

· 综述 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.20.036

NLRPs 炎性小体激活和调控机制研究现状*

冯华国¹,冯毅¹综述,张玲²,代国华¹,李斌³,鲁灵^{3△}审校

1. 重庆市江津中心医院肝胆外科,重庆 402260;2. 重庆医科大学附属第二医院肾内科,重庆 400010;

3. 重庆市江津区中心医院肾内科,重庆 402260

关键词:核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白家族; 炎性小体; 激活机制; 调控机制

中图分类号:R392

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)20-3048-04

炎性小体是一种新近发现的细胞免疫信号复合体,可被多种病原体和体内免疫平衡改变产生的危险信号活化,启动一系列炎症信号级联,引发细胞焦亡和局部炎症,在抗炎和抗肿瘤过程中发挥重要作用。目前已发现的炎性小体包括核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白家族(NLRPs)、神经元焦亡抑制蛋白-NOD样受体 C(NAIP-NLRC)、Pyrin 和黑色素瘤 2 基因(AIM2)炎性小体等,其中 NLRPs 炎性小体是最为经典的一类。本文就 NLRPs 炎性小体的构成和功能、激活途径、激活调控因子及其在临床相关疾病中的意义作一综述。

1 NLRPs 炎性小体的结构和功能

炎性小体是一种存在于细胞质内的多聚复合体^[1]。功能性炎性小体的激活的起点是模式识别受体(PRRs),它能感知病原体相关的分子模式(PAMPs)、危险相关分子模式(DAMPs)及引起体内平衡改变的分子进程(HAMPs)^[2]。被 PAMPs、DAMPs 或 HAMPs 激活的 PRRs 会招募焦亡相关斑点样蛋白(ASC),该接头蛋白包括一个热蛋白域(PYD)和一个半胱天冬氨酸蛋白水解酶(caspase)激活和募集域(CARD)。ASC 将上游的 PRRs 与相对应的 caspase 1 结合,活化的 caspase 1 可水解促炎因子白细胞介素(IL)-1 β 和 IL-18 的前体,促进其成熟^[3]。此外,含有 CARD 的 PRRs,可跳过接头蛋白 ASC 作用,直接与 caspase 1 结合形成无 ASC 的炎性小体复合物^[4]。活化的 caspase 1/4/5/11 进一步水解并激活细胞焦亡关键蛋白 Gasdermin D(GSDMD)所产生的 GSDMD-N 端,导致细胞膜孔洞形成、细胞肿胀和细胞质内容物包括大量促炎因子的释放,引起强烈的组织炎症反应^[5]。

2 NLRP1 炎性小体

人类 NLRP1 是第一个被发现参与组装炎性小体

的蛋白。不同于人类 NLRP1,小鼠 NLRP1 具有 3 个亚型:NLRP1a、NLRP1b 和 NLRP1c。除小鼠 NLRP1b 能被炭疽杆菌分泌的炭疽毒素特异性激活外,人类 NLRP1 和小鼠 NLRP1b 已被证实还能由刚地弓形虫、福氏志贺菌感染和毒素释放所激活^[6]。

2.1 小鼠 NLRP1 炎性小体 小鼠 NLRP1b 由感知功能结构域(FIIND)、核酸结合域(NBD)、富亮氨酸重复域(LRR)和 CARD 构成,其激活是通过一系列的蛋白水解过程来介导完成的。上游结构域在经过自我水解后将 NLRP1b 裂解为 2 个通过非共价键结合的片段,此时的 NLRP1b 尚处于自我抑制状态。炭疽毒素中的致死因子可将 NLRP1b 裂解为 N 端和 C 端,其 N 端很快被泛素化降解,释放的 C 端片段含有 CARD,可启动炎性小体的组装^[7]。有研究证实,通过人为影响 NLRP1b 泛素化降解的关键酶,包括 E3 连接酶 UBR4、泛素化激活酶 UBA6 等的活性,抑制 NLRP1b N 端的降解及 NLRP1b 炎性小体活化^[8]。N 端的降解和 C 端的释放可能是多种诱导激活剂对 NLRP1b 炎性小体激活的统一机制。

