Xie D, Wu X, et al. Involvement of endoplasmic reticulum stress in albuminuria induced inflammasome activation in renal proximal tubular cells [J]. PLoS One, 2013, 8(8): e72344
- 20 Yang SM, Ka SM, Wu HL, et al. Thrombomodulin domain 1 ameliorates diabetic nephropathy in mice via anti – NF – κB/NLRP3 inflammasome – mediated inflammation, enhancement of NRF2 antioxidant activity and inhibition of apoptosis [J]. Diabetologia, 2014, 57(2): 424–434

(收稿日期:2014-10-28)

(修回日期:2014-11-14)