

DOI: 10.13376/j.cbls/20230059

文章编号: 1004-0374(2023)07-0903-07

# NLRP3炎症小体活化机制研究进展

张 坦<sup>1,2</sup>

(1 上海体育大学运动健康学院, 上海 200438; 2 上海体育大学上海市运动与代谢健康前沿科学研究基地, 上海 200438)

**摘 要:** 炎症反应是机体应对外源性刺激的一种保护性免疫反应, 但过度炎症反应则损伤机体。核苷酸结合寡聚化结构域样受体含 pyrin 结构域蛋白 3 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor family, pyrin domain-containing 3, NLRP3) 炎症小体是近年来研究较多的一类多蛋白复合体, 其被活化后诱导炎症因子白介素-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) 和白介素-18 (interleukin-18, IL-18) 的合成。NLRP3 炎症小体异常活化导致炎症反应过度, 进而促进诸多炎症性疾病发生发展。因此, 阐明 NLRP3 炎症小体活化机制具有非常重要的价值。本文从胞内离子流动、细胞器改变及代谢调控等多方面对 NLRP3 炎症小体活化机制进行综述, 以为炎症相关疾病的防治提供科学理论基础和新思路。

**关键词:** NLRP3 炎症小体; 离子流动; 细胞器改变; 代谢调控

中图分类号: R392 文献标志码: A

## Research progress in the activation of NLRP3 inflammasome

ZHANG Tan<sup>1,2</sup>

(1 School of Exercise and Health, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China; 2 Shanghai Frontiers Science Research Base of Exercise and Metabolic Health, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China)

**Abstract:** Inflammation is a protective immune response to defend exogenous stimulations, however, excessive inflammation is detrimental to the body. NLRP3 inflammasome is a class of multi-protein complex that has been extensively studied in recent years, which is activated to induce the generation of interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) and interleukin-18 (IL-18). Abnormal activation of NLRP3 inflammasome leads to excessive inflammatory response, which further promotes the development of many inflammatory diseases. Therefore, it is of great value to elucidate the regulatory mechanisms of NLRP3 inflammasome activation. In this paper, the activation mechanisms are reviewed from the aspects of ion flux, alterations of cellular organelles, and metabolic regulation, hoping to provide theoretical basis and new targets for the prevention and treatment of inflammation-related diseases.

**Key words:** NLRP3 inflammasome; ion flux; alterations of cellular organelles; metabolic regulation

### 1 NLRP3炎症小体概述

先天性免疫系统是人体的第一道防线, 先天性免疫细胞通过模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 识别病原体相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 和损伤相关分子模式 (damage-associated molecular patterns, DAMPs)。核苷酸结合寡聚化结构域样受体含 pyrin 结构域蛋白 3 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor family, pyrin domain-containing 3, NLRP3) 是一类胞内 PRRs。2002 年, Martinon 等<sup>[1]</sup>首次提

出炎症小体 (又称炎性小体) 的概念, 其是由 NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis speck-like protein containing a caspase recruitment domain, ASC) 和 Caspase-1 前体 (precursor Caspase-1, pro-Caspase-1) 组成的多蛋白复合体。NLRP3 炎症小体是目前研究最为广泛和深入的炎症小体, 其被活化后促进机体合成炎症因子白介素-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) 和白介素-18

收稿日期: 2023-02-21; 修回日期: 2023-04-18

基金项目: 上海体育学院校级科研项目(2022XJ018)

通信作者: E-mail: zhangtan@sus.edu.cn

(interleukin-18, IL-18), 启动炎症反应。NLRP3 炎症小体异常活化会导致过度炎症反应, 进而促进痛风、骨关节炎、肿瘤、2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 和神经退行性疾病等的病理进程<sup>[2]</sup>。因此, 探究 NLRP3 炎症小体活化机制并以分子机制为基础开发靶向治疗药物是该领域的重要研究方向。

## 2 NLRP3炎症小体活化的调控机制

在生理状态下, 细胞内 NLRP3 及下游 IL-1 $\beta$  前体和 IL-18 前体处于极低水平以维持低度炎症状态。NLRP3 炎症小体活化一般包括“启动 (priming)”和“激活 (activation)”两个环节<sup>[3]</sup>。启动: 当 PAMPs 或 DAMPs 被相应 PRRs 识别后, 引发核因子  $\kappa$ B (nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 核转位, 进而启动 NLRP3、IL-1 $\beta$  和 IL-18 等基因的转录表达; 激活: 包括 NLRP3 炎症小体组装、Caspase-1 活化及 IL-1 $\beta$  前体和 IL-18 前体的剪切加工, 最终产生成熟形式的 IL-1 $\beta$  和 IL-18 并分泌至胞外而触发炎症反应。已知 NLRP3 炎症小体活化的第二环节“激活”由诸多结构和功能不同的内外源性激动剂所诱导, 包括微生

物成分如病原菌核酸、细菌成孔毒素和尼日利亚菌素 (Nigericin), 晶体和颗粒物如二氧化硅和  $\beta$ -淀粉样蛋白, 内源性信号如 ATP、线粒体活性氧 (mitochondrial oxygen species, mtROS) 和离子流动等。但这些激动剂结构各不相同, 且无证据表明 NLRP3 能够与这些激动剂直接结合, 因此推测这些结构迥异的激动剂可能通过一些共同信号途径激活 NLRP3 炎症小体。目前研究较多的 NLRP3 炎症小体激活途径主要有细胞内离子流动 (如 K<sup>+</sup> 外流、Cl<sup>-</sup> 外流、Ca<sup>2+</sup> 流动、Na<sup>+</sup> 内流)、线粒体损伤、高尔基体分解、溶酶体裂解和代谢调控等<sup>[3-4]</sup> (图 1)。

