

NLRP1 和 NLRP3 炎性体的研究进展

原孟 尚丽新

【摘要】 炎性体作为一种新近发现的蛋白质复合物,其活化后可促进炎症因子的成熟与释放,在先天性免疫中发挥着重要的作用。本文就核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白1(NLRP1)和3(NLRP3)炎性体的构成、激活机制及信号传导通路和相关的疾病做出综述,并对NLRP1和NLRP3炎性体与早产的关系做出推测。

【关键词】 早产; 先天性免疫应答; NLRP1; NLRP3

Research progress of the NLRP1, NLRP3 inflammasome YUAN Meng, SHANG Li-xin. Department of Obstetrics and Gynecology, Beijing Military Command General Hospital, Beijing 100700, China
Corresponding author: SHANG Li-xin, Email: 19932003@163.com

【Abstract】 Inflammasome as a newly discovered protein complexes which can activate promote the maturation and release inflammatory factors plays an important role in innate immunity response. The paper mainly reviewed about the composition, activation mechanism, the signal transduction pathways and the disease of nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 1 (NLRP1) and 3 (NLRP3). And speculated the relationship between the inflammasome NLRP1, NLRP3 and preterm labor.

【Key words】 Premature birth; Innate immunity response; NLRP1; NLRP3

先天性免疫应答又称非特异性免疫,是机体防御的第一道防线。先天性免疫系统通过特定的模式识别受体(pattern-recognition receptors, PRR)识别入侵的微生物以及体内的危险信号。PRR主要分为两类:位于细胞膜上的Toll受体(Toll-like receptor, TLR)和位于胞质内的Nod样受体(NOD-like receptor, NLR)^[1],这两类PRR均能识别病原相关分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP),PAMP是一类或一群特定的微生物病原体共有的某些非特异性、保守的分子结构,包括脂多糖(LPS)、磷壁酸(LTA)、肽聚糖(PGN)、甘露糖、细菌DNA、螺旋体脂蛋白、病毒双链RNA和葡聚糖等。部分NLR还可以识别危险相关分子模式(danger associated molecular pattern, DAMP)。NLR在凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC)和半胱天冬氨酸酶(caspase-1)等蛋白质的参与下,可以形成一种蛋白质复合物,称为炎性体^[2]。近几年研究发现,人类的多种疾病可能都有炎性体的参与,对其的研究已成为热点。本文就NLRP1、NLRP3炎性体的研究进展做出如下综述并对其与早产的关系做出大胆的猜测。

一、NLRP1、NLRP3 炎性体的构成

目前研究较多的NLRP1、NLRP3炎性体是由相同的NLRs和ASC及caspase-1组成。

NLRs炎性体是NLR家族中的一个亚型,主要由3部分构成:富含亮氨酸重复序列(leucine rich repeat, LRR)的羧基端,

其与Toll受体相似,主要通过LRR识别和结合PAMP或DAMP的刺激;氨基端因NLRs种类不同而不同,主要由胱天蛋白酶招募结构域(CARD)或热蛋白结构域(PYD)组成,是将下游衔接蛋白及效应分子连接起来的功能区域;中心核苷酸结合寡聚化区域(nucleotide-binding oligomerization domain, NOD),也称为NACHT,是NLRs的核心部分,当LRR识别并结合PAMP或DAMP后,其发生自身寡聚化,使受体活化。

ASC作为一种连接蛋白有两个重要的结构域:位于羧基端的PYD,通过与NLRP1、NLRP3的PYD相互作用与其结合;位于氨基端的CARD,通过caspase-1的CARD结构域相结合。研究发现,ASC主要分布于人体的单核和巨噬细胞核中,当有病原体入侵时,ASC能快速的分布于细胞质中,且对炎性体的激活起到重要的作用^[3]。但也有研究显示,在炎性体的活化过程中ASC不是必需的,但是能够增强其活化效应^[4]。

caspase-1是pro-caspase-1的活化形式,最早是在研究细胞凋亡的过程中被发现的^[5]。caspase-1通常以无活性的酶原形式存在,一旦被激活,能够裂解IL-1、IL-18、IL-33等细胞因子的前体,使其转化为成熟的IL-1、IL-18、IL-33,进而参与到先天性免疫中。

