

DOI: 10.13376/j.cbls/2022047

文章编号: 1004-0374(2022)04-0401-08

## 细胞焦亡在骨关节炎中的作用机制研究进展

周绪昌<sup>1</sup>, 曹红<sup>2</sup>, 徐玥<sup>1</sup>, 倪国新<sup>1\*</sup>

(1 北京体育大学运动医学与康复学院, 北京 100084; 2 海军军医大学  
免疫学研究所暨医学免疫学国家重点实验室, 上海 200433)

**摘要:** 骨关节炎是一种以软骨降解、滑膜炎症和软骨下骨重塑为特征的慢性炎症性关节疾病。骨关节炎的发生可能由遗传、环境、代谢和机械应力等多因素共同影响, 发病机制复杂。最近研究发现, 一种程序性炎性细胞死亡形式——细胞焦亡可能在这种慢性炎症疾病中发挥重要作用。滑膜细胞焦亡和软骨细胞焦亡在骨关节炎发生发展中的作用被陆续报道, NF- $\kappa$ B、P2X7、Nrf2 和 HIF-1 $\alpha$  等多个重要细胞因子可能在 NLRP 炎症小体介导的骨关节炎细胞焦亡过程中发挥重要作用。然而, 目前骨关节炎相关的焦亡研究尚处于初步阶段, 其具体调控机制尚不完全清晰。因此, 该文通过查阅近年来有关骨关节炎滑膜和软骨细胞焦亡的相关研究, 总结细胞焦亡过程中可能存在的靶点分子, 为骨关节炎治疗靶点和发病机制的研究提供科学参考和依据。

**关键词:** 细胞焦亡; 炎症小体; NLRP; 骨关节炎; 软骨细胞

中图分类号: R681.4 文献标志码: A

## Progress in the mechanism of pyrolysis in osteoarthritis

ZHOU Xu-Chang<sup>1</sup>, CAO Hong<sup>2</sup>, XU Yue<sup>1</sup>, NI Guo-Xin<sup>1\*</sup>

(1 School of Sport Medicine and Rehabilitation, Beijing Sport University, Beijing 100084, China;  
2 National Key Laboratory of Medical Immunology and Institute of Immunology,  
Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

**Abstract:** Osteoarthritis (OA) is a chronic inflammatory degenerative joint disease characterized by cartilage degradation, synovial inflammation and subchondral bone remodeling. The occurrence of OA may be affected by multiple factors such as genetics, environment, metabolism and mechanical stress, and its pathogenesis is complicated. Recent studies have found that a form of programmed inflammatory cell death, pyroptosis, may play an important role in OA. The role of synoviocyte pyroptosis and chondrocyte pyroptosis in the occurrence and development of OA has been reported. Many key cytokines such as NF- $\kappa$ B, P2X7, Nrf2 and HIF-1 $\alpha$  may play an important role in the pyroptosis of OA mediated by NLRP inflammasome. However, the research of OA-related pyroptosis is still in the preliminary stage, and its potential mechanism is not yet fully understood at present. Therefore, we reviewed the relevant research on synovial and chondrocyte pyroptosis in OA in recent years and summarized the key targets that may exist in the process of pyroptosis, which may provide reference and basis for the research of OA treatment and pathogenesis.

**Key words:** pyroptosis; inflammasome; NLRP; osteoarthritis; chondrocyte

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是一种常见的慢性炎症性关节疾病, 典型特征为软骨降解、滑膜炎症和软骨下骨重塑等。软骨细胞是软骨组织中唯一的一种细胞类型, 软骨细胞肥大或死亡会导致软骨代谢失衡从而出现软骨基质降解<sup>[1]</sup>。滑膜组织中包

含称为滑膜细胞的高代谢活性细胞, 滑膜细胞又可以进一步分离出滑膜巨噬细胞和滑膜成纤维细胞<sup>[2]</sup>。

收稿日期: 2021-10-12; 修回日期: 2021-11-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(81871848)

\*通信作者: E-mail: niguoxin@bsu.edu.cn

滑膜巨噬细胞的浸润和激活导致的滑膜炎是 OA 主要触发因素之一。滑膜成纤维细胞则与滑膜纤维化高度相关,是滑膜纤维化的主要效应细胞。滑膜纤维化是滑膜组织的另一种病理学变化,其特征是细胞外基质沉积过多,通常导致 OA 患者关节疼痛和僵硬<sup>[3]</sup>。

一般认为 OA 的发生发展与关节急性损伤、慢性劳损或异常的生物应力导致的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 和促炎因子等的释放和累积密切相关。研究表明,核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein, NLRP) 信号分子相关的细胞焦亡可能也参与了 OA 的病程进展<sup>[4]</sup>。细胞死亡类型包括细胞凋亡、自噬性细胞死亡和细胞坏死<sup>[5]</sup>。作为炎症因子的白细胞介素 1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) 和 IL-18 已被公认可以增强软骨分解代谢,并通过抑制蛋白聚糖和 II 型胶原蛋白的产生来促进软骨细胞外基质的降解,从而导致 OA 的发生发展<sup>[6]</sup>。除了软骨基质的变化,软骨细胞凋亡也是 OA 中必然发生的病理改变。然而,细胞凋亡这种程序性细胞死亡应通过特定信号通路来调节,从而不引起任何炎症反应。当软骨细胞凋亡无法被正确激活且确实发生细胞死亡时,程序性炎性细胞死亡——细胞焦亡则可能在其中发挥重要作用。与细胞凋亡和简单的细胞坏死不同,细胞焦亡是促炎性的过程。研

