

细胞焦亡在心血管疾病中的研究

刘 思 张荣驿 胡厚祥

【摘要】 细胞焦亡是一种程序性细胞死亡方式,主要通过激活 NOD 样受体(NOD-like receptors, NLRs),尤其是 NLPR3 炎性小体及其下游效应炎性因子或 miRNA 基因起调节作用。该文介绍细胞焦亡与心血管疾病相关的研究进展。

【关键词】 细胞焦亡;心血管疾病;NLRP3 炎性小体

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2017.02.0011

1 概述

细胞焦亡(pyroptosis)最初是在观察鼠感染伤寒沙门氏菌的巨噬细胞死亡时发现的^[1],作为微生物感染最初的重要防御机制,其发生主要依赖胱天蛋白酶(caspase)-1 的激活,而不是细胞凋亡时的 caspase-3^[2]。细胞焦亡既有类似凋亡时细胞核的固缩、脱氧核糖核酸(DNA)片段化、原位末端标记法(TUNEL)染色阳性等,又有类似坏死时胞膜裂解,胞内容物释放到胞外引起炎症反应^[3]。细胞焦亡是一种特殊的非凋亡的细胞程序性死亡,主要与 NLRP3 炎性小体及其下游效应炎性因子的激活有关。TUNEL 染色、细胞核染色等可作为观察细胞焦亡的方法。

2 细胞焦亡与心血管疾病

2.1 动脉粥样硬化

炎性因子、脂质、内皮损伤与动脉粥样硬化都存在一定联系,特别是 NLRP3 炎性小体与动脉粥样硬化密切相关^[4-5]。

NLRP3 炎性小体通过 Toll 样受体(TLRs)识别修饰低密度脂蛋白(LDL)和单核细胞中的清道夫受体,促进动脉粥样硬化的发生。修饰的 LDL 诱导单核细胞中胆固醇晶体形成,引起溶酶体破裂,释放组织蛋白酶。组织蛋白酶再联合外流钾离子和氧化应激产物,共同调节 NLRP3 炎性小体,导致 caspase-1 激活及白细胞介素(IL)-1 β 和 IL-18 成熟释放,促进炎症反应,参与动脉粥样硬化形成^[6-7]。Zheng 等^[8]发现,在动脉粥样硬化模型中的损伤区

域,NLRP3 基因沉默不仅能抑制炎性因子的产生,阻止斑块的发展,还可减少斑块中脂质及基质金属蛋白酶(MMP),增加平滑肌及胶原纤维,稳定斑块。Chen 等^[9]通过金属镉诱导人脐静脉内皮细胞,发现线粒体活性氧(mtROS)可激活 NLRP3 炎性小体,引发炎症反应,同时通过细胞核染色证实内皮细胞发生焦亡。

2.2 急性冠脉综合征(ACS)

2.2.1 心肌梗死 Afrasyab 等^[10]采用多变量 Cox 回归分析 ACS 患者的 NLRP3 水平与冠状动脉粥样硬化的关系,发现 NLRP3 可作为主要严重心脏事件的独立预测因子($P=0.043$),且有很好的预测价值。此外,心肌梗死后无菌性炎症反应也主要通过炎性因子激活及释放产生^[11]。

Mezzaroma 等^[12]发现,心肌梗死模型的梗死边缘区心肌细胞凋亡相关微粒蛋白 NLRP3、caspase-1 在第 7 天时较第 3 天明显增多,并且发现单独 caspase-1 抑制剂组比 caspase-1 抑制剂 + 缺血组和 caspase-1 抑制剂 + 脂多糖(LPS) + 三磷酸腺苷(ATP)组的细胞凋亡明显减少。注射大剂量 NLRP3 和 ATP 受体通道(P2X7)的小干扰 RNA(siRNA),可使 NLRP3 和 P2X7 基因沉默,在心肌梗死后第 3 天,caspase-1 活性可被抑制。Marchetti 等^[13]发现,caspase-1 抑制剂可抑制 caspase-1 途径导致的 90%炎症反应,并且经台盼蓝拒染实验发现心肌梗死面积明显减少,说明炎性小体促进细胞焦亡可能与 caspase-1 的活性相关。

