

## NLRP3 炎性小体在心脏病发病中的作用研究进展

高源<sup>1</sup>, 郑刚<sup>1\*</sup>, 齐靖<sup>2</sup>, 张凤<sup>1</sup>

(1. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712000; 2. 陕西中医药大学第二附属医院 科研科, 陕西 咸阳 712046)

**摘要:** NLRP3 炎性小体是最具特征的炎性体, 其可参与心力衰竭、心肌梗死、动脉粥样硬化以及心律失常等心脏病的发病过程, 抑制 NLRP3 炎性小体激活可有效治疗心脏病。炎性小体的组装和激活过程较为复杂, 揭示其活化过程及其与心脏病的关系有望开发出新型靶向防治心脏疾病的药物。

**关键词:** NLRP3 炎性小体; 心血管疾病; 炎症反应

中图分类号: R392.12 文献标志码: A

DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2023.07.1162

### Progress of NLRP3 inflammasome in the pathogenesis of heart disease

GAO Yuan<sup>1</sup>, ZHENG Gang<sup>1\*</sup>, QI Jing<sup>2</sup>, ZHANG Feng<sup>1</sup>

1. Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712000;

2. Department of Scientific Research, the Second Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

**Abstract:** NLRP3 inflammasome is the most characteristic inflammasome. It can play some roles in the pathogenesis of heart diseases such as heart failure, myocardial infarction, atherosclerosis and arrhythmia. Inhibiting the activation of NLRP3 inflammasome can effectively treat heart diseases. The assembly and activation process of inflammasome are complex. Revealing its activation process and its relationship with heart disease may develop new drugs targeting at the prevention and treatment of heart disease.

**Key words:** NLRP3 inflammasome; cardiovascular disease; inflammatory reaction

炎性级联反应在心脏病发病中扮演重要角色, 抑制炎症反应可有效治疗心脏病<sup>[1]</sup>。炎性小体是多种蛋白质复合物, 在炎症反应中处于关键位置, 可以募集相关炎症细胞诱发炎症级联反应。目前发现的炎性小体主要有 Nod 样受体热蛋白结构域相关蛋白 (Nod-like receptor pyrin domain-containing protein, NLRP) NLRP1、NLRP3、NLRC4、NLRP6、AIM2 及 Pyrin 等。对 NLRP3 的研究较深入, 其可以与 ASC 及 pro-caspase-1 形成炎性体, 并进一步引导

IL-1 $\beta$ 和 IL-18 炎性介质的成熟和分泌, 诱发炎症反应。激活 NLRP3 炎性小体是诱发心脏病的主要因素, 抑制其激活, 可能是未来治疗心脏病的潜在干预靶点<sup>[2]</sup>。

### 1 NLRP3 炎性小体概述

NLRP3 炎性小体由 Nod 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NLRP3)、凋亡相关的斑点蛋白 (apoptosis related spot protein, ASC) 和半胱氨酸天冬

氨酸特异性蛋白酶-1(caspase-1)组成<sup>[3]</sup>。NLRP3 包含 3 个结构域:C 端富含亮氨酸重复序列(leucine-rich-repeats, LRRs)、中心核苷酸结合寡聚结构域(nucleotide-binding and oligomerization domain, NACHT),以及热蛋白结构域(N-terminal pyrin domain, PYD)。正常生理条件下 NACHT 与 LRRs 结合使 NLRP3 炎性小体处于抑制状态。NLRP3 炎性小体激活后促进 pro-caspase-1 成熟为具有活性的 caspase-1。caspase-1 一方面是 IL-1 $\beta$ 、IL-18 转化酶,可将 pro-IL-1 $\beta$ 、pro-IL-18 裂解为具有活性形式 IL-1 $\beta$ 、IL-18,另一方面通过促进膜穿孔蛋白 D(gasdermin-D, GSDMD)活化引导细胞焦亡<sup>[4]</sup>。

### 1.1 NLRP3 炎性小体的激活

NLRP3 激活的起始步骤是模式识别受体发出的“启动”信号,通过 NF- $\kappa$ B 激活从而导致 NLRP3、pro-IL-1 $\beta$  和 pro-IL-18 的过度表达。“启动”之后使 NLRP3 激活,其分子机制尚不完全清楚,目前主要有 4 种观点<sup>[5]</sup>。

