

炎症小体与糖尿病并发症

冯红 徐勇 苟芳 刘霜 罗巧彦 吕诗诗

【摘要】 固有免疫是机体的第一道防线。其家族成员 NLRP3 炎症小体是炎性免疫反应的重要组成部分,它不仅是炎性反应的“感受器”,亦是炎性反应的“调节器”。NLRP3 炎症小体能够识别内源性危险信号,激活 caspase-1,继而活化白细胞介素(IL)-1 β 、IL-18 等细胞因子,激发炎性反应瀑布效应,在糖尿病及其并发症中起重要作用。高血糖、高血脂和高尿酸可激活 NLRP3 炎症小体,活化的 NLRP3 炎症小体通过 K⁺ 通道模型、溶酶体破坏模型及活性氧簇模型介导糖尿病肾病、糖尿病视网膜病变和动脉粥样硬化的发生、发展。

【关键词】 糖尿病;炎症;NLRP3 炎症小体

Inflammasome and diabetic complications Feng Hong, Xu Yong, Gou Fang, Liu Shuang, Luo Qiao-yan, Lyu Shishi. Department of Endocrinology, A ffiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China

Corresponding author: Xu Yong, Email: xywyll@aliyun.com

【Abstract】 The innate immune system builds up the body's first line. Nucleotide binding and oligomerization domain-like receptor family pyrin domain-containing 3 (NLRP3), a member of the innate immune family, is indicated as an important component of the inflammatory immune response. It is not only the "sensor", but also a "regulator" of inflammation response. NLRP3 can identify endogenous danger signals, lead to the activation of caspase-1 and then activate cytokines interleukin (IL)-1 β , IL-18, and trigger the inflammatory cascade reaction, playing an important role in diabetes and its complications. High glucose, fatty and uric acid in blood activate NLRP3 inflammasome. The activation of NLRP3 inflammasome mediates the occurrence and development of diabetic nephropathy, diabetic retinopathy and atherosclerosis by K⁺ channel, lysosome damage and reactive oxygen species model.

【Key words】 Diabetes mellitus; Inflammation; NLRP3 Inflammasome

(Int J Endocrinol Metab, 2014, 34:46-48)

糖尿病既是以高血糖为特征的代谢性疾病,又是一种全身性、慢性低度炎性反应性疾病。目前已公认,炎性反应在糖尿病发病机制中起重要作用,许多炎性反应因子如 C 反应蛋白、肿瘤坏死因子及白细胞介素(IL)、核因子- κ B 等都与糖尿病及其并发症的发生、发展密切相关^[1]。长期慢性高血糖、高血脂等造成血流动力学以及代谢异常可促使炎性反应因子的持续分泌,引发炎性反应级联反应。这种微炎性反应状态的实质是固有免疫性炎性反应,与糖尿病及其并发症的发生关系密切^[2]。而固有免疫中的炎症小体在糖尿病发病中的作用尤为受到关注,本文就此作一综述。

1 炎症小体概述

机体的免疫反应分为固有免疫(天然免疫)和适

应性免疫。固有免疫是机体的第一道防线,可对环境中的微生物及理化损伤做出反应,维持机体稳态^[3]。它通过模式识别受体直接识别和结合病原体上的病原相关分子模式(如病毒、细菌)和损伤相关分子模式(如高血糖、高血脂),启动机体免疫反应。模式识别受体又分为 Toll 样受体、NOD 样受体和 RIG-I 样受体。

1.1 炎症小体的定义 NOD 样受体可形成多蛋白复合体称为炎症小体,是炎性免疫反应的核心,它不仅是炎性反应的“感受器”,亦是炎性反应的“调节器”^[4-5]。炎症小体主要由识别炎性反应的受体(主要为 NOD 样受体和 AIM2 受体)、接头蛋白(主要为 ASC)和效应蛋白(主要为 caspases)3 部分组成。其中识别炎性反应的受体分为 NLRP1、NLRP3、NLRP4 和 AIM2 等多种类型。NLRP3 是炎症小体的核心,也是目前研究最多的一种炎症小体,由 NLRP3、ASC 和 caspase-1 组成。NLRP3 识别相应配体后,通过 ASC

募集 caspase-1 前体形成炎症反应复合体, caspase-1 活化, 继而将 IL-1 β 、IL-18 等炎症反应因子水解为活性形式, 产生炎症反应。

1.2 炎症小体的激活模式 NLRP3 识别的配体信号较为广泛, 不仅可以感受各种与感染相关的病原相关信号, 如脂多糖、鞭毛和细菌核酸残基; 更可以通过细胞膜和细胞内的相关受体, 感受非感染性的细胞损伤信号, 如缺血、缺氧、尿酸盐结晶、胆固醇结晶、 β 淀粉样蛋白、高糖等^[5]。