二、NLRP1、NLRP3 炎性体的激活及信号传导通路

研究表明能够激活NLRP1的物质包括:胞壁酰二肽(muramyl dipeptide, MDP)、炭疽芽孢杆菌的致死毒素(anthrax lethal Toxin, LT)以及寄生虫等^[6]。而激活NLRP3的物质则更为广泛,如肽聚糖及其降解产物胞壁酰二肽、脂多糖、金黄色葡萄球菌、单核细胞增生李斯特菌、大肠杆菌、细菌毒素以及如石棉、硅胶、尿酸等结晶或聚合物质、细胞外ATP或坏死的细胞成分^[7]、代谢性疾病中增高的血糖^[8]、热休克蛋白等同样可

以激活 NLRP3 引发炎症反应。

两者广泛存在于 T 细胞、B 细胞、单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞和粒细胞中。在无激活物质存在时, NLRP1、NLRP3 的 LRR 结构域与 NACHT 结构域结合, 抑制自身的寡聚化而处于无活性状态。一旦识别并感受到 PAMP 及 DAMP 时, 其 LRR 结构域与其结合, 蛋白质构象发生改变, PYD 与 CARD 结构域暴露出来, PYD 与 ASC 的 PYD 结合, 同时 ASC 的 CARD 结构域通过 CARD-CARD 嗜同作用招募 caspase-1 前体对其进行寡聚化, 即完成了炎性体的装配。寡聚化的 caspase-1 前体磷酸化裂解成异二聚体, 实现自我活化。活化的 caspase-1 参与到 IL-1 β 、IL-18、IL-33 的加工和分泌中使其成熟。成熟的 IL-1 β 可以活化 T 细胞, 又可以激活 NF- κ B 和 MAPK 等信号通路, 启动先天性免疫应答清除病原体。IL-18 能刺激 Th2 细胞产生 IL-4、IL-10 等细胞因子^[9], 并能诱导来自 CD4⁺ 和 B 细胞亚型产生的 IL-4 转化成 IgE^[10], 还可通过刺激 NO 和活性氧的产生发挥促炎作用^[11], 而 IL-33 则可以诱导 IL-4 和 IL-13 的表达, 并可通过刺激 Th2 细胞、肥大细胞、嗜酸性粒细胞增加 IL-1 β 、IL-10、TNF- α 的分泌量, 介导先天性免疫应答和适应性免疫应答。

目前 NLRP1 的激活途径研究较少, 而 NLRP3 的激活机制则存在争议, 主要有以下 3 种: 第一种模式, K⁺ 外流造成细胞内低钾是 NLRP3 激活的主要机制。胞外的 ATP 与细胞表面的 P2X7 结合诱导钾离子通道开放, 同时细菌毒素导致膜孔的形成, 更进一步触发钾外流。也有研究认为其激活依赖于钾外流, 但 ATP 和 P2X7 并不参与 NLRP3 的激活^[12]。另外, 钾离子是否为 NLRP3 激活的惟一作用离子还有待研究, 当细胞培养液中的其他离子被替换时, 激活途径可终止从而取消炎性反应。

第二种模式, 结晶类和微粒类物质, 如石棉、尿酸盐结晶等被细胞摄取后可导致吞噬细胞中溶酶体被破坏, 溶酶体内的蛋白酶释放可引起 NLRP3 炎性体的激活。

第三种模式, 活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的产生为 NLRP3 激活的关键。激活物质触发产生的 ROS 可以激活 NLRP3 炎性体, 且有研究发现来自线粒体的 ROS 是调控活化的关键信号。线粒体 ROS 的生成如被自吞噬抑制则 NLRP3 的激活可被限制, 而自吞噬障碍或被抑制则能激活 NLRP3 的活性^[13]。

三、与 NLRP1、NLRP3 炎性体活化相关的与疾病

1. NLRP1 炎性体与疾病: NLRP1 炎性体被证实与许多疾病相关。在炭疽中依赖于 NLRP1 的先天性免疫应答发挥了重要的作用, 有学者^[14]建立小鼠模型, 发现炭疽杆菌释放的 LT 引起了 NLRP1 的高表达, 溶酶体的膜通透性增强, 细胞质中的组织蛋白酶释放, 引起细胞凋亡。

国外有学者^[15]发现白癜风 (generalized vitiligo, GV) 的发病与 NLRP1 基因的单核苷酸的多态性有相关性, NLRP1 基因的突变可造成 GV 的发病率升高, 即所谓的“基因-基因相互作用模式”。另外, 强直性脊柱炎、类风湿性关节炎^[16]、系统性硬化症^[17]、牛皮癣、自身免疫性阿狄森病等被证明与 NLRP1 炎性体或其基因突变有关^[18]。