1.1.1 K<sup>+</sup>外流与 NLRP3 炎性小体的激活:NLRP3 炎性小体激活需要细胞质中 K<sup>+</sup>外流,约 50%细胞内 K<sup>+</sup>外流可引起 ATP 激活,并通过嘌呤离子通道型 7(purinergic ionotropic, P2X7)受体激活 NLRP3 炎性小体。尼日利亚霉素是一种 K<sup>+</sup>载体,可导致膜孔形成,从而触发 K<sup>+</sup>外流激活 NLRP3 炎性小体。降低细胞内 K<sup>+</sup>足以在体外诱导 NLRP3 炎性小体激活。相反,通过 K<sup>+</sup>通道抑制剂格列本脲阻断 K<sup>+</sup>外流或增加细胞外 K<sup>+</sup>浓度均可抑制 NLRP3 炎性小体激活<sup>[5]</sup>。

1.1.2 Ca<sup>2+</sup>信号失调与 NLRP3 炎性小体激活:NLRP3 激活与细胞内 Ca<sup>2+</sup>储存和释放有关,多种 NLRP3 激活剂可调控 Ca<sup>2+</sup>信号调控。降低细胞内储存的 Ca<sup>2+</sup>及抑制细胞外 Ca<sup>2+</sup>内流,从而抑制 NLRP3 激活<sup>[6]</sup>。

1.1.3 线粒体功能失调和活性氧(reactive oxygen species, ROS)与 NLRP3 炎性小体激活:已知的 NLRP3 激活剂都会产生 ROS,ROS 清除剂可抑制 NLRP3 炎性小体激活。ROS 水平增加是 NLRP3 激活的必要条件,线粒体是 NLRP3 激活的主要 ROS 来源,线粒体 DNA 和线粒体外膜蛋白电压依赖性阴离子通道(mitochondrial outer membrane protein voltage dependent anion channel, VDAC)对于线粒体

产生 ROS 都是必不可少的。VDAC 表达减少的细胞对 NLRP3 激活剂的活化受到抑制<sup>[7]</sup>。

1.1.4 溶酶体破裂与 NLRP3 炎性小体激活:细胞吞噬结晶样物质而不能将其溶解时会导致溶酶体损伤和破裂,进而促使溶酶体组织蛋白酶 B 的释放并激活细胞质中 NLRP3 炎性小体,提示组织蛋白酶 B 可能作用于 NLRP3 炎性小体本身或者切割 NLRP3 炎性小体某一部分从而触发其激活<sup>[8]</sup>。

## 2 NLRP3 炎性小体与心力衰竭的关系

NLRP3 炎性小体在心力衰竭(heart failure, HF)的发病和预后中起着重要作用<sup>[9]</sup>。有报道,随着心肌肥厚、炎性反应和心室扩张,血清中 NLRP3 mRNA 水平升高。基因消融 NLRP3 或给予 IL-1 $\beta$  受体拮抗剂可以减轻心脏炎性反应并挽救心肌收缩功能障碍。雷公藤内酯醇可通过抑制 NLRP3 炎性小体来减轻 HF 小鼠的心肌重塑和改善心功能。格列本脲抑制 NLRP3 炎性小体可改善心肌收缩功能障碍<sup>[10]</sup>。

