

# 细胞焦亡在冠状动脉粥样硬化中的研究进展

缪美琪 韩宇博 邹国良 郭东浩 杜若齐 刘莉

**【摘要】** 细胞焦亡是一种新型的炎症程序性细胞死亡,在冠状动脉粥样硬化(CA)过程中时刻存在。炎症反应是先天免疫的主要反应,是引发和驱动CA的必要条件。细胞焦亡可能调节CA的发生发展。许多细胞焦亡的抑制剂可减少心脏炎症反应,细胞焦亡的靶向药物可治疗CA。该文介绍细胞焦亡在CA中的研究进展。

**【关键词】** 细胞焦亡;冠状动脉粥样硬化;药物靶点;研究进展

doi: 10.3969/j.issn.1673-6583.2023.03.005

冠状动脉粥样硬化(CA)是冠状动脉粥样硬化性心脏病的基本病理表现,内皮细胞(EC)、血管平滑肌细胞(VSMC)和巨噬细胞的功能障碍导致动脉粥样硬化斑块积聚<sup>[1]</sup>。细胞焦亡也称为细胞炎症性坏死,是由炎症小体引起的新型程序性细胞死亡<sup>[2]</sup>,其特征是炎症小体组装、孔隙形成和炎症细胞因子分泌<sup>[1]</sup>。细胞焦亡与动脉粥样硬化密切相关,它可能通过增强炎症因子的释放而加剧动脉粥样硬化斑块(AS)的不稳定性<sup>[3]</sup>。脂代谢紊乱和炎症反应对于斑块的发生发展十分重要<sup>[4]</sup>。有研究指出,血管内皮细胞、巨噬细胞、平滑肌细胞等多种细胞的焦亡调节CA的进展。

## 1 细胞焦亡定义和特征

细胞焦亡“pyroptosis”源自希腊词根,表示促炎程序性细胞死亡<sup>[5]</sup>。细胞焦亡是炎症反应导致的细胞死亡,主要通过炎症小体诱导的胱天蛋白酶(caspase)-1、4、5、11激活。

细胞焦亡具有特定的形态特征。细胞焦亡过程中存在完整的细胞核和少量DNA“梯形带”,受损DNA原始末端标记法染色呈阳性时,损伤的强度较凋亡细胞低<sup>[6]</sup>。炎症反应诱导的孔隙形成依赖于caspase-1的激活,导致焦亡细胞肿胀、质膜裂解、染色质碎裂和细胞内促炎内容物释放<sup>[5]</sup>。细

胞焦亡只能通过激活炎症caspase通路诱导,包括经典的caspase-1通路,非经典的人类caspase-4、5和鼠类caspase-11通路<sup>[5]</sup>。

## 2 细胞焦亡的分子机制与通路

### 2.1 炎症小体

炎症小体是包含模式识别受体(PRR)的多分子复合物,可通过刺激炎症反应触发细胞焦亡<sup>[1]</sup>。PRR家族包括Toll样受体(TLR)、核苷酸结合域和富含亮氨酸重复序列的受体(NLR)以及黑色素瘤缺乏因子(AIM)样受体<sup>[5]</sup>。炎症小体可被特异性病原体相关分子模式(PAMP)和损伤相关分子模式(DAMP)分别激活。PRR在识别DAMP和PAMP后,诱导含有caspase关键结构域的凋亡相关斑点样蛋白(ASC)这一巨大的超分子完成组装,将NLR与caspase-1链接起来。

### 2.2 信号通路

2.2.1 典型的炎症小体通路 炎症反应通过激活caspase-1触发焦亡,典型的炎症小体包括核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(NLRP3)和AIM2,它们都有一个N端caspase募集(CARD)或pyrin结构域(PYD),PRR与PAMP和DAMP接触后激活caspase-1<sup>[5]</sup>。NLRP3炎症小体的激活因子是一类广泛的刺激物,包括活性氧、线粒体DAMP等。这些炎症小体的PYD或CARD通过同型相互作用连接到ASC,ASC聚焦caspase-1前体,激活caspase-1。caspase-1活化可使促炎因子细胞因子白细胞介素(IL)-18和IL-1 $\beta$ 的无活性前体成熟,释放到细胞外域并激活炎症反应<sup>[5]</sup>。