2.2 人 NLRP1b 炎性小体 人类 NLRP1 的激活较小鼠 NLRP1b 的激活更为复杂。有报道称,PYD 内 A54T、A66V 和 M77T 等点突变,以及 PYD 或 LRR 的缺失可导致细胞 IL-1 β 的产生增加,在 NLRP1 的 PYD 和 LRR 缺失的人类生殖细胞系中,发生了 NLRP1 的自我抑制状态被破坏和 NLRP1 炎性小体过度激活的情况^[9]。有研究证实,上述基因突变或结构缺失导致的 NLRP1 炎性小体的激活与自愈性掌跖癌和角化病的个体易感性相关^[10]。

3 NLRP3 炎性小体

与 NLRP1 炎性小体不同,NLRP3 炎性小体不一定含有 CARD,通常不带有 CARD 的 NLRP3 需要结合 ASC 完成激活。传感蛋白 NLRP3 能感知体内多

* 基金项目:重庆市自然科学基金项目(cscet2019jcyj-msxmX0620);重庆市卫生局科学基金项目(2012-2-376)。

△ 通信作者,E-mail:40497393@qq.com。

本文引用格式:冯华国,冯毅,张玲,等. NLRPs 炎性小体激活和调控机制研究现状[J]. 检验医学与临床,2021,18(20):3048-3051.

种刺激,包括病原体、微生物毒素、核酸、三磷酸腺苷(ATP)和化学药物。NLRP3 炎性小体的激活会导致质膜孔和离子流的形成、溶酶体破裂和线粒体功能障碍,从而破坏细胞结构和功能,发挥清除“危险细胞”和扩大局部炎性反应的作用^[5]。

3.1 NLRP3 炎性小体激活 NLRP3 的激活通常分为经典激活途径和非经典激活途径。在 NLRP3 炎性小体的经典激活途径中,细胞外的危险分子通过一系列受体信号转换为细胞内信号,通过 PRRs 识别 PAMPs 或 DAMPs,启动 NLRP3 炎性小体的组装^[11]。其中 Toll 样受体(TLRs)、NOD 样受体(NLRs)和细胞因子受体[如白细胞介素 1 受体(IL-1R)和肿瘤坏死因子受体(TNFRs)]等信号感知受体及下游基因表达蛋白[如髓样分化蛋白(MyD88)、核因子- κ B(NF- κ B)、焦亡信号调控激酶(ASK)、脂肪酶合成酶相关蛋白(FADD)、肿瘤坏死因子受体相关因子互作蛋白(TIFA)]等参与了 PAMPs 和 DAMPs 的信号传递过程^[12]。

NLRP3 在结合 PAMPs 或 DAMPs 后,激活组装形成 NLRP3-ASC-caspase 1 复合体,成为 NLRP3 炎性小体。活化的 caspase 1(cleaved-caspase 1)能促进 IL-1 前体的成熟并裂解 GSDMD,GSDMD 的 N 端插入细胞质膜形成质膜孔,使细胞发生焦亡,并释放出大量成熟的促炎因子,产生强烈的炎性反应^[5]。

NLRP3 的非经典激活途径由进入细胞内的细菌脂多糖(LPS)启动。革兰阴性菌分泌的含 LPS 的外膜囊泡能通过网格蛋白介导的内吞作用进入细胞内。鸟苷酸结合蛋白(GBP)和免疫相关鸟苷三磷酸酶(IRG)可破坏含有病原体的液泡,释放 LPS^[13]。