究表明,OA 软骨细胞中可能存在软骨细胞焦亡介导的软骨炎症和基质降解<sup>[7]</sup>。此外,越来越多的证据表明,细胞焦亡可能在慢性无菌性炎症及与组织纤维化有关的多种组织中发生。例如,小胶质细胞焦亡可引起神经源性炎症和纤维化<sup>[8]</sup>,肾脏巨噬细胞焦亡可导致肾脏炎症和纤维化<sup>[9]</sup>。研究表明,滑膜巨噬细胞焦亡产生的 IL-1 $\beta$  和 IL-18 等促炎因子能够直接导致滑膜炎并参与诱导软骨基质降解,促进 OA 病理过程,抑制滑膜巨噬细胞焦亡则可以缓解 OA 中的滑膜炎和纤维化<sup>[10]</sup>。这表明滑膜巨噬细胞焦亡可能在 OA 滑膜炎中发挥重要作用。此外,一项临床研究显示,与对照组相比,OA 患者的膝关节滑膜中 NLRP3 蛋白的表达增加 5.4 倍<sup>[11]</sup>。因此,软骨细胞和滑膜细胞焦亡可能在 OA 发生发展中起重要作用。据此,本课题组通过综述 OA 滑膜和软骨细胞焦亡相关的研究进展,总结 OA 相关的细胞焦亡过程中几个关键信号靶点的作用(图 1),以期为 OA 治疗靶点研究或 OA 病理机制研究提供理论依据和参考,并为 OA 细胞焦亡相关的研究提供新的思路 and 方向。

## 1 细胞焦亡概述

炎症小体是细胞内的一种模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs),在免疫和炎症反应中发挥重要的调节作用。炎症小体/caspase-1/IL-1 $\beta$  途

