

# 细胞焦亡的分子机制及其在心血管病变中的研究进展

朱晓龙<sup>1,2</sup> 侯阳<sup>2</sup>

(1. 河北北方学院附属第一医院医学影像部, 河北 张家口 075000; 2. 中国医科大学附属盛京医院放射科, 辽宁 沈阳 110004)

**【摘要】** 细胞焦亡作为新发现的一种细胞死亡方式, 释放炎症因子参与了心血管疾病的发生发展过程。深入研究细胞焦亡的分子机制对于早期干预心血管病变的发生发展、寻找新的治疗靶点具有重大意义。

**【关键词】** 细胞焦亡; 炎症因子; 心血管疾病

**【DOI】** 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2020.08.016

## Molecular Mechanism of Pyroptosis and Its Research Progress in Cardiovascular Diseases

ZHU Xiaolong<sup>1,2</sup>, HOU Yang<sup>2</sup>

(1. Department of Medical Imaging, The First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei, China; 2. Department of Radiology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning, China)

**【Abstract】** Pyroptosis is a newly discovered cell death mode. The release of inflammatory factors is involved in the development and progression of cardiovascular disease. In-depth study of the molecular mechanism of pyroptosis is of great significance for the early intervention of cardiovascular disease development and the search for new therapeutic targets.

**【Key words】** Pyroptosis; Inflammatory factors; Cardiovascular disease

细胞死亡在调节机体的细胞增殖、分化平衡及维持组织内环境的稳定中发挥非常重要的作用。细胞焦亡是近年新发现的一种程序性炎性细胞死亡方式, 由 Cookson 等<sup>[1]</sup>首次发现, 并使用细胞焦亡定义这种细胞死亡方式。研究表明细胞焦亡参与多种心血管疾病的病理生理过程。现就细胞焦亡的分子机制及其在心血管疾病的研究进展做一综述。

### 1 细胞焦亡的特征

细胞焦亡是一种区别于细胞凋亡与坏死的程序性炎性细胞死亡方式。细胞焦亡时, 细胞膜形成直径 1~2 nm 的孔洞, 细胞逐渐膨胀直至细胞膜破裂, 最终导致大量细胞内容物的释放, 引起强烈的炎症反应<sup>[2]</sup>。因细胞膜孔洞的形成, 细胞染色为阳性。研究表明巨噬细胞在一般活化状态[不释放白介素(interleukin, IL)-1]和焦亡状态(释放 IL-1)之间, 还存在一种巨噬细胞既存活又释放 IL-1 的超活化状态, 在这个过程中, 消皮素 D(gasdermin D, GSDMD)使细胞

膜形成孔洞介导 IL-1 等炎症因子释放到细胞外而引起细胞焦亡, 但如果形成的孔数量不足, 则不能介导细胞焦亡<sup>[3]</sup>。因此有学者称细胞焦亡为 GSDMD 介导的程序性死亡<sup>[4]</sup>。巨噬细胞在 GSDMD 缺失的情况下, 无论是炎症小体激活剂或是脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激均不能启动细胞焦亡。

### 2 细胞焦亡的分子机制

细胞焦亡的分子机制主要包括依赖半胱天冬蛋白酶(caspase)-1 的经典途径, 依赖 caspase-4/5/11 的非经典途径以及细胞焦亡分子机制的新发现(如图 1<sup>[5]</sup>)。

#### 2.1 依赖 caspase-1 的经典途径

细胞在高脂、高糖和炎症等刺激下激活它们各自的炎性体传感器, 如核苷酸结合寡聚域样受体蛋白 3(nod-like receptor protein 3, NLRP3)、黑色素瘤缺乏因子 2(absent in melanoma 2, AIM2)或 pyrin 结构域等。其中以 NLRP3 炎性小体介导的细胞焦亡在心血管疾

病中研究最为广泛。NLRP3 炎性小体是由 NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC) 和 caspase-1 形成的细胞内蛋白质复合物。NLRP3 激活后与 ASC 相互作用激活 ASC, ASC 激活后募集形成局部高浓度的 caspase-1 前体, 并使其发生自体水解, 形成 caspase-1 成熟体。一方面, caspase-1 能识别无活性的 IL-1 $\beta$  和 IL-18 前体使其转变成为成熟的炎症因子。另一方面, caspase-1 剪切 GSDMD, 剪切后的氨基端产物