LPS 成分脂质 A 与小鼠 caspase 11 或人类 caspase 4/5 结合,裂解 GSDMD,产生质膜孔和钾离子流,触发 NLRP3 炎性小体的激活。有研究报道显示,进入细胞质的 LPS 能促使 caspase 11 裂解膜通道蛋白泛连接蛋白 1(Panx1),引发 ATP 释放和细胞焦亡^[14]。然而,Panx1 缺陷小鼠虽然缺少 caspase 11-Panx1 轴,但在 LPS 的刺激下仍能产生不依赖嘌呤能离子通道型受体 7(P2X7R)的钾离子外流和 NLRP3 的激活。这提示存在一种不依赖 P2X7R 的钾通道来调节 NLRP3 的非经典激活^[15]。

肠道沙门菌、变形杆菌通过内质网应激可导致细胞线粒体功能障碍,释放活性氧(ROS)和线粒体 DNA(mtDNA),诱导 NLRP3 炎性小体的活化^[16]。由钙离子通道激活导致的细胞外钙离子内流,以及以内质网为主的细胞器释放入细胞质的钙离子,也能促进 NLRP3 与 ASC 的连接活化^[17]。

3.2 NLRP3 炎性小体激活的调控机制 激酶 NI-

MA 相关蛋白激酶 7(MEK7)是 NLRP3 炎性小体激活过程中的重要蛋白酶。NEK7 能直接与 NLRP3 的 NBD 和 LRR 结合,促进 NLRP3 蛋白的低聚化。仅 NEK7 和 NLRP3 的结合不足以直接启动 NLRP3 炎性小体的激活,但是能为 NLRP3 炎性小体的激活提供有利条件^[18]。NLRP3 的激活受到多种蛋白质翻译后修饰的调控。例如,小鼠 E3 连接酶 TRIM 可通过泛素化对 NLRP3 产生负调控作用,而 E3 连接酶 Pellino2 可促进人和小鼠巨噬细胞中 NLRP3 的激活^[19]。除了泛素化降解对于 NLRP3 激活的调控,蛋白激酶 A 能通过对 NBD 的磷酸化修饰抑制 NLRP3 的激活,而蛋白激酶 D 对 NBD 的磷酸化作用却能促进 NLRP3 的激活^[20]。

4 NLRP6 炎性小体

NLRP6 传感蛋白结构与 NLRP3 类似,由 LRR、NBD 和 PYD 构成,但 NLRP6 主要在肠组织细胞中高表达,发挥其免疫调节作用。组织正常代谢产物和微生物代谢产物均可调节小鼠肠组织内的 NLRP6 活性。胆汁酸衍生物牛磺酸是 NLRP6 的天然激动剂,而体内组胺和多胺精胺是小鼠 NLRP6 的抑制剂,共同参与维持小鼠肠道 NLRP3 炎性小体活化水平的稳定^[21]。目前,这些能够调节 NLRP6 活性的代谢产物的产生机制,以及是否与肠道菌群种类相关尚不清楚。

革兰阳性菌的磷壁酸(LTA)可同时招募 caspase 1 和 caspase 11 到炎性复合体中,激活 NLRP6,促进 IL-18 的产生。有研究提出,LTA 是小鼠巨噬细胞中 NLRP6 的同源配体,以革兰阳性菌的 LTA 刺激小鼠细胞或直接以革兰阳性菌感染巨噬细胞,均能诱导 NLRP6 的激活和 IL-18 的产生^[22]。对人源 NLRP6 的 PYD 结构分析进一步证实,其能自行组装形成大型丝状复合物,通过 PYD-PYD 作用吸引 ASC,并募集 caspase 1 和 caspase 11^[23]。

有研究在敲除小鼠 NLRP6 基因后,观察到基因敲除后的小鼠在应对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌和鼠伤寒杆菌的感染时,其存活率较对照组明显提高^[24]。也有研究指出,NLRP6 可能是 NF- κ B 和 MAPK 信号通路的负性调控因子。这些发现提示 NLRP6 在体内不仅为炎性小体的传感蛋白,也可能在病原体宿主防御中发挥重要作用^[25]。