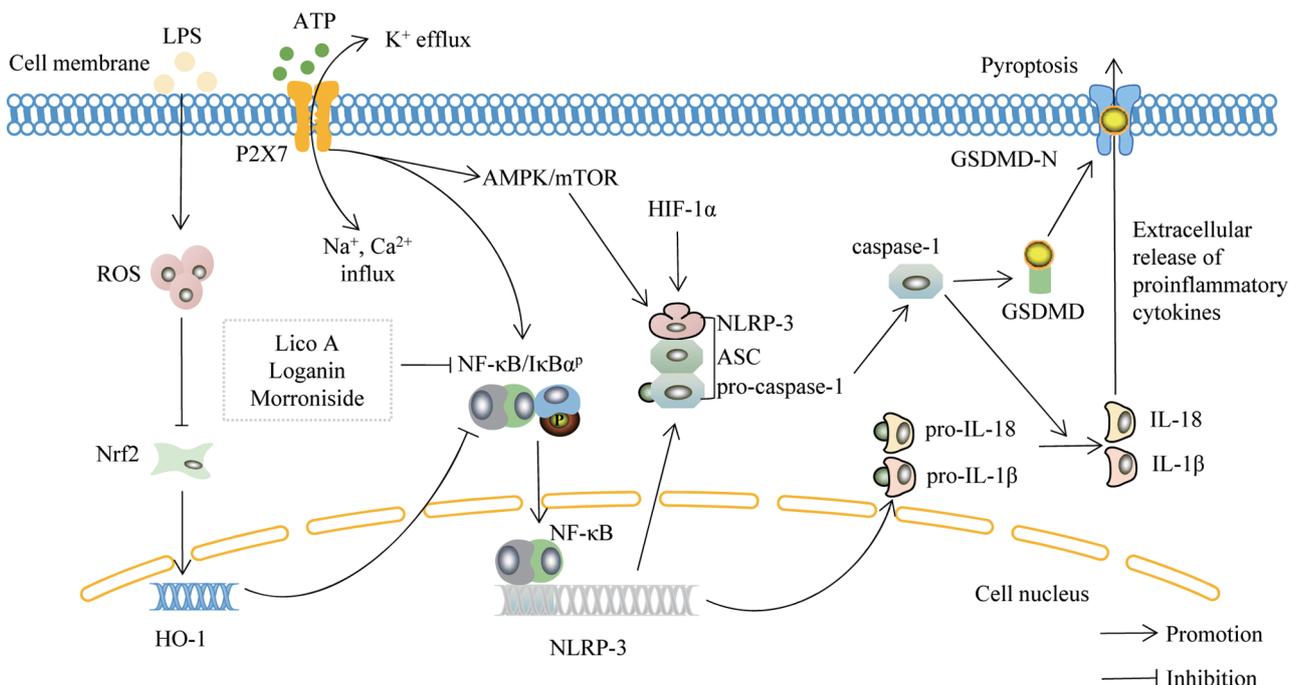


图1 骨关节炎细胞焦亡机制示意图

径与多种炎症疾病的发生发展有关<sup>[4]</sup>。炎症小体的激活会触发 IL-1 $\beta$  和 IL-18 等促炎性细胞因子的成熟和表达, 从而引发先天性免疫应答并随后引起细胞损伤甚至死亡, 上述过程被称为“细胞焦亡”<sup>[12]</sup>。因此, 细胞焦亡是由炎症小体引起的一种 caspase-1 依赖性的程序性细胞死亡, 主要涉及经典和非经典炎症小体激活途径<sup>[13]</sup>。经典的细胞焦亡途径包含两个步骤。第一步是准备阶段。NLRP 的激活受 Toll 样受体识别病原相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 和内源性损伤相关分子模式 (damage-associated molecular patterns, DAMPs) 的调节。当 PAMP 和 IL-1 $\beta$  以及肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 等炎症介质与其对应的受体 IL-1 $\beta$ R、TNF- $\alpha$ R 结合时, 可诱导核转录因子  $\kappa$ B (nuclear transcription factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 活化, 从而促进其下游基因转录产生 NLRP 和 caspase 家族成员以及 IL-1 $\beta$  前体和 IL-18 前体<sup>[14]</sup>。第二步是激活阶段, 包括 NLRP 炎症小体的组装和 caspase-1 激活。NLRP 炎症小体可以切割 caspase-1 前体并释放活化的 caspase-1, 随后活化的 caspase-1 通过蛋白质水解作用将 IL-1 $\beta$  前体和 IL-18 前体加工成成熟的促炎性细胞因子 IL-1 $\beta$  和 IL-18<sup>[15]</sup>。同时, caspase-1 能够裂解 GSDMD (gasdermin D), 释放 N 末端结构域并转运到质膜上寡聚形成一个直径 10~15 nm 的孔, 从而将 IL-1 $\beta$  和 IL-18 等促炎细胞因子释放到细胞外环境中, 诱导细胞焦亡<sup>[16]</sup>。焦亡的细胞发生细胞膜穿孔, 导致胞内和胞外离子浓度梯度相等, 水流入细胞; 随着细胞大小的增加和气球状周围囊泡的形成, 细胞核浓缩并变圆, 最终引起细胞肿胀和溶解。尽管能够在细胞焦亡中观察到与细胞凋亡一致的 DNA 片段化, 但在细胞焦亡中细胞核依然保持了完整性。因此, 细胞焦亡和细胞凋亡在形态学变化上是不同的, 细胞焦亡同时具有凋亡和坏死的特征<sup>[17]</sup>。此外, 与经典的细胞焦亡途径不同, caspase-11 (在小鼠中) 或 caspase-4/5 (在人类中) 可以通过直接感受胞质内脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 的表达来启动激活程序, 通过 GSDMD 裂解在细胞膜上形成孔, 促进细胞焦亡, 这就是非经典途径细胞焦亡<sup>[18]</sup>。研究发现, caspase-11 还可以通过 caspase-1 途径间接调控 IL-1 $\beta$ <sup>[19]</sup>, 表明在细胞焦亡过程中可能存在 caspase 之间的相互调控。

## 2 NLRP炎症小体在OA细胞焦亡中的作用

NLRP 炎症小体 (主要是 NLRP1 和 NLRP3 炎

症小体) 包含 7 个被广泛接受的炎症小体复合物家族: NLRP1、NLRP3、NLRC4、IFI16 (interferon  $\gamma$  inducible protein 16)、pyrin、caspase-4 以及 AIM2 (absent in melanoma 2)<sup>[20]</sup>。其中, NLRP1 和 NLRP3 研究得最为广泛, 尤其是 NLRP3, 在宿主防御细菌、真菌和病毒等方面发挥重要作用<sup>[21]</sup>。NLRP3 炎症小体是由 NLRP3、ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase-activating recruitment domain) 和 caspase-1 前体组成, 存在于巨噬细胞、树突状细胞和其他非免疫细胞中的一种多蛋白复合物。NLRP3 通过结合其衔接子 ASC 来募集 caspase-1 前体形成 NLRP3 炎症小体, 目前已发现多种内源或外源性因素可以激活 NLRP3 炎症小体, 包括 LPS、ROS、细菌、K<sup>+</sup> 外流、Ca<sup>2+</sup> 内流、溶酶体失稳、线粒体损伤、细胞肿胀等<sup>[22]</sup>。激活的 NLRP3 炎症小体可以通过切割 caspase-1 前体促进炎症因子释放到胞外, 从而诱导细胞焦亡。

由于 NLRP3 炎症小体介导的是程序性炎性细胞死亡, 而滑膜炎是 OA 的一种典型病理变化, 因此, 滑膜细胞焦亡最先受到学者的关注。目前, 已有部分文献报道 NLRP3 炎症小体可能与 OA 滑膜细胞焦亡和软骨细胞焦亡密切相关<sup>[23]</sup>。Zhao 等<sup>[4]</sup>首次较为深入地探索了细胞焦亡和 OA 之间的关系。该研究结果显示, NLRP1 和 NLRP3 炎症小体在 OA 患者膝关节滑膜组织中高表达; 利用 LPS 诱导构建体外滑膜成纤维细胞焦亡模型, 发现用 siRNA 抑制 NLRP1 或 NLRP3 的表达均能显著降低 ASC、caspase-1 等细胞焦亡相关基因和蛋白的表达, 缓解滑膜成纤维细胞焦亡<sup>[4]</sup>。这表明 NLRP1 和 NLRP3 炎症小体可能通过调控滑膜细胞焦亡和滑膜炎参与 OA 的发生和发展。OA 滑膜组织中存在细胞焦亡的结论为 OA 发病机制和治疗靶点的研究提供了新的思路。Liu 等<sup>[7]</sup>将研究目标转向软骨组织, 探究了 OA 软骨组织中是否存在软骨细胞焦亡从而影响软骨炎症和代谢变化。该研究发现, 环氧合酶 2 (cyclooxygenase 2, COX2) 的抑制剂 Indomethacin 可以抑制 LPS 诱导的软骨细胞 caspase-1、IL-1 $\beta$  和 IL-18 等细胞焦亡相关蛋白的表达, 并且呈现一定的剂量依赖性。Hedgehog 信号通路抑制剂 GANT-61 与 Indomethacin 联合用药能够协同作用显著抑制 OA 软骨细胞焦亡, 降低炎症反应<sup>[7]</sup>。这表明, OA 软骨细胞可能也存在细胞焦亡过程。此外, Zu 等<sup>[24]</sup>利用从淫羊藿 (*Epimedium*) 中提取的淫羊藿苷 (icariin, ICA) 研究发现, ICA 可以通过抑制 NLRP3 炎症小

体介导的 caspase-1 信号通路,减轻 LPS 诱导的软骨细胞焦亡和细胞炎症,而 NLRP3 的过表达可逆转上述变化;在大鼠 OA 模型中的研究也进一步证实,ICA 能够通过抑制 NLRP3/caspase-1 信号通路介导软骨细胞焦亡从而缓解 OA。随后,陆续有多个研究团队对 OA 滑膜组织和软骨组织中可能存在的细胞焦亡进行了深入研究<sup>[25]</sup>。综上所述,NLRP 介导的细胞焦亡可能在 OA 病变过程中起重要作用,NLRP 可能是治疗 OA 的有效潜在靶点。