HF 患者血清中 NLRP3、caspase-1 和 IL-1 $\beta$  水平随心功能的严重程度而逐级增高。NLRP3 水平与 NT-proBNP 水平及单核细胞计数直接相关,与左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)呈负相关。HF 患者的 IL-1 $\beta$  和 IL-18 升高,其活性与 HF 症状和预后相关<sup>[11]</sup>。IL-1 $\beta$  和 IL-18 抑制心肌细胞收缩和对肾上腺素能受体刺激的敏感性。通过降低 IL-1 $\beta$  或 IL-18 活性或阻断 IL-1 $\beta$  的下游信号转导更有利于改善 HF 患者临床症状与预后。IL-1 $\beta$  抑制剂(IL-1 $\beta$ Ra 或 canakinumab)在早期临床试验中被证明对射血分数保留性心力衰竭或射血分数减低型心力衰竭患者有效<sup>[12]</sup>。一项涉及 54 例 HF 患者的临床试验报告中显示,与对照组相比,运动组的 caspase-1 募集域(apoptosis-associated speck-like protein with a caspase recruitment domain, ASC)甲基化增加,血浆 IL-1 和 ASC mRNA 水平降低,表明运动通过 ASC 的表观遗传调节促进 HF 更好的结局<sup>[13]</sup>。心脏重塑和纤维化是 HF 发展的主要机制,成纤维细胞在 NLRP3 炎性小体激活过程中也表现出更早和更显著的活动,抑制 NLRP3 炎性小体活化可以逆转心肌纤维化过程,从而影响 HF 的发病过程。

### 3 NLRP3 炎性小体与动脉粥样硬化的关系

炎症反应可导致动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)斑块不稳定和破裂,进而引发急性冠脉综合征。慢性炎症反应可导致 AS 血栓形成的各个阶段,包括早期斑块形成、斑块生长以及心肌梗死、卒中和心血管事件发生前的急性斑块破裂<sup>[14]</sup>。

NLRP3 炎性小体通过模式识别受体相关信号通路参与 AS 的炎症反应过程。NLRP3 炎性小体在 AS 中的重要作用,使用低密度脂蛋白受体(LDLR<sup>-</sup>)缺陷小鼠高脂饮食 8 周后,NLRP3、ASC、IL-1 和 IL-18 表达水平降低,AS 病变减弱。还发现 IL-18 结合蛋白不仅可以减弱动脉粥样硬化形成进程,还可以减少病变中的淋巴细胞浸润和脂质含量,从而对动脉粥样硬化起到保护作用<sup>[15]</sup>。

ROS 在氧化应激和 AS 斑块形成过程中起着重要作用,ROS 的过度生成诱导凝集素样氧化低密度脂蛋白受体-1(low-density lipoprotein receptor-1, LOX-1)的表达,LOX-1 是免疫系统的有效调节因子,并在 AS 的发展中起重要作用。在培养的人巨噬细胞 THP-1 暴露于脂多糖显著诱导 LOX-1 和 ROS 的表达,并引发线粒体 DNA 损伤,导致细胞自噬并激活 NLRP3 炎性小体。用结合抗体或 siRNA 抑制 LOX-1 可阻止随后的一系列事件。ROS 抑制剂和自噬诱导剂都降低了 NLRP3 炎性小体的表达。DNA 酶 II siRNA 转染实验也证实 LOX-1 介导的自噬和线粒体 DNA 损伤在多种心血管疾病发病中 NLRP3 炎性小体激活起着重要作用的假说<sup>[16]</sup>。

### 4 NLRP3 炎性小体与心肌梗死的关系

炎症反应在心肌梗死后组织损伤和修复的程度方面也起着重要作用。IL-1 $\beta$  受体拮抗剂 anakina 抑制 IL-1 $\beta$  活性可显著降低小鼠急性心肌梗死后的心肌肥厚和心肌功能障碍<sup>[17]</sup>。

NLRP3 炎性小体识别各种危险信号并诱导无菌炎症反应,在缺血性心肌病发病中可大量激活。有报道,siRNA 或药理学抑制剂抑制 NLRP3 和 P2X7 受体可防止炎性体激活并减少心肌细胞死亡,减轻小鼠冠状动脉结扎后的心脏重塑。NLRP3 炎性小体抑制剂 MCC950 在经球囊闭塞诱导的心肌梗死猪模型中减少了梗死面积,表明抑制 NLRP3 炎性小体激活可

能对急性心肌梗死患者具有治疗潜力<sup>[18]</sup>。

在心肌缺血/再灌注损伤的大鼠模型中,NLRP3 的表达上调,caspase-1 活性增强,IL-1 $\beta$  和 IL-18 增加,抑制 NLRP3 激活可减少梗死面积。心肌内注射 NLRP3 siRNA 或腹腔内注射炎性体抑制剂 BAY-11-7028 可减轻小鼠心脏中巨噬细胞和中性粒细胞的浸润,并减少心肌缺血/再灌注损伤<sup>[19]</sup>。