### 2.1 胞内离子流动

#### 2.1.1 K<sup>+</sup>外流

截至目前, 细胞内 K<sup>+</sup> 外流被普遍认为是绝大部分刺激物活化 NLRP3 炎症小体的共同信号途径<sup>[5]</sup>。诸多 NLRP3 激活剂, 如 Nigericin、ATP、颗粒分子和晶体物质等均能够引发 K<sup>+</sup> 从胞内流至胞外, 进而激活 NLRP3 炎症小体。而且, 在无上述一系列激动剂的情况下, 仅去除细胞培养基中 K<sup>+</sup> 就足以激活 NLRP3 炎症小体, 相比之下, 细胞培养基中高浓度的 K<sup>+</sup> 则抑制胞内 K<sup>+</sup> 外流, 进而抑

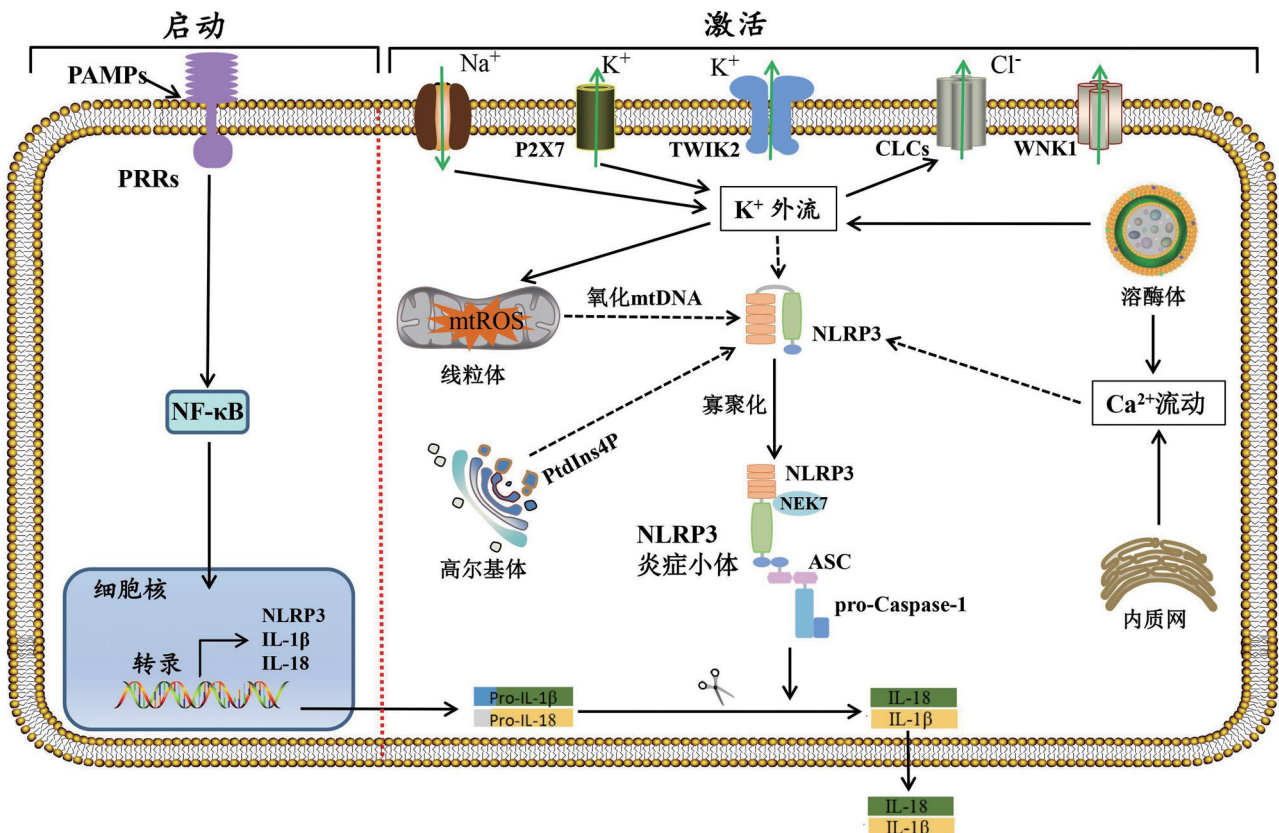


图1 NLRP3炎症小体活化的调控机制示意图

制 NLRP3 炎症小体活化<sup>[5]</sup>。进一步的机制研究表明, 细胞膜上的嘌呤能受体 (purinergic receptor) P2X7 与 K<sup>+</sup> 双孔洞通道 K 家族成员 6 (potassium two pore domain channel subfamily K member 6, K2P6/TWIK2) 共同负责调控胞内 K<sup>+</sup> 外流<sup>[6]</sup>。其中细菌毒素、Nigericin、短杆菌素和胞外 ATP 能够激活细胞膜上的 P2X7 受体, 形成孔洞结构或者改变细胞膜通透性, 使得 K<sup>+</sup> 发生外流, 从而活化 NLRP3 炎症小体<sup>[7]</sup>。此外, 2018 年, Di 等<sup>[8]</sup>首次证实, TWIK2 调控胞内 K<sup>+</sup> 外流, 敲除编码 TWIK2 蛋白的 *Kcnk6* 基因能够抑制 ATP 诱导的 NLRP3 炎症小体活化, 但对其他激活剂, 如 Nigericin 和咪喹莫特调控的 NLRP3 炎症小体活化无影响。同时, 在 ATP 诱导 NLRP3 炎症小体活化的过程中, P2X7 调控的 Ca<sup>2+</sup>、Na<sup>+</sup> 内流与 TWIK2 调控的 K<sup>+</sup> 外流协同合作从而活化 NLRP3 炎症小体<sup>[8]</sup>。

