

消化道皮肤素 D 介导的细胞焦亡与心力衰竭

杨昆鹏 王立平 黄菊 陈冬雪 赵鹏

【摘要】 心力衰竭(心衰)是各种心血管疾病的终末阶段,与炎症反应密切相关。炎症反应可促进内皮细胞消化道皮肤素 D(GSDMD)分裂加速和白细胞介素(IL)-1 β 、IL-18 等因子释放,促使细胞发生焦亡。该文主要介绍 GSDMD 的结构与功能、GSDMD 介导的细胞焦亡在心衰发生发展中的作用和以 GSDMD 为靶点的心衰治疗策略。

【关键词】 心力衰竭;细胞焦亡;消化道皮肤素 D;白细胞介素-1 β ;白细胞介素-18

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2021.02.001

心力衰竭(心衰)是大多数心血管疾病的终末阶段,严重威胁人类健康^[1]。心衰的主要病理生理学机制较为复杂,包括心室重构、炎症反应、神经内分泌系统激活、氧化应激等,其中,炎症反应在心衰的发生发展中发挥重要作用^[2]。细胞焦亡是近年发现的一种新型促炎性程序性死亡,与多种心血管疾病的发生发展有关;消化道皮肤素 D(GSDMD)是细胞焦亡的中枢效应蛋白,可能参与上皮细胞的发育、凋亡、炎症反应、癌变及免疫系统疾病等多个病理生理过程^[3]。

1 GSDMD 蛋白

1.1 GSDMD 蛋白的结构

Gasdermins(GSDMs)家族是近年发现的蛋白家族,包括 GSDMA、GSDMB、GSDMC、GSDMD、GSDME 和 Pejvakin(PJVK,又称 DFNB59)等 6 种蛋白,GSDMD 是目前研究最多的蛋白,并在细胞焦亡中发挥关键作用。2015 年,Shi 等^[4]利用 CRISPR/Cas9 基因组编辑技术,分别对小鼠巨噬细胞中胱天蛋白酶(caspase)-1 和 caspase-11 介导的细胞焦亡途径进行全基因组范围的遗传筛选,证实了 GSDMD 的存在。

GSDMD 由 3 部分组成:(1)含 242 个氨基酸的 N 末端结构域(GSDMD-NT);(2)含 43 个氨基酸的结构域连接物;(3)含 199 个氨基酸的 C 末端结构域

(GSDMD-CT)^[5]。GSDMD 特殊的双结构域可起到自抑制作用,即 GSDMD-CT 与 GSDMD-NT 结合可以相互抑制^[6]。GSDMD 经 caspase-1/4/5/11 裂解后,去除了 GSDMD-CT 及其自抑制作用,释放出具有成孔活性的 GSDMD-NT。Kayagaki 等^[7]研究发现,GSDMD-NT 过表达可以加速细胞焦亡过程,而完整的 GSDMD 或切割后形成的 GSDMD-CT 不具有细胞毒性,且胞质中 GSDMD-CT 的表达水平显著高于 GSDMD-NT^[8]。Aglietti 等^[9]研究发现,GSDMD 活化后,GSDMD-CT 溶解在胞质中,而 GSDMD-NT 则结合在脂质体上。Ding 等^[10]研究发现,GSDMD-NT 可以特异地结合在以磷脂酰肌醇或心磷脂为主要成分的质膜的脂质体上。这些研究提示 GSDMD-NT 能够与生物膜结合。

1.2 GSDMD 的成孔作用

在 Caspase 介导的炎症反应中,GSDMD 裂解可去除无活性的 GSDMD-CT,释放出有活性的 GSDMD-NT。Liu 等^[11]观察到 GSDMD-NT 是高分子量低聚物,可以在非还原性或天然聚丙烯酰胺凝胶上进行迁移,表明 GSDMD-NT 的齐聚性质。经过差速离心,高分子量 GSDMD-NT 低聚物仅存在于细胞膜组分中,而完整的 GSDMD 存在于胞浆中,免疫荧光共聚焦显微镜下可见 GSDMD-NT 能从细胞浆向细胞膜迁移。

