

· 综述 ·

细胞焦亡与糖尿病血管并发症关系的研究进展

袁静雅 彭慧芳 张颖裕 雷方 姜宏卫

河南科技大学临床医学院、河南科技大学第一附属医院内分泌代谢科、国家代谢性疾病临床医学研究中心洛阳分中心 471003

通信作者:姜宏卫, Email:jianghw@haust.edu.cn

【摘要】 糖尿病血管病变是主要的糖尿病慢性并发症,是导致患者生活质量下降和预期寿命缩短的最主要原因。细胞质内模式识别受体(PRRs)可感受多种刺激形成炎性小体,激活焦亡通路,加重糖尿病患者代谢紊乱,促进糖尿病血管并发症的发生发展。本文浅谈细胞焦亡对不同糖尿病血管并发症的促进作用,以及抑制焦亡通路可能为糖尿病血管并发症的早期诊治提供新的思路。

【关键词】 细胞焦亡;炎性小体;糖尿病血管并发症

DOI:10.3760/cma.j.cn121383-20210206-02016

Association between pyroptosis and vascular complications of diabetes Yuan Jingya, Peng Huifang, Zhang Yingyu, Lei Fang, Jiang Hongwei. College of Clinical Medicine of Henan University of Science and Technology, Department of Metabolism and Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Luoyang sub-center of National Clinical Research Center for Metabolic Diseases, Luoyang 471003, China

Corresponding author: Jiang Hongwei, Email: jianghw@haust.edu.cn

【Abstract】 Diabetic vascular complications are the main chronic complications of diabetes, which is the main reason for the loss of quality of life and the shortening of life expectancy in diabetic patients. Pattern recognition receptors (PRRs) can sense stimulation to form inflammasomes, which activates the pyroptosis pathway, aggravates the metabolic disorder of diabetic patients, and promotes the occurrence and development of diabetic vascular complications. This article systematically reviews the promoting effect of pyroptosis on the vascular complications of diabetes, and inhibiting the pyroptosis pathway may provide new ideas for the early diagnosis and treatment of diabetic vascular complications.

【Keywords】 Pyroptosis; Inflammasome; Diabetic vascular complications

DOI:10.3760/cma.j.cn121383-20210206-02016

糖尿病血管并发症因其致残性、致死性给全球带来巨大负担。临床研究证实,即便是严格的血糖控制也很难完全预防糖尿病血管并发症的发生^[1]。因此,进一步探索糖尿病血管并发症的发病机制尤为重要。细胞焦亡是一种最新发现的促炎性细胞死亡方式,以细胞质内形成炎性小体为主要特点^[2]。近年来的研究发现胞质内模式识别受体(PRRs)分类中的NOD样受体(NLRs)感受刺激形成的核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(NLRP3)炎性小体在糖尿病血管并发症进展中的作用不可忽视。本文浅谈细胞焦亡对不同糖尿病血管并发症的促进作用,为糖尿病血管并发症的早期干预与治疗提供新的思路。

1 细胞焦亡概述及焦亡分子通路

细胞焦亡是一种程序性细胞死亡方式,多种刺激可促进半胱氨酸蛋白酶(caspase)家族激活,caspase家族进一步将细胞质内Gasdermin家族成员Gasdermin D蛋白(GSDMD)及炎性因子白细胞介素(IL)-1 β 和IL-18前体剪切为活性形式,GSDMD可在细胞膜上形成孔隙致细胞死亡,并释出胞内炎性因子^[3]。相比于细胞凋亡,细胞焦亡发生的更快,且伴随着大量的促炎性因子释放。

焦亡的发生有经典途径和非经典途径两种形式,感染和非感染性刺激均可引发细胞焦亡。经典的焦亡途径由caspase-1介导:细菌、病毒等外源性信号促进病原体相关分子模式(PAMPs)的表达,活性