基金项目:国家自然科学基金(82074346);黑龙江省博士后经费项目(LBH-Z18253);黑龙江中医药大学科研基金资助(2019TD01, 2019BS02)

作者单位:150040 哈尔滨,黑龙江中医药大学附属第一医院心血管一科

通信作者:刘莉, E-mail: liliu429@163.com

2.2.2 非典型的炎性小体通路 通过诱导人类 caspase-4、5 以及小鼠 caspase-11 通路,可进一步诱导细胞焦亡<sup>[5]</sup>。caspase-11 能与脂多糖 (LPS) 结合,LPS 主要源自革兰氏阴性菌分泌的氧化磷脂,能够直接与 caspase-11 结合<sup>[5]</sup>。活化的 caspase-11 既可以诱导细胞焦亡,又可以通过切割消皮素 D (GSDMD) 激活 caspase-1<sup>[5]</sup>。

### 2.3 GSDMD

GSDMD 能够诱导 caspase-1、4、5、11,主要含有 N 端结构域 (GSDMD-NT) 和 C 端结构域 (GSDMD-CT)<sup>[5]</sup>。GSDMD 能够与磷脂酰肌醇、磷脂酸以及磷脂酰丝氨酸连接,引起其寡聚化,促使细胞膜孔隙形成<sup>[7]</sup>。有关研究表明,孔隙的内部和外部长度分别为 15 nm 和 32 nm,而 IL-18 的长度为 4.5 nm,能够自由地在孔隙中穿梭<sup>[7]</sup>。与此同时,GSDMD-CT 是可溶的,可以返回到 GSDMD-NT,防止其被激活<sup>[7]</sup>。有关学者指出,caspase-1、4、5、11 能够诱导 GSDMD,进一步引起细胞焦亡,而 caspase-3 是细胞凋亡的关键。此外,Wang 等<sup>[8]</sup>发现,caspase-3 能够在一定程度上诱导 GSDMD,进一步引起细胞焦亡。

### 3 细胞焦亡与 CA

CA 的特征是冠状动脉中的脂质沉积和斑块形成。急、慢性炎性反应以及细胞凋亡对于 CA 的形成十分关键。有研究发现,EC、巨噬细胞和 VSMC 的细胞焦亡在 CA 的形成和发展中起着重要作用<sup>[9]</sup>。caspase 依赖性细胞焦亡的特征是激活核苷酸结合寡聚化结构域样受体通路,特别是 NLRP3 炎性小体及其下游效应炎性因子 IL-1 $\beta$  和 IL-18,使斑块不稳定,导致斑块破裂和血栓形成,最终引起促炎细胞因子 (如 IL-1 $\beta$  和 IL-18) 大量释放,各种类型细胞 (如 EC、巨噬细胞和平滑肌细胞) 死亡,导致急性心血管事件<sup>[9]</sup>。

#### 3.1 EC 焦亡

EC 损伤是 CA 损伤的起点。EC 焦亡可导致内皮完整性受损,诱导单核细胞募集<sup>[10]</sup>。caspase-1 在急性冠状动脉综合征 (ACS) 患者易损斑块和破裂病变中大量表达<sup>[3]</sup>。caspase-1 炎性小体通路可以感知升高的脂质或炎性介质,如 DAMP,然后上调焦亡相关蛋白,包括 NLRP3、caspase-1 和 IL-1 $\beta$ ,最终触发 EC 焦亡。EC 焦亡导致内皮完整性丧失,增加血管通透性并促进 AS 的进展<sup>[3]</sup>。此外,Zeng 等<sup>[11]</sup>发现成纤维细胞生长因子 21 通过抑制

NLRP3 炎性小体介导的 EC 焦亡来减轻 CA。因此,细胞焦亡参与 CA 形成和斑块硬化。

#### 3.2 巨噬细胞焦亡

CA 病变中巨噬细胞的死亡能够进一步促进生长因子、细胞因子以及蛋白酶等物质的分泌,引起炎性反应,进一步诱导斑块破裂,引起血栓,从而导致心血管事件。研究发现氧化低密度脂蛋白 (oxLDL) 诱导的巨噬细胞焦亡在 CA 形成以及维持斑块稳定中十分关键,其中 oxLDL 以及胆固醇晶体能够在一定程度上诱导 NLRP3 以及 caspase-1 的凋亡。它能诱导巨噬细胞中 IL-18 和 IL-1 $\beta$  的分泌,引起炎性反应和 CA<sup>[3]</sup>。此外,Li 等<sup>[12]</sup>发现干扰素调节因子 -1 可促进 ACS 患者的巨噬细胞焦亡。晚期巨噬细胞焦亡导致坏死核增大及纤维帽不稳定,促进斑块破裂的发生<sup>[10]</sup>。近期研究发现,骨髓来源的间充质干细胞微泡携带微小 RNA-223,可抑制 NLRP3 表达并减少巨噬细胞焦亡,稳定 AS 斑块<sup>[13]</sup>。因此,巨噬细胞焦亡可能也参与了 CA 的形成和斑块硬化。

