

细胞焦亡在肾脏疾病中的作用

周 翠 张 璐 丁国华

摘 要 细胞焦亡是一种依赖于半胱天冬氨酸蛋白酶 caspase - 1/4/5/11 且由 GSDMD 介导并伴有炎性介质释放的程序性细胞死亡。NLRP3 炎性小体调控细胞焦亡并促使炎性因子的活化与释放。NLRP3 炎性小体调控的细胞焦亡参与多种肾脏疾病的病理生理过程。本文就 NLRP3 - caspase - 1 介导的细胞焦亡在肾脏疾病中的作用研究进展做一简述。

关键词 炎性小体 细胞焦亡 急性肾损伤 糖尿病肾病

中图分类号 R57

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.02.038

细胞死亡是生物体重要的病理生理过程,在不同理化或生物因素的作用下细胞有不同的死亡方式。相较于传统的细胞死亡方式,细胞焦亡是新近发现的细胞死亡方式,其发生的具体机制尚不明确。细胞焦亡是一种依赖于半胱天冬氨酸蛋白酶 caspase - 1/4/5/11,由 GSDMD (gasdermin D, GSDMD) 介导并伴有炎性介质释放的程序性细胞死亡方式。研究表明 NLRP3 (NOD - like receptor with pyrin domain 3, NLRP3) 炎性小体作为一种促进炎性因子活化的平台,能够调节 caspase - 1 前体活化并促使炎性因子活化及释放,并由此调控细胞焦亡。在肾脏疾病中细胞焦亡介导的炎性反应是无菌性炎性反应。研究表明无菌性炎性反应是许多肾脏疾病的临床特征,在肾脏疾病的进展中发挥重要作用。因此研究 NLRP3 炎性小体介导的细胞焦亡对进一步揭示肾脏疾病的发病机制及研发药物治疗新靶点具有重要意义。

一、炎性小体

NLRP3 炎性小体是 Nod 受体亚家族成员之一,是由模式识别受体 (pattern recognition receptor, PRR)、凋亡相关微粒蛋白 (apoptosis - associated speck - like protein containing CARD, ASC) 和 caspase - 1 前体 (pro - caspase - 1) 构成的多蛋白复合物^[1]。当细胞受到内源性或者外源性危险信号刺激时,细胞内的模式识别受体通过识别病原相关分子模式 (pathogen - associated molecular pattern, PAMP) 和损伤相关分子模式 (damage - associated molecular pattern, DAMP) 启动系列信号级联反应并促进大量炎性介质

的释放,由此导致炎性反应的发生^[2]。NLRP3 是目前研究最多的炎性小体,研究表明 NLRP3 炎性小体作为一种促进炎性因子活化的平台,能够调节 caspase - 1 前体活化并使 pro - IL - 1 β 和 pro - IL - 18 转变为成熟具有活性的炎性反应因子 IL - 1 β 和 IL - 18,由此启动系列信号级联反应并促进大量炎性介质的释放。研究发现活化的 NLRP3 炎性小体参与调节细胞的炎性反应、代谢及生存,在自身免疫性疾病、心血管疾病、急慢性肾脏疾病、代谢性疾病等发生、发展过程中起重要作用。

二、细胞焦亡

细胞焦亡同时具有坏死和凋亡的特征,表现为细胞不断胀大致细胞膜破裂,染色体 DNA 片段化,细胞内容物释放进而激活强烈的炎性反应。细胞焦亡是一种由 caspase - 1/4/5/11 介导的程序性细胞死亡,属于一种重要的天然免疫反应。细胞焦亡途径包括 caspase - 1 介导的经典焦亡途径和 caspase - 4/5/11 介导的非经典焦亡途径。经典焦亡途径中,在内源性或者外源性危险信号刺激下,炎性小体 NLRP3 使 pro - caspase - 1 激活为活化的 caspase - 1,并介导 IL - 1 β 和 IL - 18 的成熟及释放,从而招募更多的炎性细胞,进一步放大炎性反应^[3]。在非经典焦亡途径中,脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 可以直接激活 caspase - 4/5/11,从而导致细胞焦亡的发生。pro - caspase - 1、ASC 和 NLRP3 可参与非经典焦亡途径,但不是其必需的。活化后的 caspase - 1/4/5/11 通过切割下游 GSDMD 使后者 C 端结构域与 N 端结构域分离,暴露 N 端结构域,该结构域具有在膜上打孔的作用,导致细胞膜孔洞形成,细胞不断膨胀直至破裂,细胞内容物 IL - 1 β 和 IL - 18 等释放,从而激活并放大炎性反应,引发细胞焦亡^[4]。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81570617)