然而, 尽管目前绝大部分研究认为胞内 K<sup>+</sup> 外流对于 NLRP3 炎症小体活化必不可少, 但也有少数研究发现 NLRP3 炎症小体活化并不依赖于 K<sup>+</sup> 外流。一些小分子物质如咪喹莫特、CL097 以及肽聚糖诱导的 NLRP3 炎症小体活化取决于 mtROS 生成, 但与胞内 K<sup>+</sup> 外流和溶酶体裂解无关<sup>[9-10]</sup>。以上研究说明, K<sup>+</sup> 外流可能是 NLRP3 炎症小体活化过程中重要但非必需的一个条件。

### 2.1.2 Cl<sup>-</sup>外流

目前关于 Cl<sup>-</sup> 外流在 NLRP3 炎症小体活化中的作用仍有争议。在无 NLRP3 激活剂处理情况下, 去除细胞培养基中 Cl<sup>-</sup> 可引发 Cl<sup>-</sup> 外流进而激活 NLRP3 炎症小体, 而 Cl<sup>-</sup> 通道抑制剂和胞外高浓度 Cl<sup>-</sup> 则抑制 NLRP3 炎症小体活化<sup>[11-12]</sup>。进一步的机制研究表明, 细胞内 Cl<sup>-</sup> 通道蛋白 (chloride intracellular channel proteins, CLICs) 定位于细胞质基质内和细胞器上, mtROS 诱导 CLICs 移位至细胞膜并形成离子通道进而引发 Cl<sup>-</sup> 外流, 后者进一步诱导 NIMA 相关激酶 7 (NIMA-related kinase 7, NEK7)-NLRP3 互作并使得 ASC 寡聚化, 从而活化 NLRP3 炎症小体, 这一系列过程依赖于 mtROS, 说明 Cl<sup>-</sup> 外流位于 mtROS 信号的下游<sup>[11]</sup>。此外, 近期有其他研究发现 WNK 赖氨酸缺乏蛋白激酶 1 (WNK lysine deficient protein kinase 1, WNK1) 调控 Cl<sup>-</sup>/ 阳离子协同转运蛋白, 减少 Cl<sup>-</sup> 外流, 抑制 NLRP3 炎症小体活化, 但 Cl<sup>-</sup>/ 阳离子协同转运蛋白除调控 Cl<sup>-</sup> 外流, 也影响 K<sup>+</sup> 外流<sup>[13]</sup>, 提示单独 Cl<sup>-</sup> 外流并不足以激活 NLRP3 炎症小体。事实上, K<sup>+</sup> 外流和 Cl<sup>-</sup> 外流

在 NLRP3 炎症小体活化过程中各有分工, 其中 K<sup>+</sup> 外流的主要作用是诱导 NLRP3 寡聚化, 而 Cl<sup>-</sup> 外流则负责 ASC 寡聚化<sup>[14]</sup>。此外, Nigericin 激活 NLRP3 炎症小体时细胞内 Cl<sup>-</sup> 浓度并无显著变化<sup>[9]</sup>, 但其他研究则观察到 ATP 和 Nigericin 均能够引发细胞内 Cl<sup>-</sup> 外流, 推测这可能是由于 Cl<sup>-</sup> 浓度变化具有时相性, 而不同研究中检测离子浓度的时间点不一致<sup>[11]</sup>。

### 2.1.3 Ca<sup>2+</sup>流动

目前关于 Ca<sup>2+</sup> 流动在 NLRP3 炎症小体活化中的作用同样存在较大争议。已有研究表明, Nigericin、ATP 和尿酸盐结晶等诱导的 NLRP3 炎症小体激活不仅涉及 K<sup>+</sup> 外流, 同时还依赖于 Ca<sup>2+</sup> 流动<sup>[15]</sup>。内质网是细胞内 Ca<sup>2+</sup> 的储存库, Ca<sup>2+</sup> 通过膜通道肌醇 1,4,5-三磷酸受体 (inositol 1,4,5-triphosphate receptor, IP<sub>3</sub>R) 释放至细胞质进而激活 NLRP3 炎症小体<sup>[15]</sup>。同时, 内质网释放的过量 Ca<sup>2+</sup> 导致线粒体 Ca<sup>2+</sup> 过载, 进而引发线粒体损伤, 也会激活 NLRP3 炎症小体<sup>[16]</sup>。此外, K<sup>+</sup> 外流可引发 Ca<sup>2+</sup> 通道开放进而诱导内质网内 Ca<sup>2+</sup> 释放<sup>[16-17]</sup>。然而, 有研究表明 Ca<sup>2+</sup> 流动是 NLRP3 和 Caspase-1 的下游而非上游事件<sup>[18]</sup>, 提示 Ca<sup>2+</sup> 流动对于 NLRP3 炎症小体活化可能是非必需的。其次, Ca<sup>2+</sup> 螯合剂 BAPTA 能够抑制 NLRP3 炎症小体活化但并不依赖于其螯合作用<sup>[18]</sup>。此外, Ca<sup>2+</sup> 稳态抑制剂 2APB 同样能够抑制 NLRP3 炎症小体的活化, 但与 Ca<sup>2+</sup> 失衡无关<sup>[19]</sup>。