#### 3.3 VSMC 焦亡

VSMC 焦亡可引起纤维帽变薄,增加斑块的不稳定性<sup>[10]</sup>。在动脉内膜中,VSMC 产生胶原蛋白和弹性蛋白,能够进一步诱导 AS 斑块,引发急性心血管事件。诱导细胞焦亡的分子 (NLRP3、ASC、caspase-1、IL-1 $\beta$  和 IL-18) 通常在稳定斑块中表达更多<sup>[3]</sup>。Pan 等<sup>[14]</sup>报道高脂饮食可增加 AIM2、GSDMD-NT 和细胞黏附分子 -1 的表达。AIM2 过表达会增加斑块病变面积和 VSMC 焦亡,加重 AS。此外,巨噬细胞募集会随着 AIM2 的过表达而增加。有关研究指出,核因子  $\kappa$ B 能够在一定程度上影响 AIM2 的表达。AIM2 主要通过 ASC、caspase-1 途径,影响 GSDMD 水平。近期发现 caspase-1 抑制剂 VX-765 通过抑制 VSMC 焦亡,减慢已形成的 CA 的进展<sup>[6]</sup>。因此 VSMC 焦亡与 AS 斑块的稳定性密切相关。

#### 3.4 其他类型细胞焦亡

心肌细胞损伤后,线粒体功能受损,受损或死亡细胞释放三磷酸腺苷 (ATP),作用于细胞膜上的 P2X7 受体<sup>[15]</sup>。P2X7 的特征是在细胞外高浓度 ATP 的作用下,打开非选择性离子通道,允许大分子通过,并导致 NLRP3 炎性小体的形成<sup>[16]</sup>。NLRP3 可以促进心肌细胞释放炎性介质,如 IL-1 $\beta$  和 IL-18,并诱导细胞焦亡<sup>[17]</sup>。七氟烷通过抑制

P2X7-NLRP3 信号通路来抑制 IL-1 $\beta$ 、IL-18 和 GSDMD 的表达,同时它通过调节炎症反应和心肌细胞焦亡减轻心肌细胞损伤,保护心脏功能<sup>[16]</sup>。曲宁宁等<sup>[18]</sup>也发现化痰祛痰方可以改善心肌形态学变化,显著降低 AS 家兔心肌及血清 IL-18、IL-1 $\beta$  水平和 caspase-1、GSDMD 及 NALP3 蛋白的表达水平,提示化痰祛痰方可能通过调节细胞焦亡改善 AS 家兔心肌组织形态。

#### 4 用于治疗 CA 的焦亡相关药物靶点

近年来的实验研究表明,许多细胞焦亡的抑制剂可以抑制心脏炎症反应,改善 CA、心肌缺血/再灌注损伤、心肌纤维化和心功能,减少心肌梗死。靶向 NLRP3 炎性小体或细胞焦亡等可作为 AS 的治疗策略<sup>[19]</sup>。NLRP3 抑制剂、caspase-1 抑制剂、GSDMD 抑制剂、IL-1 $\beta$  抑制剂和其他传统心血管药物的作用也在临床试验中证明。

##### 4.1 NLRP3 炎性小体抑制剂

MCC950 是一种有效且具有特异性的小分子 NLRP3 抑制剂。之前发现 MCC950 直接与 NLRP3 NACHT 域内的 Walker B 基序相互作用,从而阻止 ATP 水解并抑制 NLRP3 激活和炎性小体形成<sup>[20]</sup>。近期研究表明, MCC950 抑制 NLRP3-ASC-Caspase-1-GSDMD-NT 轴的激活,并减轻巨噬细胞焦亡,减少 IL-1 $\beta$  和 IL-18 的产生<sup>[21]</sup>。此外, MCC950 降低了心肌 NLRP3 的水平并裂解 IL-1 $\beta$  和 IL-18。在体外研究也观察到 MCC950 抑制 NLRP3 生成,降低 caspase-1 活性并进一步下调 IL-1 $\beta$  和 IL-18<sup>[22]</sup>。