NLRP3 炎症小体激活的确切机制尚不十分清楚, 目前研究发现主要有 3 条途径^[6]。第一条途径是 K⁺ 通道模型。病原体、损伤坏死细胞等释放 ATP 结合门控离子通道 P2X7 嘌呤能受体, 引起 K⁺ 快速外流, pannexin-1 通道逐渐开放。胞外小分子配体可通过 pannexin-1 通道进入细胞质激活 NLRP3 炎症小体^[7]。第二条途径是溶酶体破坏模型。许多晶体类物质如硅石、 β 淀粉样蛋白、胆固醇结晶等通过内吞的方式进入细胞, 溶酶体吞噬这些晶体物质后, 裂解释放组织蛋白酶 β , 通过某种方式(可能裂解其中分子)激活 NLRP3 炎症小体。第三条途径是活性氧簇模型。活性氧簇可作为共同信号激活炎症小体, 引起硫氧还蛋白结合蛋白(TXNIP)与硫氧还蛋白(TRX)解离, TXNIP 随之结合 NLRP3 激活炎症小体^[8]。

2 炎症小体与糖尿病及其并发症

2.1 炎症小体与糖尿病 NLRP3 炎症小体不仅是机体重要的代谢紊乱感受器, 调控肥胖相关胰岛素抵抗和胰岛细胞功能障碍, 同时亦是活化 IL-1 β 和 IL-18 的分子平台^[9]。炎症反应因子是 2 型糖尿病发病的重要驱动因素, 活化的 IL-1 β 一方面直接引起胰岛 β 细胞的损伤和死亡, 另一方面通过炎症反应和免疫细胞浸润进一步加重 β 细胞功能障碍, 最终导致 2 型糖尿病^[7]。临床研究发现, 新诊断的 2 型糖尿病患者 NLRP3、ASC、caspase-1、IL-1 β 、IL-18 的表达明显增加, 服用格列苯脲可阻止 ATP 通道的开放从而抑制 NLRP3 炎症小体的激活, 减少 IL-1 β 的成熟释放^[10-11]。在动物实验中, caspase-1 抑制剂和 IL-1 受体拮抗剂阿那白滞素可明显增加肥胖小鼠的胰岛素敏感性, 改善血糖和 β 细胞的分泌功能^[11-12]。

胰岛素抵抗还与 TXNIP 密切相关。持续高糖能诱导 β 细胞产生大量活性氧簇, 使 TXNIP 与 TRX 解离, 激活 NLRP3 炎症小体, 裂解 caspase-1, 活化 IL-1 β , 并促进其他炎症反应因子的释放, 从而介导糖尿病和氧化应激的发生。在小鼠和人体脂肪组织发现, 高糖能刺激 NLRP3、TXNIP、IL-1 β 前体的表达, TXNIP^{-/-} 或 NLRP3^{-/-} 小鼠糖耐量和胰岛素敏感

性都明显改善。Zhou 等^[13]用酵母双杂交技术证实 TXNIP 是 NLRP3 结合蛋白, 高糖经活性氧簇途径激活 NLRP3 炎症小体介导的 IL-1 β 分泌, 活性氧簇抑制剂吡咯烷二硫氨基甲酸盐能明显抑制高糖介导的 NLRP3 炎症小体的活化。

2.2 炎症小体与糖尿病肾病(DN) DN 是糖尿病特有而严重的微血管并发症, 是西方国家终末期肾病的主要原因。糖尿病状态下, 机体循环和肾组织持续性炎症反应是 DN 重要的病理生理基础。炎症反应是 DN 发生、发展的中心环节^[14]。

高糖可通过 ATP-P2X4 信号介导 NLRP3 炎症小体的激活, 调控 IL-1 家族的释放, 继而促进 DN 肾小管炎症反应的进程。临床试验中, DN 患者肾小管上皮细胞 P2X4 受体表达增加, 且与尿液中 IL-1 β 、IL-18 水平明显相关。在体外实验中, 高糖刺激肾小管上皮细胞 ATP、NLRP3、caspase-1、IL-1 β 、IL-18 的表达明显升高, 而 P2 受体抑制剂苏拉明、P2X 受体抑制剂 TNP-ATP、P2X4 选择性抑制剂 5-BDBD、P2X4 基因沉默都能降低 NLRP3、caspase-1、IL-1 β 、IL-18 的表达^[15]。