GSDMD-N 寡聚化介导细胞膜孔的形成, 从而促使细胞肿胀, 炎症因子释放, 诱发细胞焦亡<sup>[6-8]</sup>。线粒体功能障碍、活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 和溶酶体的破坏等, 通过核因子  $\kappa$ B 信号通路激活 NLRP3 炎性小体<sup>[9-10]</sup>。细胞内离子稳态失衡是 NLRP3 炎性小体激活的主要细胞应激信号。研究显示, 钾外流对于 NLRP3 炎性小体的激活极其重要, 在内环境稳态被打破的情况下, 细胞内的钾水平因流出降至低于使 NLRP3 活化的阈值, 则激活 NLRP3 炎性小体<sup>[11]</sup>。

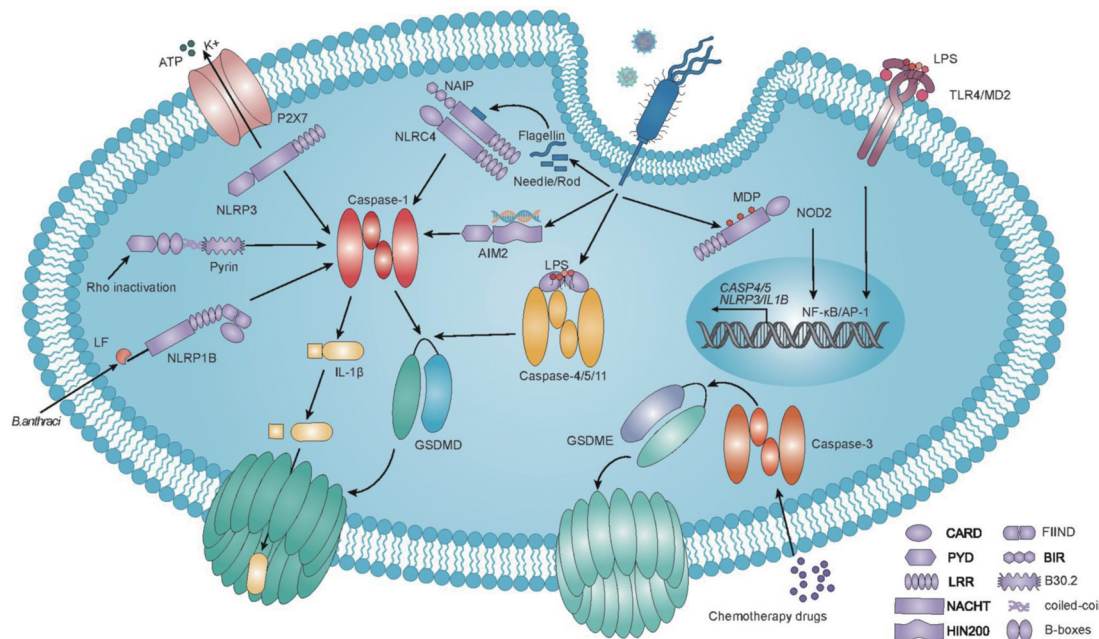


图 1 细胞焦亡的分子机制及新发现

## 2.2 依赖 caspase-4/5/11 的非经典途径

革兰氏阴性杆菌细胞壁成分 LPS 被 caspase-4/5/11 识别, 随后 caspase-4/5/11 直接剪切 GSDMD, 启动细胞焦亡。同时氨基端的 GSDMD-N 还能激活 NLRP3 炎性小体, NLRP3 炎性小体的激活导致 caspase-1 激活, IL-1 $\beta$  成熟, 细胞膜的完整性被破坏到无法恢复, 发生细胞焦亡<sup>[12]</sup>。