氧、高糖、高脂等非生物信号的有害刺激促进损伤相关分子模式 (DAMPs) 的表达。胞质内 PRRs 感受 PAMPs 和 DAMPs 的刺激信号,通过凋亡相关点状蛋白 (ASC) 与 caspase-1 前体 (Pro-caspase-1) 结合形成多蛋白复合物,即炎性小体,炎性小体将 Pro-caspase-1 激活为活性形式的 caspase-1。活化的 caspase-1 一方面切割 GSDMD,形成有亲脂性和孔隙重整活性 GSDMD 氮端 (GSDMD-N) 活性域肽段, GSDMD-N 与细胞内膜脂质结合,诱导细胞膜穿孔死亡;另一方面,活化的 caspase-1 对 IL-1 β 、IL-18 前体进行切割,形成有活性的 IL-1 β 和 IL-18,细胞裂解后被释出胞外,募集炎性细胞聚集,使炎症反应扩大。非经典的焦亡途径由 caspase-4/5/11 介导:上述外源性刺激因素中的细菌脂多糖可直接通过非经典的焦亡途径与细胞质内的 caspase-4/5/11 前体 (Pro-caspase-4/5/11) 反应,将 Pro-caspase-4/5/11 激活为活性形式的 caspase-4/5/11,活化的 caspase-4/5/11 切割 GSDMD 和 IL-1 β 、IL-18 前体,最终使细胞膜裂孔并释出炎性因子 IL-1 β 和 IL-18^[4]。

2 细胞焦亡促进糖尿病大血管斑块形成

对冠状动脉粥样硬化合并糖耐量受损的患者进行跟踪研究发现,当其进展至 2 型糖尿病后发生不良心血管事件的风险增加^[5],这对其预防提出了新挑战。血管内皮功能损伤是动脉粥样硬化 (AS) 的早期特征,细胞焦亡参与了糖尿病 AS 早期内皮损伤。糖尿病动脉粥样硬化小鼠模型血浆中 IL-1 β 、IL-18、NLRP3 蛋白水平增加^[6],及 NLRP3 基因敲除的糖尿病小鼠动脉内皮炎症改善均为证据^[7]。

低密度脂蛋白-胆固醇 (LDL-C) 是将糖尿病与动脉粥样硬化病理过程相联系的中间物质。糖尿病个体内氧化修饰的 LDL 激活血管内皮细胞 NLRP3 炎性小体生成致内皮损伤^[8],胆固醇结晶在动脉内膜的沉积激活巨噬细胞内 NLRP3 炎性小体形成并促进巨噬细胞吞噬脂质转化为泡沫细胞^[9],这是糖尿病大血管损伤的始发因素。损伤的内皮细胞和 IL-1 β 促进血管细胞黏附分子、细胞间黏附分子生成,泡沫细胞迁移至肌层,AS 斑块逐渐形成^[7]。此后,斑块周围血流动力学的改变激活甾醇调节元件结合蛋白-2 (SREBP2),SREBP2 激活内皮细胞 NLRP3 炎性小体生成与内皮损伤形成恶性循环^[10]。

临床上对糖尿病伴 AS 患者研究发现焦亡通路的激活水平在不同时期具有差异性。糖尿病患者外周血单核细胞和血浆中 NLRP3、IL-1 β 蛋白表达水平

较健康人明显升高,合并大血管病变的患者血浆 IL-1 β 水平与动脉中膜厚度呈正相关性^[7]。一项入组 107 例糖尿病患者的临床研究中将合并大血管病变的 2 型糖尿病患者通过颈动脉超声检查分为动脉中膜增厚组和斑块形成组发现,血浆内 NLRP3、ASC、caspase-1 3 种焦亡通路组件的 mRNA 水平及血浆 IL-18 水平在动脉中膜增厚组表达更高^[11]。这说明焦亡在糖尿病患者大血管斑块形成前期激活更甚。斑块形成前期的干预,如良好的血糖、血脂控制或可减少动脉内皮焦亡而延缓动脉粥样斑块的形成。

