

NALP3 炎性体活化对脓毒症发病过程中 HMGB1 释放的调节作用

赵京霞 郭玉红 何莎莎 徐霄龙 崔煦然 刘清泉

(中医感染性疾病基础研究北京市重点实验室,首都医科大学附属北京中医医院,北京市中医研究所,北京 100010)

摘要 失控性全身炎症反应和免疫功能障碍是脓毒症发生的主要病理生理过程。HMGB1 是脓毒症致死效应的最重要的晚期炎症递质, HMGB1 由病原体或早期炎症反应分子活化免疫细胞释放, 在脓毒症的发生、发展过程中它不仅发挥促炎效应, 而且还与细胞免疫功能障碍密切相关。脓毒症和内毒素血症中 HMGB1 的分泌和释放继发于 NALP3 炎性体的活化。越来越多的证据表明, 炎性体(尤其是 NALP3 炎性体)对单核/巨噬细胞释放 HMGB1 起着重要的调节作用。在炎症反应过程中, 免疫细胞主动释放 HMGB1 的过程主要以一种炎症反应小体参与的、依赖 caspase 活化的方式进行。通过调节 NALP3 炎性体活化, 抑制 HMGB1 释放, 调节免疫功能紊乱状态, 为脓毒症等免疫紊乱相关疾病的治疗提供了新的策略。

关键词 脓毒症;高迁移率族蛋白 B1;NALP3 炎性体

The regulating effect of NALP3 inflammasome on HMGB1 release in the pathogenetic progress of sepsis

Zhao Jingxia, Guo Yuhong, He Shasha, Xu Xiaolong, Cui Xuran, Liu Qingquan

(Beijing Key Laboratory of basic research with Traditional Chinese Medicine on infectious diseases, Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, affiliated to Capital Medical University, Beijing Institute of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100010, China)

Abstract Uncontrolled systemic inflammatory response and immune dysfunction are the major pathophysiological process of sepsis. High mobility group protein B1 (HMGB1) is one of the most important terminal inflammatory mediators leading to the lethal effect of severe sepsis. HMGB1 is released by pathogens or immune cells activated by early inflammatory factors, and it not only plays a pro-inflammatory effect in the occurrence and development of sepsis, but also closely related to cellular immune dysfunction. The secretion and release of HMGB1 in sepsis as well as endotoxemia are secondary to the activation of inflammasome. More and more evidences show that inflammasome (especially NALP3) plays an important role regulating the release of HMGB1 for monocytes/macrophages. In the inflammation, the immune cells release HMGB1 actively. This progress require a kind of inflammasomes, and it depends on the activation of caspase activation. It provides a new strategy for the treatment of immune disorders such as sepsis by adjusting the activation of NALP3, restrain the release of HMGB1 and regulating immune dysfunction.

Key Words Sepsis; HMGB1; NALP3 inflammasome

中图分类号: R278 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2017.04.003

免疫功能紊乱在脓毒症发生、发展过程中具有重要作用。机体在遭受感染、创伤及大手术等应激情况下, 多种炎症反应递质大量释放, 导致失控性全身炎症反应和免疫功能障碍是脓毒症发生的主要病理生理过程^[2]。高迁移率族蛋白 B1 (High Mobility Group Box-1 Protein, HMGB1) 是脓毒症致死效应的最重要的晚期炎症反应递质^[3]。HMGB1 由病原体或早期炎症反应分子活化免疫细胞释放, 在脓毒症的发生、发展过程中它不仅发挥促炎效应, 而且还与细胞免疫功能障碍密切相关^[4]。一方面, HMGB1 通

过直接或者间接作用激活树突状细胞、单核/巨噬细胞、内皮细胞等, 产生更多的炎症反应因子, 并且与 TNF- α 、IL-1 和 MCP-1 等分子相互诱生^[5], 起到放大扩散炎症反应的作用。另一方面, HMGB1 通过促进 Treg 和 DCreg 的免疫抑制效应^[6-7]、引发机体免疫耐受、削弱免疫细胞对病原体的吞噬清除作用, 加重脓毒症免疫抑制状态^[8]。并且, HMGB1 自身即可诱导脓毒症的发生^[9]。

