

DOI: 10.13376/j.cblls/2016050

文章编号: 1004-0374(2016)03-0405-04

NALP3炎性体在痛风发病中的作用与药物治疗研究进展

王璐, 李璐, 陈光亮*

(安徽中医药大学中西医结合临床学院, 合肥 230038)

摘要: 痛风是体内嘌呤代谢紊乱引起尿酸钠盐沉积所致的晶体相关性疾病。近年研究表明, 核苷酸结合寡聚化结构域样受体 3 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NALP3) 炎性体活化与巨噬细胞吞噬尿酸钠晶体密切相关。NALP3 炎性体活化后可剪切半胱天冬酶 -1 并促进白介素 1 β 释放, 引起痛风炎症反应。现将从 NALP3 炎性体的组成及活化、尿酸钠晶体的吞噬识别途径, 以及以 NALP3 炎性体为靶点的抗痛风药物等方面作一综述。

关键词: 痛风; NALP3 炎性体; 药物治疗

中图分类号: R589.7; R96 **文献标志码:** A

Role of NALP3 inflammasome in the pathogenesis of gout and advances in drug treatment

WANG Lu, LI Lu, CHEN Guang-Liang*

(Clinical College of Integrative Medicine, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, China)

Abstract: Gout is a kind of inflammation caused by purine metabolism disturbance and deposits of monosodium urate (MSU) crystals. Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3 (NALP3) inflammasome is a protein complex which can be activated by MSU crystal when the crystal is swallowed by macrophage, then leading to gout inflammation reaction by cleaving caspase-1 to produce and release interleukin-1 β . The activation and composition of NALP3 inflammasome, the identification of MSU crystal in the pathogenesis of gout, and the drugs targeting NALP3 inflammasome were summarized in this article.

Key words: gout; NALP3 inflammasome; drug therapy

痛风是尿酸钠盐 (monosodium urate, MSU) 沉积所致的关节病, 除可累及骨关节、皮肤软组织系统外, 还可累及泌尿系统、心脑血管、内分泌系统, 在发达国家患病率已达到 2.49%^[1]。现有大量研究显示, 核苷酸结合寡聚化结构域样受体 3 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NALP3) 炎性体与痛风密切相关。NALP3 是位于细胞质内的固有免疫识别受体, 当 NALP3 感受到胞外 MSU 晶体刺激后, 组装成 NALP3 炎性体, 通过一系列信号转导产生炎症因子白介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β), 引发痛风炎症级联反应。本文基于 NALP3 炎性体阐述痛风发病机制, 总结与 NALP3 炎性体通路相关的抗痛风药。

1 NALP3炎性体与痛风

1.1 NALP3炎性体的装配与痛风的关系

固有免疫识别的受体分为两种, 包括位于细胞膜上的 Toll 样受体 (toll-like receptors, TLRs) 和位于细胞质内的核苷酸结合寡聚化结构域样受体 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors, NLRs)。NALP3 是 NLRs 受体家族中的重要亚族之一, 主要由 B 淋巴细胞、T 淋巴细胞、单核细胞、树突细胞等产生, 由 C-端亮氨酸重复序

收稿日期: 2015-07-08; 修回日期: 2015-08-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(81573670)

*通信作者: E-mail: chguangl@163.com; Tel: 0551-65169188

列(LRRs)、中间的NACHT-NAD结构域以及N-端热蛋白结构域(pyrin domain, PYD)组成^[2]。NALP3炎性体由NALP3、衔接蛋白凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis associated speck-like protein containing, ASC)、半胱天冬酶活化募集结构域(caspase activating and recruitment domain, CARD)和效应蛋白半胱天冬酶-1(caspase-1)组成。细菌、真菌、病毒、MSU晶体、外源性ATP、二氧化硅晶体、焦磷酸钙等可作为配体与NALP3结合并活化NALP3,导致NALP3蛋白构象改变,并通过ATP发生聚合反应形成蛋白寡聚体^[3-4]。在NALP3效应结构域PYD招募ASC和caspase-1,使NALP3炎性体装配完成后,caspase-1前体自动催化为活性形式,并剪切pro-IL-1 β 为IL-1 β ,分泌到细胞外产生各种免疫反应^[5]。