## 2.3 细胞焦亡分子机制的新发现

Caspase-3 以往被认为是细胞凋亡的标志, 然而国内学者<sup>[13]</sup>研究发现 caspase-3 同样参与到细胞焦亡过程中, 并由此揭示了细胞焦亡新的机制: caspase-3 被肿瘤坏死因子- $\alpha$  或化疗药物激活后, 特异性地切割活化与 GSDMD 属于同一蛋白家族的消皮素 E (gasdermin E, GSDME) 蛋白, 释放出 N 端片段, 识别并结合细胞膜上的磷脂类分子, 使细胞膜形成孔洞, 细胞膜裂解, 导致 GSDME 阳性表达的细胞诱发焦亡, 而不表达或表达极少 GSDME 的细胞则发生凋亡。GSDME 阳性表达的细胞被 RNA 干扰敲低 GSDME 表

达后, 化疗药物所引起的细胞焦亡则转变为凋亡。此研究结果通过用化疗药物顺铂处理 GSDME 缺失的小鼠, 化疗的毒副作用在 GSDME 缺失小鼠上得到明显缓解而得到验证。

## 3 细胞焦亡在心血管疾病中的作用

心血管疾病是世界范围内导致患者死亡和生活质量下降的重要原因。研究表明, 细胞焦亡与多种心血管疾病的发病机制有关, 包括动脉粥样硬化、心肌梗死、糖尿病心肌病和心肌炎、心房颤动<sup>[14]</sup>、扩张型心肌病以及肺动脉高压等。

### 3.1 细胞焦亡在动脉粥样硬化中的作用

动脉粥样硬化是一种慢性炎症性疾病, 病理过程涉及内皮功能障碍, 促炎性细胞因子释放和泡沫细胞形成<sup>[15]</sup>。内皮细胞焦亡<sup>[16]</sup>、巨噬细胞焦亡<sup>[17]</sup>及平滑肌细胞焦亡<sup>[18]</sup>与动脉粥样硬化病变的发生、发展以及斑块的稳定性密切相关。内皮细胞焦亡在早期动脉粥样硬化形成中起着至关重要的作用。研究显示, 影响内皮细胞焦亡的主要因素有吸烟、高脂血症、高胆

固醇血症和高血糖等。尼古丁是一种众所周知的动脉粥样硬化危险因素,通过引起 ROS 的产生和激活内皮细胞焦亡经典途径诱发疾病<sup>[19]</sup>。此外,三甲胺-N-氧化物是独立的致动脉粥样硬化的危险因素。三甲胺-N-氧化物通过上调琥珀酸脱氢酶复合物 B 亚基表达来破坏线粒体的结构和功能,并增加血管内皮细胞中的 ROS 产生,激活 NLRP3 炎性小体,促进内皮细胞焦亡<sup>[20]</sup>。早期动脉粥样硬化病变中巨噬细胞的死亡是有益的,因为斑块中这些细胞的数量减少可降低细胞炎症反应。粥样斑块的进展期,斑块中巨噬细胞的焦亡促使坏死核心形成,平滑肌细胞焦亡使纤维帽明显变薄,从而促进动脉粥样硬化斑块不稳定,最终可导致斑块破裂。通过影响特定的细胞焦亡途径,如选择性地防止晚期病变中细胞焦亡的治疗策略可抑制动脉粥样硬化的发展。

### 3.2 细胞焦亡在心肌梗死中的作用

在心肌梗死期间,尽管早期缺血再灌注是最有效的治疗方法,但缺血再灌注损伤可导致 ROS 积聚,细胞离子稳态失调和炎症反应<sup>[21]</sup>。而抑制 NLRP3 炎性小体可减轻炎症反应并改善心肌梗死所致的心脏功能障碍,因此, NLRP3 炎性小体的调节被认为是心肌梗死的潜在治疗靶标<sup>[22]</sup>。有研究证实 microRNA-29a 可通过抑制氧化应激和 NLRP3 炎性小体介导的细胞焦亡,从而改善心肌缺血再灌注损伤<sup>[23]</sup>。