脓毒症患者或动物血清及多种组织中均存在 HMGB1 水平的上升, 其水平与临床严重感染、休克

患者及脓毒症动物的病情严重程度及预后密切相关,针对 HMGB1 进行干预则可有效降低脓毒症动物的晚期死亡率^[10-12]。由于 HMGB1 多在脓毒症开始后 16~24 h 释放,具有表达增高晚、持续时间长的特点,为改善脓毒症预后提供了独特的时间窗, HMGB1 成为脓毒症治疗的理想靶标^[13]。HMGB1 主要由激活的单核/巨噬细胞分泌和释放。本文重点介绍 NALP3 炎性体活化对脓毒症发病过程中 HMGB1 释放的调节作用。

1 NALP3 炎性体及其活化

炎性体 (Inflammasome) 是一种多蛋白复合体,可识别和感受多种微生物产物及细胞内自身代谢性应激,各种信号的刺激均能活化胱天蛋白酶 (Cysteinylnylaspartate-specific Protease, caspase), 诱导白介素 (interleukin, IL)-1 β 、IL-18、IL-33 等促炎性反应细胞因子的分泌及多种炎性反应递质的释放^[14]。NALP3 炎性体是 NAL 炎性体家族成员之一,由核心蛋白 NALP3、ASC、Cardinal 蛋白和 pro-caspase-1 构成。其核心蛋白 NALP3 在受到外源性和内源性危险信号刺激后,通过招募 ASC 和 pro-caspase-1,完成 NALP3 炎性体复合物的装配和寡聚化^[15]。NALP3 寡聚体化使 pro-caspase-1 实现空间距离的接近,进而自身切割形成成熟的 caspase-1^[16],caspase-1 负责将无活性 IL-1 β 前体剪切为成熟 IL-1 β ,并且 caspase-1 也能水解 pro-IL-18 和 pro-IL-33 等前炎性反应细胞因子,使其成为有活性的 IL-18 和 IL-33,从而引起炎症反应,介导多种感染性疾病的病理过程^[17]。

2 NALP3 炎性体的活化对 HMGB1 的释放的调节作用

多项研究表明,在脓毒症发病过程中,存在炎性体 (尤其是 NALP3 炎性体) 的异常活化伴随其底物 IL-1 β 、IL-18 的显著升高^[18-19]。炎性体是 caspase 活化所必需的反应平台。研究表明,抑制脓毒症或内毒素血症动物 caspase 活性可以显著降低血清 HMGB1 的水平并提高实验动物的生存率^[20]。Lamkanfi^[21]也发现在 LPS 诱导的内毒素血症动物模型中,caspase-1 基因缺失小鼠与野生型小鼠相比生存时间显著延长伴随血清中 HMGB1 水平降低。体外实验也证实,caspase 非特异性抑制剂可阻断巨噬细胞 HMGB1 的分泌^[20]。由此可见,在炎症反应过程中,免疫细胞主动释放 HMGB1 的过程主要以一种炎性反应小体参与的、依赖 caspase 活化的方式进行。

Willingham 研究团队发现^[22],在 Nalp3^{-/-}基因缺失小鼠的巨噬细胞中,肺炎克雷伯氏杆菌诱导小鼠巨噬细胞释放 HMGB1 的作用完全被抑制。另有研究表明^[21],野生型小鼠巨噬细胞在 LPS + ATP 或 LPS + nigericin 刺激下, HMGB1 分泌水平显著升高,约为基础水平的 10~15 倍。而来源于 Nalp3^{-/-}、ASC^{-/-}、caspase-1^{-/-}3 种基因缺失小鼠的巨噬细胞在受到相应刺激时, HMGB1 分泌水平未见明显波动,与基础值相当。NALP3、ASC、caspase-1 是 NALP3 炎性体的主要成分,以上研究提示炎性体 (尤其是 NALP3 炎性体) 的装配和活化是 LPS 诱导巨噬细胞分泌 HMGB1 的主要调节因素。