现代研究表明,体内尿酸代谢失衡和尿酸过饱和都可导致MSU晶体析出,并沉积于关节及软骨组织。MSU晶体作为痛风的内源性危险信号分子被免疫细胞吞噬后,可激活NALP3炎性体信号转导通路,调控下游活性。MSU晶体可通过多种途径活化NALP3炎性体,促进IL-1 β 释放,并与靶细胞如滑膜细胞上的IL-1受体结合,激活MyD88依赖的核转录因子 κ B(NF- κ B)通路,引起大量的IL-1、TNF- α 等促炎因子和趋化因子的转录,介导痛风炎症反应^[6]。

1.2 尿酸钠晶体激活NALP3炎性体的途径

研究表明,NALP3炎性体被MSU晶体激活的方式主要有以下几种。

1.2.1 与溶酶体相关

MSU晶体作为危险信号,一旦进入细胞被巨噬细胞吞噬,可导致巨噬细胞中溶酶体不稳定,释放组织蛋白酶B,剪切未知底物,活化NALP3炎性体^[7]。

1.2.2 与活性氧相关

MSU晶体被巨噬细胞吞噬后可释放大量活性氧(reactive oxygen species, ROS),致使NALP3炎性体活化。目前ROS的来源仍不十分清楚,但可能与NADPH氧化酶相关,也有人认为是由线粒体产生^[8]。Amaral等^[9]研究显示,将MSU晶体注射小鼠后,巨噬细胞会产生白三烯B₄(leukotriene B₄, LTB₄),导致中性粒细胞浸润。LTB₄可促使ROS释放,促进NALP3炎性体的组装、caspase-1活化和IL-1 β 的增多。

1.2.3 与钾离子相关

近年研究表明,急性痛风性关节炎的发生与

ATP活化P2X₇受体信号通路有关。P2X₇受体活化,可使胞内K⁺通过Pannexin-1通道外流,导致胞内K⁺浓度降低,激活炎性体。此外,巨噬细胞吞噬MSU晶体后,包含MSU晶体的内涵体与酸性溶酶体融合,使胞内pH降低^[10-11]。而pH降低可致胞内Na⁺大量释放,胞内渗透压增高,水分子通过水通道蛋白被动转运入胞内,导致胞内K⁺浓度下降,NALP3炎性体活化。

1.2.4 与钙离子相关

正常生理条件下,胞内Ca²⁺浓度维持在较低水平,外界刺激后,可导致胞内钙浓度上调,进而激活Ca²⁺相关蛋白导致炎症发应。Murakami等^[12]研究发现,MSU晶体可使内质网中Ca²⁺释放和胞外Ca²⁺内流,导致胞内Ca²⁺浓度升高,活化NALP3炎性体;脂多糖预处理的骨髓细胞源性巨噬细胞BMDM细胞给予无Ca²⁺培养基培养一段时间后,NALP3炎性体的激活被抑制,且caspase-1、IL-1 β 表达减少。

1.3 与NALP3炎性体相关的Toll样受体通路

研究表明,TLRs与痛风相关,TLRs可与NLRs共同调控炎症因子的成熟和表达。TLRs感知MSU晶体并活化,活化的TLRs通过其C末端结构域(TIR)与胞质内接头蛋白,如髓样分化因子MyD88(myeloid differentiation primary response protein 88)C端的TIR结合形成复合物,通过一系列激酶作用激活NF- κ B,使pro-IL-1 β 基因转录和表达^[5,13],经caspase-1剪切后成熟并释放。Chen等^[14]研究表明,小鼠MyD88和MyD88依赖的IL-1受体缺陷时,炎症应答减少,提示TIR信号转化过程中MyD88是导致急性痛风性炎症的关键。Bauernfeind等^[15]报道显示,棕榈酸对IL-1 β 的调节需要TLRs和NLRs的共同参与;棕榈酸既可使TLR二聚化,通过MyD88、NF- κ B调控下游pro-IL-1 β 表达;也可使NALP3表达增高,活化NALP3炎性体,最终导致IL-1 β 水平上调。此外,有研究显示,当MSU晶体单独存在时,并不促使IL-1 β 释放,而需要游离脂肪酸的协同作用^[16-18]。