### 5 NLRP3 炎性小体与心脏重构的关系

心脏重塑导致心脏结构和功能一系列变化,心室重构的主要原因,例如压力超负荷(主动脉瓣狭窄和高血压)、容量超负荷(瓣膜返流和缺血)和其他疾病(如心肌梗死、心肌炎、扩张型心肌病和瓣膜性心脏病)的适应性反应,这些疾病逐渐导致心脏进行性失代偿。半胱天冬酶激活和募集结构域 3(CARD3)是心肌梗死后左心室重构和功能障碍的积极调节剂,并且 CARD3 在调节一些细胞系中的半胱天冬酶-1 活性中起着关键作用<sup>[20]</sup>。

尽管可以成功开通冠脉和适当的药物治疗以及改变生活方式,但是心脏重构仍然很常见,并最终导致心力衰竭和死亡。心肌坏死会触发炎症因子的产生,如 TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6、IL-18、IL-33 和 C-反应蛋白,抑制这些炎症因子的产生可调节心肌重塑。诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)调节生物活性 NO 的产生,NO 是 NLRP3 炎性小体激活的关键负调节因子之一。在心衰患者中,iNOS 在巨噬细胞和心肌细胞中都有高表达。在 iNOS 敲除的慢性心衰(chronic heart failure, CHF)小鼠,其存活率、左心室功能、肥大、纤维化和炎症反应激活方面表现出显著改善,表明 iNOS 负责缺血性心衰的全身炎症反应和心脏重塑。线粒体参与多种细胞生命活动,如能量、信号、细胞增殖、分化和凋亡,线粒体损伤释放的线粒体 DNA 可激活 NLRP3 炎性小体。在高脂饮食和低剂量链脲佐菌素诱导的 T2D 大鼠中,NLRP3 基因沉默疗法可改善心脏炎症反应、纤维化和心功能不全。在一些实验动物模型中,NLRP3 炎性小体信号干预也被证明可以减少心肌梗死面积并抑制心脏重构和改善心功能<sup>[21]</sup>。

### 6 NLRP3 炎性小体与心律失常的关系

有报道,在野生型和 NLRP3 纯合子敲除

(*NLRP3*<sup>-/-</sup>) 的小鼠喂养高脂饮食或正常饮食。与正常饮食喂养的野生型小鼠相比,高脂饮食喂养的野生型小鼠更容易发生心律失常,且炎症反应越剧烈心律失常持续时间越长。相反,高脂饮食喂养的 *NLRP3*<sup>-/-</sup> 小鼠发生心律失常的情况较少。*NLRP3* 炎性小体激活可引起超快速延迟整流  $K^+$  通道的上调,缩短导致心肌电位不应期和动作电位持续时间,这是促进心脏电重构的两个关键因素。在高脂饲料诱导的野生型小鼠中,促纤维化信号和纤维化增加以及肌浆网异常  $Ca^{2+}$  释放与心律失常发生密切相关。相反,高脂饮食喂养的小鼠中 *NLRP3*<sup>-/-</sup> 的敲除阻止了  $K^+$  通道的上调和电重构的演变、促纤维化基因的上调以及高脂饲料诱导的野生型小鼠中异常的肌浆网  $Ca^{2+}$  释放,这些结果提示 *NLRP3* 炎性小体激活可能是心律失常发生发展的关键驱动因素<sup>[22]</sup>。

心肌梗死后常伴有室性心律失常,表明炎症反应与此密切相关。钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II 抑制物 1 (CaMK2N1) 主要在心肌细胞中表达,并抑制梗死边缘区 CaMK II  $\delta$  的磷酸化。与野生型同窝小鼠相比,*Camk2n1* 敲除小鼠表现为心肌梗死后心功能