5 NLRP9b 炎性小体

NLRP9b 主要在小鼠小肠和大肠上皮细胞中表达,参与肠道屏障功能的维持和肠道免疫调节。小鼠 NLRP9b 能特异性识别轮状病毒双链 RNA 和 DEAH-box 解旋酶 9(DHX9)形成的复合物并与之结合形成功能性炎性小体。与 NLRP6 类似,NLRP9b

不能直接识别 dsRNA, 必须通过 RNA 解旋酶的作用^[26], 可以推测 NLRP9b 和 NLRP6 在识别 RNA 的过程中可能需要其他传感器的配合, 启动一系列信号级联反应。

与野生型小鼠相比, 肠上皮细胞中 NLRP9b 或其他 NLRP9b 炎性小体成分缺失的小鼠对轮状病毒的易感性增强, 且人为敲除 NLRP9b 会导致小鼠在感染轮转病毒后 IL-18 分泌受限, 揭示小鼠 NLRP9b 的细胞特异性对抗轮状病毒感染中的重要性^[27]。目前研究仅发现轮状病毒是 NLRP9b 炎性小体的激活物, 对于 NLRP9b 炎性小体的其他激活产物, 以及是否依赖 DHX9 或其他的呈递环节仍在进一步探寻中。

6 NLRPs 与相关疾病

NLRPs 炎性小体参与多数疾病的发生和发展, 并有望成为重要的药物研发靶点。近期 1 项研究表明, 非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 患者肝脏中 NLRP3 和 GSDMD 水平明显升高, 而通过高脂诱导 NLRP3^{-/-} 和 GSDMD^{-/-} 小鼠, 可明显改善 NASH 小鼠模型的炎症状态^[28]。也有研究利用 NLRP3 敲除小鼠证明, 可通过抑制由 LPS 激活 TLRs 并活化 NLRP3 这一信号通路所介导的肝脏炎症水平, 同时改善了纤维化程度^[29]。也有研究表明, P2X7 受体和 NLRP3 这一信号通路在 NASH 的发生、发展中起重要作用, 为未来针对 P2X7 受体/NLRP3 的基因治疗提供了理论依据^[30]。NLRPs 的活化与酒精性肝炎 (ALD) 的发生、发展密切相关。在 ALD 小鼠模型中, NLRP3 水平明显增加, 通过腺病毒直线切割 NLRP3^{-/-} 小鼠的 GSDMD, 会导致 ALD 小鼠模型的炎症水平增强^[31]。

此外, 肝脏切除术后 NLRP3 的活化会导致 IL-33 释放, 诱导肝窦内中性粒细胞聚集, 从而引起肝脏缺血再灌注损伤^[32]。有研究证实, NLRP3 参与了中枢神经系统^[33] 和心血管系统^[34-35] 疾病的发生和发展, 对其深入的研究可为临床相关疾病的靶向治疗提供新的途径。

7 结 语

近年来, 人们发现了大量炎性小体的激活因子和调节因子, 通过人为调控 NLRPs 等信号转导蛋白的表达, 以及翻译后的蛋白质修饰来控制炎性小体的激活水平。然而, 许多关于炎性小体的重要问题仍没有答案, 特别是焦亡相关分子 caspase 8 对 GSDMD 的切割作用引发的炎性小体激活后细胞焦亡发生机制, 以及 caspase 对细胞焦亡的平衡作用^[36]。总之, 充分认识 NLRPs 炎性小体调控炎性反应和细胞焦亡的途径, 以及进一步研究 NLRPs 炎性小体调控和激活机制对炎性相关疾病靶向药物的开发至关重要。