作者单位:430060 武汉大学人民医院肾内科

通讯作者:丁国华,教授,博士生导师,电子信箱:ghxding@gmail.com

三、细胞焦亡在肾病疾病中的作用

无菌性炎性反应是许多肾脏疾病的临床特征。NLRP3 炎性小体介导的细胞焦亡通过诱发及放大无菌性炎性反应参与多种肾脏疾病的进展,包括急性肾损伤、糖尿病肾病、肾结石和其他肾脏病,下面对其在肾脏疾病中的研究进展进行介绍。

1. 急性肾损伤:急性肾损伤是各种病因引起的肾功能急剧下降而出现的临床综合征。研究表明,细胞焦亡在急性肾损伤中起重要作用。

缺血再灌注诱导急性肾损伤时焦亡相关蛋白 caspase - 1/11 和 IL - 1 β 表达水平明显升高,即 CHOP - caspase - 11 信号通路活化并导致肾小管细胞焦亡^[5]。证明细胞焦亡参与缺血再灌注导致的急性肾损伤。在盲肠结扎穿孔术 (cecal ligation and puncture, CLP) 脓毒血症导致的急性肾损伤的动物模型中,肾组织中焦亡相关蛋白 NLRP3、ASC、caspase - 1、IL - 1 β 和 IL - 18 表达增加。敲除 NLRP3 导致 ASC、caspase - 1、IL - 1 β 以及 IL - 18 表达下降,可减轻 CLP 诱导的急性肾损伤小鼠中性粒细胞浸润、血压下降、肾功能损伤;相似的,使用焦亡相关蛋白 caspase - 1 抑制剂可显著改善 CLP 诱导的急性肾损伤^[6]。实验表明细胞焦亡加重脓毒血症诱导的急性肾损伤的病理损害,并且抑制细胞焦亡能减轻其损伤。类似研究发现造影剂诱导的肾损伤动物模型中肾组织 caspase - 1、IL - 1 β 、IL - 18 和 NLRP3 表达增加,用 NLRP3 - siRNA 下调 NLRP3 表达可明显缓解造影剂诱导的肾小管细胞损伤^[7]。Komada 等^[8]注射甘油模拟横纹肌溶解导致的急性肾损伤动物模型中发现肾脏 NLRP3、ASC、caspase - 1 和 IL - 1 β 表达均上调,进一步研究显示,与对照组比较,分别敲除 NLRP3、ASC、caspase - 1 和 IL - 1 β 的小鼠肾小管损害均显著缓解。另外,研究发现山莨菪碱对横纹肌溶解所致细胞损伤的保护作用与抑制 TXNIP、NLRP3 炎性小体的活化,进而下调 ASC、caspase - 1、IL - 1 β 、IL - 18 表达有关^[9]。证明细胞焦亡参与多种病因诱导的急性肾损伤的病理损害。

上述研究均表明细胞焦亡加重急性肾损伤的病理损害,抑制细胞焦亡对急性肾损伤起保护作用。由此推测 NLRP3 - caspase - 1 介导的细胞焦亡是急性肾损伤的重要生物学事件,参与急性肾损伤的病理损害过程,并且可以通过下调细胞焦亡缓解急性肾功能损伤。急性肾损伤病死率高,但目前临床上没有特异性的治疗方法,上述研究表明 NLRP3 - caspase - 1 介