高血糖、高尿酸血症、高脂血症和炎症反应与 DN 的发生、发展密切相关。高糖诱导了肾脏 NLRP3 表达的上调, 导致 caspase-1 和 IL-1 β 的活化。高糖同时提高了尿酸水平, 而后者亦可增加肾脏 NLRP3 蛋白表达, 激活炎症小体, 促进 IL-1 β 、IL-18 的释放^[16]。机体脂代谢紊乱可延缓尿酸清除的过程, 增加血尿酸水平。游离脂肪酸协同尿酸激活 NLRP3 炎症小体, 导致肥胖相关性炎症反应和胰岛素抵抗。槲皮素和尿酸拮抗剂别嘌呤醇能抑制 NLRP3 炎症小体的激活, 减少 IL-1 β 的释放, 减轻肾脏炎症反应。同时, 它们还能降低高糖饲养大鼠血胆固醇和甘油三酯水平, 改善肾脏组织病理, 对 DN 患者和 2 型糖尿病 db/db 小鼠有肾脏保护作用。这些提示 NLRP3 炎症小体是降低尿酸水平, 治疗 DN 的潜在靶点^[17]。

2.3 炎症小体与糖尿病视网膜病变(DR) 最新研究显示, TXNIP 与固有免疫受体如 TLR4、P2X7R、NLRP3 炎症小体等在视网膜内质网应激、自噬、炎症反应和 DR 发病机制中起重要作用。在糖尿病大鼠视网膜以及体外培养视网膜内皮细胞中, TXNIP 明显增加, 活性氧簇产生, ATP 释放, 激活细胞内各种防御机制, 如 NLRP3 炎症小体、内质网应激应答、自噬、细胞凋亡等, 引起前炎症反应因子 IL-1 β 、Cox-2、血管内皮生长因子-A、细胞间黏附分子-1、晚期糖基化终末产物和巩膜纤维连接蛋白基因的表达。应用小干扰 RNA 技术沉默糖尿病大鼠视网膜 TXNIP 基

因后,活性氧簇和 IL-1 β 表达降低,ATP 水平恢复,而早期 DR 病变包括炎症反应、纤维化、神经胶质增生、细胞凋亡等受到明显抑制^[18-19]。

2.4 炎症小体与动脉粥样硬化(AS) AS 是脂肪、胆固醇结晶沉积,导致动脉壁增厚的一种慢性炎症反应性疾病,70% 的糖尿病患者伴发 AS。IL-1 β 、IL-18 与 AS 的发展关系密切。IL-1 β 在动脉斑块局部明显聚集,且表达水平与疾病的严重程度呈正相关^[20]。若抑制 IL-1 β 、IL-18 活性,AS 的发展明显受限。2 型糖尿病患者体内存在高表达的 NLRP3,血液内 IL-1 β 、IL-18 水平升高,进一步加重 AS。

肥胖、2 型糖尿病、AS 患者通常都存在高血糖、高氧化型低密度脂蛋白和高脂肪酸的状态^[6]。胆固醇结晶可通过破坏溶酶体,释放出组织蛋白酶,继而激活 NLRP3 炎症小体,促进 caspase-1 依赖的 IL-1 β 、IL-18 的分泌和成熟,从而参与 AS 的发展^[21]。给 NLRP3、IL-1 或 IL-1 受体基因敲除的小鼠腹腔注射胆固醇会导致急性炎症反应^[11]。抑制溶酶体酸化或组织蛋白酶的活化可降低胆固醇诱导的 IL-1 β 的释放。在体内实验中,敲除小鼠巨噬细胞的组织蛋白酶 B 或 L,胆固醇结晶介导的 IL-1 β 分泌减少,提示胆固醇结晶可能通过裂解吞噬小体,继而激活 NLRP3 炎症小体来参与 AS 的发展^[22]。高胆固醇饮食喂养 NLRP3、ASC 或 IL-1 β /a 基因敲除的小鼠,AS 进展显著延缓,粥样斑块面积明显减小,血循环中 IL-18 水平也明显下降。这些发现说明胆固醇结晶是内源性的 AS 危险因素^[23]。氧化型低密度脂蛋白可通过激活 NLRP3 炎症小体参与 AS 的形成。氧化型低密度脂蛋白依赖于巨噬细胞和上皮细胞产生的活性氧簇起作用。其自身也能诱导活性氧簇产生,并引起溶酶体的损害。这两种方式都需依赖于 NLRP3 炎症小体的激活。

NLRP3 通过识别高血糖、高血脂等损伤危险信号,激活炎症小体,促发 IL-1 β 、IL-18 等炎症反应因子的释放,从而介导糖尿病及并发症的发生、发展。目前,虽然提出了 3 种炎症小体的激活模式,但这些模式的具体分子信号通路并不清楚。进一步的研究将着重于内源性配体与炎症小体之间的关系,更加清晰地阐明代谢性疾病的分子机制。不可否认,这些研究揭示了炎症小体信号通路在代谢性疾病中的巨大潜力,阻断炎症小体的活化可能成为防治糖尿病、心血管疾病等的新手段。

参 考 文 献

[1] Vaarala O, Yki-Järvinen H. Diabetes: should we treat infection

or inflammation to prevent T2DM [J]. Nat Rev Endocrinol, 2012, 8(6): 323-325.