### 3.3 细胞焦亡在糖尿病心肌病中的作用

在糖尿病状态下,血糖增高、代谢紊乱、氧化应激增加和线粒体功能紊乱会增加 ROS 的产生,加重心肌损害<sup>[24]</sup>。更重要的是,研究证明 LPS 通过激活 H9C2 心肌细胞的 ROS 依赖性 NLRP3 炎性小体,然后经核因子  $\kappa$ B 信号通路引起细胞焦亡<sup>[25]</sup>。在糖尿病心肌病中 caspase-1 相关的环状 RNA 水平升高,进而激活 caspase-1 的活性,引起细胞焦亡。此外,沉默 caspase-1 相关的环状 RNA 可显著降低细胞焦亡<sup>[26]</sup>。扩展了用于治疗糖尿病心肌病的细胞焦亡信号通路中的潜在治疗靶标。

### 3.4 细胞焦亡在心肌炎中的作用

心肌炎是指各种原因所致的局限性或弥漫性心肌炎症病变。细胞焦亡在心肌炎的发生发展过程中也具有重要意义。通过抑制细胞焦亡信号通路中的 caspase-1,可显著缓解病毒性心肌炎以及实验性小鼠自身免疫性心肌炎的症状<sup>[27]</sup>。这证实细胞焦亡参与了心肌炎的疾病过程。此外,研究发现,组织蛋白酶 B 引起的细胞焦亡加重了柯萨奇病毒 B3 所诱导的心肌炎<sup>[28]</sup>。抑制细胞焦亡信号通路可能是治疗心肌炎的新方法。

### 3.5 细胞焦亡在心房颤动中的作用

心房颤动是以心房快速无序收缩为特征的心律失常。研究表明氧化应激和炎症反应参与心房颤动的发生<sup>[29]</sup>。血清 IL-1 $\beta$  和 IL-18 水平升高与由阵发性心房颤动发展为持续性心房颤动呈正相关<sup>[30]</sup>。Yao 等<sup>[31]</sup>首先证明了由 NLRP3 炎性小体激活所诱导的阵发性心房颤动和持续性心房颤动,可被 NLRP3 炎症小体抑制剂 MCC950 所抑制,提示可通过抑制 NLRP3 炎性小体的激活为心房颤动靶向治疗策略。

### 3.6 细胞焦亡在心力衰竭中的作用

心力衰竭是心血管疾病发展的终末阶段,而心肌梗死是导致心力衰竭的主要原因。缺血再灌注引起炎症反应过程中,乳酸脱氢酶的释放、NLRP3 炎性小体的激活和 caspase-1 表达水平的增高,均表明细胞焦亡参与了心肌细胞的损伤,从而进一步加剧心肌梗死后心肌损伤和左室重塑,最终导致心力衰竭<sup>[32]</sup>。

### 3.7 细胞焦亡在扩张型心肌病中的作用

扩张型心肌病是原发性心肌病一种常见的类型,其特征是左心室扩张和收缩功能下降,最终导致心力衰竭。在扩张型心肌病变中,心肌细胞的主要成分  $\alpha$ -肌动蛋白可保护线粒体的功能,减少 ROS 的产生,起到抗氧化应激的作用<sup>[33]</sup>,从而抑制 ROS 激活 NLRP3/caspase-1 信号传导途径诱导细胞焦亡<sup>[34]</sup>,保护心肌细胞,为扩张型心肌病提供了新的治疗前景。

### 3.8 细胞焦亡在肺动脉高压中的作用

肺动脉高压是指在平卧静息状态下,经右心导管测量平均肺动脉压力  $> 20$  mm Hg (1 mm Hg = 0.133 3 kPa) 的状态<sup>[35]</sup>。缺氧性肺部疾病可并发肺动脉高压,随着病程的进展,可导致右心衰竭和死亡。有研究发现 caspase-1 通过 IL-18/IL-6/STAT3 途径诱导肺动脉平滑肌细胞增殖,从而导致缺氧小鼠肺动脉高压<sup>[36]</sup>。在肺动脉高压疾病中,缺氧时胶质瘤相关癌基因锌指蛋白 1 与 ASC 相互作用诱导细胞焦亡,更重要的是,ASC 缺乏会阻止胶质瘤相关癌基因锌指蛋白 1 诱导平滑肌细胞焦亡<sup>[37]</sup>,抑制细胞焦亡可能会成为肺动脉高压治疗的新目标。