##### 4.2 caspase-1 抑制剂

VX-765 是一种高度选择性的 caspase-1 抑制剂,可通过抑制 VSMC 焦亡减慢已形成的 CA 的进展<sup>[6]</sup>。许多研究表明长链非编码 RNA (lncRNA) H19 参与了 CA, Liu 等<sup>[23]</sup>发现 VX-765 削弱了沉默内源性 lncRNA H19 介导的细胞焦亡。

##### 4.3 GSDMD 抑制剂

GSDMD 是细胞焦亡的效应物。坏死性磺胺 (NSA) 是 GSDMD 的化学抑制剂。NSA 直接与 GSDMD 结合并抑制 p30-GSDMD 孔隙的形成,从而阻止细胞焦亡,抑制原代小鼠和永生化人类和小鼠单核细胞、巨噬细胞中 IL-1 的释放<sup>[24]</sup>。

##### 4.4 IL-1 $\beta$ 抑制剂

IL-1 $\beta$  是细胞焦亡中 caspase-1 通路的下游促炎细胞因子。卡那单抗的抗血栓形成研究结果表

明,使用卡那单抗治疗可以减少不良心血管事件的发生率和病死率,在 CA 中以炎症反应作为靶向治疗是有效的<sup>[24]</sup>。

##### 4.5 他汀类药物

他汀类药物是有效的羟甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶抑制剂,已被广泛用于预防和治疗 CA。越来越多的研究表明 NLRP3 炎性小体及其下游介质是 CA 中他汀类药物的重要靶点<sup>[25]</sup>。在体外研究中,瑞舒伐他汀能够在一定程度上降低 NLRP3 的水平和其下游介质,进一步抑制 CA 的炎症反应<sup>[26]</sup>。阿托伐他汀通过降低经典炎性小体通路的生物标志物 NLRP3、caspase-1、GSDMD、IL-1 $\beta$  和 IL-18 的 mRNA 和蛋白表达水平,抑制细胞焦亡<sup>[26]</sup>。

#### 5 小结

细胞焦亡是一种由 GSDMD 介导的促炎类型的细胞死亡。越来越多的研究数据表明,细胞焦亡通过引起心肌细胞、心脏成纤维细胞、EC、巨噬细胞和 VSMC 等多种细胞死亡和炎症反应,在心血管疾病中发挥重要作用,尤其与 CA 的发展密切相关。目前的研究集中在 NLRP3 等焦亡相关成分在 CA 中的作用,大多数研究表明 NLRP3 的激活会诱导焦亡。体内外实验也表明 caspase-1、IL-1、IL-18 在 CA 中的作用不容忽视。近年来,针对焦亡靶向药物的研究也取得了很大进展。然而,目前对于 CA 的发生及进程了解有限,炎性小体、caspase-1 和炎症因子在 CA 中的作用,还需进一步探讨,期待未来会发现更多的治疗方法来阻断 CA 进程。

#### 参 考 文 献

- [1] Zhou Y, Zhou H, Hua L, et al. Verification of ferroptosis and pyroptosis and identification of PTGS2 as the hub gene in human coronary artery atherosclerosis[J]. Free Radic Biol Med, 2021, 171:55-68.
- [2] Kovacs SB, Miao EA. Gasdermins: effectors of pyroptosis[J]. Trends Cell Biol, 2017, 27(9):673-684.
- [3] Zhaolin Z, Guohua L, Shiyuan W, et al. Role of pyroptosis in cardiovascular disease[J]. Cell Prolif, 2019, 52(2):e12563.
- [4] Artach G, Sarajlic P, Bäck M. Inflammation and its resolution in coronary artery disease: a tightrope walk between omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids[J]. Kardiol Pol, 2020, 78(2):93-95.
- [5] Fang Y, Tian S, Pan Y, et al. Pyroptosis: a new frontier in cancer[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 121:109595.
- [6] Jorgensen I, Miao EA. Pyroptotic cell death defends against intracellular pathogens[J]. Immunol Rev, 2015, 265(1):130-142.