导的细胞焦亡有望成为治疗急性肾损伤的新靶点。

2. 糖尿病肾病:糖尿病肾病是糖尿病的严重并发症,持续性肾脏组织的无菌性炎性反应是糖尿病肾病重要的病理生理基础,是糖尿病肾病的重要特征,并且越来越多研究表明糖尿病肾病进展与炎性因子活化有关。临床研究发现,与无蛋白尿的糖尿病患者及非糖尿病患者比较,有蛋白尿的糖尿病患者 IL - 1 β 、NLRP3 表达水平显著升高,且血清 IL - 1 β 水平与蛋白尿水平呈正相关^[10]。进一步临床试验发现,抑制 IL - 1 β 可以缓解 2 型糖尿病^[11]。NLRP3 炎性小体能够调节 caspase - 1 前体活化并促使炎性因子活化及释放,并由此调控细胞焦亡,因此有理由认为 NLRP3 炎性小体介导的细胞焦亡在糖尿病肾病中具有极其重要的作用。实验发现,STZ 诱导的糖尿病肾病模型动物中 NLRP3、ASC、caspase - 1、IL - 1 β 和 IL - 18 表达均较同龄对照组上调,通过抑制 NLRP3 炎性小体的活化,下调 caspase - 1、IL - 1 β 和 IL - 18 表达可以减轻糖尿病肾病肾纤维化,缓解糖尿病肾病的进展,对糖尿病肾病起保护作用^[12,13]。该研究证明 NLRP3 炎性小体介导的细胞焦亡参与糖尿病肾病的进展,并且抑制细胞焦亡对糖尿病肾病起保护作用。临床发现姜黄素具有保护肾脏,抗纤维化作用。Lu 等^[14]实验证明,姜黄素通过抑制 NLRP3 炎性小体,下调 caspase - 1 和 IL - 1 β 可改善糖尿病肾纤维化情况,对肾脏起保护作用,表明姜黄素对糖尿病肾病的保护作用与其抑制 NLRP3 介导的细胞焦亡有关。Shahzad 等^[15]研究表明糖尿病肾病时焦亡相关蛋白 caspase - 1 活化先于凋亡相关蛋白 caspase - 3 活化,并且抑制 caspase - 1 对糖尿病肾病具有显著保护作用,而抑制 caspase - 3 无明显效果。表明细胞焦亡对糖尿病肾病的影响或许大于细胞凋亡对糖尿病肾病的影响,但该结论尚需进一步验证。上述研究表明, NLRP3 炎性小体介导的细胞焦亡在糖尿病肾病中具有极其重要的作用,并且抑制 NLRP3 炎性小体活化介导的细胞焦亡有望为治疗糖尿病肾病,延缓糖尿病肾病的进展提供新方向。

3. 肾结石:肾结石的主要成分是草酸盐结晶。研究发现草酸盐结晶刺激肾组织 NLRP3 炎性小体活化,上调 ASC、caspase - 1、IL - 1 β 的表达^[16]。证明细胞焦亡参与肾结石中肾组织病理改变。Knauf 等^[17]发现,过量可溶性草酸盐饮食所致的肾结石模型动物肾组织中 NLRP3 炎性小体明显活化,抑制 NLRP3 炎性小体活化可缓解肾功能进行性损害并降

低病死率。Ludwig - Portugall 等^[18]发现类似的现象,高嘌呤饮食诱导的肾结石动物模型肾组织中炎性小体活化,伴 IL - 1 β 和 IL - 18 水平上调及肾纤维化,而早期使用 NLRP3 炎性小体特异性抑制剂可下调 IL - 1 β 和 IL - 18 水平,并减轻结石导致的肾脏纤维化程度。表明 NLRP3 炎性小体介导的细胞焦亡加重肾结石中肾组织的病理损害,抑制 NLRP3 炎性小体介导的细胞焦亡能降低肾结石中肾组织肾损害程度,并对肾结石中肾组织起保护作用。但 NLRP3 炎性小体抑制剂对已发生纤维化的肾脏无逆转作用。因此笔者有理由推断,NLRP3 炎性小体介导的细胞焦亡加重肾结石导致的肾脏组织纤维化程度,并且早期抑制 NLRP3 介导的细胞焦亡可能是治疗或缓解肾纤维化的方法。