## 4 小结

综上所述,细胞焦亡分子机制主要分为依赖于 caspase-1 的经典途径和依赖 caspase-4/5/11 的非经典途径两种,目前发现 caspase-3 可特异切割活化 GSDME 蛋白而引发细胞焦亡。细胞焦亡与多种心血管疾病发病机制有关,因此,细胞焦亡对于早期干预心血管疾病的发生发展,寻找新的治疗靶点具有重大意义,抑制 NLRP3 炎性小体激活或细胞焦亡可为心血管疾病提供新的治疗策略。



## 参考文献

- [1] Cookson BT, Brennan MA. Pro-inflammatory programmed cell death [J]. *Trends Microbiol*, 2001, 9(3): 113-114.
- [2] Cho YS, Park HL. Exploitation of necroptosis for treatment of caspase-compromised cancers [J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(2): 1207-1214.
- [3] 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(1): 35-44. e6.
- [4] Shi J, Gao W, Shao F. Pyroptosis: gasdermin-mediated programmed necrotic cell death [J]. *Trends Biochem Sci*, 2017, 42(4): 245-254.
- [5] Dong N, Shao F. Molecular mechanism and immunological function of pyroptosis (in Chinese) [J]. *Sci Sin Vitae*, 2019, 49(12): 1606-1634.
- [6] Afonina IS, Zhong Z, Karin M, et al. Limiting inflammation – the negative regulation of NF- $\kappa$ B and the NLRP3 inflammasome [J]. *Nat Immunol*, 2017, 18(8): 861-869.
- [7] Orlowski GM, Sharma S, Colbert JD, et al. Frontline science: multiple cathepsins promote inflammasome-in-dependent, particle-induced cell death during NLRP3-dependent IL-1 $\beta$  activation [J]. *J Leukoc Biol*, 2017, 102(1): 7-17.
- [8] Kambara H, Liu F, Zhang X, et al. Gasdermin D exerts anti-inflammatory effects by promoting neutrophil death [J]. *Cell Rep*, 2018, 22(11): 2924-2936.
- [9] Platnich JM, Chung H, Lau A, et al. Shiga toxin/lipopolysaccharide activates caspase-4 and gasdermin D to trigger mitochondrial reactive oxygen species upstream of the NLRP3 inflammasome [J]. *Cell Rep*, 2018, 25(6): 1525-1536. e7.
- [10] Swanson KV, Deng M, Ting JP. The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics [J]. *Nat Rev Immunol*, 2019, 19(8): 477-489.
- [11] Gaidt MM, Hornung V. The NLRP3 inflammasome renders cell death pro-inflammatory [J]. *J Mol Biol*, 2018, 430(2): 133-141.
- [12] Green DR. The coming decade of cell death research: five riddles [J]. *Cell*, 2019, 177(5): 1094-1107.
- [13] Wang Y, Gao W, Shi X, et al. Chemotherapy drugs induce pyroptosis through caspase-3 cleavage of a gasdermin [J]. *Nature*, 2017, 547(7661): 99-103.
- [14] Jia C, Chen H, Zhang J, et al. Role of pyroptosis in cardiovascular diseases [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 67: 311-318.
- [15] Fernández-Friera L, Fuster V, López-Melgar B, et al. Vascular inflammation in subclinical atherosclerosis detected by hybrid PET/MRI [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 73(12): 1371-1382.
- [16] Long Y, Liu X, Tan XZ, et al. ROS-induced NLRP3 inflammasome priming and activation mediate PCB 118-induced pyroptosis in endothelial cells [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2020, 189: 109937.
- [17] Han Y, Qiu H, Pei X, et al. Low-dose sinapic acid abates the pyroptosis of macrophages by downregulation of lncRNA-MALAT1 in rats with diabetic atherosclerosis [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2018, 71(2): 104-112.
- [18] Li Y, Niu X, Xu H, et al. VX-765 attenuates atherosclerosis in ApoE deficient mice by modulating VSMCs pyroptosis [J]. *Exp Cell Res*, 2020, 389(1): 111847.
- [19] Wu X, Zhang H, Qi W, et al. Nicotine promotes atherosclerosis via ROS-NLRP3-mediated endothelial cell pyroptosis [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 171.
- [20] Wu P, Chen J, Chen J, et al. Trimethylamine N-oxide promotes apoE<sup>-/-</sup> mice atherosclerosis by inducing vascular endothelial cell pyroptosis via the SDHB/ROS pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2020 Feb. DOI: 10.1002/jcp.29518.