### 3 NF- $\kappa$ B在OA细胞焦亡中的作用

NF- $\kappa$ B 家族包括 5 个成员: RelA (p65)、RelB、c-Rel、p50/p105 和 p52/p100。以往研究表明,NF- $\kappa$ B 能够通过上调胶原降解酶的表达,促进炎症反应和软骨细胞肥大等,广泛参与 OA 的发生发展<sup>[26]</sup>;而 NF- $\kappa$ B 是 NLRP3 炎症小体上游的重要激活因子,能够通过诱导 NLRP3 转录表达来触发炎症小体的启动和组装<sup>[27]</sup>。Hu 等<sup>[28]</sup>研究发现,从中药山茱萸 (*Corni Fructus*, CF) 中提取的主要活性成分 Loganin 能够显著降低骨关节炎模型小鼠软骨中 I $\kappa$ B $\alpha$  的磷酸化进而抑制 p65 核易位,显著抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路;此外,Loganin 处理也部分逆转了 OA 小鼠软骨中的两个焦亡关键蛋白 cryopyrin 和 caspase-1 的表达。这提示 Loganin 可能通过抑制 p65 转移入核,减少 caspase-1 的表达,最终缓解软骨细胞焦亡。此外,2021 年的一项研究显示,作为中药 CF 的质量控制指标之一,Morroniside 同样可以通过抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路转导进而抑制 NLRP3 基因转录和 NLRP3 炎症小体组装,降低 caspase-1 表达,缓解 OA 小鼠软骨细胞焦亡<sup>[29]</sup>。Lico A (licochalcone A) 是从甘草中提取的酚类化合物,具有抗炎、抗凋亡、抗氧化等多种生物学作用<sup>[25]</sup>。Yan 等<sup>[30]</sup>研究发现,Lico A 可以下调 LPS 诱导的 OA 小鼠软骨细胞中 NLRP3、ASC、GSDMD、caspase-1 以及炎症因子 IL-1 $\beta$  和 IL-18 的表达;同时,该研究显示,经过 Lico A 处理后,OA 软骨细胞 I $\kappa$ B $\alpha$  的降解和 p65 转运入核受到抑制。上述结果表明,Lico A 可能通过协调小鼠 OA 软骨细胞中的 NF- $\kappa$ B 信号通路参与调控 NLRP3 炎症小体,从而抑制 LPS 诱导的软骨细胞焦亡和细胞炎症。

综上所述,生理状态下,p65 二聚体与 NF- $\kappa$ B 抑制剂 I $\kappa$ B $\alpha$  相互作用,以非活性形式结合,从而被隔离在细胞质中<sup>[31]</sup>。在 LPS 的刺激下,I $\kappa$ B $\alpha$ -p65 结合后被磷酸化,导致 NF- $\kappa$ B 活化解离,游离的

NF- $\kappa$ B 从细胞质转移到细胞核<sup>[32]</sup>,激活 NLRP3 炎症小体,并促进 IL-1 $\beta$  和 IL-18 释放到细胞外,从而导致软骨细胞焦亡。目前有关 OA 软骨细胞焦亡的研究局限在药物作用机制,且主要以中药提取物为主。前述 Loganin、Morroniside 以及 Lico A 等中药提取物缓解软骨细胞焦亡主要是通过抑制 NLRP3 的关键上游调控因子 NF- $\kappa$ B,从而阻碍炎症相关的软骨细胞焦亡,起到保护软骨细胞的作用。因此,有针对性地抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路可能有益于缓解 OA 软骨细胞焦亡。

### 4 P2X7在OA细胞焦亡中的作用

P2X7 (P2X purinoceptor 7) 是一种嘌呤能受体,在包括免疫细胞和骨细胞等多种类型的真核细胞中表达。P2X7 受体亚基的功能性离子通道由质膜中的稳定三聚体组成,是一种三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 门控离子通道。P2X7 依赖性信号通路涉及多种细胞因子释放,从而广泛参与调节一系列与炎症有关的信号通路<sup>[33]</sup>。

以往研究显示,作为一个关键的炎症开关,P2X7 通道的激活会改变细胞中的局部离子微环境,从而驱动 NLRP3 炎症小体的募集和组装,进而参与细胞焦亡<sup>[34]</sup>。细胞外基质降解和炎症因子的释放是导致软骨组织稳态失衡的主要因素。与正常组织中细胞外 ATP 的低浓度状态不同,炎症部位细胞外 ATP 浓度显著升高。受损组织和死亡的细胞会释放大量 ATP 与 P2X7 受体结合,开放门控离子通道,使得 Na<sup>+</sup> 和 Ca<sup>2+</sup> 流入细胞,同时 K<sup>+</sup> 流出 (K<sup>+</sup> 外流是激活 NLRP3 炎症小体的因素之一<sup>[35]</sup>),导致细胞膜去极化。因此,高浓度的 ATP 是 P2X7 激活的关键信号<sup>[36]</sup>。使用关节腔注射谷氨酸钠碘乙酸 (monosodium iodoacetate, MIA) 构建的大鼠 OA 模型研究发现,MIA 可能通过诱导软骨细胞释放高浓度 ATP 激活 P2X7,从而产生 OA 软骨细胞焦亡表型<sup>[37]</sup>。进一步的研究显示,P2X7 拮抗剂能够抑制 MIA 诱导的 NF- $\kappa$ B、NLRP3 和 caspase-1 高表达,而 P2X7 激动剂 BzATP (一种比 ATP 效力更强的 ATP 类似物) 则表现出相反的作用。上述结果表明,P2X7 可能通过 NF- $\kappa$ B 介导 OA 软骨细胞焦亡<sup>[37]</sup>。因此,P2X7 能够在高浓度 ATP 刺激下开放离子通道,随后激活 NF- $\kappa$ B 组配 NLRP3 炎症小体,最终导致软骨细胞焦亡。