2.2.2 缺血再灌注损伤 心肌缺血再灌注损伤机制主要与 Bcl2/Bax、钙超载、氧自由基损伤、线粒体膜通透性转换孔(mPTP)、caspase-3/9、内质网等有关^[14]。Sandanger 等^[15]发现,在心肌梗死后第 3 天

和第 7 天,心肌缺血再灌注模型组 NLRP3、IL-1 和 IL-18 表达水平较假手术组明显增多。对成年小鼠的心脏成纤维母细胞给予 LPS 和 ATP 处理,发现细胞外的 ATP 可导致 NLRP3 炎性小体在心脏成纤维细胞中聚集,促进 IL-1 β 和 IL-18 的释放。此外,NLRP3^{-/-}小鼠和野生型(WT)小鼠在缺血再灌注处理后,前者的心脏功能明显较好,心肌细胞凋亡较少。心肌梗死后 NLRP3 炎性小体在心脏成纤维细胞中显著增多,可促进缺血再灌注损伤和心肌细胞焦亡。

Liu 等^[16]将 C57BL/6J 小鼠开胸结扎前降支建立缺血再灌注模型,发现缺血心脏中 NLRP3 及 caspase-1 活性增加,IL-1 β 和 IL-18 增多。分别给予心肌注射 NLRP3 siRNA 和腹腔注射 NLRP3 抑制剂,发现 NLRP3 活性降低,caspase-1 和 IL-1 β 减少,TUNEL 染色阳性率下降,心肌细胞焦亡减少。再分别向各组心肌注射针对 NLRP3、硫氧还蛋白互作蛋白(Txnip)、对照组 siRNA 的慢病毒,结果表明 Txnip 通过调节心脏微血管内皮细胞中的 NLRP3 炎性小体,阻止 Txnip/NLRP3 信号通道,抑制 NLRP3 炎性小体发挥作用。

2.3 细胞焦亡与心力衰竭

2.3.1 糖尿病心肌病 微小 RNA(miRNA)可能参与细胞焦亡的早期过程^[17]。Li 等^[18]给大鼠注射链脲霉素并给予高脂饮食建立糖尿病模型,同时在体外高糖环境下培养心肌细胞,发现一定浓度的高糖可增强 miRNA 的表达,通过抑制转录因子 Foxo3a 及其下游蛋白表达,增加 caspase-1 活性及 IL-1 β 和 IL-18 表达水平,同时细胞核染色显示凋亡细胞增加,提示 miRNA 可促进细胞焦亡。

Luo 等^[19]将糖尿病大鼠模型分组,经颈静脉分别注射空载体慢病毒和 NLRP3-miRNA 慢病毒,NLRP3-miRNA 慢病毒组较空载体慢病毒组的 NLRP3 基因减少 70% 以上,caspase-1 活性、IL-1 β 和 IL-18 水平明显降低;TUNEL 染色及细胞凋亡和坏死定量检测发现细胞凋亡量明显减少,提示 NLRP 基因沉默可改善心肌炎症反应,减少细胞焦亡。NLRP3 基因沉默可能成为糖尿病心肌病基因治疗的新方向。

2.3.2 心肌重构 IL-1 β 可诱发心肌肌浆网中的钙离子溢出,直接影响钙离子的内环境、心肌收缩和兴奋收缩偶联,损伤心肌收缩功能;IL-1 β 还又可刺激诱导型一氧化氮合酶(iNOS)合成,导致细胞