3 细胞焦亡促进糖尿病视网膜新生血管形成

视网膜新生血管形成是增殖期糖尿病视网膜病变 (PDR) 的主要病理改变,也是患者失明的主要原因。高糖与氧化应激促进视网膜穆勒细胞增殖、胶质增生及血管内皮生长因子 (VEGF) 增加是内皮细胞新生血管形成的主要病理因素^[12]。

在体外,高糖处理的穆勒细胞内检测到了 NLRP3 炎性小体的生成^[13]。硫氧还原蛋白相互作用蛋白 (TXNIP) 是高糖、氧化应激与细胞焦亡的中间生成物质,高糖促进体外培养的穆勒细胞内 TXNIP 的表达,并激活包括 NLRP3 炎性小体生成在内的多种细胞防御机制, TXNIP 通过直接与 NLRP3 炎性小体结合,或通过活性氧 (ROS) 敏感的方式促进 TXNIP 与 NLRP3 蛋白的结合,致 caspase-1 激活和下游 IL-1 β 炎性因子的分泌^[14]。

PDR 小鼠模型--Akimba 小鼠,是胰岛素-2 (*Insulin-2*) 基因自发突变小鼠 (Akita 小鼠) 与光感受器过表达 VEGF 小鼠 (Kimba 小鼠) 相交叉的双转基因小鼠,可自发成为 PDR 模型小鼠。与 Akita 小鼠和 Kimba 小鼠相比, Akimba 小鼠视网膜内 IL-1 β 、NLRP3、ASC, caspase-1 的 mRNA 和蛋白质表达水平均明显增加,且促血管生成的主要代表因子 VEGF 及其受体 Flt-1 和 Flk-1 的表达在 Akimba 小鼠中最高^[15]。临床病例观察到 PDR 患者视网膜标本中 NLRP3、IL-1 β 、caspase-1 蛋白表达较健康人明显增加^[16],玻璃体液体中 NLRP3、caspase-1 和 IL-18 浓度增加^[17]。进一步将 PDR 患者分为牵拉性视网膜脱落组 (TRD) 和无视网膜脱落组观察到 TRD 组患者的玻璃体内 NLRP3 浓度更高,且免疫组化分析可见 NLRP3 和 IL-18 的定位与视盘或沿颞弓处的爆发性新生血管形成相一致^[17],即 PDR 期焦亡的激活与新生血管形成密切相关。临床上 PDR 治疗手段有限, PDR

患者视力严重受损,在早期靶向阻滞NLRP3炎性小体或可延缓PDR进展。

4 细胞焦亡促进糖尿病肾病蛋白尿的发生

蛋白尿是糖尿病肾病(DKD)最早的临床表现,是DKD临床干预的起点,亦是促进DKD进展的关键因素。分析人类DKD Nephromine数据库(www.nephromine.org)发现,与非糖尿病患者相比,DKD患者肾小球中IL-1 β 、IL-18、ASC和NLRP3的mRNA水平表达增加。另有研究发现,4周龄db/db小鼠血浆及肾皮质提取物中IL-1 β 和IL-18的浓度较低,至8周龄后浓度较前升高,且NLRP3和caspase-1升高的水平与其相当,至12周龄出现蛋白尿,这提示焦亡通路的激活在db/db小鼠DKD超早期就发生了^[18]。NLRP3炎性小体的出现先于目前临床上以蛋白尿判断肾功能损伤的开始,或可作为新的DKD诊断标准并进行早期干预。