此外,P2X7 介导的 Ca<sup>2+</sup> 流入和升高的 AMP/ATP 比率可以激活能量受体 AMP 依赖的蛋白激酶

(adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK), 抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR), 并促进细胞自噬<sup>[38]</sup>。细胞能够通过自噬恢复多余或受损的脂质、蛋白质和细胞器, 以维持细胞活力和缓解炎症<sup>[39]</sup>。研究显示, 过表达 mTOR 能够抑制软骨细胞自噬, 从而促进软骨退化<sup>[40]</sup>。而 P2X7 的激活状态会影响细胞自噬水平。在激活早期, P2X7 介导的  $K^+$  外流和  $Ca^{2+}$  内流激活线粒体 ROS 和  $Ca^{2+}$ /钙调素依赖蛋白激酶, 进而通过 AMPK 通路抑制 mTOR, 促进线粒体自噬和溶酶体生物发生。在激活的后期阶段, 溶酶体充当 AMPK 和 mTOR 之间的信号枢纽, 不能与自噬体融合形成自噬溶酶体靶向降解炎症小体等有害物质, 最终导致细胞焦亡<sup>[41]</sup>。有研究发现, 在中等强度的运动或适当浓度的 BzATP 刺激下, P2X7 的表达较低; 适当激活的 P2X7 通过 AMPK/mTOR 信号通路促进自噬, 抑制软骨细胞焦亡, 进而减轻 OA; 相比之下, P2X7 的过度激活会促进 mTOR 激活并减少自噬, 从而导致细胞焦亡和软骨降解<sup>[42]</sup>。因此, 通过调控 P2X7 的激活状态, 可通过 AMPK/mTOR 信号通路来促进自噬, 从而缓解软骨细胞焦亡。

综上所述, P2X7 作为一种门控离子通道, 能够与 ATP 结合并被激活, 从而导致  $Na^+$  和  $Ca^{2+}$  流入以及  $K^+$  流出。P2X7 介导的离子电流不仅能够诱导自噬, 而且促进细胞焦亡。在激活的早期阶段, P2X7 介导的细胞反应以自噬为主; 在活化后期, 细胞的主要表型逐渐从自噬转变为焦亡<sup>[42]</sup>。因此, P2X7 的激活水平与细胞命运方向密切相关, P2X7 的初始激活可能对细胞具有保护作用, 但随着激活时间的增加或过度激活, 则会诱导细胞焦亡。

## 5 Nrf2在OA细胞焦亡中的作用

众所周知, ROS 在 OA 的发展中发挥重要作用。ROS 在低浓度情况下, 能够调控软骨的正常生理功能; 然而, ROS 的过度产生会导致 OA 的发生和发展<sup>[43]</sup>。各种 NLRP3 激动剂可升高细胞内 ROS 水平, 而升高的 ROS 对于 NLRP3 炎症小体激活至关重要, 即 NLRP3 激动剂可以通过上调 ROS 水平激活 NLRP3 炎症小体<sup>[44]</sup>。另有研究证实, 在促炎反应中, ROS 能够影响抗氧化酶活性, 导致 NLRP3 炎症小体活化<sup>[11]</sup>。核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2) 是氧化应激传感器和关键转录因子, 属于 CNC-bZIP 转录因子家族。在生理条件下,

Nrf2 主要存在于细胞质中。然而, 当 ROS 水平升高时, Nrf2 可以反式激活抗氧化反应元件驱动的基因血红素氧合酶 1 (heme oxygenase-1, HO-1), 促进抗氧化剂的表达, 从而对炎症和氧化应激环境下的细胞起到保护作用<sup>[45]</sup>。

Chen 等<sup>[46]</sup>发现 OA 患者和 OA 大鼠滑膜中 Nrf2 及其下游因子 HO-1 呈现高表达, 同时 NLRP3 和 ASC 等焦亡相关蛋白的表达也明显升高。随后, 使用 SW982 人滑膜肉瘤细胞系验证 Nrf2 与 OA 滑膜细胞焦亡之间的关系发现, LPS 刺激后 ROS 诱导激活 NLRP3 炎症小体的组装; 使用 siRNA 敲除 Nrf2, 细胞中 ROS 水平升高, NLRP3 表达上调。该研究表明, ROS 可能通过 Nrf2/HO-1 信号轴促进 NLRP3 炎症小体相关的滑膜细胞焦亡, 从而调控 OA 病变过程中的炎症反应。可能是由于相较于正常细胞, OA 滑膜细胞中的 Nrf2 已经处于高表达状态, 因此该研究没有进一步验证过表达 Nrf2 是否能够通过增强 HO-1 表达起到抗氧化的作用, 从而下调 NLRP3 炎症小体抑制滑膜细胞焦亡。然而, 有证据表明, 激活 Nrf2/HO-1 信号通路能够通过抑制 NF- $\kappa$ B 通路减轻炎症反应, 而抑制 Nrf2 可以通过激活 NF- $\kappa$ B 通路来促进细胞因子的产生<sup>[47-48]</sup>。这表明 Nrf2/HO-1 与 NF- $\kappa$ B 信号通路存在交互作用, Nrf2 可能通过 NF- $\kappa$ B 介导细胞焦亡过程。有学者在利用中药甘草提取物 Lico A 缓解 LPS 诱导的小鼠 OA 软骨细胞焦亡的研究中发现, Nrf2/HO-1/NF- $\kappa$ B 轴能够抑制 LPS 诱导的 NLRP3 炎症小体活化和软骨细胞焦亡; 被 Lico A 激活的 Nrf2 能够显著抑制 NLRP3 炎症小体的活化, 并降低炎症因子 IL-18 和 IL-1 $\beta$  的表达, 而敲除 Nrf2 基因可高效阻断该抑制作用<sup>[30]</sup>。上述结果表明, Nrf2 可能在 OA 中发挥抗软骨细胞焦亡作用。