参考文献

- [1] CHEN K W, MONTELEONE M, BOUCHER D, et al. Noncanonical inflammasome signaling elicits gasdermin D-dependent neutrophil extracellular traps[J]. *Sci Immunol*, 2018, 3(26): eaar6676.
- [2] LISTON A, MASTERS S L. Homeostasis-altering molecular processes as mechanisms of inflammasome activation [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(3): 208-214.
- [3] SHI J, GAO W, SHAO F. Pyroptosis: gasdermin-mediated programmed necrotic cell death[J]. *Trends Biochem Sci*, 2017, 42(4): 245-254.
- [4] DE CARVALHO R, LIMA-JUNIOR D S, DA SILVA M, et al. Leishmania RNA virus exacerbates Leishmaniasis by subverting innate immunity via TLR3-mediated NLRP3 inflammasome inhibition [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 5273.
- [5] DING J, SHAO F. Snapshot: the noncanonical inflammasome[J]. *Cell*, 2017, 168(3): 544.
- [6] YI Y S. Roles of ginsenosides in inflammasome activation [J]. *J Ginseng Res*, 2019, 43(2): 172-178.
- [7] SANDSTROM A, MITCHELL P S, GOERS L, et al. Functional degradation: a mechanism of NLRP1 inflammasome activation by diverse pathogen enzymes[J]. *Science*, 2019, 364(6435): eaau1330.
- [8] YANG J, LIU Z, XIAO T S. Post-translational regulation of inflammasomes[J]. *Cell Mol Immunol*, 2017, 14(1): 65-79.
- [9] ZHONG F L, ROBINSON K, TEO D, et al. Human DPP9 represses NLRP1 inflammasome and protects against autoinflammatory diseases via both peptidase activity and FIIND domain binding[J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(49): 18864-18878.
- [10] ZHONG F L, MAMAÏ O, SBORGI L, et al. Germline NLRP1 mutations cause skin inflammatory and cancer susceptibility syndromes via inflammasome activation [J]. *Cell*, 2016, 167(1): 187-202.
- [11] ERSHAID N, SHARON Y, DORON H, et al. NLRP3 inflammasome in fibroblasts links tissue damage with inflammation in breast cancer progression and metastasis [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 4375.
- [12] XUE Y, ENOSI TUIPULOTU D, TAN W H, et al. Emerging activators and regulators of inflammasomes and pyroptosis[J]. *Trends Immunol*, 2019, 40(11): 1035-1052.
- [13] REDEKER C, BRISCOE W H. Interactions between mutant bacterial lipopolysaccharide (LPS-Ra) surface layers, surface vesicles, membrane fusion, and effect of Ca²⁺ and temperature[J]. *Langmuir*, 2019, 35(48): 15739-15750.
- [14] MATURANA C J, AGUIRRE A, SÁEZ J C. High glu-