多项研究证明了蛋白尿与细胞焦亡水平具有相关性。对蛋白尿患者观察发现,肾小管上皮细胞内caspase-1、IL-1 β 、IL-18的表达与蛋白尿的严重程度呈正相关,并且DKD蛋白尿患者肾小管内caspase-1、IL-1 β 、IL-18的表达较普通肾小球肾炎蛋白尿患者明显增加,增加程度与24h尿蛋白定量值相关^[19]。2型糖尿病伴蛋白尿的患者与无蛋白尿糖尿病患者或非糖尿病患者相比,血清IL-1 β 水平及肾小球内NLRP3的表达更高,血清IL-1 β 的升高程度与蛋白尿的严重程度呈正相关^[18]。细胞实验用牛血清白蛋白(BSA)处理大鼠肾小管上皮细胞可见IL-1 β 、IL-18、caspase-1的激活与BSA呈剂量-时间依赖关系^[19]。蛋白尿与NLRP3炎性小体的相关性表明尿蛋白可能作为细胞焦亡的激活剂并与其形成恶性循环。

足细胞是肾小球滤过屏障的主要构成部分,其损伤导致蛋白尿的发生。链脲佐菌素(STZ)诱导的糖尿病小鼠肾脏中TXNIP的表达激活ROS产生,触发足细胞内炎性小体的激活^[20]。糖尿病患者尿液中的D-核糖可通过晚期糖基化终末产物诱导足细胞内NLRP3炎性小体的生成^[21]。共聚焦显微镜观察糖尿病患者和db/db小鼠的肾组织切片发现,NLRP3、caspase-1蛋白与足细胞部分共定位,葡萄糖处理体外培养的肾小球足细胞后亦可检测到NLRP3、IL-1 β 的表达^[18]。以上研究表明早期靶向抑制足细胞焦亡可能为DKD的早期治疗提供新思路。

5 抑制细胞焦亡通路对糖尿病血管并发症的治疗作用

新型降糖药物达格列净可使糖尿病AS模型小鼠血清NLRP3、IL-1 β 、IL-18表达降低,主动脉内NLRP3、ASC、caspase-1、IL-1 β 、IL-18等焦亡通路相关因子蛋白量表达减少^[6]。降脂药非诺贝特可减少糖尿病小鼠视网膜NLRP3炎性小体及下游caspase-1、IL-1 β 生成^[22]。胰岛素增敏剂吡格列酮可抑制糖尿病小鼠肾小球NLRP3、caspase-1、IL-18和IL-1 β 生成^[23]。草本植物的天然成分也表现出了抑制焦亡通路的潜力。黄花蒿中提取的青蒿素可减少巨噬细胞NLRP3炎性小体生成,抑制动脉粥样硬化小鼠模型主动脉内膜泡沫细胞的形成^[24]。槲皮素可抑制高糖培养的HRMECs内NLRP3蛋白生成,抑制视网膜细胞新生血管形成倾向^[25]。人工培养的冬虫夏草菌在STZ诱导的糖尿病小鼠及高糖作用的足细胞中可以抑制NLRP3炎性小体的生成,发挥保护糖尿病肾脏的作用^[26]。西药及天然成分药物的抗焦亡活性在糖尿病血管并发症的治疗中表现出了良好的应用价值。

亦有抑制焦亡通路下游组分的相关研究。关于IL-1 β 的抑制剂的研究较为成熟,一项德国的队列研究证实IL-1 β 抑制剂对青少年自身免疫性关节炎有良好的治疗效果^[27]。水蛭素可通过减少焦亡下游GSDMD的表达阻断细胞焦亡和炎性因子的释放^[28]。然而,特异性阻断焦亡通路下游组分目前尚无用于治疗糖尿病血管并发症的相关证据。总之,抑制焦亡通路的任一节点均可能发挥抑制炎症的作用,而NLRP3处于焦亡通路的上游,因此更多的研究聚焦于靶向抑制NLRP3炎性小体。

6 小结

细胞焦亡对不同的糖尿病血管并发症的促进作用已然明确,且多种研究证实早期抑制焦亡通路是糖尿病血管并发症的治疗靶点。目前关于NLRP3在糖尿病血管并发症中的作用及靶向阻断研究主要集中在动物及细胞实验水平,虽然表现出良好的应用前景,但仍需更多的研究支持。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Lunder M, Janić M, Šabović M. Prevention of vascular complications in diabetes mellitus patients: focus on the arterial wall[J]. Curr Vasc Pharmacol, 2019, 17(1): 6-15. DOI: 10. 2174/