4. 其他肾脏病:研究证实 NLRP3 炎性小体活化以及 IL - 1 β 和 IL - 18 促炎因子在多种慢性肾脏病中起重要作用,NLRP3 炎性小体活化与慢性肾脏疾病的发生、发展密切相关。

近年来研究发现 NLRP3 炎性小体的活化不仅存在于免疫细胞,还存在于肾固有细胞中,参与肾小管内皮细胞和足细胞损伤,并最终导致慢性肾衰竭^[19]。醛固酮在足细胞损伤中起重要作用。Bai 等^[20]发现醛固酮刺激足细胞 NLRP3、caspase - 1 和 IL - 18 的表达,时间剂量呈正相关,抑制或敲除 NLRP3 可以缓解醛固酮导致的足细胞损伤,这表明 NLRP3 介导的细胞焦亡参与足细胞损伤。蛋白尿是慢性肾脏病进展的独立危险因素并且影响其预后。NLRP3 表达水平与蛋白尿程度呈正相关,白蛋白可以直接刺激肾小管上皮细胞,通过活化 NLRP3、caspase - 1 破坏肾小管细胞的紧密连接,导致近端小管功能缺陷^[21]。用 siRNA 下调 NLRP3 表达可以减轻白蛋白导致肾小管细胞损伤,提示 NLRP3 炎性小体介导的细胞焦亡在肾小管细胞损伤中起重要作用^[22]。NLRP3 炎性小体介导的细胞焦亡参与肾小管细胞损伤,并且抑制 NLRP3 介导的细胞焦亡对肾小管细胞损伤起保护作用。

在 5/6 肾切除的肾纤维化模型的研究中肾脏 NLRP3、caspase - 1、IL - 1 β 表达水平持续升高,NLRP3 基因敲除可明显下调 IL - 1 β 和 IL - 18 水平,减少细胞外基质沉积,改善肾小管间质纤维化程度,维持肾小管细胞线粒体形态并减少蛋白尿^[23]。反之,NLRP3 的过表达会加重慢性肾脏病的肾损害程度。类似的,单侧输尿管结扎动物模型出现显著的线粒体功能障碍及肾纤维化,肾组织中焦亡相关蛋白

caspase - 1/IL - 1 β 表达水平增加,细胞焦亡活化且 IL - 1 β 、IL - 18 和 NLRP3 表达水平随着时间增加,通过下调焦亡相关蛋白 caspase - 1/IL - 1 β 或敲除 NLRP3 可改善线粒体功能及肾纤维化^[24]。上述研究表明 NLRP3 介导的细胞焦亡促进慢性肾衰竭进展,加重肾纤维化程度,并且抑制 NLRP3 炎性小体介导的细胞焦亡延缓慢性肾衰竭的进展,减轻肾纤维化程度,对慢性肾衰竭及肾纤维化起保护作用。

目前也存在与该结论不一致的研究,Pulsikens 等^[25]发现敲除 NLRP3 的单侧输尿管结扎小鼠早期肾损伤较野生型小鼠更明显,并且与野生型小鼠组相比 NLRP3 基因敲除对肾纤维化以及炎症反应无明显影响,其机制与 NLRP3 炎性小体具有防止早期肾间质水肿并维持血管完整性有关。因此抑制 NLRP3 炎性小体活化在单侧输尿管结扎动物模型中对肾纤维化的作用还存在争议,还需更充分的实验进行验证。