- [21] Li H, Xia Z, Chen Y, et al. Mechanism and therapies of oxidative stress mediated cell death in ischemia reperfusion injury [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 2910643.
- [22] Takahashi M. Role of NLRP3 inflammasome in cardiac inflammation and remodeling after myocardial infarction [J]. *Biol Pharm Bull*, 2019, 42(4): 518-523.
- [23] Ding S, Liu D, Wang L, et al. Inhibiting microRNA-29a protects myocardial ischemia-reperfusion injury by targeting SIRT1 and suppressing oxidative stress and NLRP3-mediated pyroptosis pathway [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2020, 372(1): 128-135.
- [24] Guo Y, Zhuang X, Huang Z, et al. Klotho protects the heart from hyperglycemia-induced injury by inactivating ROS and NF- $\kappa$ B-mediated inflammation both in vitro and in vivo [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2018, 1864(1): 238-251.
- [25] Qiu Z, He Y, Ming H, et al. Lipopolysaccharide (LPS) aggravates high glucose- and hypoxia/reoxygenation-induced injury through activating ROS-dependent NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis in H9C2 cardiomyocytes [J]. *J Diabetes Res*, 2019, 2019: 8151836.
- [26] Yang F, Li A, Qin Y, et al. A Novel circular RNA mediates pyroptosis of diabetic cardiomyopathy by functioning as a competing endogenous RNA [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, 17: 636-643.
- [27] Liu N, Su H, Zhang Y, et al. Cholecalciferol cholesterol emulsion attenuates experimental autoimmune myocarditis in mice via inhibition of the pyroptosis signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 493(1): 422-428.
- [28] Wang Y, Jia L, Shen J, et al. Cathepsin B aggravates coxsackievirus B3-induced myocarditis through activating the inflammasome and promoting pyroptosis [J]. *PLoS Pathog*, 2018, 14(1): e1006872.
- [29] 李旭楠, 杨晓蕾, 夏云龙. 活性氧在心房颤动中的作用机制 [J]. *心血管病学进展*, 2019, 40(2): 181-184.
- [30] Chen G, Chelu MG, Dobrev D, et al. Cardiomyocyte inflammasome signaling in cardiomyopathies and atrial fibrillation: mechanisms and potential therapeutic implications [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 1115.
- [31] Yao C, Veleza T, Scott L Jr, et al. Enhanced cardiomyocyte NLRP3 inflammasome signaling promotes atrial fibrillation [J]. *Circulation*, 2019, 138(20): 2227-2242.
- [32] Mauro AG, Bonaventura A, Mezzaroma E, et al. NLRP3 inflammasome in acute myocardial infarction [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2019, 74(3): 175-187.
- [33] Angelini A, Gorey MA, Dumont F, et al. Cardioprotective effects of  $\alpha$ -cardiac actin on oxidative stress in a dilated cardiomyopathy mouse model [J]. *FASEB J*, 2020, 34(2): 2987-3005.
- [34] Wu Z, Liu Q, Zhu K, et al. Cigarette smoke induces the pyroptosis of urothelial cells through ROS/NLRP3/caspase-1 signaling pathway [J]. *NeuroUrol Urodyn*, 2020, 39(2): 613-624.
- [35] Simonneau G, Montani D, Celermajer DS, et al. Haemodynamic definitions and updated clinical classification of pulmonary hypertension [J]. *Eur Respir J*, 2019, 53(1): 1801913.
- [36] Udjus C, Cero FT, Halvorsen B, et al. Caspase-1 induces smooth muscle cell growth in hypoxia-induced pulmonary hypertension [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2019, 316(6): L999-L1012.
- [37] He S, Ma C, Zhang L, et al. GLI1 mediated pulmonary artery smooth muscle cell pyroptosis contributes to hypoxia induced pulmonary hypertension [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2020, 318(3): L472-L482.

收稿日期: 2020-02-01