综上所述, ROS 可能会激活 NLRP3 炎症小体, 从而诱导促炎性 IL-1 $\beta$  和 IL-18 的分泌, 导致细胞焦亡, 在 OA 的发生发展中起重要作用。而 Nrf2/HO-1 信号轴可能参与介导 ROS 相关的 OA 滑膜和软骨细胞焦亡, 并且上述过程与 NF- $\kappa$ B 信号通路密切相关。因此, Nrf2/HO-1 可能在 OA 进展中起关键作用, 靶向 Nrf2 可能是抑制 OA 软骨细胞焦亡的有效治疗手段。

## 6 HIF-1 $\alpha$ 在OA软骨细胞焦亡中的作用

低氧诱导因子-1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor 1-alpha, HIF-1 $\alpha$ ) 是对细胞缺氧反应进行调节的关键转录因

子。正常关节软骨中,只有在接近钙化软骨区的深层软骨细胞中才有 HIF-1 $\alpha$  表达。以往有关 HIF-1 $\alpha$  在 OA 中作用的研究主要集中在软骨下骨缺氧诱导 HIF-1 $\alpha$  表达上调进而引发血管侵袭的相关机制:由于软骨下骨血流灌注减少引起软骨下骨缺氧,激活 HIF-1 $\alpha$  可上调血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 的表达,导致新生血管穿过软骨下骨板,通过钙化软骨区到达上覆关节软骨;新生血管带来的氧气和各种细胞因子改变了软骨的微环境,从而导致软骨损伤<sup>[49]</sup>。然而,有研究显示, HIF-1 $\alpha$  能够上调促炎因子和生长因子的表达,从而激活成纤维细胞并介导纤维化<sup>[50]</sup>。这表明, HIF-1 $\alpha$  可能参与 OA 病理变化中的滑膜纤维化过程。此外,还有研究显示,在低氧条件下 HIF-1 $\alpha$  可以通过诱导激活 NLRP3 炎症小体参与细胞焦亡<sup>[51]</sup>。随后, Zhang 等<sup>[52]</sup> 详细研究了 OA 大鼠中 HIF-1 $\alpha$  与滑膜纤维化和滑膜成纤维细胞焦亡之间的关系。该研究显示, OA 模型大鼠滑膜组织中 HIF-1 $\alpha$  的表达显著升高,抑制 HIF-1 $\alpha$  表达可以降低转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 等纤维化标记物的水平;进一步的研究表明, HIF-1 $\alpha$  沉默可显著降低 LPS + ATP 诱导的滑膜成纤维细胞焦亡,同时 caspase-1、ASC、NLRP3、GSMDD、IL-1 $\beta$  和 IL-18 等细胞焦亡关键基因的表达也下调;当滑膜成纤维细胞暴露于缺氧状态时,抑制焦亡关键基因表达可以显著降低纤维化标记物的表达。这提示 HIF-1 $\alpha$  表达增加可能通过促进滑膜成纤维细胞焦亡从而加重滑膜纤维化。

综上所述, OA 的滑膜纤维化可能是滑膜炎症和氧化应激的综合结果, HIF-1 $\alpha$  可能通过调控 OA 滑膜成纤维细胞焦亡过程,从而影响 OA 滑膜炎症和纤维化病变,但 HIF-1 $\alpha$  与滑膜细胞焦亡之间的确切调控关系和相关通路还需要进一步明确。此外,以往有关 HIF-1 $\alpha$  或 HIF-2 $\alpha$  与软骨损伤之间关系的研究相对较多,并且涉及软骨下骨和软骨之间的化学串扰<sup>[53]</sup>。众所周知,大多数具有明显临床症状的 OA 患者患有滑膜炎。滑膜组织中的炎症反应伴有充血、水肿、炎症介质的积累和各种蛋白酶的分泌,最终导致软骨代谢异常<sup>[10]</sup>。因此,作为一种程序性炎性细胞死亡形式, HIF-1 $\alpha$  诱导滑膜成纤维细胞焦亡释放的各种炎症因子是否与软骨损伤之间存在某种类似的化学串扰也值得深入探究。

## 7 小结与展望

尽管目前多数研究表明 NLRP3 相关的滑膜细胞或软骨细胞焦亡可能在促进 OA 的发生发展中发挥重要作用,但也有极少部分研究显示 NLRP3 对 OA 中的软骨降解并非必不可少<sup>[54]</sup>。这可能是由于不同动物实验中所选 OA 模型的差异,或者体外细胞实验所选的细胞焦亡刺激物差异所造成的,也有可能是因为 NLRP3 确实在 OA 病变的不同阶段发挥不同的作用。此外, Bougault 等<sup>[55]</sup> 研究了 OA 患者膝关节软骨和滑膜分泌的 IL-1 $\beta$  和 IL-18 炎症因子的相对表达,结果显示滑膜中 IL-1 $\beta$  和 IL-18 的表达显著高于软骨,表明在病理条件下, IL-1 $\beta$  和 IL-18 可能主要来自滑膜细胞,而不是软骨中的软骨细胞;此外,敲除 NLRP3 并不影响 LPS、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  诱导的软骨细胞 MMPs 等分解代谢蛋白的表达。上述结果提示,软骨细胞中可能并没有明显的细胞焦亡发生,软骨细胞的炎性细胞死亡可能只是滑膜细胞释放的炎症因子导致的软骨代谢失衡、基质降解和轻微的软骨炎症。不可否认的是, OA 滑膜细胞中确实存在细胞焦亡,而软骨细胞焦亡可能需要更多更严谨的实验进一步证实。