此外发现狼疮性肾炎的动物模型肌酐升高及蛋白尿,伴 NLRP3 以及 IL - 1 β 表达水平上调,通过调节 P2X7 下调 NLRP3 的表达可以缓解狼疮性肾炎蛋白尿及肌酐水平^[26]。该研究提示 NLRP3 炎性小体介导的细胞焦亡参与狼疮性肾炎的进展,临床上可以通过抑制 NLRP3 炎性小体介导的细胞焦亡,从而减少炎性介质的释放来缓解狼疮性肾炎的肾组织损害。肾组织活检发现 IgA 肾病、微小病变型肾病、膜性肾病、局灶节段性硬化、高血压性肾病肾组织中 NLRP3 水平均较正常肾组织显著升高^[21,26]。Muckle - Wells 综合征是一种比较罕见的自身免疫性疾病,由于 NLRP3 基因突变,导致过度的 caspase - 1 活化以及 IL - 1 β 的释放。随着病情进展高达 25% 的 Muckle - Wells 综合征患者出现肾淀粉样变性导致的蛋白尿以及肾衰竭,而炎症因子抑制剂的应用对这类患者有明显的疗效^[27]。在艾滋病相关性肾病的研究中发现,HIV 转基因小鼠(Tg26)表现为 NLRP3、ASC、caspase - 1 和 IL - 1 β 蛋白以及 mRNA 的表达水平上升。人类免疫缺陷病毒导致足细胞焦亡是具有时间和量依赖的。使用 caspase - 1 抑制剂会减少 caspase - 1 和 IL - 1 β 的表达,减少足细胞焦亡,对艾滋病相关性肾病起保护作用^[28]。研究提示细胞焦亡参与多种肾脏疾病的进展,抑制细胞焦亡可缓解肾脏疾病的病理损害。

上述研究表明,NLRP3、caspase - 1 和 IL - 1 β 是许多肾脏疾病进展的危险因素并影响肾脏疾病的预后。无菌性炎症反应是许多肾脏疾病的临床特征,在

肾脏疾病的进展中发挥重要作用。NLRP3 炎性小体介导的细胞焦亡通过促进炎症因子的成熟和释放参与许多肾脏疾病的进展。并且可以通过抑制 NLRP3 炎性小体介导的细胞焦亡,减少细胞焦亡诱发的炎症反应对许多肾脏疾病起缓解作用。因此调控 NLRP3 - caspase - 1 介导的细胞焦亡有望为肾脏疾病的诊治提供新方向。

四、展 望

肾脏疾病具有发生率高、病程长、疗效不理想、治疗药物不良反应多等特点。因此寻找肾脏疾病治疗过程中的新的干预方式具有极其重要的意义。综上所述,NLRP3 - caspase - 1 介导的细胞焦亡在诸多肾脏疾病的进展中发挥着极其重要的角色。NLRP3、caspase - 1、IL - 18 和 IL - 1 β 水平是许多肾脏疾病进展的危险因素并影响肾脏疾病的预后。目前相关研究主要通过间接检测方法反映焦亡水平,期待更为直接的检测技术,为细胞焦亡在肾疾病中的作用提供更确切的证据。焦亡与凋亡、自噬之间的关系、它们之间存在怎样的相互作用以及是否相互转换还有待进一步阐明。细胞焦亡是否在肾脏疾病中具有双刃作用,适度的细胞焦亡起保护作用,而过度细胞焦亡起损伤作用,仍有待于进一步探索。深入研究 NLRP3 - caspase - 1 介导的细胞焦亡在肾脏疾病发生、发展和转归中的分子机制,有望为临床治疗肾脏疾病提供新思路。