### 2.1.4 Na<sup>+</sup>内流

Na<sup>+</sup> 内流是参与 NLRP3 炎症小体活化的另一离子信号途径。研究表明, 降低胞外 Na<sup>+</sup> 浓度可抑制 Nigericin、短杆菌肽和无 K<sup>+</sup> 培养基诱导的 NLRP3 炎症小体活化, 但 Na<sup>+</sup> 离子载体莫能菌素引发的 Na<sup>+</sup> 内流并不能激活 NLRP3 炎症小体, 说明单独 Na<sup>+</sup> 内流并不足以激活 NLRP3 炎症小体<sup>[5]</sup>, 这可能是因为 Na<sup>+</sup> 内流和胞内 K<sup>+</sup> 外流需要协同作用才能激活 NLRP3 炎症小体, 且 Na<sup>+</sup> 内流活化 NLRP3 炎症小体依赖于 K<sup>+</sup> 外流。因此, Na<sup>+</sup> 内流可能通过引发胞内 K<sup>+</sup> 外流, 进而间接活化 NLRP3 炎症小体。

## 2.2 细胞器改变

目前研究表明, 线粒体、高尔基体、溶酶体裂解及内质网等细胞器的改变可通过直接或间接的方式激活 NLRP3 炎症小体。例如, 当线粒体损伤时, mtROS 产生增加并进一步氧化线粒体基因 (mitochondrial DNA, mtDNA), 后者释放至细胞质并与 NLRP3 结合使其活化。除此之外, NLRP3 炎症小体激活剂诱导高尔基体解体, 随后 NLRP3 被

募集到解体后的高尔基体上,进而激活 NLRP3 炎症小体。同样,溶酶体裂解可能会引发离子流动,进而激活 NLRP3 炎症小体。此外,内质网通过影响内质网应激、胆固醇稳态和 NLRP3 定位调控 NLRP3 炎症小体活性。

### 2.2.1 线粒体损伤

目前,绝大部分研究认为线粒体参与调控 NLRP3 炎症小体活化<sup>[20]</sup>。细胞凋亡、自噬活性降低及 NLRP3 炎症小体激活剂等应激可引发线粒体损伤,使得 mtROS 生成增加,后者进一步氧化 mtDNA,随后氧化 mtDNA 释放至细胞质并与 NLRP3 炎症小体结合从而使其活化。

#### 2.2.1.1 mtDNA

线粒体是真核生物细胞质中广泛分布的具有双层膜结构的细胞器。与其他细胞器不同,线粒体具有独立的遗传体系,即 mtDNA。每个线粒体内含有多份 mtDNA,其位于线粒体基质内。mtDNA 被诸多蛋白质包裹,其中线粒体转录因子 A (mitochondrial transcription factor A, Tfam) 不仅是包裹 mtDNA 的重要蛋白,而且参与调控 mtDNA 的转录与复制。

近年来研究表明,除作为遗传物质外,mtDNA 还是一种重要的细胞内 DAMPs。2011 年, Nakahira 等<sup>[21]</sup>首次发现敲除细胞自噬相关基因阻碍机体对损伤线粒体的清除,进而导致损伤线粒体堆积并释放 mtDNA 至细胞质内,从而激活 NLRP3 炎症小体,且 mtDNA 释放依赖于 NLRP3 和 mtROS 产生。进一步研究表明, NLRP3 炎症小体激动剂 ATP 可引发线粒体损伤,导致 mtROS 生成增加并氧化 mtDNA,进而释放氧化 mtDNA 至细胞质内,随后氧化 mtDNA 结合并激活 NLRP3 炎症小体<sup>[22]</sup>。与以上结果类似, Zhong 等<sup>[23]</sup>进一步发现, LPS 诱导 mtDNA 复制增加,线粒体内氧化 mtDNA 也随之增加,后者进一步释放至细胞质内并激活 NLRP3 炎症小体。推测可能是由于新合成的 mtDNA 还未被 Tfam 包裹,因而较易被氧化和识别。该研究还发现,特异性敲除小鼠骨髓细胞 Tfam 基因可导致骨髓源性巨噬细胞内总 mtDNA 拷贝数量显著减少, NLRP3 炎症小体激动剂诱导的 mtROS 生成和氧化 mtDNA 含量也明显降低,从而抑制 NLRP3 炎症小体活化。值得注意的是,本课题组前期研究发现,巨噬细胞内 K<sup>+</sup> 外流诱导氧化 mtDNA 释放至细胞质进而激活 NLRP3 炎症小体<sup>[24]</sup>。然而,长期以来对于释放至胞质内的 mtDNA 如何活化 NLRP3 炎症小体并不清楚。最新研究发现,线粒体电子传递链

(electron transport chain, ETC) 通过影响磷酸肌酸 (phosphocreatine, PCr) 依赖的 ATP 生成调控 NLRP3 炎症小体活性,因此推测 mtDNA 可能通过调控 ETC 活性进而间接抑制 NLRP3 炎症小体活化<sup>[25]</sup>。