蛋白质脂质结合分析结果显示,GSDMD-NT 可以与细胞膜的成分磷脂酰肌醇磷酸酯、磷脂酰肌醇、磷脂酸以及磷脂酰丝氨酸等结合。Ding 等^[10]在脂质体渗漏试验中发现,GSDMD-NT 能够分解含有磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇单磷酸、磷脂酰肌醇二磷酸或心磷脂的脂质体膜,表明 GSDMD-NT

基金项目:国家自然科学基金(81301276);哈医大一院院基金(2007027)

作者单位:150001 哈尔滨医科大学附属第一医院心血管内科(杨昆鹏,黄菊,陈冬雪,赵鹏);100872 北京,中国人民大学医院放射科(王立平)

通信作者:赵鹏,E-mail:hrbzyz@sina.com

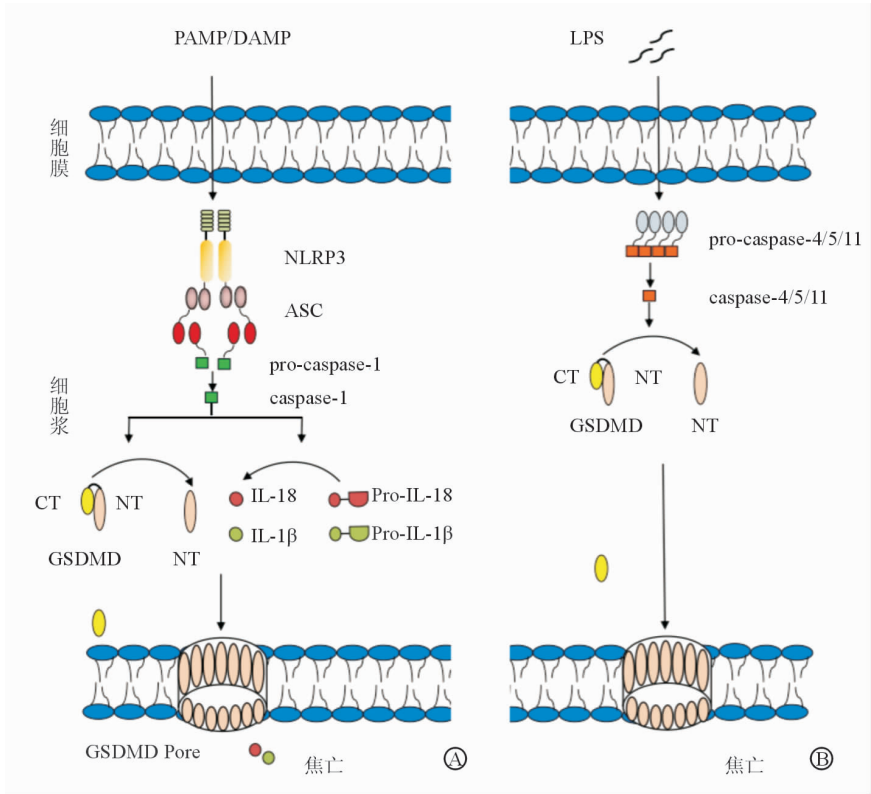
可在脂质双层上打孔,从而破坏细胞。采用负染色电子显微镜观察 GSDMD-NT 对脂质体的作用时,可观察到 GSDMD-NT 在脂质体的胞膜上形成内径 15 nm、外径 32 nm 的环状孔洞,证实 GSDMD-NT 在质膜上可以形成足够大的孔洞,有利于直径 ≤ 10 nm 的小分子自由通过。