死亡和组织重构。凋亡相关微粒蛋白可促进炎性小体形成,从而激活 caspase-1,释放 IL-1 β 和 IL-18。IL-18 可促进肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和 iNOS 生成,而 TNF- α 又反作用于 caspase-1,从而形成炎症反应瀑布,共同促进细胞焦亡,最终使心肌细胞丢失而导致心力衰竭^[20-21]。Mezzaroma 等^[12]在大鼠心肌梗死后的第 7 天,测量左室舒张末期内径(LVEDD)和收缩末期内径(LVESD)、左室质量,间接评估心脏重构,结果发现与基因正常组相比,NLRP3 和 P2X7 基因沉默组心脏 LVEDD、LVESD 和左室偏心率较低,提示调控细胞焦亡可改善心脏重构。

总之,细胞焦亡主要表现为 NLRP3 炎性小体激活,caspase-1 及其下游细胞因子成熟并释放,引发非细菌性炎症反应和细胞凋亡。细胞焦亡参与动脉粥样硬化性疾病、ACS、心力衰竭等的发病过程,其具体机制尚需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Brennan MA, Cookson BT. Salmonella induces macrophage death by caspase-1-dependent necrosis[J]. Mol Microbiol, 2000, 38(1):31-40.
- [2] Duprez L, Wirawan E, Berghe T, et al. Major cell death pathways at a glance[J]. Microbes Infect, 2009, 11(13): 1050-1062.
- [3] Galluzzi L, Vitale I, Abrams JM, et al. Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the nomenclature committee on cell death 2012[J]. Cell Death Differ, 2012, 19(1):107-120.
- [4] 陈海燕,谭春燕,胡厚祥. NLRP3 炎症小体与动脉粥样硬化的研究进展[J]. 国际心血管病杂志, 2015, 42(5):329-331.
- [5] Chang W, Lin J, Dong J, et al. Pyroptosis: an inflammatory cell death implicates in atherosclerosis[J]. Med Hypotheses, 2013, 81(3):484-486.
- [6] Altaf A, Qu P, Zhao Y, et al. NLRP3 inflammasome in peripheral blood monocytes of acute coronary syndrome patients and its relationship with statins[J]. Coronary Artery Dis, 2015, 26(5):409-421.
- [7] Jiang Y, Wang M, Huang K, et al. Oxidized low-density lipoprotein induces secretion of interleukin-1 β by macrophages via reactive oxygen species-dependent NLRP3 inflammasome activation[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 425(2):121-126.
- [8] 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, 2014:507208.

- 400-405.
- [8] Pan D, Zhu Q, Luo K. SnoN functions as a tumor suppressor by inducing premature senescence[J]. *EMBO J*, 2009, 28 (22):3500-3513.
- [9] Dobaczewski M, Chen W, Frangogiannis NG. Transforming growth factor (TGF)- β signaling in cardiac remodeling[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2011, 51(4):600-606.
- [10] Tao Z, Ge Y, Zhou N, et al. Puerarin inhibits cardiac fibrosis via monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 and transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) pathway in myocardial infarction mice[J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8 (10):4425-4433.
- [11] Bujak M, Frangogiannis NG. The role of TGF- β signaling in myocardial infarction and cardiac remodeling[J]. *Cardiovasc Res*, 2007, 74(2):184-195.
- [12] Zhang Y, Feng X, We R, et al. Receptor-associated Mad homologues synergize as effectors of the TGF-beta receptor [J]. *Nature*, 1996, 383(6596):168-172.
- [13] Gu W, Monteiro R, Zuo J, et al. A novel TGF- β modulator that uncouples R-Smad/I-Smad-mediated negative feedback from R-Smad/ligand-driven positive feedback[J]. *PLoS Biol*, 2015, 13(2):e1002051.
- [14] Liu L, Wang Y, Yan R, et al. Oxymatrine inhibits renal tubular EMT induced by high glucose via upregulation of SnoN and inhibition of TGF- β 1/Smad signaling pathway[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3):e0151986.
- [15] Wu JW, Krawitz AR, Chai J, et al. Structural mechanism of Smad4 recognition by the nuclear oncoprotein Ski: insights on Ski-mediated repression of TGF-beta signaling [J]. *Cell*, 2002, 111(3):357-367.
- [16] 杨壮智, 阳 韬, 陈永平. SnoN 蛋白在肝纤维化大鼠肝组织中的表达及其意义[J]. *医学研究杂志*, 2011, 40(9):37-41.
- [17] Marquez-Aguirre A, Sandoval-Rodriguez A, Gonzalez-Cuevas J, et al. Adenoviral delivery of dominant-negative transforming growth factor beta type II receptor up-regulates transcriptional repressor SKI-like oncogene, decreases matrix metalloproteinase 2 in hepatic stellate cell and prevents liver fibrosis in rats[J]. *J Gene Med*, 2009, 11(3):207-219.
- [18] Tang H, Su H, Fan D, et al. MAD2B-mediated SnoN downregulation is implicated in fibroblast activation and tubulointerstitial fibrosis[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2016, 311(1):F207-216.
- [19] Jahchan NS, You YH, Muller WJ, et al. Transforming growth factor-beta regulator SnoN modulates mammary gland branching morphogenesis, postlactational involution, and mammary tumorigenesis[J]. *Cancer Res*, 2010, 70 (10): 4204-4213.