NALP3 炎性体被一系列不同的内源性和外源性因素所刺激。Lucattelli M^[23]等发现,选择性 P2X7 受体拮抗剂或 P2X7 受体基因敲除小鼠均可抑制 caspase-1 活性,减少 IL-1 β 和 IL-18 释放,提示 P2X7 受体参与炎性体的形成及活化。新近研究表明,PKR (Protein kinase R) 在 P2X7 受体途径介导的炎性体活化过程中具有重要调节作用。Lu 等^[24]采用不同方法使 PKR 失活后,LPS 诱导巨噬细胞 NALP3 炎性体活化及 HMGB1 释放的作用被大大削弱,而过表达 PKR 可显著提高重组 NALP3 炎性体的活性。并且 PKR 可以直接和 NALP3 炎性体中的 NALP3 蛋白相互作用,从而调节炎性体的活化^[25-26]。目前多数研究认为^[27-28],当机体受到感染后,病原体会刺激机体产生过量的 ATP,激活 Panx1 通道并流出,后者持续性刺激单核/巨噬细胞上的 P2X7 受体,使其聚集活化进而开放,ATP、PAMP 或 DAMP 通过该通道进入胞质促进 PKR 的活化和自磷酸化,活化的 PKR 与 NALP3 等炎性体相互作用,激活 NALP3 炎性体,从而诱导 HMGB1 的释放。

3 NALP3 炎性体活化/HMGB1 释放与脓毒症治疗

多项动物模型研究证实,拮抗 HMGB1 的作用或抑制 HMGB1 释放可显著提高脓毒症动物的生存率,尤其是多种中药成分在调节 HMGB1 释放方面表现出良好的效果,如当归、丹参等^[3]。Glyburide 是第一个被发现具有抑制 NALP3 炎性体活化作用的小分子抑制剂,对由 LPS + ATP 引起的 NALP3 炎性体活化具有特异性的抑制作用,并可以降低内毒素休克引起的动物死亡率,其机制与调节 P2X7 受体途径有关^[29-30]。Li 等^[28]报道甘草主要成分的衍生物 carbenoxolone 通过阻断 PKR 磷酸化,从而抑制 LPS 诱导巨噬细胞 NALP3 炎性体活化及 HMGB1 释放的作用。以上研究提示,调节 NALP3 炎性体活

化、抑制 HMGB1 释放将为脓毒症治疗的提供更广阔的前景。

4 结语

综上所述,炎性体(尤其是 NALP3 炎性体)对单核/巨噬细胞主动释放 HMGB1 起着重要的调节作用。调节 NALP3 炎性体活化,抑制 HMGB1 释放,为脓毒症治疗提供了新的策略。新近研究表明,在脓毒症过程中,NALP3 炎性体活化后可通过引起细胞焦亡(pyroptosis)的形式主动释放 HMGB1,但其具体机制尚未阐明,有待进一步的深入。