2 以NALP3炎性体为靶点的痛风治疗药物

Martinon等^[19]研究发现,小鼠腹腔注射MSU晶体6h后,会导致小鼠中性粒细胞浸润,而在缺乏IL-1受体的小鼠体内不会出现浸润现象;小鼠NALP3、ASC、caspase-1基因沉默后经MSU刺激,IL-1 β 的表达受到明显抑制,提示NALP3炎性体和

下游的 IL-1 β 在 MSU 晶体介导的痛风炎症反应中发挥着重要作用。目前,以 NALP3 炎性体为治疗靶点的痛风药物主要有以下几类。

2.1 传统抗痛风药物

控制急性痛风发作的传统药物有 3 大类,包括非甾体类抗炎药、秋水仙碱和糖皮质激素。传统药物价格低廉,如今在临床上使用最为普遍,可一定程度上作用于 NALP3 炎性体通路的上游,减轻炎症红肿热痛的反应,虽可减轻痛苦,但机制复杂,缺乏特异性,常引起全身不良反应发生。

2.2 抑制NALP3炎性体装配药物

秋水仙碱曾作为痛风的首选药。2006年, Martinon 等^[19]研究发现,秋水仙碱也可通过抑制巨噬细胞吞噬 MSU 晶体、NALP3 炎性体装配及活化,从而抑制 IL-1 β 的生成及释放,最终减轻 MSU 晶体诱导的急性炎症反应。EGCG 是儿茶素中的一种,具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等多种药理效应,可通过抑制 NALP3 炎性体中 NALP3、ASC、caspase-1 的表达从而发挥抗炎作用^[20]。血管内皮因子 NO 在体内外模型中表现出良好地抑制 NALP3 炎性体活化作用^[21]。LTB₄ 受体阻断剂 CP106、696 可通过抑制 MSU 晶体刺激的小鼠 ROS 生成,进而抑制 NALP3 炎性体活化^[9]。2015年,Ahn 等^[22]研究显示,葱属植物,如大蒜、洋葱、韭菜中富含的甲基磺酰甲烷,在鼠和人巨噬细胞体外实验中,可抑制 NALP3 炎性体活化,且与 ROS 产生受抑制相关。Ca²⁺ 活化 MSU 晶体诱导的 NALP3 炎性体信号通路可被 PLC 抑制剂 U73122、PI3 受体抑制剂 XeC 和 SOCE 阻断剂 2-APB 抑制^[12]。NALP3 炎性体装配完成后催化 caspase-1 的成熟,从而调控下游 IL-1 β 。VX-765、腺苷酸活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 可抑制 caspase-1,从而抑制 IL-1 β 的表达^[23]。以上作为抑制 NALP3 炎性体介导的痛风样疾病的候选药物,其药理活性和机制有待进一步的深入研究和探索。抑制 NALP3 炎性体装配的药物具有较大优势,既能调节该通路反应的平衡,又能从源头上抑制下游包括 IL-1 在内的多种促炎因子的产生和释放,但目前在临床上的应用鲜有报道,日后将成为研究的新方向。

2.3 IL-1抑制剂

IL-1 靶向抑制药物有阿那白滞素 (Anakinra)、利洛纳塞 (Rilonacept)、Canakinumab (ACZ885)。Anakinra 是重组人 IL-1 受体拮抗剂,同时抑制 IL-1 α 和 IL-1 β 的活性,可有效减轻急性痛风性关节炎 (acute

gouty arthritis, AGA) 患者的疼痛和炎症反应。Rilonacept 是一种可溶性 IL-1 受体融合蛋白,能减少 AGA 反复发作的风险。Canakinumab 是 IL-1 β 单克隆抗体,既能减轻 AGA 患者的疼痛和炎症反应,也能减少反复发作的风险,且患者对以上这些 IL-1 抑制剂耐受性良好。Schlesinger^[24] 研究显示,皮下注射 Canakinumab (150 mg) 可较快地减缓痛风急性发作患者的疼痛和关节肿胀程度,减少不良反应发生,效果优于曲安奈德 (40 mg)。与最大剂量的吲哚美辛 (50 mg, t.i.d.) 相比,320 mg 的 Rilonacept 可减少痛风急性发作的疼痛和不良反应的发生。此类药物靶向作用 IL-1,以选择性高、疗效好、不良反应小的优势将可能成为第四类抗急性痛风的药物。但是,这类药物价格昂贵,临床上使用受限,只用于其他药物治疗无效或有禁忌证的急性痛风发作的患者。