(收稿:2016-11-07 修回:2017-01-17)

(本文编辑:胡晓静)

(上接第 101 页)

- [9] Chen H, Lu Y, Cao Z, et al. Cadmium induces NLRP3 inflammasome-dependent pyroptosis in vascular endothelial cells[J]. *Toxicol Lett*, 2016, 246:7-16.
- [10] Afrasyab A, Qu P, Zhao Y, et al. Correlation of NLRP3 with severity and prognosis of coronary atherosclerosis in acute coronary syndrome patients[J]. *Heart Vessels*, 2016, 31(8):1218-1229.
- [11] Fang L, Moore XL, Dart AM, et al. Systemic inflammatory response following acute myocardial infarction[J]. *J Geriatr Cardiol*, 2015, 12(3):305-312.
- [12] Mezzaroma E, Toldo S, Farkas D, et al. The inflammasome promotes adverse cardiac remodeling following acute myocardial infarction in the mouse[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(49):19725-19730.
- [13] Marchetti C, Chojnacki J, Toldo S, et al. A novel pharmacologic inhibitor of the NLRP3 inflammasome limits myocardial injury after ischemia-reperfusion in the mouse[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2014, 63(4):316-322.
- [14] Zhou T, Chuang CC, Zuo L. Molecular characterization of reactive oxygen species in myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015:864946.
- [15] Sandanger O, Ranheim T, Vinge LE, et al. The NLRP3 inflammasome is up-regulated in cardiac fibroblasts and mediates myocardial ischaemia-reperfusion injury [J]. *Cardiovasc Res*, 2013, 99(1):164-174.
- [16] Liu Y, Lian K, Zhang L, et al. TXNIP mediates NLRP3 inflammasome activation in cardiac microvascular endothelial cells as a novel mechanism in myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *Basic Res Cardiol*, 2014, 109(5):415.
- [17] Lee S, Choi E, Cha MJ, et al. Looking for pyroptosis-modulating miRNAs as a therapeutic target for improving myocardium survival [J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015:254871.
- [18] Li X, Du N, Zhang Q, et al. MicroRNA-30d regulates cardiomyocyte pyroptosis by directly targeting foxo3a in diabetic cardiomyopathy [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5 (10):e1479.
- [19] Luo B, Li B, Wang W, et al. NLRP3 gene silencing ameliorates diabetic cardiomyopathy in a type 2 diabetes rat model[J]. *PloS One*, 2014, 9(8):e104771.
- [20] Bracey NA, Beck PL, Muruve DA, et al. The NLRP3 inflammasome promotes myocardial dysfunction in structural cardiomyopathy through interleukin-1 β [J]. *Exp Physiol*, 2013, 98(2):462-472.
- [21] Butts B, Gary RA, Dunbar SB, et al. The importance of NLRP3 inflammasome in heart failure[J]. *J Card Fail*, 2015, 21(7):586-593.

(收稿:2016-09-10 修回:2016-10-19)

(本文编辑:丁媛媛)