不全加重、纤维化面积增大、室性早搏发生率增高、室性心动过速或室颤易感性增高。*NLRP3* 炎性小体的过度激活导致心肌梗死,*Camk2n1* 小鼠的炎症反应加剧,从而导致心脏重构。更重要的是,体内和体外实验均证实,在 *Camk2n1* 小鼠中 *NLRP3* 炎性小体激活通过 CaMK II  $\delta$ -p38/JNK 途径加剧心律失常的发生发展<sup>[23]</sup>。以上结果均提示 *NLRP3* 炎性小体激活及其下游炎症因子释放增加与心脏电活动改变密切相关,抑制炎症反应有可能成为心律失常治疗的潜在靶点。

## 7 问题与展望

*NLRP3* 炎性小体激活对于心脏疾病发病至关重要,抑制 *NLRP3* 炎性小体及下游炎症因子 IL-1 $\beta$  和 IL-18 的激活可以阻止心脏疾病的发生发展。*NLRP3* 炎性小体可被多种信号系统激活,其分子机制迄今仍不明确。目前认为抑制 *NLRP3* 炎性小体激活最有希望的治疗方法是抗 IL-1、抑制 caspase-1 和 P2X7 受体拮抗剂。针对 *NLRP3* 炎性小体的组装和激活进行靶向治疗可能是心脏疾病未来的一个有效新疗法。

## 参考文献:

- [1] Schunk S, Kleber M, März W, et al. Genetically determined NLRP3 inflammasome activation associates with systemic inflammation and cardiovascular mortality [J]. Eur Heart J, 2021, 42: 1742-1756.
- [2] Hoseini Z, Sepahvand F, Rashidi B, et al. NLRP3 inflammasome: its regulation and involvement in atherosclerosis [J]. J Cell Physiol, 2018, 233: 2116-2132.
- [3] Pellegrini C, Martelli A, Antonioli L, et al. NLRP3 inflammasome in cardiovascular diseases: pathophysiological and pharmacological implications [J]. Med Res Rev, 2021, 41: 1890-1926.
- [4] Corcoran S, Halai R, Cooper M, et al. Pharmacological inhibition of the nod-like receptor family pyrin domain containing 3 inflammasome with MCC950 [J]. Pharmacol Rev, 2021, 73: 968-1000.
- [5] Wang ZH, Wei K, Lu C, et al. Targeting NLRP3 (nucleotide-binding domain, leucine-rich-containing family, pyrin domain-containing-3) inflammasome in cardiovascular disorders [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2018, 38: 2765-2779.
- [6] Christgen S, Place D, Kanneganti T. Toward targeting inflammasomes: insights into their regulation and activation [J]. Cell Res, 2020, 30: 315-327.
- [7] Liu DL, Zeng X, Li X, et al. Role of NLRP3 inflammasome in the pathogenesis of cardiovascular diseases [J]. Basic Res Cardiol, 2018, 113: 265-273.
- [8] Chong WC, Shastri M, Peterson G, et al. The complex interplay between endoplasmic reticulum stress and the NLRP3 inflammasome: a potential therapeutic target for inflammatory disorders [J]. Clin Transl Immunol, 2021, 10: 381-389.
- [9] Shen J, Ma H, Wang C. Triptolide improves myocardial fibrosis in rats through inhibition of nuclear factor kappa B and NLR family pyrin domain containing 3 inflammasome pathway [J]. Korean J Physiol Pharmacol, 2021, 25: 533-543.

