

程序性细胞死亡在脓毒症发生发展中的研究进展

薛晋芳¹, 宋海飞², 陈国兵^{1,2*}

(1. 昆明理工大学 医学院, 云南 昆明 650500; 2. 云南省第一人民医院 急诊内科, 云南 昆明 650032)

摘要: 脓毒症的发生发展会导致程序性细胞死亡, 各类程序性细胞死亡通过不同的信号传导通路介导炎症反应、氧化应激, 并在脓毒症患者体内造成不可逆的损伤, 最终发展为多器官功能衰竭。程序性细胞死亡包括细胞凋亡、程序性细胞坏死、细胞焦亡、细胞铁死亡等。脓毒症的发生发展过程中伴随着各类程序性细胞死亡, 这为探索脓毒症的病理生理机制以及治疗方案提供新的思路。

关键词: 脓毒症; 凋亡; 程序性细胞坏死; 焦亡; 铁死亡

中图分类号: Q255 文献标志码: A

DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2022.08.1284

Research progress of programmed cell death in the occurrence and development of sepsis

XUE Jin-fang¹, SONG Hai-fei², CHEN Guo-bing^{1,2*}

(1. School of Medicine, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500;

2. Department of Emergency, the First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650032, China)

Abstract: Sepsis has high morbidity and mortality in critically ill patients. The occurrence and development of sepsis will lead to programmed cell death. All kinds of programmed cell death mediate inflammatory response and oxidative stress through different signal transduction pathways, and cause irreversible damage in patients with sepsis, and finally develop into multiple organ failure. At present, programmed cell death has been found, including apoptosis, necroptosis, pyroptosis, ferroptosis and so on. The development and progression of sepsis is accompanied by various types of programmed cell death. These results of research provide new ideas for exploring the pathophysiological mechanism of sepsis and strategies of clinical treatment.

Key words: sepsis; apoptosis; programmed cell death; pyroptosis; ferroptosis

脓毒症 (sepsis) 通过炎症反应、氧化应激、免疫抑制等多种方式导致细胞死亡, 从而对机体造成不可逆损伤。程序性细胞死亡 (programmed cell death) 是细胞死亡的重要方式, 它参与了脓毒症病理生理发展的各个过程, 涉及信号通路的激活、炎症因子的释放、机体的自我调节与修复等。调节各种类型的程序性细胞死亡, 有助于恢复细胞的正

常生理功能, 因此调控细胞程序性死亡对脓毒症可能发挥保护作用。本文综述了程序性细胞死亡在脓毒症中的调控作用, 并讨论了这一研究领域可能存在的治疗意义。

1 脓毒症与程序性细胞死亡

脓毒症是患者机体免疫反应失衡进而引起多器

官功能障碍的全身性炎症反应综合征。脓毒症的启动由单核-巨噬细胞和中性粒细胞通过表达的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)、识别病原表面的病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)、应激及损伤组织细胞释放的危险相关分子模式(danger-associated molecular patterns, DAMPs),活化免疫细胞、激活信号通路、诱发炎症反应,最终导致细胞死亡,后期发展为炎症反应风暴和免疫抑制,导致多器官功能衰竭^[1]。在脓毒症早期,细胞死亡能够调节机体内细胞的增殖、分化、对维持组织内环境的稳态发挥着至关重要的作用;后期不可控的炎症反应、免疫抑制、细胞死亡三者之间形成恶性循环,对机体造成不可逆的损伤。程序性细胞死亡是细胞死亡的重要方式,包括细胞凋亡、程序性细胞坏死、细胞焦亡、细胞铁死亡等^[2]。本文将探讨脓毒症与程序性细胞死亡的关系,并着重讨论程序性细胞坏死、细胞焦亡、铁死亡3种新的细胞死亡方式在脓毒症中的作用机制,以期完善脓毒症的发生发展机制并为脓毒症的治疗提供新思路。

2 脓毒症与细胞凋亡

程序性细胞死亡中研究最多、最透彻的为细胞凋亡(apoptosis)。在脓毒症中,细胞凋亡可发生于各个器官^[3]。其信号传导通路有细胞内质网应激介导的通路、死亡受体介导的外源性通路、线粒体介导的内源性凋亡通路和穿孔素-颗粒酶介导的通路。在细胞凋亡发生发展的过程中也受到诸多基因的调控,如:Bcl-2家族、caspase家族、抑癌基因p53等^[4]。在实验中发现硫氧还蛋白-1(thioredoxin-1, Trx-1)可以抑制内质网应激,用盲肠结扎穿孔(cecal ligation and perforation, CLP)制造脓毒症动物模型,Trx-1转基因小鼠生存期较野生型小鼠明显延长^[5]。抑制内质网应激,降低NF- κ B的活性能够减轻脓毒症小鼠的肺损伤、肺水肿,降低脓毒症小鼠细胞凋亡水平及抑制炎症因子的释放,对脓毒症的治疗有重要意义。随着对细胞凋亡机制研究的深入,其在脓毒症中的作用开始引起科研人员的注意。脓毒症时心肌细胞发生凋亡进而诱发心功能障碍,其机制可能为线粒体功能受损,导致线粒体通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore mPTP)的异常开放,膜电位崩溃、氧化磷酸化解偶联、活性氧家族的产生及凋亡蛋白的