肠炎是由于患者体内免疫失调而引起的一种炎症性疾病。

有慢性、易复发等特点。在肠炎患者的肠组织中 IL-1 β 、IL-18 和 TNF- α 水平明显升高, 提示 NLRP1 的过度激活可能是肠炎的原因。研究证明 NLRP1 中 rs2175827、rs11656977 和 rs12150220 基因与结肠炎的发病密切相关^[19]。

2. NLRP3 炎性体与疾病: NLRP3 炎性体与疾病的关系研究较多。NLRP3 炎性体在 2 型糖尿病中主要通过 IL-1 β 等细胞因子对抗胰岛素信号进而产生胰岛素抵抗, 抑制葡萄糖的摄取。而且有研究发现活性氧和硫氧还蛋白相互作用蛋白 (TXNIP) 也在 2 型糖尿病中起作用, NLRP 的炎性反应能将 IL-1 β 、活性氧和 TXNIP 的不同驱动机制统一为一个整体的模式, 在 IL-1 β 缺陷的小鼠中, 胰岛素的分泌功能明显增强^[20], 因此 NLRP3 在糖尿病中起到重要的作用。

在肾脏疾病方面, NLRP3 炎性体激活后生成的 NLRP3 炎性体-caspase-1-IL-1 β /IL-18 轴在肾脏急性或慢性损伤中发挥作用。发生肾脏疾病时, 肾脏组织中的 IL-1 β 和 IL-18 表达明显升高^[21], 但其具体机制尚不明确。

痛风为一种自身炎症性疾病, 主要的病理机制为血液中尿酸的升高及尿酸单钠在关节中的沉积, 症状为疼痛和关节病。目前认为 NLRP3 是痛风的核心机制。其中尿酸单钠激活 NLRP3 炎性体后 ASC 接头蛋白, caspase-1 的募集以及炎性体对 IL-1 β 的分泌与成熟的调节都与痛风有关。国外学者研究发现使用 IL-1 β 阻断剂可以有效地改善痛风的临床症状^[22]。相同性质的石棉、二氧化硅颗粒、淀粉样蛋白等作为激活物同样可引起 NLRP3 炎性体释放 IL-1 β 从而诱发石棉肺、矽肺和阿尔茨海默症等。

动脉粥样硬化中 NLRP3 炎性体活化后产生的炎性因子和炎性细胞的募集可以导致硬化斑块的形成^[23]。实验发现, 动脉粥样硬化斑块中 IL-1 β 水平较之正常冠状动脉中 IL-1 β 偏高^[24]。动脉粥样硬化引起的死亡率与患者血清中 IL-18 的水平呈相关性表现^[25]。最近研究发现, 沉积在动脉中的胆固醇结晶作为内源性危险信号, 是引起动脉粥样硬化的主要因素。

此外, 文献报道类风湿关节炎^[26]、口腔疾病^[27]、过敏性鼻炎^[28]、炎症性肠炎^[29]、结直肠癌^[30]及器官移植^[31]等疾病中 NLRP3 炎性体都起到了关键的作用。

四、NLRP1、NLRP3 炎性体与早产的关系

早产是围产医学中重要而又常见的妊娠并发症之一, 其发生率约占分娩总数的 5%~15%。由于早产儿出生时各器官发育尚不够健全, 极易出现严重的并发症, 据文献报道, 早产儿占新生儿死亡率的 75%^[32], 因此早产已成为围产儿发病和死亡的重要原因之一。

目前早产的病因学及其发生的病理生理过程仍不清楚, 但大量研究表明, 宫内感染是引起早产的重要原因之一。正常情况下母胎界面的先天性免疫反应可使母体对半异体来源的胎儿产生耐受, 但宫内感染发生时母胎界面的病原微生物及先天性的免疫应答过度, 可能会对妊娠造成不良结局。

感染性疾病中 NLRP1、NLRP3 炎性体的重要作用已引起人们的重视。PRR 的 TOLL 类受体已被证实与早产有关, 对其的研究已成为热点, 但由于 NLRs 炎性体被发现的时间尚短, 其

对 IL-1 β 及 IL-18 的分泌和加工以及诱导和促进其他炎性因子的生成在早产中是否有相关性, 目前尚无文献报道。但因感染为早产的主要原因, 而 NLRP1、NLRP3 在先天性免疫中可广泛的识别多种细菌、真菌、病毒及多种内源性危险信号, 在多系统、多器官疾病中都发挥了重要作用, 且与 Toll 受体激活的信号通路相似, 因此可以大胆的猜测 NLRP1、NLRP3 炎性体与早产的关系。有学者^[33]发现炎性体在组织中的表达是很普遍的, 很多组织在接受一定的刺激的情况下都能够诱导炎性体的表达, 如胎盘, 既能够完整的表达 NLRP1 炎性体, 又可以诱导 NLRP3 的表达。近年来有研究发现, 牙周病时局部的炎症反应生成的各种炎性因子可能引起早产的发生^[34], 而对 NLRP3 在口腔疾病中的研究^[35]也可间接的推断其对早产的影响。