综上所述,未来通过寻找合适的靶点,可以直接靶向炎症小体的各组分,或靶向炎症小体的上游调节剂或下游靶标,例如 NLRP3、NF- $\kappa$ B、P2X7 或者 Nrf2 等,调控软骨细胞或滑膜细胞焦亡,从而起到预防和治疗 OA 的作用。此外, OA 被认为是一种涉及关节软骨和软骨下骨全关节病变的慢性炎症疾病,因此在 OA 进程中,尤其是中晚期 OA 病变是否也涉及软骨下骨中成骨细胞或破骨细胞的焦亡变化,关节中其他细胞焦亡释放的炎症因子等产物与软骨下骨之间是否存在重要的分子串扰,也是重要的研究方向。

### [参 考 文 献]

- [1] Iwamoto M, Ohta Y, Larmour C, et al. Toward regeneration of articular cartilage. *Birth Defects Res C Embryo Today*, 2013, 99: 192-202
- [2] Smith MD. The normal synovium. *Open Rheumatol J*, 2011, 5: 100-6
- [3] Lopes EBP, Filiberti A, Husain SA, et al. Immune contributions to osteoarthritis. *Curr Osteoporos Rep*, 2017, 15: 593-600
- [4] Zhao LR, Xing RL, Wang PM, et al. NLRP1 and NLRP3 inflammasomes mediate LPS/ATP-induced pyroptosis in knee osteoarthritis. *Mol Med Rep*, 2018, 17: 5463-9
- [5] Charlier E, Relic B, Deroyer C, et al. Insights on

- molecular mechanisms of chondrocytes death in osteoarthritis. *Int J Mol Sci*, 2016, 17: 2146
- [6] Wojdasiewicz P, Poniatowski LA, Szukiewicz D. The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis. *Mediat Inflamm*, 2014, 2014: 561459
- [7] Liu Q, Wu Z, Hu D, et al. Low dose of indomethacin and Hedgehog signaling inhibitor administration synergistically attenuates cartilage damage in osteoarthritis by controlling chondrocytes pyroptosis. *Gene*, 2019, 712: 143959
- [8] McKenzie BA, Mamik MK, Saito LB, et al. Caspase-1 inhibition prevents glial inflammasome activation and pyroptosis in models of multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115: E6065-74
- [9] Chung SD, Lai TY, Chien CT, et al. Activating Nrf-2 signaling depresses unilateral ureteral obstruction-evoked mitochondrial stress-related autophagy, apoptosis and pyroptosis in kidney. *PLoS One*, 2012, 7: e47299
- [10] Zhang L, Xing R, Huang Z, et al. Inhibition of synovial macrophage pyroptosis alleviates synovitis and fibrosis in knee osteoarthritis. *Mediat Inflamm*, 2019, 2019: 2165918
- [11] Clavijo-Cornejo D, Martínez-Flores K, Silva-Luna K, et al. The overexpression of NALP3 inflammasome in knee osteoarthritis is associated with synovial membrane prolidase and NADPH oxidase 2. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 1472567
- [12] Galluzzi L, Vitale I, Abrams JM, et al. Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012. *Cell Death Differ*, 2012, 19: 107-20
- [13] Xia X, Wang X, Zheng Y, et al. What role does pyroptosis play in microbial infection? *J Cell Physiol*, 2019, 234: 7885-92
- [14] Swanson KV, Deng M, Ting JP. The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics. *Nat Rev Immunol*, 2019, 19: 477-89
- [15] Man SM, Karki R, Kanneganti TD. Molecular mechanisms and functions of pyroptosis, inflammatory caspases and inflammasomes in infectious diseases. *Immunol Rev*, 2017, 277: 61-75
- [16] Feng S, Fox D, Man SM. Mechanisms of gasdermin family members in inflammasome signaling and cell death. *J Mol Biol*, 2018, 430: 3068-80
- [17] An S, Hu H, Li Y, et al. Pyroptosis plays a role in osteoarthritis. *Aging Dis*, 2020, 11: 1146-57
- [18] Kayagaki N, Stowe IB, Lee BL, et al. Caspase-11 cleaves gasdermin D for non-canonical inflammasome signalling. *Nature*, 2015, 526: 666-71
- [19] Kayagaki N, Warming S, Lamkanfi M, et al. Non-canonical inflammasome activation targets caspase-11. *Nature*, 2011, 479: 117-21
- [20] Platnich JM, Muruve DA. NOD-like receptors and inflammasomes: a review of their canonical and non-canonical signaling pathways. *Arch Biochem Biophys*, 2019, 670: 4-14
- [21] Sun X, Hao H, Han Q, et al. Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells ameliorate insulin resistance by suppressing NLRP3 inflammasome-mediated inflammation in type 2 diabetes rats. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8: 241
- [22] Tschopp J, Schroder K. NLRP3 inflammasome activation: the convergence of multiple signalling pathways on ROS production? *Nat Rev Immunol*, 2010, 10: 210-5
- [23] McAllister MJ, Chemaly M, Eakin AJ, et al. NLRP3 as a potentially novel biomarker for the management of osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil*, 2018, 26: 612-9
- [24] Zu Y, Mu Y, Li Q, et al. Icarin alleviates osteoarthritis by inhibiting NLRP3-mediated pyroptosis. *J Orthop Surg Res*, 2019, 14: 307
- [25] Guo W, Liu B, Yin Y, et al. Licochalcone A protects the blood-milk barrier integrity and relieves the inflammatory response in LPS-induced mastitis. *Front Immunol*, 2019, 10: 287
- [26] Rigoglou S, Papavassiliou AG. The NF- $\kappa$ B signalling pathway in osteoarthritis. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45: 2580-4
- [27] Guo H, Callaway JB, Ting JP. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nat Med*, 2015, 21: 677-87
- [28] Hu J, Zhou J, Wu J, et al. Loganin ameliorates cartilage degeneration and osteoarthritis development in an osteoarthritis mouse model through inhibition of NF- $\kappa$ B activity and pyroptosis in chondrocytes. *J Ethnopharmacol*, 2020, 247: 112261
- [29] Yu H, Yao S, Zhou C, et al. Morroniside attenuates apoptosis and pyroptosis of chondrocytes and ameliorates osteoarthritic development by inhibiting NF- $\kappa$ B signaling. *J Ethnopharmacol*, 2021, 266: 113447
- [30] Yan Z, Qi W, Zhan J, et al. Activating Nrf2 signalling alleviates osteoarthritis development by inhibiting inflammasome activation. *J Cell Mol Med*, 2020, 24: 13046-57
- [31] Roman-Blas JA, Jimenez SA. NF- $\kappa$ B as a potential therapeutic target in osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Osteoarthr Cartil*, 2006, 14: 839-48
- [32] Yang G, Wang Y, Chen Y, et al. UFL1 attenuates IL-1 $\beta$ -induced inflammatory response in human osteoarthritis chondrocytes. *Int Immunopharmacol*, 2020, 81: 106278
- [33] Di Virgilio F, Dal Ben D, Sarti AC, et al. The P2X7 receptor in infection and inflammation. *Immunity*, 2017, 47: 15-31
- [34] Franceschini A, Capece M, Chiozzi P, et al. The P2X7 receptor directly interacts with the NLRP3 inflammasome scaffold protein. *FASEB J*, 2015, 29: 2450-61
- [35] Pétrilli V, Papin S, Dostert C, et al. Activation of the NALP3 inflammasome is triggered by low intracellular potassium concentration. *Cell Death Differ*, 2007, 14: 1583-9
- [36] Tanigawa H, Toyoda F, Kumagai K, et al. P2X7 ionotropic receptor is functionally expressed in rabbit articular chondrocytes and mediates extracellular ATP cytotoxicity. *Purinergic Signal*, 2018, 14: 245-58
- [37] Li Z, Huang Z, Zhang H, et al. P2X7 receptor induces