参考文献

- [1] Vincent JL, Opal SM, Marshall JC, et al. Sepsis definitions; time for change[J]. *Lancet*, 2013, 381(9868):774-775.
- [2] Cohen J, Vincent JL, Adhikari NK, et al. Sepsis: a roadmap for future research[J]. *Lancet Infect Dis*, 2015, 15(5):581-614.
- [3] Wang H, Ward MF, Sama AE. Targeting HMGB1 in the treatment of sepsis[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2014, 18(3):257-268.
- [4] Wild CA, Bergmann C, Fritz G, et al. HMGB1 conveys immunosuppressive characteristics on regulatory and conventional T cells[J]. *Int Immunol*, 2012, 24(8):485-494.
- [5] Li G, Liang X, Lotze MT. HMGB1: The Central Cytokine for All Lymphoid Cells[J]. *Front Immunol*, 2013, 4(68):1-9.
- [6] Zhang Y, Yao YM, Huang LF, et al. The potential effect and mechanism of high-mobility group box 1 protein on regulatory T cell-mediated immunosuppression[J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2011, 31(2):249-257.
- [7] 郭剑颖. 高迁移率族蛋白 B1 对小鼠调节性树突状细胞免疫功能影响的实验研究[D]. 北京: 军医进修学院, 2012.
- [8] Patel VS, Sitapara RA, Gore A, et al. High Mobility Group Box-1 mediates hyperoxia-induced impairment of *Pseudomonas aeruginosa* clearance and inflammatory lung injury in mice[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 48(3):280-287.
- [9] 赵士兵, 何先弟. 脓毒症晚期炎症递质 HMGB-1[J]. *实用全科医学*, 2007, 5(12):1099-1100.
- [10] Gibot S, Massin F, Cravoisy A, et al. High-mobility group box 1 protein plasma concentrations during septic shock[J]. *Intensive Care Med*, 2007, 33(8):1347-1353.
- [11] Yang M, Cao L, Xie M, et al. Chloroquine inhibits HMGB1 inflammatory signaling and protects mice from lethal sepsis[J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 86(3):410-418.
- [12] Seo ES, Oh BK, Pak JH, et al. Acteoside improves survival in cecal ligation and puncture-induced septic mice via blocking of high mobility group box 1 release[J]. *Mol Cells*, 2013, 35(4):348-354.
- [13] Gentile LF, Moldawer LL. HMGB1 as a therapeutic target for sepsis: it's all in the timing! [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2014, 18(3):243-245.
- [14] Guo H, Callaway JB, Ting JP. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics[J]. *Nat Med*, 2015, 21(7):677-687.
- [15] Wu Y, Ren J, Zhou B, et al. Gene silencing of non-obese diabetic receptor family (NLRP3) protects against the sepsis-induced hyperbolic acidemia in a rat model[J]. *Clin Exp Immunol*, 2015, 179(2):277-293.
- [16] 李青, 汪昌宁, 宋亚玲. NALP3 炎性体与相关疾病的研究进展[J]. *牙体牙髓牙周病学杂志*, 2011, 21(6):355-359.
- [17] Negash AA, Ramos HJ, Crochet N, et al. IL-1 β production through the NLRP3 inflammasome by hepatic macrophages links hepatitis C virus infection with liver inflammation and disease[J]. *PLoS Pathog*, 2013, 9(4):e1003330.
- [18] Moon JS, Lee S, Park MA, et al. UCP2-induced fatty acid synthase promotes NLRP3 inflammasome activation during sepsis[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(2):665-680.
- [19] Zhang B, Liu Y, Sui YB, et al. Cortistatin Inhibits NLRP3 Inflammasome Activation of Cardiac Fibroblasts During Sepsis[J]. *J Card Fail*, 2015, 21(5):426-433.
- [20] Lu B, Wang H, Andersson U, et al. Regulation of HMGB1 release by inflammasomes[J]. *Protein Cell*, 2013, 4(3):163-167.
- [21] Lamkanfi M, Sarkar A, Vande WL, et al. Inflammasome-dependent release of the alarmin HMGB1 in endotoxemia[J]. *J Immunol*, 2010, 185(7):4385-4392.
- [22] Willingham SB, Allen IC, Bergstralh DT, et al. NLRP3 (NALP3, Cryopyrin) facilitates in vivo caspase-1 activation, necrosis, and HMGB1 release via inflammasome-dependent and-independent pathways[J]. *J Immunol*, 2009, 183(3):2008-2015.
- [23] Lucattelli M, Cicko S, Müller T, et al. P2X7 receptor signaling in the pathogenesis of smoke-induced lung inflammation and emphysema[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011, 44(3):423-429.
- [24] Lu B, Nakamura T, Inouye K, et al. Novel role of PKR in inflammasome activation and HMGB1 release[J]. *Nature*, 2012, 488(7413):670-674.
- [25] Yim HC, Williams BR. Protein kinase R and the inflammasome[J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2014, 34(6):447-454.
- [26] Kang R, Tang D. PKR-dependent inflammatory signals[J]. *Sci Signal*, 2012, 5(247):47.
- [27] 神谢静, 韩莉. 炎症反应中 P2X7 受体影响 NALP3 炎性体形成的主要机制[J]. *现代免疫学*, 2013, 33(2):174-177.
- [28] Li W, Li J, Sama AE, et al. Carbenoxolone blocks endotoxin-induced protein kinase R (PKR) activation and high mobility group box 1 (HMGB1) release[J]. *Mol Med*, 2013, 19:203-211.
- [29] Cai J, Lu S, Yao Z, et al. Glibenclamide attenuates myocardial injury by lipopolysaccharides in streptozotocin-induced diabetic mice[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2014, 13:106.
- [30] Lamkanfi M, Mueller JL, Vitari AC, et al. Glyburide inhibits the Cryopyrin/Nalp3 inflammasome[J]. *J Cell Biol*, 2009, 187(1):61-70.