2 细胞焦亡

细胞焦亡是伴随炎症反应的细胞程序性死亡方式^[12],需要依赖 caspase-1/4/5/11 的活性,这是与细胞凋亡的区别所在。细胞焦亡的特征包括 GSDMs 家族介导的质膜孔洞形成,细胞肿胀,质膜破裂,细胞内促炎性细胞因子如白细胞介素 (IL)-1 β 、IL-18、高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1) 的释放等^[13]。GSDMD 作为细胞焦亡的直接和最终执行者,在被 caspase-1/4/5/11 激活后,裂解形成 GSDMD-NT,通过在细胞膜上形成孔洞触发细胞焦亡的发生。

炎性小体是免疫系统的重要组成部分,在多种免疫细胞中表达并可被多种因子激活,引发细胞焦亡。

核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NLRP3) 是研究较为广泛的炎性小体,可以识别细菌等病原体相关分子模式 (PAMP),也可以识别胆固醇等危险相关分子模式 (DAMP)。在经典的细胞焦亡途径中, NLRP3 可被 PAMP 和 DAMP 激活,继而与凋亡相关斑点样蛋白 (ASC) 结合并招募 caspase-1 前体组成 NLRP3 炎性体,活化 caspase-1。活化后的 caspase-1 一方面可切割 IL-18 前体 (pro-IL-18) 和 IL-1 β 前体 (pro-IL-1 β),使其成为有活性的 IL-18 和 IL-1 β ,另一方面也可以切割 GSDMD 形成 GSDMD-NT 和 GSDMD-CT, GSDMD-NT 与细胞内膜结合形成孔洞,导致细胞膜结构破坏,IL-18 和 IL-1 β 等细胞因子释放,引起细胞焦亡 (见图 1A)^[11]。在非经典的细胞焦亡途径中,人的 caspase-4/5 和小鼠的 caspase-11 在识别并结合脂多糖后被激活,活化的 caspase-4/5/11 既能通过裂解 GSDMD 诱导细胞焦亡,又能通过 GSDMD-NT 激活 caspase-1,从而介导经典途径细胞焦亡的发生,这间接表明经典与非经典途径细胞焦亡相互联系并可相互转化 (见图 1B)^[14]。



注: A 为经典途径; B 为非经典途径; PAMP 为病原体相关分子模式; DAMP 为危险相关分子模式; LPS 为脂多糖; GSDMD 为消化道皮肤素 D; IL-18 为白细胞介素-18; IL-1 β 为白细胞介素-1 β ; NLRP3 为核苷酸寡聚化结构域样受体蛋白 3; caspase 为胱天蛋白酶; ASC 为凋亡相关斑点样蛋白

图 1 内皮细胞焦亡途径

3 GSDMD 介导的细胞焦亡在心衰形成中的作用

GSDMD 作为细胞焦亡经典与非经典途径中的共同底物和执行者,介导的细胞焦亡往往伴随着大量细胞因子的产生,这些细胞因子可以通过各种方式使心肌细胞受损、心肌功能紊乱、心室重构,最终导致心衰。Murphy 等^[15]研究发现,抑制炎症反应可以减少细胞因子的产生,从而减少心肌细胞死亡数量,改善心衰患者的心功能。

3.1 NLRP3 与心衰

NLRP3 炎性小体是大分子多蛋白复合体,在细胞焦亡途径中发挥重要作用。研究发现,当心肌细胞压力超负荷时,在钙离子/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II ($\text{Ca}^{+}/\text{CaMK II}$) 信号通路的介导下,NLRP3 炎性小体等炎性因子激活,并参与心室重构的病理过程^[16]。Bai 等^[17]发现 NLRP3 炎性小体等的激活可以加速氧化应激及心血管内皮细胞功能障碍,导致组织水肿、血栓形成及慢性炎症反应,加速心衰等心血管事件的发生。Li 等^[18]在小鼠实验中发现,抑制 NLRP3 炎性小体可以减轻心脏炎症反应及纤维化,改善心脏的收缩与舒张功能,从而改善心室重构。NLRP3 炎性小体可促发下游 IL-18 及 IL-1 β 等的成熟与释放,该反应可被肿瘤坏死因子 (TNF)- α 及诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 放大,引起炎症级联瀑布反应;NLRP3 还可导致促纤维化基因的表达,使心脏功能受损,NLRP3 炎性小体在心衰发生发展中起着至关重要的作用^[19]。