- 1570161116666180206113755.
- [2] Jorgensen I, Miao EA. Pyroptotic cell death defends against intracellular pathogens [J]. *Immunol Rev*, 2015, 265 (1): 130-142. DOI: 10.1111/immr.12287.
- [3] Broz P, Pelegrin P, Shao F. The gasdermins, a protein family executing cell death and inflammation [J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20 (3): 143-157. DOI: 10.1038/s41577-019-0228-2.
- [4] Shi J, Gao W, Shao F. Pyroptosis: Gasdermin-Mediated Programmed Necrotic Cell Death [J]. *Trends Biochem Sci*, 2017, 42 (4): 245-254. DOI: 10.1016/j.tibs.2016.10.004.
- [5] Kiviniemi AM, Lepojärvi ES, Tulppo MP, et al. Prediabetes and risk for cardiac death among patients with coronary artery disease: the ARTEMIS study [J]. *Diabetes Care*, 2019, 42 (7): 1319-1325. DOI: 10.2337/dc18-2549.
- [6] Leng W, Ouyang X, Lei X, et al. The SGLT-2 Inhibitor dapagliflozin has a therapeutic effect on atherosclerosis in diabetic ApoE⁺ mice [J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016: 6305735. DOI: 10.1155/2016/6305735.
- [7] Wan Z, Fan Y, Liu X, et al. NLRP3 inflammasome promotes diabetes-induced endothelial inflammation and atherosclerosis [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2019, 12: 1931-1942. DOI: 10.2147/DMSO.S222053.
- [8] Hang L, Peng Y, Xiang R, et al. Ox-LDL causes endothelial cell injury through ASK1/NLRP3-Mediated inflammasome activation via endoplasmic reticulum stress [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14: 731-744. DOI: 10.2147/DDDT.S231916.
- [9] Castro-Alves VC, Shiga TM, Nascimento JROD. Polysaccharides from chayote enhance lipid efflux and regulate NLRP3 inflammasome priming in macrophage-like THP-1 cells exposed to cholesterol crystals [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 127: 502-510. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.01.048.
- [10] Le NT, Sandhu UG, Quintana-Quezada RA, et al. Flow signaling and atherosclerosis [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2017, 74 (10): 1835-1858. DOI: 10.1007/s00018-016-2442-4.
- [11] Lee J, Wan J, Lee L, et al. Study of the NLRP3 inflammasome component genes and downstream cytokines in patients with type 2 diabetes mellitus with carotid atherosclerosis [J]. *Lipids Health Dis*, 2017, 16 (1): 217. DOI: 10.1186/s12944-017-0595-2.
- [12] McDowell RE, Barabas P, Augustine J, et al. Müller glial dysfunction during diabetic retinopathy in rats is reduced by the acrolein-scavenging drug, 2-hydrazino-4, 6-dimethylpyrimidine [J]. *Diabetologia*, 2018, 61 (12): 2654-2667. DOI: 10.1007/s00125-018-4707-y.
- [13] Du J, Wang Y, Tu Y, et al. A prodrug of epigallocatechin-3-gallate alleviates high glucose-induced pro-angiogenic factor production by inhibiting the ROS/TXNIP/NLRP3 inflammasome axis in retinal Müller cells [J]. *Exp Eye Res*, 2020, 196: 108065. DOI: 10.1016/j.exer.2020.108065.
- [14] Singh LP, Devi TS, Yumnamcha T. The Role of Txnip in mitophagy dysregulation and inflammasome activation in diabetic retinopathy: a New perspective [J]. *JOJ Ophthalmol*, 2017, 4 (4): 555643. DOI: 10.19080/joj.2017.04.555643.