如上所述,正常情况下, mtDNA 分布于线粒体基质内。当细胞凋亡发生时, mtDNA 由线粒体逃逸至细胞质。那么 mtDNA 如何被释放至细胞质内? BAX (Bcl-2-associated X protein) 和 BAK (Bcl-2 homologous antagonist/killer) 是诱导细胞凋亡的促凋亡因子。生理状态下, BAK 位于线粒体外膜, BAX 位于细胞质。在促凋亡因子作用下, BAX 迁移至线粒体外膜并与 BAK 结合形成复合物孔洞,从而改变线粒体外膜通透性,诱导细胞色素 C 从此通道释放引发细胞凋亡。近年研究表明, mtDNA 也能够通过 BAK/BAX 孔洞逃逸至细胞质<sup>[26-27]</sup>,而且随着细胞凋亡的进行, BAK/BAX 孔洞逐渐扩大,更有利于 mtDNA 从线粒体释放至细胞质<sup>[28-29]</sup>。此外, Kim 等<sup>[30]</sup>发现,不同应激状态下介导 mtDNA 释放至细胞质的机制也不相同,其中细胞凋亡发生时 mtDNA 通过 BAK/BAX 向细胞质释放,而氧化应激状态时 mtDNA 与线粒体外膜上的电压依赖性阴离子通道蛋白 (voltage-dependent anion selective channel, VDAC) 结合并诱导其寡聚化,从而形成孔洞并释放 mtDNA 至细胞质。2022 年, Xian 等<sup>[31]</sup>进一步发现, NLRP3 炎症小体激活剂引发巨噬细胞线粒体通透性转换孔洞 (mitochondrial permeability transition pores, mPTP) 打开和 VDAC 寡聚化,导致氧化 mtDNA 产生增加,氧化 mtDNA 进而被核酸内切酶 FEN1 剪切成 500~650 bp 的片段,后者进而通过 mPTP 孔洞和 VDAC 孔洞释放至细胞质,激活 NLRP3 炎症小体。

#### 2.2.1.2 mtROS

在生理条件下,体内有低水平 mtROS 产生,其参与细胞增殖和细胞凋亡等过程;而在病理条件下,线粒体发生损伤, mtROS 产生增加,从而激活 NLRP3 炎症小体。2011 年, Zhou 等<sup>[20]</sup>首次发现抑制机体对损伤线粒体的清除可导致损伤线粒体积累及 mtROS 大量生成,进而激活 NLRP3 炎症小体。随后大量研究证实,多种因素引发的 mtROS 产生增加均可导致 NLRP3 炎症小体活化<sup>[32]</sup>。然而,小分子 Imiquimod 与 CL097 所诱导的 NLRP3 炎症小体活化依赖于 mtROS 生成但与 K<sup>+</sup> 外流和溶酶体裂解无关<sup>[9]</sup>,提示在 mtROS 存在的前提下, K<sup>+</sup> 外流对于 NLRP3 炎症小体活化是非必需的,这一推测随后被其他研究证实,即细胞内 K<sup>+</sup> 外流通过诱导

mtROS 生成进而活化 NLRP3 炎症小体<sup>[11]</sup>。然而,也有一些研究发现 NLRP3 炎症小体活化并不依赖于 mtROS,其中血清中的 $\beta$ -淀粉样蛋白和病毒,如流感病毒和脑心肌炎病毒,可不依赖 mtROS 而激活 NLRP3 炎症小体<sup>[32]</sup>。2022 年,有研究发现,ETC 通过影响磷酸肌酸依赖的 ATP 生成途径而非 ROS 途径调控 NLRP3 炎症小体活性<sup>[25]</sup>。因此,目前关于 mtROS 在 NLRP3 炎症小体活化过程中的作用仍存在争议。

此外,大量研究观察到内外源性应激因素可诱导 NLRP3 向线粒体转移,进而促进 NLRP3 炎症小体活化<sup>[20,33]</sup>。然而,值得注意的是,近期也有其他研究发现线粒体对于 NLRP3 炎症小体活化是非必需的<sup>[34]</sup>。

### 2.2.2 高尔基体解体

高尔基体负责加工内质网合成的蛋白质并将其运输至细胞特定部位或者分泌到细胞外,其由三部分组成,即顺面膜囊(*cis*-Golgi)、中间膜囊(*medial*-Golgi)和反面膜囊(*trans*-Golgi)。高尔基体是近年来 NLRP3 炎症小体活化机制研究的焦点。2018 年,Chen 等<sup>[34]</sup>首次证实,NLRP3 炎症小体激活剂引发高尔基体反面网状结构(*trans*-Golgi network, TGN)解体形成分散结构(*dispered* TGN, dTGN),随后 NLRP3 通过其保守的碱性氨基酸富集区与 dTGN 上带负电荷的磷脂酰肌醇-4-磷酸(*phosphatid*-*yl*inositol-4-phosphate, PtdIns4P)结合从而被募集到 dTGN 上并形成斑点结构,进而诱导 ASC 寡聚化和 NLRP3 炎症小体活化。此外,该研究还发现,细胞内  $K^+$  外流通过促进 NLRP3 与 PtdIns4P 结合发挥作用。虽然 Imiquimod 和 CL097 可不依赖于  $K^+$  外流而激活 NLRP3 炎症小体,但其同样能够诱导 TGN 解体及 NLRP3 向 dTGN 移位,且该途径引发的 TGN 解体现象更加明显,进而促进 NLRP3 被 PtdIns4P 募集至 dTGN。相比之下,NLRP3 炎症小体激活剂处理后高尔基体的另外两部分结构仍保持完整并无解体,这说明只有 TGN 结构参与调控 NLRP3 炎症小体活化。虽然以往大量研究均证实 NLRP3 炎症小体激活剂能够诱导 NLRP3 向线粒体移位<sup>[20,33]</sup>,但 Chen 等<sup>[34]</sup>并未检测到 NLRP3 在线粒体定位,相反,高尔基体被发现是唯一与 NLRP3 共定位的细胞器,说明高尔基体是调控 NLRP3 炎症小体活化的关键细胞器,而线粒体对于 NLRP3 炎症小体活化是非必需的。此外,进一步使用不同 TGN 标记物标记高尔基体发现,NLRP3 被活化时 TGN 基本保持完