3.2 IL-18 与心衰

IL-18 是广泛存在于血管内皮细胞、平滑肌细胞及巨噬细胞上的具有多种生物学特性的炎性细胞因子,在基础状态下以无活性的形式存在于细胞中,在组织损伤等应激反应时可以迅速释放入血。O'Brien 等^[20]研究发现,IL-18 在心衰中发挥重要作用,可作为心衰的治疗靶点,使用 IL-18 抑制剂可减缓心衰的进展。Segiet 等^[21]的研究阐明 IL-18 等相关细胞因子在心肌损伤到心衰转变过程中的重要性,IL-18 可作为心衰标志物及死亡率的预测指标。IL-18 致心衰的机制尚不完全清楚,推测其可能与下列因素有关:IL-18 可以通过诱导 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 等促炎性细胞因子的产生,导致心肌细胞肥大、心腔扩张及心肌细胞凋亡;IL-18 可与相关受体结合,促使心肌肥厚,影响心脏收缩力;IL-18 可直接激活细胞毒性 T 淋巴细胞,使心脏射血分数下降,进一步导致心功能不全。

3.3 IL-1 β 与心衰

IL-1 β 又称淋巴细胞活化因子,是较强的促炎性细胞因子,主要由活化的巨噬细胞产生,活化后可通过多种途径参与心衰的发生发展。Harouki 等^[22]利用大鼠构建心衰模型发现,IL-1 β 可使心肌胶原蛋白累积,心肌活性氧水平增加,从而加速心衰进程。给予大鼠皮下注射 IL-1 β 拮抗剂,可有效减轻氧化应激及炎症反应,延缓心室重构,提高射血分数,这与 Shang 等^[23]的报道相吻合。有报道称在小鼠心室肌细胞中,IL-1 β 可降低 L 型钙通道的密度,影响钙离子内流,从而影响心肌收缩力,诱发心律失常与心衰^[24]。IL-1 β 在心衰患者的疾病进展及预后评估中发挥重要作用,但是 IL-1 β 在心衰病理生理中的具体机制尚未完全证实。

3.4 HMGB1 与心衰

HMGB1 是 GSDMD 参与介导的细胞焦亡途径中的重要炎性细胞因子,广泛分布于心、肝、肺等多种脏器及组织中,可作为反映心衰患者心肌细胞炎症反应活动度的指标。有研究报道,慢性心衰患者血清 HMGB1 水平显著升高,且 HMGB1 水平与 N 末端脑钠肽前体 (NT-proBNP) 呈正相关,与射血分数呈负相关,并且认为 HMGB1 水平可以作为慢性心衰患者危险分层的新型指标^[25],这与 Marsh 等^[26]的研究结果有相似之处。Lin 等^[27]研究发现,在心肌细胞缺血再灌注损伤小鼠模型中,HMGB1 水平显著升高,并且伴随 IL-1、IL-6、TNF- α 等炎性细胞因子的升高,HMGB1 抑制剂丙酮酸乙酯可以有效降低 HMGB1 水平,减轻炎症反应程度,改善心功能。