- [15] Chaurasia SS, Lim RR, Parikh BH, et al. The NLRP3 inflammasome may contribute to pathologic neovascularization in the advanced stages of diabetic retinopathy [J]. *Sci Rep*, 2018, 8 (1): 2847. DOI: 10.1038/s41598-018-21198-z.
- [16] Zhang Y, Lv X, Hu Z, et al. Protection of Mcc950 against high-glucose-induced human retinal endothelial cell dysfunction [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8 (7): e2941. DOI: 10.1038/cddis.2017.308.
- [17] Loukovaara S, Piippo N, Kinnunen K, et al. NLRP3 inflammasome activation is associated with proliferative diabetic retinopathy [J]. *Acta Ophthalmol*, 2017, 95 (8): 803-808. DOI: 10.1111/aos.13427.
- [18] Shahzad K, Bock F, Dong W, et al. Nlrp3-inflammasome activation in non-myeloid-derived cells aggravates diabetic nephropathy [J]. *Kidney Int*, 2015, 87 (1): 74-84. DOI: 10.1038/ki.2014.271.
- [19] Fang L, Xie D, Wu X, et al. Involvement of endoplasmic reticulum stress in albuminuria induced inflammasome activation in renal proximal tubular cells [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (8): e72344. DOI: 10.1371/journal.pone.0072344.
- [20] Gao P, He FF, Tang H, et al. NADPH oxidase-induced NALP3 inflammasome activation is driven by thioredoxin-interacting protein which contributes to podocyte injury in hyperglycemia [J]. *J Diabetes Res*, 2015, 2015: 504761. DOI: 10.1155/2015/504761.
- [21] Hong J, Li G, Zhang Q, et al. D-Ribose Induces podocyte NLRP3 inflammasome activation and glomerular injury via AGEs/RAGE pathway [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2019, 7: 259. DOI: 10.3389/fcell.2019.00259.
- [22] Liu Q, Zhang F, Zhang X, et al. Fenofibrate ameliorates diabetic retinopathy by modulating Nrf2 signaling and NLRP3 inflammasome activation [J]. *Mol Cell Biochem*, 2018, 445 (1-2): 105-115. DOI: 10.1007/s11010-017-3256-x.
- [23] Wang Y, Yu B, Wang L, et al. Pioglitazone ameliorates glomerular NLRP3 inflammasome activation in apolipoprotein E knockout mice with diabetes mellitus [J]. *PLoS One*, 2017, 12 (7): e0181248. DOI: 10.1371/journal.pone.0181248.
- [24] Jiang Y, Du H, Liu X, et al. Artemisinin alleviates atherosclerotic lesion by reducing macrophage inflammation via regulation of AMPK/NF- κ B/NLRP3 inflammasomes pathway [J]. *J Drug Target*, 2020, 28 (1): 70-79. DOI: 10.1080/1061186X.2019.1616296.
- [25] Li R, Chen L, Yao GM, et al. Effects of quercetin on diabetic retinopathy and its association with NLRP3 inflammasome and autophagy [J]. *Int J Ophthalmol*, 2021, 14 (1): 42-49. DOI: 10.18240/ijo.2021.01.06.
- [26] Wang C, Hou XX, Rui HL, et al. Artificially cultivated *Ophiocordyceps sinensis* artificially cultivated alleviates diabetic nephropathy and its podocyte injury via inhibiting P2X7R expression and NLRP3 inflammasome activation [J]. *J Diabetes Res*, 2018, 2018: 1390418. DOI: 10.1155/2018/1390418.
- [27] Lainka E, Baehr M, Raszka B, et al. Experiences with IL-1 blockade in systemic juvenile idiopathic arthritis-data from the German AID-registry [J]. *Pediatr Rheumatol Online J*, 2021, 19 (1): 38. DOI: 10.1186/s12969-021-00510-8.
- [28] Han J, Zuo Z, Shi X, et al. Hirudin ameliorates diabetic nephropathy by inhibiting Gsdmd-mediated pyroptosis [J]. *Cell Biol Toxicol*, 2021. DOI: 10.1007/s10565-021-09622-z. Epub ahead of print.

(收稿日期: 2021-02-06)