整,而 TGN38 位于类似“dTGN”的核内体中。核内体向 TGN 的逆转运被 NLRP3 激活剂破坏,导致 TGN38 和 PtdIns4P 在核内体中积累,缺失核内体-TGN 逆转运体时仅 LPS 单独处理就足以激活 NLRP3<sup>[35-36]</sup>。研究表明,I $\kappa$ B 激酶 $\beta$ (I $\kappa$ B kinase $\beta$ , IKK $\beta$ )通过促进 NLRP3 向 TGN 转移进而启动 NLRP3 炎症小体<sup>[37]</sup>。

进一步研究发现,在 NLRP3 炎症小体活化过程中,NLRP3 首先在线粒体上短暂定位,随后被募集到 TGN 上,进而活化 NLRP3 炎症小体<sup>[38]</sup>。此外,研究发现 NLRP3 还可被募集至内质网<sup>[39]</sup>、核内体<sup>[40]</sup>等细胞器上。

### 2.2.3 溶酶体裂解

2008 年首次研究发现 $\beta$ -淀粉样蛋白诱导溶酶体裂解进而激活 NLRP3 炎症小体,而且亲溶酶体剂通过破坏溶酶体进而激活 NLRP3 炎症小体。组织蛋白酶抑制剂也能够抑制微粒诱导的 NLRP3 炎症小体活化<sup>[41-42]</sup>。然而,也有研究发现抑制组织蛋白酶 B、X、L 或 S 基因表达对于 NLRP3 炎症小体活化并无影响,但外源性微粒激活 NLRP3 炎症小体的同时伴随有  $K^+$  外流和  $Ca^{2+}$  内流<sup>[43]</sup>。这说明在 NLRP3 炎症小体活化过程中,溶酶体裂解可能会引发离子流动,进而激活 NLRP3 炎症小体,因此  $K^+$ 、 $Ca^{2+}$  等离子流动信号是溶酶体破裂的下游事件。

### 2.2.4 内质网应激

内质网是调节胆固醇稳态的主要细胞器。近年来发现内质网通过影响内质网应激、胆固醇稳态和 NLRP3 定位调控 NLRP3 炎症小体活性<sup>[44]</sup>。化合物诱导的内质网应激引发  $K^+$  外流和 ROS 生成增加,从而激活 NLRP3 炎症小体。同时,内质网应激引发线粒体损伤,进一步促进 NLRP3 炎症小体活化<sup>[45]</sup>。此外,早期研究发现,NLRP3 部分定位于内质网,NLRP3 炎症小体激动剂可诱导 NLRP3 从内质网迁移至核周间隙和线粒体<sup>[20]</sup>。除此之外,胆固醇稳态变化与炎症反应失调有关,内质网胆固醇积累会激活 NLRP3 炎症小体,而胆固醇合成抑制则降低 NLRP3 炎症小体活性<sup>[46]</sup>。

## 2.3 代谢调控

除以上途径外,近年来越来越多的研究观察到了糖脂代谢与 NLRP3 炎症小体活化存在着一定关联。本课题组前期综述了糖脂代谢改变对 NLRP3 炎症小体活性的影响<sup>[47]</sup>,其中参与葡萄糖有氧氧化过程的诸多酶均影响 NLRP3 炎症小体活性,且不同酶的效应不同,而葡萄糖无氧氧化能力增强一般

促进 NLRP3 炎症小体活化, 产生一系列促炎反应。此外, 减少脂肪酸合成和氧化均抑制 NLRP3 炎症小体活化, 同时许多脂类合成产物和代谢物及其衍生物以及类脂也参与调控 NLRP3 炎症小体活化。与糖脂代谢紊乱相比, 禁食与热量限制抑制 NLRP3 炎症小体活化, 这是因为在低血糖状态下, 机体能量供应方式转变为以脂肪酸氧化为主, 导致酮体生成增加, 其中酮体  $\beta$ -羟丁酸 ( $\beta$ -hydroxybutyrate, BHB) 可抑制细胞内  $K^+$  外流, 进而抑制多种因素如哺乳动物隐索蛋白相关的周期性综合征 (cyropyrimin-associated periodic syndrome, CAPS) 及尿酸盐结晶所引发的 NLRP3 炎症小体活化<sup>[48]</sup>。此外, 肠道微生物群代谢产物短链脂肪酸 (short-chain fatty acids, SCFAs) 也被发现具有抗炎作用, 丁酸盐是与 BHB 结构类似的 SCFAs 成员, 一直以来被认为对于 ATP 及微粒所介导的 NLRP3 炎症小体活化无影响, 但近年一项研究发现其参与棕榈酸介导的 NLRP3 炎症小体活化, 并且主要是通过抑制 IL-1 $\beta$  前体生成发挥作用<sup>[49]</sup>。