4 GSDMD 的靶向治疗策略

由于 GSDMD 诱导的孔洞形成可能是许多疾病发生和发展的关键环节,确定靶向 GSDMD 的药物具有重大意义。研究发现,GSDMD 抑制剂坏死磷酰胺 (NSA) 可与 C191 氨基酸结合,抑制 GSDMD-NT 结构域的低聚化^[28]。Rashidi 等^[29]测试 NSA 对尿酸晶体的反应时,发现 NSA 具有调控 GSDMD 上游因子 ASC 聚集的作用,可阻止外源性脂多糖的刺激,降低 IL-1 β 前体 (pro-IL-1 β) 的表达。Hu 等^[30]研究发现,治疗酒精成瘾的药物双硫仑也是脂质体中 GSDMD 孔洞形成的抑制剂。双硫仑虽然不影响 IL-1 β 和 GSDMD 的活化,但可作用于 C191/192 的残基,阻断孔洞的形成,从而阻止 IL-1 β 释放和细胞焦亡的发生。

Do Carmo 等^[31]发现 VX-765 是一种高度选择性 caspase-1 抑制剂,可以减少缺血再灌注损伤模型中梗死心肌细胞数量。此外,VX-765 提供的保护作用超过了单纯使用血小板抑制剂的作用^[32]。Audia 等^[33]研究发现,VX-765 与 P2Y₁₂ 受体拮抗剂联合使用,可缩小心肌梗死范围并保护左室功能。

5 小结

GSDMD 作为细胞焦亡过程中的关键蛋白,通过经典及非经典的细胞焦亡途径,加速细胞的损伤和炎性介质的释放,参与心衰的形成与进展。GSDMD 是炎性反应的潜在驱动因素,以 GSDMD 为靶点的治疗策略将为心衰的防治提供新希望。

参 考 文 献

- [1] Zhou M, Wang H, Zeng X, et al. Mortality, morbidity, and risk factors in China and its provinces, 1990—2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017[J]. *Lancet*, 2019, 394(1204):1145-1158.
- [2] Shirazi LF, Bissett J, Romeo F, et al. Role of inflammation in heart failure [J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2017, 19(6):28432635.
- [3] Wang Q, Wu J, Zeng Y, et al. Pyroptosis: a pro-inflammatory type of cell death in cardiovascular disease[J]. *Clin Chim Acta*, 2020, 510:62-72.
- [4] Shi JJ, Zhao YE, Wang K, et al. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death[J]. *Nature*, 2015, 526(7575):660-665.
- [5] Kovacs SB, Miao EA. Gasdermins: effectors of pyroptosis [J]. *Trends Cell Biol*, 2017, 27(9):673-684.
- [6] Liu Z, Wang C, Rathkey JK, et al. Structures of the gasdermin D C-terminal domains reveal mechanisms of autoinhibition[J]. *Structure*, 2018, 26(5):778-784.
- [7] Kayagaki N, Stowe IB, Lee BL, et al. Caspase-11 cleaves gasdermin D for non-canonical inflammasome signalling[J]. *Nature*, 2015, 526(7575):666-671.
- [8] Sborgi L, Rühl S, Mulvihill E, et al. GSDMD membrane pore formation constitutes the mechanism of pyroptotic cell death[J]. *EMBO J*, 2016, 35(16):1766-1778.
- [9] Aglietti RA, Estevez A, Gupta A, et al. GsdmD p30 elicited by caspase-11 during pyroptosis forms pores in membranes [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(28):7858-7863.
- [10] 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.
- [11] Liu X, Zhang Z, Ruan J, et al. Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores [J]. *Nature*, 2016, 535(7610):153-158.
- [12] Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018[J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(3):486-541.
- [13] Jia C, Chen H, Zhang J, et al. Role of pyroptosis in cardiovascular diseases [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 67:311-318.
- [14] De GA, Martinon F. Pyroptosis: caspase-11 unlocks the gates of death[J]. *Immunity*, 2015, 43(5):835-837.
- [15] Murphy SP, Kakkar R, McCarthy CP, et al. Inflammation in heart failure: JACC State-of-the-Art review[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 75(11):1324-1340.
- [16] Suetomi T, Willeford A, Brand CS, et al. Inflammation and NLRP3 inflammasome activation initiated in response to pressure overload by Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II δ signaling in cardiomyocytes are essential for adverse cardiac remodeling[J]. *Circulation*, 2018, 138(22):2530-2544.
- [17] Bai B, Yang Y, Wang Q, et al. NLRP3 inflammasome in endothelial dysfunction [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(9):776.
- [18] Li RJ, Lu KY, Wang Y, et al. Triptolide attenuates pressure overload-induced myocardial remodeling in mice via the inhibition of NLRP3 inflammasome expression [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 485(1):69-75.
- [19] 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.
- [20] O'Brien LC, Mezzaroma E, Van Tassell BW, et al. Interleukin-18 as a therapeutic target in acute myocardial infarction and heart failure[J]. *Mol Med*, 2014, 20(1):221-229.
- [21] Segiet OA, Piecuch A, Mielanczyk L, et al. Role of interleukins in heart failure with reduced ejection fraction[J]. *Anatol J Cardiol*, 2019, 22(6):287-299.
- [22] Harouki N, Nicol L, Remy-Jouet I, et al. The IL-1 β antibody gevokizumab limits cardiac remodeling and coronary dysfunction in rats with heart failure[J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2017, 2(4):418-430.
- [23] Shang L, Yue W, Wang D, et al. Systolic overload-induced pulmonary inflammation, fibrosis, oxidative stress and heart failure progression through interleukin-1 β [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2020, 146:84-94.
- [24] El Khoury N, Mathieu S, Fiset C. Interleukin-1 β reduces L-type Ca²⁺ current through protein kinase C ϵ activation in mouse heart[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(32):21896-21908.
- [25] Liu T, Zhang DY, Zhou YH, et al. Increased serum HMGB1 level may predict the fatal outcomes in patients with chronic heart failure[J]. *Int J Cardiol*, 2015, 184:318-320.
- [26] Marsh AM, Nguyen AH, Parker TM, et al. Clinical use of high mobility group box 1 and the receptor for advanced glycation end products in the prognosis and risk stratification of heart failure: a literature review [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2017, 95(3):253-259.
- [27] Lin Y, Chen L, Li W, et al. Role of high-mobility group