通过对 IL-1 β 及 IL-18 也可以推测 NLRP1、NLRP3 炎性体与早产的关系。国内有学者用酶联免疫吸附 ELISA 法检测早产组患者血清发现 IL-1 β 水平明显高于足月产组, 差异有统计学意义。而 IL-18 则可以通过刺激 NO 来发生炎症反应, 研究发现感染性早产患者的羊水中阴道分泌物中 NO 的代谢产物即亚硝酸和亚硝酸盐升高^[36-37], 故认为 NO 可引起早产, 其发生机制可能是 NO 可激活多种基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP), 而 MMP 已被证明与早产有相关性。所以能够促进 IL-1 β 、IL-18 分泌与成熟的 NLRP1、NLRP3 与早产的联系有很大的研究空间。

五、结语

NLRP1、NLRP3 炎性体是最近几年研究的热点, 许多疾病的发生与发展都被证明与其相关, 但其具体的作用机制等很多方面还需要进一步的探索。对炎性体的检测、干扰或调控, 一方面可用于相关疾病的早期预防和诊断, 另一方面也可以为疾病的治疗提供新的思路。

参 考 文 献

- [1] Hoffman HM, Wanderer AA. Inflammasome and IL-1 β -mediated disorders. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2010, 10: 229-235.
- [2] Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-1 β . *Mol Cell*, 2002, 10: 417-426.
- [3] Bryan NB, Dorfleutner A, Rojasasakul Y, et al. Activation of inflammasomes requires intracellular redistribution of the apoptotic speck-like protein containing a caspase recruitment domain. *J Immunol*, 2009, 182: 3173-3182.
- [4] Faustin B, Lartigue L, Bruey JM, et al. Reconstituted NALP1 inflammasome reveals twostep mechanism of caspase-1 activation. *Mol Cell*, 2007, 25: 713-724.
- [5] Miao EA, Leaf IA, Treuting PM, et al. Caspase-1-induced pyroptosis is an innate immune effector mechanism against intracellular bacteria. *Nat Immunol*, 2010, 11: 1136-1142.
- [6] Hsu LC, All SR, Mcgillivray S, et al. NOD2-NALP1 complex mediates caspase-1-dependent IL-1 β secretion in response to *Bacillus anthracis* infection and muramyl dipeptide. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105: 7803-7808.
- [7] 童玉娜, 何娅妮. NALP3 炎性体与非感染性炎症疾病. *生理科学进展*, 2011, 42: 317-320.
- [8] Zhou R, Tardivel A, Thorens B, et al. Thioredoxin-interacting protein links oxidative stress to inflammasome activation. *Nat Immunol*, 2010, 11: 136-140.
- [9] Smith DE. The biological paths of IL-1 family members IL-18 and IL-33. *J Leukoc Biol*, 2011, 89: 383-392.
- [10] Aimaniananda V, Haensler J, Lacroix-desmazes S, et al. Novel cellular and molecular mechanisms of induction of immune responses by aluminum adjuvants. *Trends Pharmacol Sci*, 2009, 30: 287-295.
- [11] Boraschi D, Dinarello CA. IL-18 in autoimmunity: review. *Eur Cytokine Netw*, 2006, 17: 224-252.
- [12] Harder J, Franchi L, Muñoz-Planillo R, et al. Activation of the Nlrp3 inflammasome by *Streptococcus pyogenes* requires streptolysin O and NF- κ B activation but proceeds independently of TLR signaling and P2X7 receptor. *J Immunol*, 2009, 183: 5823-5829.
- [13] Harris J, Hartman M, Roche C, et al. Autophagy controls IL-1 β secretion by targeting pro-IL-1 β for degradation. *J Biol Chem*, 2011, 286: 9587-9597.
- [14] Averette KM, Pratt MR, Yang Y, et al. Anthrax lethal toxin induced lysosomal membrane permeabilization and cytosolic cathepsin release is Nlrp1b/Nalp1b-dependent. *PLoS One*, 2009, 4: e7913.
- [15] Jin Y, Riccardi SL, Gowan K, et al. Fine-Mapping of vitiligo susceptibility loci on Chromosomes 7 and 9 and interactions with NLRP1 (NALP1). *J Invest Dermatol*, 2010, 130: 774-783.
- [16] Sun R, Huang Y, Zhang H, et al. MMP-2, TNF- α and NLRP1 polymorphisms in Chinese patients with ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *Mol Biol Rep*, 2013, 40: 6303-6308.
- [17] Teruel M, Simeon CP, Broen J, et al. The role of the NLRP1 gene in systemic sclerosis: a replication study. *Clin Exp Rheumatol*, 2013, 31: 187-188.
- [18] 鲁战平, 孙剑. NLRP1 炎性体. *生命的化学*, 2012, 32: 381-384.
- [19] Cummings JR, Cooney RM, Clarke G, et al. The genetics of NOD-like receptors in Crohn's disease. *Tissue Antigens*, 2010, 76: 48-56.
- [20] Malozowski S, Sahlroot JT. Interleukin-1-receptor antagonist in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 2007, 357: 302-303.
- [21] Bonventre JV, Zuk A. Ischemic acute renal failure: an inflammatory disease? *Kidney Int*, 2004, 66: 480-485.
- [22] Winzer M, Tausche AK, Aringer M. Crystal-induced activation of the inflammasome: gout and pseudogout. *Z Rheumatol*, 2009, 68: 733-739.
- [23] Choi HK, Curhan G. Independent impact of gout on mortality and risk for coronary heart disease. *Circulation*, 2007, 116: 894-900.
- [24] Galea J, Armstrong J, Gadsdon P, et al. Interleukin-1 β in coronary arteries of patients with ischemic heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996, 16: 1000-1006.
- [25] Blankenberg S, Tiret L, Bickel C, et al. Interleukin-18 is a strong predictor of cardiovascular death in stable and unstable angina. *Circulation*, 2002, 106: 24-30.
- [26] Mathews RJ, Robinson JI, Battellino M, et al. Evidence of NLRP3-inflammasome activation in rheumatoid arthritis (RA); genetic variants within the NLRP3-inflammasome complex in relation to susceptibility to RA and response to anti-TNF treatment. *Ann Rheum Dis*, 2013.
- [27] Park E, Na HS, Song YR, et al. Activation of NLRP3 and AIM2 inflammasome by *Porphyromonas gingivalis* infection. *Infect Immun*, 2013, 10: 14.
- [28] Bogefors J, Rydberg C, Uddman R, et al. Nod1, Nod2 and Nalp3 receptors, new potential targets in treatment of allergic rhinitis? *Allergy*, 2010, 65: 1222-1226.
- [29] Song-Zhao GX, Srinivasan N, Pott J, et al. Nlrp3 activation in the intestinal epithelium protects against a mucosal pathogen. *Mucosal Immunol*, 2013.
- [30] Ungerback J, Belenki D, Jawadul-Hassan A, et al. Genetic variation and alterations of genes involved in NF- κ B/TNFAIP3- and NLRP3-inflammasome