另有相关实验报道,高密度脂蛋白可通过抑制 IL-1 β 的分泌,从而改善 MSU 晶体诱导的小鼠痛风性关节炎^[25]。体内体外实验都证实,溶酶体酸化抑制剂氯喹可显著降低 IL-1 β 表达,可考虑使用氯喹作为抗难治性痛风的药物^[11]。ZHC116 是合成并筛选出的吡啶酮类化合物,对巨噬细胞的 IL-1 β 表达具有抑制作用^[26]。一种以白术、黄柏、牛膝、薏苡仁、茯苓、萆薢等为主要药物的四妙煎剂 (MSD) 对急性痛风性关节炎有良好的疗效,可显著减少 MSU 晶体刺激的 THP-1 细胞 IL-1 β 的表达,未来可考虑作为抗 IL-1 的中药^[27]。四妙合萆薢渗湿汤对 MSU 诱导的 THP-1 细胞 IL-1 β 的表达也有抑制作用^[28]。

3 小结与展望

MSU 晶体可介导痛风炎症的发生,而 NALP3 作为胞内固有免疫模式识别受体,能识别进入细胞的 MSU 晶体,通过多种途径与相关蛋白组装成 NALP3 炎性体,活化 caspase-1,产生可参与痛风炎症反应的各类细胞因子如 IL-1 β 等。跨膜模式识别受体 TLRs 也可与 NLRs 发生协同作用,通过 TLRs/MyD88/NF- κ B 通路与 NALP3 炎性体共同调控 MSU 介导的痛风炎症反应的发生。因而,了解模式识别受体在痛风中的作用及相互关系,并据此发现新型抗痛风药具有较大的临床应用价值,将成为日后学者们研究的重点。传统抗痛风药物,虽有一定疗效,但全身副反应较多,因此,抑制 NALP3 炎性体装配、靶向抑制下游 IL-1 的药物具备更少的

副反应和更高的疗效等优势。除痛风外, 现有报道2型糖尿病、肿瘤、非酒精性脂肪肝、肥胖、阿尔茨海默病、矽肺、动脉粥样硬化、脑出血等疾病的发病机制与NALP3炎性体密切相关。对NALP3炎性体的深入研究, 也将为其他相关疾病的药物研究提供新的靶点、新的方向和思路。

[参 考 文 献]