box-1 in myocardial ischemia/reperfusion injury and the effect of ethyl pyruvate [J]. Exp Ther Med, 2015, 9 (4): 1537-1541.

- [28] Rathkey JK, Zhao J, Liu Z, et al. Chemical disruption of the pyroptotic pore-forming protein gasdermin D inhibits inflammatory cell death and sepsis[J]. Sci Immunol, 2018, 3 (26): eaat2738.
- [29] Rashidi M, Simpson DS, Hempel A, et al. The pyroptotic cell death effector gasdermin D is activated by gout-associated uric acid crystals but is dispensable for cell death and IL-1 β release[J]. J Immunol, 2019, 203(3):736-748.
- [30] Hu JJ, Liu X, Xia S, et al. FDA-approved disulfiram inhibits pyroptosis by blocking gasdermin D pore formation[J]. Nat Immunol, 2020, 21(7):736-745.
- [31] Do Carmo H, Arjun S, Petrucci O, et al. The caspase 1

inhibitor VX-765 protects the isolated rat heart via the RISK pathway[J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2018, 32(2):165-168.

- [32] Yang XM, Downey JM, Cohen MV, et al. The highly selective caspase-1 inhibitor VX-765 provides additive protection against myocardial infarction in rat hearts when combined with a platelet inhibitor [J]. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2017, 22(6):574-578.
- [33] Audia JP, Yang XM, Crockett ES, et al. Caspase-1 inhibition by VX-765 administered at reperfusion in P2Y₁₂ receptor antagonist-treated rats provides long-term reduction in myocardial infarct size and preservation of ventricular function[J]. Basic Res Cardiol, 2018, 113(5):32.

(收稿:2020-08-25 修回:2020-12-22)

(本文编辑:胡晓静)



欢迎关注《国际心血管病杂志》公众号!