释放,这都将引起心肌细胞的凋亡的发生^[6]。另外脓毒症患者出现急性肾损伤,其病理组织学可表现为不同程度的肾小管损伤,肾小管以及免疫细胞的凋亡。若抑制作为新型连接蛋白家族的pannexin1,或可减少脓毒症急性肾损伤中IL-1 β 、IL-6和TNF- α 的产生,以及肾小管细胞凋亡。另外在实验中还提到抑制pannexin1可进一步抑制NLRP3,从而能够抑制炎症细胞因子的释放和细胞凋亡的发生^[7]。脓症患者机体中各个环节相互诱导,最终导致细胞凋亡,进而造成多器官功能障碍。

3 脓毒症与程序性细胞坏死

程序性细胞坏死(necroptosis)是近期新发现的、可调控的细胞死亡方式,并且在心血管、肾脏、肝脏、神经系统感染的发生发展中均有参与^[8]。在脓毒症后期参与多器官功能衰竭的发生发展。受体相互作用蛋白激酶1、3(receptor-interacting protein kinase 1,3, RIPK1、RIPK3)介导程序性细胞坏死,并通过连接混合激酶结构域样蛋白(mixed-lineage kinase domain-like protein, MLKL)执行^[9]。MLKL募集和激活后,与RIPK1、RIPK3复合形成的坏死小体,使离子通道开放,打破细胞内外稳态,导致细胞肿胀破裂,释放大量细胞炎症因子,造成严重的组织损伤,加重脓毒症发生发展。

炎症反应与氧化应激作为脓毒症发生发展的中心环节,若能抑制其相关通路,将会为脓毒症的治疗带来重大意义。程序性细胞坏死在宿主防御和炎症反应中发挥重要功能。ATM酪氨酸激酶受体家族(Tyro3/Axl/Mer receptor tyrosine kinase ATM)为程序性坏死的启动子,ATM基因的敲除或抑制,将有效控制小鼠全身炎症反应的发生^[10]。程序性细胞坏死的抑制剂necrostatin-1(Nec-1),它可以减轻炎症和氧化应激反应,从而可能为治疗脓毒症带来新的方向^[11]。若下调RIPK1-RIPK3-MLKL信号通路的关键蛋白RIPK1及RIPK3,可对脓毒症病理生理有显著的改善,临床实验中也发现RIP3水平与脓毒症并发症、病死率成正相关。更进一步发现,在脓毒症发生发展过程中抑制RIPK3活性可减少血管内皮细胞、肺泡上皮程序性细胞坏死,间接抑制促炎因子的产生,避免急性呼吸窘迫综合征的发生,从而改善脓毒症的病理生理过程^[12];以上研究显示抑制程序性细

胞坏死可能是一种潜在的脓毒症治疗靶点,但因其机制的复杂性,还有待进一步深入研究。

4 脓毒症与细胞焦亡

细胞焦亡(pyroptosis)在脓毒症中的研究备受关注。现研究较为清楚的细胞焦亡是以 Gasdermin D (GSDMD)介导的程序性细胞死亡,分为由半胱天冬酶-1(caspase-1)介导的经典途径、半胱天冬酶-4、5、11(caspase-4,5,11)介导的非经典途径。在经典途径中,NLRP3/caspase-1/GSDMD 信号通路参与了细胞焦亡的发生,炎性小体 NLRP3 可触发 caspase-1 的激活。激活的 caspase-1 切割 IL-1 β 、IL-18 的前体,使其活化,同时切割执行蛋白 GSDMD,暴露 GSDMD-N 毒性片段,并移动到细胞膜上进行打孔,使 IL-1、IL-18 可以自由通过,打破细胞内外环境的平衡,细胞发生肿胀,进而死亡。释放到细胞外的炎性因子则发生级联反应,放大炎性效应,加重组织、器官的损伤^[13]。由此可见,细胞焦亡可能在脓毒症所诱发的炎性反应中发挥重要作用。另有,非经典通路可由脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)作为触发因子,能够高效的与 caspase-4、5、11 结合并诱导其自组装、激活,促进 GSDMD 暴露毒性片段,引发细胞焦亡^[14]。