- [1] Kuo CF, Grainge MJ, Mallen C, et al. Rising burden of gout in the UK but continuing suboptimal management: a nationwide population study. *Ann Rheum Dis*, 2015, 74: 661-7
- [2] 童玉娜, 何娅妮. NALP3炎性体与非感染性炎症疾病. *生理科学进展*, 2011, 42: 317-20
- [3] Guarda, G, Dostert C, Staehli F, et al. T cells dampen innate immune responses through inhibition of NLRP1 and NLRP3 inflammasomes. *Nature*, 2009, 460: 269-73
- [4] Halle A, Hornung V, Petzold GC, et al. The NALP3 inflammasome is involved in the innate immune response to amyloid- β . *Nat Immunol*, 2008, 9: 857-65
- [5] Kingsbury SR, Conaghan PG, McDermott MF. The role of the NLRP3 inflammasome in gout. *J Inflamm Res*, 2011, 4: 39-49
- [6] Dalbeth N, Merriman T. Crystal ball gazing: new therapeutic targets for hyperuricaemia and gout. *Rheumatology*, 2009, 48: 222-6
- [7] Hornung V, Bauernfeind F, Halle A, et al. Silica crystals and aluminum salts activate the NALP3 inflammasome through phagosomal destabilization. *Nat Immunol*, 2008, 9: 847-56
- [8] Martinon F. Signaling by ROS drives inflammasome activation. *Eur J Immunol*, 2010, 40: 616-9
- [9] Amaral FA, Costa VV, Tavares LD, et al. NLRP3 inflammasome-mediated neutrophil recruitment and hypernociception depend on leukotriene B(4) in a murine model of gout. *Arthritis Rheum*, 2012, 64: 474-84
- [10] Chen Z, Jin H, Hou Y, et al. Activated P2X7 receptor upregulates the expression levels of NALP3 in P388D1 murine macrophage like cells. *Mol Med Rep*, 2015, 11: 1542-6
- [11] Schorn C, Frey B, Lauber K, et al. Sodium overload and water influx activate the NALP3 inflammasome. *J Biol Chem*, 2011, 286: 35-41
- [12] Murakami T, Ockinger J, Yu J, et al. Critical role for calcium mobilization in activation of the NLRP3 inflammasome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 11282-7
- [13] McCormack WJ, Parker AE, O'Neill LA. Toll-like receptors and NOD-like receptors in rheumatic diseases. *Arthritis Res Ther*, 2009, 11: 243
- [14] Chen CJ, Shi Y, Hearn A, et al. MyD88-dependent IL-1 receptor signaling is essential for gouty inflammation stimulated by monosodium urate crystals. *J Clin Invest*, 2006, 116: 2262-71
- [15] Bauernfeind F, Horvath G, Stutz A, et al. NF- κ B activating pattern recognition and cytokine receptors license NLRP3 inflammasome activation by regulating NLRP3 expression. *J Immunol*, 2009, 183: 787-91
- [16] Snodgrass RG, Huang S, Choi IW, et al. Inflammasome-mediated secretion of IL-1 β in human monocytes through TLR2 activation; modulation by dietary fatty acids. *J Immunol*, 2013, 191: 4337-47
- [17] Joosten LA, Netea MG, Mylona E, et al. Engagement of fatty acids with Toll-like receptor 2 drives interleukin-1 β production via the ASC/caspase 1 pathway in monosodium urate monohydrate crystal-induced gouty arthritis. *Arthritis Rheum*, 2010, 62: 3237-48
- [18] Mylona EE, Mouktaroudi M, Crisan TO, et al. Enhanced interleukin-1 β production of PBMCs from patients with gout after stimulation with Toll-like receptor-2 ligands and urate crystals. *Arthritis Res Ther*, 2012, 14: R158
- [19] Martinon F, Petrilli V, Mayor A, et al. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature*, 2006, 440: 237-41
- [20] 张媛媛. EGCC通过减轻氧化应激与抑制NALP3炎性体对阿霉素肾病有保护作用[D]. 重庆: 第三军医大学, 2014
- [21] Mishra BB, Rathinam VA, Martens GW, et al. Nitric oxide controls the immunopathology of tuberculosis by inhibiting NLRP3 inflammasome-dependent processing of IL-1 β . *Nat Immunol*, 2013, 14: 52-60
- [22] Ahn H, Kim J, Lee MJ, et al. Methylsulfonylmethane inhibits NLRP3 inflammasome activation. *Cytokine*, 2015, 71: 223-31
- [23] O'Neill LA, Hardie DG. Metabolism of inflammation limited by AMPK and pseudo-starvation. *Nature*, 2013, 493: 346-55
- [24] Schlesinger N. Canakinumab in gout. *Expert Opin Biol Ther*, 2012, 12: 1265-75
- [25] Scanu A, Luisetto R, Oliviero F, et al. High-density lipoproteins inhibit urate crystal-induced inflammation in mice. *Ann Rheum Dis*, 2015, 74: 587-94
- [26] 杨文君. ZHC116的抗炎作用研究[D]. 湖南: 中南大学湘雅医院, 2014
- [27] Liu YF, Tu SH, Chen Z, et al. Effects of modified ssimiao decoction on IL-1 β and TNF α secretion in monocytic THP-1 cells with monosodium urate crystals-induced inflammation. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 2014: 406816
- [28] 叶红芳, 黄平, 应华忠, 等. 四妙合菴藤渗湿汤对急性痛风性关节炎的IL-1 β 、PGE2的影响的实验研究. *浙江中医药大学学报*, 2010, 34: 158-62