- signaling affect susceptibility and outcome of colorectal cancer. *Carcinogenesis*, 2012, 33: 2126-2134.
- [31] 刘慧, 陈建忠. 炎性体与器官移植. *医学分子生物学杂志*, 2011, 8: 269-272.
- [32] Moss TJ. Respiratory consequences of preterm birth. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2006, 33: 280-284.
- [33] Ichinohe T, Lee HK, Ogura Y, et al. Inflammasome recognition of influenza virus is essential for adaptive immune responses. *J Exp Med*, 2009, 206: 79-87.
- [34] Li X, Kolltveit KM, Tronstad L, et al. Systemic diseases caused by oral infection. *Glin Microbiol Rev*, 2000, 13: 547-558.
- [35] 宋智, 姜澜, 林正梅. NLRP3 及其在口腔疾病中的研究进展[J/CD]. *中华口腔医学研究杂志: 电子版*, 2012, 6: 57-60.
- [36] Hsu CD, Meaddough E, Lu LC, et al. Immunohistochemical localization of inducible nitric oxide synthase on human fetal amnion in intra-amniotic infection. *Am J Obstet Gynecol*, 1998, 179: 1271-1274.
- [37] Nakatsuka M, Habara T, Kamada Y, et al. Elevation of total nitrite and nitrate concentration in vaginal secretions as a prediction of premature delivery. *Am J Obstet Gynecol*, 2000, 182: 644-645.

(收稿日期: 2013-11-07)

(本文编辑: 戚红丹)

原孟, 尚丽新. NLRP1 和 NLRP3 炎性体的研究进展 [J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2013, 7 (23): 10894-10897.