- [10] Abbate A, Toldo S, Marchetti C, *et al.* Interleukin-1 and the inflammasome as therapeutic targets in cardiovascular disease[J]. *Circ Res*, 2020, 126: 1260-1280.
- [11] Lim G. Heart failure: clonal haematopoiesis, IL-1 $\beta$ , and the NLRP3 inflammasome in HF[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2018, 15: 198-212.
- [12] Sano S, Oshima K, Wang Y, *et al.* Tet2-Mediated clonal hematopoiesis accelerates heart failure through a mechanism involving the IL-1 $\beta$ /NLRP3 inflammasome[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 71: 875-886.
- [13] Ridker P, Rane M. Interleukin-6 signaling and anti-interleukin-6 therapeutics in cardiovascular disease[J]. *Circ Res*, 2021, 128: 1728-1746.
- [14] Grebe A, Hoss F, Latz E. NLRP3 inflammasome and the IL-1 pathway in atherosclerosis[J]. *Circ Res*, 2018, 122: 1722-1740.
- [15] Fuster J. Integrated stress response inhibition in atherosclerosis: preventing the stressed-out plaque[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 73: 1170-1172.
- [16] Chen X, Guo X, Ge Q, *et al.* ER stress activates the NLRP3 inflammasome: a novel mechanism of atherosclerosis[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 346-362.
- [17] Abbate A, Toldo S, Marchetti C, *et al.* Interleukin-1 and the inflammasome as therapeutic targets in cardiovascular disease[J]. *Circ Res*, 2020, 126: 1260-1280.
- [18] Sreejit G, Abdel LA, Athmanathan B, *et al.* Neutrophil-derived S100A8/A9 amplify granulopoiesis after myocardial infarction[J]. *Circulation*, 2020, 141: 1080-1094.
- [19] Everett B, Mac FG, Thuren T, *et al.* Inhibition of interleukin-1 $\beta$  and reduction in atherothrombotic cardiovascular events in the CANTOS trial[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 76: 1660-1670.
- [20] Lv SL, Zeng ZF, Gan WQ, *et al.* Lp-PLA2 inhibition prevents Ang II-induced cardiac inflammation and fibrosis by blocking macrophage NLRP3 inflammasome activation[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42: 2016-2032.
- [21] Yan Z, Qi Z, Yang X, *et al.* The NLRP3 inflammasome: multiple activation pathways and its role in primary cells during ventricular remodeling[J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236: 5547-5563.
- [22] Scott L, Fender A, Saljic A, *et al.* NLRP3 inflammasome is a key driver of obesity-induced atrial arrhythmias[J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117: 1746-1759.
- [23] Wei Z, Fei Y, Wang Q, *et al.* Loss of Camk2n1 aggravates cardiac remodeling and malignant ventricular arrhythmia after myocardial infarction in mice via NLRP3 inflammasome activation[J]. *Free Radic Biol Med*, 2021, 167: 243-257.

## 本刊稿件格式要求(4)

**4.1 科学名词:**采用全国自然科学名词审定委员会公布的术语。药物名称以最新版本《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编写的《中国药品通用名称》为准,英文药物名称采用国际非专利药名,不用商品名。国际通用的缩写词在正文第一次出现时用“中文全称(英文全称,英文缩写)”格式。例:转化生长因子(transforming growth factor, TGF)。

**4.2 需用斜体者:**坐标系符号,如:横坐标( $X$ );拉丁学名;统计学符号( $n$ ,  $t$  检验, 概率  $P$  等)。基因的英文缩写用斜体大写,蛋白的英文缩写用正体大写。例:“ $SHH$ ”表示基因,“ $SHH$ ”表示蛋白。

**4.3 单位:**按国家公布的法定计量单位,如:米(m)、升(L)、克(g)、天(d)、小时(h)、分(min)、秒(s)。在1个组合单位内,不能有1条以上的斜线,如:用药剂量 mg/kg/d 应为 mg/(kg·d),心脏指数 L/min/m<sup>2</sup> 应为 L/(min·m<sup>2</sup>)。数值范围用“~”,数字与单位间空1格,如:10~20 mg; 1~8 h; 55%~64% (不能用 55-64%); (3~6)×10<sup>4</sup> 或 3×10<sup>4</sup>~6×10<sup>4</sup> (不能用 3-6×10<sup>4</sup>)。

**4.4 短篇综述要求:**1)近期内人们普遍关注及研究热门领域的短篇综述,一般在4 000字以内(不包括参考文献);2)近3年内相关外文参考文献占70%以上;3)结合文献进行一定深度的评述,不能只是文献罗列介绍;4)结合自己的研究工作,对该领域存在的问题和解决方法提出自己的观点;5)请在稿件最后附上第一作者和通信作者的科研背景资料,包括作者的科研简介以及所在课题组的相关科研工作简介。