### 3 小结与展望

鉴于 NLRP3 炎症小体异常活化是多种炎症性疾病的诱发因素之一, 过去 20 年内研究人员对 NLRP3 炎症小体进行了大量深入研究。目前研究认为胞内离子流动、细胞器改变和代谢调控是活化 NLRP3 炎症小体最重要的信号途径。但不可否认的是, 仍有一些关键问题尚待明确。(1) 当前关于线粒体在 NLRP3 炎症小体活化过程中的作用仍存在较大争议, 虽然大部分研究认为线粒体损伤后生成大量 mtROS 以及诱导氧化 mtDNA 释放至细胞质, 进而激活 NLRP3 炎症小体, 但不可忽视的是, 也有研究表明线粒体并不参与调控 NLRP3 炎症小体的活化。此外, mtDNA 释放至细胞质后如何活化 NLRP3 炎症小体尚未阐明。(2) 毋庸置疑的是, Chen 等<sup>[34]</sup> 的研究极大地拓展了研究人员对 NLRP3 炎症小体活化机制的理解, 对未来研究具有重要启发意义, 同时仍有以下问题亟待解决。首先, 诸多结构不同的 NLRP3 炎症小体激活剂如何诱导 TGN 解体尚不清楚; 此外, NLRP3 受翻译后修饰的精细调控, 那么这些修饰是否能够通过改变 NLRP3 净电荷进而影响其与 PtdIns4P 结合尚不明确。

### [参 考 文 献]

- [1] Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL- $\beta$ . *Mol Cell*, 2002, 10: 417-26
- [2] Wang L, Hauenstein AV. The NLRP3 inflammasome: mechanism of action, role in disease and therapies. *Mol Aspects Med*, 2020, 76: 100889
- [3] Xu J, Nunez G. The NLRP3 inflammasome: activation and regulation. *Trends Biochem Sci*, 2023, 48: 331-44
- [4] Paik S, Kim JK, Silwal P, et al. An update on the regulatory mechanisms of NLRP3 inflammasome activation. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18: 1141-60
- [5] Munoz-Planillo R, Kuffa P, Martinez-Colon G, et al.  $K^+$  efflux is the common trigger of NLRP3 inflammasome activation by bacterial toxins and particulate matter. *Immunity*, 2013, 38: 1142-53
- [6] Xu Z, Chen ZM, Wu X, et al. Distinct molecular mechanisms underlying potassium efflux for NLRP3 inflammasome activation. *Front Immunol*, 2020, 11: 609441
- [7] Pelegrin P. P2X7 receptor and the NLRP3 inflammasome: partners in crime. *Biochem Pharmacol*, 2021, 187: 114385
- [8] Di A, Xiong S, Ye Z, et al. The TWIK2 potassium efflux channel in macrophages mediates NLRP3 inflammasome-induced inflammation. *Immunity*, 2018, 49: 56-65
- [9] Gross CJ, Mishra R, Schneider KS, et al.  $K^+$  efflux-independent NLRP3 inflammasome activation by small molecules targeting mitochondria. *Immunity*, 2016, 45: 761-73
- [10] Wolf AJ, Reyes CN, Liang W, et al. Hexokinase is an innate immune receptor for the detection of bacterial peptidoglycan. *Cell*, 2016, 166: 624-36
- [11] Tang T, Lang X, Xu C, et al. CLICs-dependent chloride efflux is an essential and proximal upstream event for NLRP3 inflammasome activation. *Nat Commun*, 2017, 8: 202
- [12] Domingo-Fernandez R, Coll RC, Kearney J, et al. The intracellular chloride channel proteins CLIC1 and CLIC4 induce IL-1 $\beta$  transcription and activate the NLRP3 inflammasome. *J Biol Chem*, 2017, 292: 12077-87
- [13] Mayes-Hopfinger L, Enache A, Xie J, et al. Chloride sensing by WNK1 regulates NLRP3 inflammasome activation and pyroptosis. *Nat Commun*, 2021, 12: 4546
- [14] Green JP, Yu S, Martin-Sanchez F, et al. Chloride regulates dynamic NLRP3-dependent ASC oligomerization and inflammasome priming. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115: E9371-80
- [15] Lee GS, Subramanian N, Kim AI, et al. The calcium-sensing receptor regulates the NLRP3 inflammasome through  $Ca^{2+}$  and cAMP. *Nature*, 2012, 492: 123-7
- [16] Murakami T, Ockinger J, Yu J, et al. Critical role for calcium mobilization in activation of the NLRP3 inflammasome. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109: 11282-7
- [17] Yaron JR, Gangaraju S, Rao MY, et al.  $K^+$  regulates  $Ca^{2+}$  to drive inflammasome signaling: dynamic visualization of ion flux in live cells. *Cell Death Dis*, 2015, 6: e1954
- [18] Katsnelson MA, Rucker LG, Russo HM, et al.  $K^+$  efflux agonists induce NLRP3 inflammasome activation