- pyroptotic inflammation and cartilage degradation in osteoarthritis via NF- $\kappa$ B/NLRP3 crosstalk. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 8868361
- [38] da Silva HB, Beura LK, Wang H, et al. The purinergic receptor P2RX7 directs metabolic fitness of long-lived memory CD8 T cells. *Nature*, 2018, 559: 264-8
- [39] Lin Z, Miao J, Zhang T, et al. d-Mannose suppresses osteoarthritis development *in vivo* and delays IL-1 $\beta$ -induced degeneration *in vitro* by enhancing autophagy activated via the AMPK pathway. *Biomed Pharmacother*, 2021, 135: 111199
- [40] Zhang Y, Vasheghani F, Li YH, et al. Cartilage-specific deletion of mTOR upregulates autophagy and protects mice from osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*, 2015, 74: 1432-40
- [41] Zheng T, Zhao C, Zhao B, et al. Impairment of the autophagy-lysosomal pathway and activation of pyroptosis in macular corneal dystrophy. *Cell Death Discov*, 2020, 6: 85
- [42] Li Z, Huang Z, Zhang H, et al. Moderate-intensity exercise alleviates pyroptosis by promoting autophagy in osteoarthritis via the P2X7/AMPK/mTOR axis. *Cell Death Discov*, 2021, 7: 346
- [43] Kauppinen A, Niskanen H, Suuronen T, et al. Oxidative stress activates NLRP3 inflammasomes in ARPE-19 cells--implications for age-related macular degeneration (AMD). *Immunol Lett*, 2012, 147: 29-33
- [44] He Y, Hara H, Núñez G. Mechanism and regulation of NLRP3 inflammasome activation. *Trends Biochem Sci*, 2016, 41: 1012-21
- [45] Hennig P, Garstkiewicz M, Grossi S, et al. The crosstalk between Nrf2 and Inflammasomes. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 562
- [46] Chen Z, Zhong H, Wei J, et al. Inhibition of Nrf2/HO-1 signaling leads to increased activation of the NLRP3 inflammasome in osteoarthritis. *Arthritis Res Ther*, 2019, 21: 300
- [47] Wardyn JD, Ponsford AH, Sanderson CM. Dissecting molecular cross-talk between Nrf2 and NF- $\kappa$ B response pathways. *Biochem Soc Trans*, 2015, 43: 621-6
- [48] Pan H, Wang H, Wang X, et al. The absence of Nrf2 enhances NF- $\kappa$ B-dependent inflammation following scratch injury in mouse primary cultured astrocytes. *Mediat Inflamm*, 2012, 2012: 217580
- [49] Murata M, Yudoh K, Masuko K. The potential role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in cartilage: how the angiogenic factor could be involved in the pathogenesis of osteoarthritis? *Osteoarthr Cartil*, 2008, 16: 279-86
- [50] Li X, Li J, Wang L, et al. The role of metformin and resveratrol in the prevention of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  accumulation and fibrosis in hypoxic adipose tissue. *Br J Pharmacol*, 2016, 173: 2001-15
- [51] Gupta N, Sahu A, Prabhakar A, et al. Activation of NLRP3 inflammasome complex potentiates venous thrombosis in response to hypoxia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114: 4763-8
- [52] Zhang L, Zhang L, Huang Z, et al. Increased HIF-1 $\alpha$  in knee osteoarthritis aggravate synovial fibrosis via fibroblast-like synoviocyte pyroptosis. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 6326517
- [53] Zhou X, Cao H, Yuan Y, et al. Biochemical signals mediate the crosstalk between cartilage and bone in osteoarthritis. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 5720360
- [54] Nasi S, Ea HK, So A, et al. Revisiting the role of interleukin-1 pathway in osteoarthritis: interleukin-1 $\alpha$  and -1 $\beta$ , and NLRP3 inflammasome are not involved in the pathological features of the murine meniscectomy model of osteoarthritis. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 282
- [55] Bougault C, Gosset M, Houard X, et al. Stress-induced cartilage degradation does not depend on the NLRP3 inflammasome in human osteoarthritis and mouse models. *Arthritis Rheum*, 2012, 64: 3972-81