- [7] Liu X, Zhang ZB, Ruan JB, et al. Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores[J]. *Nature*, 2016, 535(7610):153-158.
- [8] Wang YP, Gao WQ, Shi XY, et al. Chemotherapy drugs induce pyroptosis through caspase-3 cleavage of a gasdermin[J]. *Nature*, 2017, 547(7661):99-103.
- [9] Xu YJ, Zheng L, Hu YW, et al. Pyroptosis and its relationship to atherosclerosis[J]. *Clin Chim Acta*, 2018, 476:28-37.
- [10] 翁秀朱, 贾海波. 细胞焦亡在心血管疾病中作用的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2021, 29(9):807-813.
- [11] Zeng ZL, Zheng QP, Chen JJ, et al. FGF21 mitigates atherosclerosis via inhibition of NLRP3 inflammasome-mediated vascular endothelial cells pyroptosis[J]. *Exp Cell Res*, 2020, 393(2):112108.
- [12] Li YY, Niu X, Xu HT, et al. VX-765 attenuates atherosclerosis in ApoE deficient mice by modulating VSMCs pyroptosis[J]. *Exp Cell Res*, 2020, 389(1):111847.
- [13] Lin Y, Liu MH, Chen EQ, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells microvesicles stabilize atherosclerotic plaques by inhibiting NLRP3-mediated macrophage pyroptosis[J]. *Cell Biol Int*, 2021, 45(4):820-830.
- [14] Pan JY, Han L, Guo J, et al. AIM2 accelerates the atherosclerotic plaque progressions in ApoE<sup>-/-</sup> mice[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 498(3):487-494.
- [15] Shokoples BG, Paradis P, Schiffrin EL. P2X7 receptors: an untapped target for the management of cardiovascular disease[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2021, 41(1):186-199.
- [16] Wu J, Cai W, Du R, et al. Sevoflurane alleviates myocardial ischemia reperfusion injury by inhibiting P2X7-NLRP3 mediated pyroptosis[J]. *Front Mol Biosci*, 2021, 8:768594.
- [17] Ji N, Qi ZW, Wang YY, et al. Pyroptosis: a new regulating mechanism in cardiovascular disease[J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14:2647-2666.
- [18] 曲宁宁, 宋囡, 贾连群, 等. 化痰祛痰方对动脉粥样硬化家兔心肌组织细胞焦亡的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(10):6055-6058.
- [19] 曹朝晖, 吴颢, 胡小波. 细胞焦亡参与动脉粥样硬化形成的分子机制新进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2021, 29(7):560-565.
- [20] Coll RC, Hill JR, Day CJ, et al. MCC950 directly targets the NLRP3 ATP-hydrolysis motif for inflammasome inhibition[J]. *Nat Chem Biol*, 2019, 15(6):556-559.
- [21] Zeng WY, Wu DB, Sun YX, et al. The selective NLRP3 inhibitor MCC950 hinders atherosclerosis development by attenuating inflammation and pyroptosis in macrophages[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1):19305.
- [22] Gao R, Shi H, Chang S, et al. The selective NLRP3-inflammasome inhibitor MCC950 reduces myocardial fibrosis and improves cardiac remodeling in a mouse model of myocardial infarction[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 74:105575.
- [23] Liu S, Xu DS, Ma JL, et al. LncRNA H19 mitigates oxidized Low-Density lipoprotein induced pyroptosis via caspase-1 in raw 264.7 cells[J]. *Inflammation*, 2021, 44(6):2407-2418.
- [24] Wang Q, Wu J, Zeng Y, et al. Pyroptosis: a pro-inflammatory type of cell death in cardiovascular disease[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2020, 510:62-72.
- [25] Ridker PM, MacFadyen JG, Everett BM, et al. Relationship of C-reactive protein reduction to cardiovascular event reduction following treatment with canakinumab: a secondary analysis from the CANTOS randomised controlled trial[J]. *Lancet*, 2018, 391(10118):319-328.
- [26] Wu LM, Wu SG, Chen F, et al. Atorvastatin inhibits pyroptosis through the lncRNA NEXN-AS1/NEXN pathway in human vascular endothelial cells[J]. *Atherosclerosis*, 2020, 293:26-34.
- ( 收稿:2022-03-13 修回:2023-02-06 )  
( 本文编辑:王雨婷 )