- [2] Fernández-Real JM, Pickup JC. Innate immunity, insulin resistance and type 2 diabetes [J]. Diabetologia, 2012, 55(2): 273-278.
- [3] Kawai T, Akira S. The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition [J]. Int Immunol, 2009, 21(4): 317-337.
- [4] Schertzer JD, Tamrakar AK, Magalhães JG, et al. NOD1 activators link innate immunity to insulin resistance [J]. Diabetes, 2011, 60(9): 2206-2215.
- [5] Mori MA, Bezy O, Kahn CR. Metabolic syndrome: is Nlrp3 inflammasome a trigger or a target of insulin resistance [J]. Circ Res, 2011, 108(10): 1160-1162.
- [6] Yin Y, Pastrana JL, Li X, et al. Inflammasomes: sensors of metabolic stresses for vascular inflammation [J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2013, 18: 638-649.
- [7] Schroder K, Zhou R, Tschopp J. The NLRP3 inflammasome: a sensor for metabolic danger [J]. Science, 2010, 327(5963): 296-300.
- [8] Lee MS. Role of innate immunity in diabetes and metabolism: recent progress in the study of inflammasomes [J]. Immune Netw, 2011, 11(2): 95-99.
- [9] Grant RW, Dixit VD. Mechanisms of disease: inflammasome activation and the development of type 2 diabetes [J]. Front Immunol, 2013, 4: 50.
- [10] Lee HM, Kim JJ, Kim HJ, et al. Upregulated NLRP3 inflammasome activation in patients with type 2 diabetes [J]. Diabetes, 2013, 62(1): 194-204.
- [11] Dagenais M, Skeldon A, Saleh M. The inflammasome: in memory of Dr. Jürg Tschopp [J]. Cell Death Differ, 2012, 19(1): 5-12.
- [12] Koenen TB, Stienstra R, van Tits LJ, et al. Hyperglycemia activates caspase-1 and TXNIP-mediated IL-1 β transcription in human adipose tissue [J]. Diabetes, 2011, 60(2): 517-524.
- [13] Zhou R, Tardivel A, Thorens B, et al. Thioredoxin-interacting protein links oxidative stress to inflammasome activation [J]. Nat Immunol, 2010, 11(2): 136-140.
- [14] Wada J, Makino H. Inflammation and the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. Clin Sci (Lond), 2013, 124(3): 139-152.
- [15] Chen K, Zhang J, Zhang W, et al. ATP-P2X4 signaling mediates NLRP3 inflammasome activation: a novel pathway of diabetic nephropathy [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2013, 45(5): 932-943.
- [16] Benetti E, Chiazza F, Patel NS, et al. The NLRP3 Inflammasome as a novel player of the intercellular crosstalk in metabolic disorders [J]. Mediators Inflamm, 2013, 2013: 678627.
- [17] Wang C, Pan Y, Zhang QY, et al. Quercetin and allopurinol ameliorate kidney injury in STZ-treated rats with regulation of renal NLRP3 inflammasome activation and lipid accumulation [J]. PLoS One, 2012, 7(6): e38285.
- [18] Devi TS, Lee I, Hüttemann M, et al. TXNIP links innate host defense mechanisms to oxidative stress and inflammation in retinal Muller glia under chronic hyperglycemia: implications for diabetic retinopathy [J]. Exp Diabetes Res, 2012, 2012: 438238.
- [19] Shai O, Devi TS, Melone MA, et al. RAGE-TXNIP axis is required for S100B-promoted Schwann cell migration, fibronectin expression and cytokine secretion [J]. J Cell Sci, 2010, 123(Pt 24): 4332-4339.
- [20] McGettrick AF, O'Neill LA. How metabolism generates signals during innate immunity and inflammation [J]. J Biol Chem, 2013, 288(32): 22893-22898.
- [21] Lee MS. Role of innate immunity in diabetes and metabolism: recent progress in the study of inflammasomes [J]. Immune Netw, 2011, 11(2): 95-99.
- [22] Duewell P, Kono H, Rayner KJ, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals [J]. Nature, 2010, 464(7293): 1357-1361.
- [23] De Nardo D, Latz E. NLRP3 inflammasomes link inflammation and metabolic disease [J]. Trends Immunol, 2011, 32(8): 373-379.

(收稿日期: 2013-08-18)