- cocorticoid levels during gestation activate the inflammasome in hippocampal oligodendrocytes of the offspring [J]. *Dev Neurobiol*, 2017, 77(5):625-642.
- [15] PRONIN A, PHAM D, AN W, et al. Inflammasome activation induces pyroptosis in the retina exposed to ocular hypertension injury[J]. *Front Mol Neurosci*, 2019, 12:36.
- [16] XIA X, LU B, DONG W, et al. Atypical gasdermin D and mixed lineage kinase domain-like protein leakage aggravates tetrachlorobenzoquinone-induced NOD-like receptor protein 3 inflammasome activation[J]. *Chem Res Toxicol*, 2018, 31(12):1418-1425.
- [17] EUGENIA SCHROEDER M, RUSSO S, COSTA C, et al. Pro-inflammatory Ca²⁺-activated K⁺ channels are inhibited by hydroxychloroquine[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):1892.
- [18] SHARIF H, WANG L, WANG W L, et al. Structural mechanism for NEK7-licensed activation of NLRP3 inflammasome[J]. *Nature*, 2019, 570(7761):338-343.
- [19] HUMPHRIES F, BERGIN R, JACKSON R, et al. The E3 ubiquitin ligase Pellino2 mediates priming of the NLRP3 inflammasome[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):1560.
- [20] WANG M, WANG Y, XIE T, et al. Prostaglandin E2/EP2 receptor signalling pathway promotes diabetic retinopathy in a rat model of diabetes [J]. *Diabetologia*, 2019, 62(2):335-348.
- [21] LEVY M, THAISS C A, ZEEVI D, et al. Microbiota-modulated metabolites shape the intestinal microenvironment by regulating NLRP6 inflammasome signaling[J]. *Cell*, 2015, 163(6):1428-1443.
- [22] HARA H, SEREGIN S S, YANG D, et al. The NLRP6 inflammasome recognizes lipoteichoic acid and regulates gram-positive pathogen infection[J]. *Cell*, 2018, 175(6):1651-1664.
- [23] SHEN C, LU A, XIE W J, et al. Molecular mechanism for NLRP6 inflammasome assembly and activation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(6):2052-2057.
- [24] ANAND P K, MALIREDDI R K, LUKENS J R, et al. NLRP6 negatively regulates innate immunity and host defence against bacterial pathogens[J]. *Nature*, 2012, 488(7411):389-393.
- [25] YU J, ZHU Y H, YANG G Y, et al. Anti-inflammatory capacity of *Lactobacillus rhamnosus* GG in monophasic variant *Salmonella* infected piglets is correlated with impeding NLRP6-mediated host inflammatory responses [J]. *Vet Microbiol*, 2017, 210:91-100.
- [26] NGO C, MAN S M. NLRP9b, a novel RNA-sensing inflammasome complex[J]. *Cell Res*, 2017, 27(11):1302-1303.
- [27] ZHU S, DING S, WANG P, et al. Nlrp9b inflammasome restricts rotavirus infection in intestinal epithelial cells [J]. *Nature*, 2017, 546(7660):667-670.
- [28] XU B, JIANG M, CHU Y, et al. Gasdermin D plays a key role as a pyroptosis executor of non-alcoholic steatohepatitis in humans and mice[J]. *J Hepatol*, 2018, 68(4):773-782.
- [29] WREE A, MCGEOUGH M D, PEÑA C A, et al. NLRP3 inflammasome activation is required for fibrosis development in NAFLD[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2014, 92(10):1069-1082.
- [30] ROSSATO M, DI VINCENZO A, PAGANO C, et al. The P2X7 receptor and NLRP3 axis in non-alcoholic fatty liver disease: a brief review[J]. *Cells*, 2020, 9(4):1047.
- [31] KHANOVA E, WU R, WANG W, et al. Pyroptosis by caspase11/4-gasdermin-D pathway in alcoholic hepatitis in mice and patients[J]. *Hepatology*, 2018, 67(5):1737-1753.
- [32] YAZDANI H O, CHEN H W, TOHME S, et al. IL-33 exacerbates liver sterile inflammation by amplifying neutrophil extracellular trap formation[J]. *J Hepatol*, 2018, 68(1):130-139.
- [33] GUAN Y, HAN F. Key mechanisms and potential targets of the NLRP3 inflammasome in neurodegenerative diseases[J]. *Front Integr Neurosci*, 2020, 14:37.
- [34] LI N, ZHOU H, WU H, et al. STING-IRF3 contributes to lipopolysaccharide-induced cardiac dysfunction, inflammation, apoptosis and pyroptosis by activating NLRP3 [J]. *Redox Biol*, 2019, 24:101215.
- [35] KIM S R, LEE S G, KIM S H, et al. SGLT2 inhibition modulates NLRP3 inflammasome activity via ketones and insulin in diabetes with cardiovascular disease [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1):2127.
- [36] SARHAN J, LIU B C, MUENDLEIN H I, et al. Caspase-8 induces cleavage of gasdermin D to elicit pyroptosis during *Yersinia* infection[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(46):e10888-e10897.