- independently of  $\text{Ca}^{2+}$  signaling. *J Immunol*, 2015, 194: 3937-52
- [19] Baldwin AG, Rivers-Auty J, Daniels M, et al. Boron-based inhibitors of the NLRP3 inflammasome. *Cell Chem Biol*, 2017, 24: 1321-35
- [20] Zhou R, Yazdi AS, Menu P, et al. A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Nature*, 2011, 469: 221-5
- [21] Nakahira K, Haspel JA, Rathinam VA, et al. Autophagy proteins regulate innate immune responses by inhibiting the release of mitochondrial DNA mediated by the NALP3 inflammasome. *Nat Immunol*, 2011, 12: 222-30
- [22] Shimada K, Crother TR, Karlin J, et al. Oxidized mitochondrial DNA activates the NLRP3 inflammasome during apoptosis. *Immunity*, 2012, 36: 401-14
- [23] Zhong Z, Liang S, Sanchez-Lopez E, et al. New mitochondrial DNA synthesis enables NLRP3 inflammasome activation. *Nature*, 2018, 560: 198-203
- [24] Zhang T, Zhao J, Liu T, et al. A novel mechanism for NLRP3 inflammasome activation. *Metabol Open*, 2022, 13: 100166
- [25] Billingham LK, Stoolman JS, Vasan K, et al. Mitochondrial electron transport chain is necessary for NLRP3 inflammasome activation. *Nat Immunol*, 2022, 23: 692-704
- [26] McArthur K, Whitehead LW, Heddleston JM, et al. BAK/BAX macropores facilitate mitochondrial herniation and mtDNA efflux during apoptosis. *Science*, 2018, 359: eaao6047
- [27] Li S, Li H, Zhang YL, et al. SFTSV infection induces BAK/BAX-dependent mitochondrial DNA release to trigger NLRP3 inflammasome activation. *Cell Rep*, 2020, 30: 4370-85
- [28] Riley JS, Quarato G, Cloix C, et al. Mitochondrial inner membrane permeabilisation enables mtDNA release during apoptosis. *EMBO J*, 2018, 37: e99238
- [29] Cosentino K, Hertlein V, Jenner A, et al. The interplay between BAX and BAK tunes apoptotic pore growth to control mitochondrial-DNA-mediated inflammation. *Mol Cell*, 2022, 82: 933-49
- [30] Kim J, Gupta R, Blanco LP, et al. VDAC oligomers form mitochondrial pores to release mtDNA fragments and promote lupus-like disease. *Science*, 2019, 366: 1531-6
- [31] Xian H, Watari K, Sanchez-Lopez E, et al. Oxidized DNA fragments exit mitochondria via mPTP- and VDAC-dependent channels to activate NLRP3 inflammasome and interferon signaling. *Immunity*, 2022, 55: 1370-85
- [32] Dominic A, Le NT, Takahashi M. Loop between NLRP3 inflammasome and reactive oxygen species. *Antioxid Redox Signal*, 2022, 36: 784-96
- [33] Subramanian N, Natarajan K, Clatworthy MR, et al. The adaptor MAVS promotes NLRP3 mitochondrial localization and inflammasome activation. *Cell*, 2013, 153: 348-61
- [34] Chen J, Chen ZJ. PtdIns4P on dispersed trans-Golgi network mediates NLRP3 inflammasome activation. *Nature*, 2018, 564: 71-6
- [35] Lee B, Hoyle C, Green JP, et al. NLRP3 activation in response to disrupted endocytic traffic. *bioRxiv*, 2021, doi: 10.1101/2021.09.15.460426
- [36] Zhang Z, Ran L, Venditti R, et al. Defective endosome-TGN retrograde transport promotes NLRP3 inflammasome activation. *bioRxiv*, 2021, doi:10.1101/2021.09.14.460331
- [37] Schmacke NA, O'Duill F, Gaidt MM, et al. IKK $\beta$  primes inflammasome formation by recruiting NLRP3 to the trans-Golgi network. *Immunity*, 2022, 55: 2271-84
- [38] Arumugam S, Qin Y, Liang Z, et al. GSK3 $\beta$  mediates the spatiotemporal dynamics of NLRP3 inflammasome activation. *Cell Death Differ*, 2022, 29: 2060-9
- [39] Misawa T, Takahama M, Kozaki T, et al. Microtubule-driven spatial arrangement of mitochondria promotes activation of the NLRP3 inflammasome. *Nat Immunol*, 2013, 14: 454-60
- [40] Zhang Z, Venditti R, Ran L, et al. Distinct changes in endosomal composition promote NLRP3 inflammasome activation. *Nat Immunol*, 2023, 24: 30-41
- [41] Halle A, Hornung V, Petzold GC, et al. The NALP3 inflammasome is involved in the innate immune response to amyloid- $\beta$ . *Nat Immunol*, 2008, 9: 857-65
- [42] Orłowski GM, Colbert JD, Sharma S, et al. Multiple cathepsins promote pro-IL-1 $\beta$  synthesis and NLRP3-mediated IL-1 $\beta$  activation. *J Immunol*, 2015, 195: 1685-97
- [43] Katsnelson MA, Lozada-Soto KM, Russo HM, et al. NLRP3 inflammasome signaling is activated by low-level lysosome disruption but inhibited by extensive lysosome disruption: roles for  $\text{K}^+$  efflux and  $\text{Ca}^{2+}$  influx. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2016, 311: C83-100
- [44] Akbal A, Dernst A, Lovotti M, et al. How location and cellular signaling combine to activate the NLRP3 inflammasome. *Cell Mol Immunol*, 2022, 19: 1201-14
- [45] Bronner DN, Abuaita BH, Chen X, et al. Endoplasmic reticulum stress activates the inflammasome via NLRP3- and caspase-2-driven mitochondrial damage. *Immunity*, 2015, 43: 451-62
- [46] de la Roche M, Hamilton C, Mortensen R, et al. Trafficking of cholesterol to the ER is required for NLRP3 inflammasome activation. *J Cell Biol*, 2018, 217: 3560-76
- [47] 张坦, 王茹, 丁树哲. 糖脂代谢参与NLRP3炎症小体活化的研究进展. *生命科学*, 2022, 34: 385-91
- [48] Youm YH, Nguyen KY, Grant RW, et al. The ketone metabolite  $\beta$ -hydroxybutyrate blocks NLRP3 inflammasome-mediated inflammatory disease. *Nat Med*, 2015, 21: 263-9
- [49] Truax AD, Chen L, Tam JW, et al. The inhibitory innate immune sensor NLRP12 maintains a threshold against obesity by regulating gut microbiota homeostasis. *Cell Host Microbe*, 2018, 24: 364-78