参考文献

- De Zoete MR, Palm NW, Zhu S, *et al.* Inflammasomes[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2014, 6(12):a16287
- Broderick L, De Nardo D, Franklin BS, *et al.* The inflammasomes and autoinflammatory syndromes [J]. Annu Rev Pathol, 2015, 10: 395 - 424
- He WT, Wan H, Hu L, *et al.* Gasdermin D is an executor of pyroptosis and required for interleukin - 1 beta secretion [J]. Cell Res, 2015, 25(12):1285 - 1298
- Ding J, Wang K, Liu W, *et al.* Pore - forming activity and structural autoinhibition of the gasdermin family [J]. Nature, 2016, 535(7610):111 - 116
- Yang JR, Yao FH, Zhang JG, *et al.* Ischemia - reperfusion induces renal tubule pyroptosis via the CHOP - caspase - 11 pathway[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2014, 306(1):F75 - F84
- Cao Y, Fei D, Chen M, *et al.* Role of the nucleotide - binding domain - like receptor protein 3 inflammasome in acute kidney injury [J]. FEBS J, 2015, 282(19):3799 - 3807
- Tan X, Zheng X, Huang Z, *et al.* Involvement of S100A8/A9 - TLR4 - NLRP3 Inflammasome Pathway in Contrast - Induced Acute Kidney Injury[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 43(1):209 - 222
- Komada T, Usui F, Kawashima A, *et al.* Role of NLRP3 inflammasomes for rhabdomyolysis - induced acute kidney injury[J]. Sci Rep, 2015, 5:10901
- Yuan X, Zheng Y, Chen C, *et al.* Anisodamine inhibits endoplasmic reticulum stress - associated TXNIP/NLRP3 inflammasome activation in rhabdomyolysis - induced acute kidney injury [J]. Apoptosis, 2017, 22(12):1524 - 1531
- 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
- Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A, *et al.* Interleukin - 1 - receptor antagonist in type 2 diabetes mellitus[J]. N Engl J Med, 2007, 356(15):1517 - 1526
- Yi H, Peng R, Zhang LY, *et al.* LincRNA - Gm4419 knockdown ameliorates NF - kappaB/NLRP3 inflammasome - mediated inflammation in diabetic nephropathy[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(2):e2583
- Wang S, Li Y, Fan J, *et al.* Interleukin - 22 ameliorated renal injury and fibrosis in diabetic nephropathy through inhibition of NLRP3 inflammasome activation[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(7):e2937
- Lu M, Yin N, Liu W, *et al.* Curcumin ameliorates diabetic nephropathy by suppressing NLRP3 inflammasome signaling [J]. Biomed Res Int, 2017, 2017:1516985
- Shahzad K, Bock F, Al - Dabet MM, *et al.* Caspase - 1, but not caspase - 3, promotes diabetic nephropathy [J]. J Am Soc Nephrol, 2016, 27(8):2270 - 2275
- Mulay SR, Kulkarni OP, Rupanagudi KV, *et al.* Calcium oxalate crystals induce renal inflammation by NLRP3 - mediated IL - 1beta secretion[J]. J Clin Invest, 2013, 123(1):236 - 246
- Knauf F, Asplin JR, Granja I, *et al.* NALP3 - mediated inflammation is a principal cause of progressive renal failure in oxalate nephropathy [J]. Kidney Int, 2013, 84(5):895 - 901
- Ludwig - Portugal I, Bartok E, Dhana E, *et al.* An NLRP3 - specific inflammasome inhibitor attenuates crystal - induced kidney fibrosis in mice [J]. Kidney Int, 2016, 90(3):525 - 539
- Conley SM, Abais JM, Boini KM, *et al.* Inflammasome activation in chronic glomerular diseases[J]. Curr Drug Targets, 2017, 18(9):1019 - 1029
- Bai M, Chen Y, Zhao M, *et al.* NLRP3 inflammasome activation contributes to aldosterone - induced podocyte injury[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2017, 312(4):F556 - F564
- Vilaysane A, Chun J, Seamone M E, *et al.* The NLRP3 inflammasome promotes renal inflammation and contributes to CKD [J]. J Am Soc Nephrol, 2010, 21(10):1732 - 1744
- Zhuang Y, Zhao F, Liang J, *et al.* Activation of COX - 2/mPGES - 1/PGES Cascade via NLRP3 inflammasome contributes to albumin - induced proximal tubule cell injury[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 42(2):797 - 807
- Gong W, Mao S, Yu J, *et al.* NLRP3 deletion protects against renal fibrosis and attenuates mitochondrial abnormality in mouse with 5/6 nephrectomy[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2016, 310(10):F1081 - F1088