细胞焦亡中的关键分子 GSDMD 参与了脓毒症的发生发展过程,GSDMD 过度活化后,可诱导白介素-1(IL-1)大量释放,进一步激活炎性反应^[15]。经 GSDMD 激活后,IL-1 与其受体结合,诱发级联反应,IL-6 和 TNF 等促炎因子大量激活、释放,加重脓毒症的病理生理过程^[16]。GSDMD 会诱导脓毒症患者发生凝血功能障碍,进一步加重病情。巨噬细胞中 GSDMD 介导的细胞焦亡会进一步触发组织因子的释放,启动凝血过程,耗竭凝血因子,导致脓毒症合并弥漫性血管内凝血(disseminated intravascular coagulation, DIC)的发生^[17]。非经典型焦亡途径在脓毒症中也发挥着关键作用,GSDMD 基因缺陷或抑制 GSDMD 的生成,小鼠将更少发生 DIC、肺、肠、肝和肾损伤^[18]。

在脓毒症期发生的早期,细胞焦亡可以起到抵御细菌感染的作用,但是过度的细胞焦亡可导致脓毒性休克、多器官功能障碍等严重状态的发生,抑制过度的细胞焦亡将成为脓毒症治疗的新思路。此外 GSDMD 作为 IL-1 的上游分子,可能是治疗炎性反应、自身免疫、细胞焦亡相关疾病最有效的靶点,将

来在精准抗感染、靶向治疗脓毒症中具有广阔前景。

5 脓毒症与铁死亡

铁死亡(ferroptosis)是一种依赖铁离子的氧化损伤,可以引起细胞死亡,是一种新型的程序性细胞死亡。在肿瘤、神经系统退行性疾病、器官缺血再灌注等方面有深入研究。其机制可能为细胞摄取胱氨酸受到抑制后,引起细胞内谷胱甘肽(glutathione, GSH)减少以及谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4)失活,导致机体内氧化还原体系平衡状态失衡,导致脂质过氧化物过量蓄积而引发细胞死亡,其形态学特征是细胞质和脂质过氧化物增多,胞质内存在体积小于正常的线粒体、其形态为膜密度浓缩、增高,线粒体嵴的减少、线粒体外膜破裂^[19-20]。

生理状态下,铁死亡可能对机体产生保护作用;病理情况下,机体受到强烈刺激,铁死亡程度增加,将导致细胞死亡。2019 年有研究显示铁死亡可能也参与了脓毒症的炎性反应与氧化应激,利用腹腔注射脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)建立大鼠炎性反应相关性脑病(inflammatory reaction-related encephalopathy)模型并设置对照组,实验组的大鼠海马神经细胞氧化应激水平及脂质过氧化物含量较对照组升高,神经细胞铁死亡增加,大鼠行为学结果表明实验组大鼠认知功能降低;剂量为 30 mg/kg LPS 组,镜下可见广泛锥体细胞水肿变性,部分胞质疏松淡染呈气球样,大量嗜碱性颗粒,并伴有大量炎性细胞浸润^[21]。脓毒症患者血清铁含量降低、感染指标及脂质过氧化物含量升高与远期病死率和认知功能障碍发生率升高显著相关^[22]。因此,降低细胞内铁沉积,减轻炎性反应及脂质过氧化水平,阻断细胞铁死亡的相关信号传导通路或将为脓毒症的治疗带来新的思路。

6 问题与展望

脓毒症患者机体内可能存在各种细胞死亡形式,而抑制过度的细胞死亡,降低剧烈的炎性反应,同时避免免疫细胞死亡导致的免疫低下将是未来精准治疗的方式。然而在脓毒症发生发展过程中,不同的细胞类型可能出现不同的细胞死亡方式,精准治疗将是一项巨大挑战。程序性细胞死亡在脓毒症中的研究进展是新的临床热点。其中程序性细胞坏死、细胞焦亡、细胞铁死亡在脓毒症中的分子机制不

断深入,针对各种细胞死亡的干预措施也逐渐增多,但因在脓毒症不同时期,细胞死亡发挥不同的作用。脓毒症早期,各类细胞死亡方式通过代偿方式对脓毒症发挥保护作用,但后期,不可控的炎性反应,氧化应激等机制的出现对机体将造成不可逆的损伤。

参考文献:

- [1] Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, *et al.* Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021 [J]. *Intensive Care Med*, 2021, 49: 1063-1143.
- [2] Bedoui S, Herold MJ, Strasser A. Emerging connectivity of programmed cell death pathways and its physiological implications [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21: 678-695.
- [3] He M, Yuan F, Liu Y. Research progress of pyroptosis and its related diseases [J]. *Basic Clin Med*, 2019, 39: 560-563.
- [4] Snyder AG, Oberst A. The antisocial network: cross talk between cell death programs in host defense [J]. *Annu Rev Immunol*, 2021, 39: 77-101.
- [5] Shao R, Yang Y, Zhang Y, *et al.* The expression of thioredoxin-1 and inflammatory cytokines in patients with sepsis [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2020, 42: 280-285.
- [6] Li L, Peng X, Guo L, *et al.* Sepsis causes heart injury through endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis signaling pathway [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2020, 13: 964-971.
- [7] Huang G, Bao J, Shao X, *et al.* Inhibiting pannexin-1 alleviates sepsis-induced acute kidney injury via decreasing NLRP3 inflammasome activation and cell apoptosis [J]. *Life Sci*, 2020, 254: 117791. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117791.
- [8] Malireddi RKS, Gurung P, Kesavardhana S, *et al.* Innate immune priming in the absence of TAK1 drives RIPK1 kinase activity-independent pyroptosis, apoptosis, necroptosis, and inflammatory disease [J]. *J Exp Med*, 2020, 217: 1644-1657.
- [9] Ye Z, Liu W, Sun X. Molecular mechanism of necroptosis and its effect in liver injury [J]. *Basic Clin Med*, 2014, 34: 414-417.
- [10] Najafav A, Mookhtiar AK, Luu HS, *et al.* TAM kinases promote necroptosis by regulating oligomerization of MLKL [J]. *Mol Cell*, 2019, 75: 457-468, e454.
- [11] Oerlemans MI, Liu J, Arslan F, *et al.* Inhibition of RIP1-dependent necrosis prevents adverse cardiac remodeling after myocardial ischemia-reperfusion *in vivo* [J]. *Basic Res Cardiol*, 2012, 107: 270. doi: 10.1007/s00395-012-0270-8.
- [12] Shashaty MGS, Reilly JP, Faust HE, *et al.* Plasma receptor interacting protein kinase-3 levels are associated with acute respiratory distress syndrome in sepsis and trauma: a cohort study [J]. *Crit Care*, 2019, 23: 235. doi: 10.1186/s13054-019-2482-x.
- [13] Shi J, Zhao Y, Wang K, *et al.* Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death [J]. *Nature*, 2015, 526: 660-665.
- [14] Jiang S, Zhang H, Li X, *et al.* Vitamin D/VDR attenuate cisplatin-induced AKI by down-regulating NLRP3/Caspase-1/GSDMD pyroptosis pathway [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2021, 206: 105789. doi: 10.1016/j.jsbmb.2020.105789.
- [15] Evavold CL, Ruan J, Tan Y, *et al.* The pore-forming protein gasdermin D regulates interleukin-1 secretion from living macrophages [J]. *Immunity*, 2018, 48: 35-44, e36. doi: 10.1016/j.immuni.2017.11013.
- [16] Heilig R, Dick MS, Sborgi L, *et al.* The gasdermin-D pore acts as a conduit for IL-1 β secretion in mice [J]. *Eur J Immunol*, 2018, 48: 584-592.
- [17] Yang X, Cheng X, Tang Y, *et al.* Bacterial endotoxin activates the coagulation cascade through gasdermin D-dependent phosphatidylserine exposure [J]. *Immunity*, 2019, 51: 983-996, e986.
- [18] Chen H, Li Y, Wu J, *et al.* RIPK3 collaborates with GSDMD to drive tissue injury in lethal polymicrobial sepsis [J]. *Cell Death Differ*, 2020, 27: 2568-2585.
- [19] Zhou B, Liu J, Kang R, *et al.* Ferroptosis is a type of autophagy-dependent cell death [J]. *Semin Cancer Biol*, 2020, 66: 89-100.
- [20] Badgley MA, Kremer DM, Maurer HC, *et al.* Cysteine depletion induces pancreatic tumor ferroptosis in mice [J]. *Science*, 2020, 368: 85-89.
- [21] Yao P, Chen Y, Li Y, *et al.* Hippocampal neuronal ferroptosis involved in cognitive dysfunction in rats with sepsis-related encephalopathy through the Nrf2/GPX4 signaling pathway [J]. *Chin Crit Care Med*, 2019, 31: 1389-1394.
- [22] Sun Y, Chen P, Zhai B, *et al.* The emerging role of ferroptosis in inflammation [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 127: 110108. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110108.