

DOI: 10.13376/j.cblls/2025030

文章编号: 1004-0374(2025)03-0296-08

细胞焦亡在脑缺血再灌注损伤中作用机制的研究进展

宋行行¹, 刘鑫源², 李虹霖^{1,3}, 黄丽娜¹, 蒋希成^{1*}

(1 黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040; 2 青岛大学, 青岛 266071; 3 黑龙江中医药大学附属第二医院, 哈尔滨 150001)

摘要: 脑缺血再灌注损伤是导致缺血性脑卒中等疾病的主要 - 原因之一, 再灌注过程中引发的氧化应激、炎症反应和细胞焦亡显著加剧了脑损伤。细胞焦亡由 NLRP3 炎症小体激活, 通过 Caspase-1 介导裂解 GSDMD 形成细胞膜孔道, 释放 IL-1 β 和 IL-18 等炎症因子, 加重炎症反应和神经元死亡。本文综述了细胞焦亡在脑缺血再灌注损伤中的作用机制, 讨论了通过抑制 NLRP3、Caspase-1 和 GSDMD 的活性来调控细胞焦亡的潜在治疗方法, 包括小分子抑制剂和天然产物。此外, 多靶点联合治疗, 如抗炎和抗氧化剂的联合疗法也展现出显著的潜力。进一步优化这些抑制剂的特异性和功能, 并探索多功能纳米载体和基因编辑技术, 以实现多重病理机制的干预, 提高治疗效果。

关键词: 细胞焦亡; 脑缺血再灌注损伤; 生物学功能

中图分类号: R743 **文献标志码:** A

Research progress on the mechanisms of pyroptosis in cerebral ischemia-reperfusion injury

SONG Hang-Hang¹, LIU Xin-Yuan², LI Hong-Lin^{1,3}, HUANG Li-Na¹, JIANG Xi-Cheng^{1*}

(1 Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China; 2 Qingdao University, Qingdao 266071, China; 3 The Second Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150001, China)

Abstract: Cerebral ischemia-reperfusion injury is one of the main causes of ischemic stroke and other diseases. Oxidative stress, inflammation and cell pyroptosis caused by reperfusion significantly aggravate brain injury. Pyroptosis, mediated by the activation of the NLRP3 inflammasome, involves Caspase-1-mediated cleavage of GSDMD to form cell membrane pores, resulting in the release of inflammatory cytokines such as IL-1 β and IL-18, which further intensify inflammation and neuronal death. This review summarizes the mechanisms of pyroptosis in cerebral ischemia-reperfusion injury and discusses potential therapeutic strategies to regulate pyroptosis by inhibiting the activity of NLRP3, Caspase-1, and GSDMD, including the use of small molecule inhibitors and natural products. Additionally, multi-target combination therapies, such as the combined use of anti-inflammatory and antioxidant agents, have shown significant therapeutic potential. Future research should focus on optimizing the specificity and functionality of these inhibitors and exploring the development of multifunctional nanocarriers and gene-editing technologies to achieve intervention in multiple pathological mechanisms, thereby enhancing therapeutic efficacy.

Key words: pyroptosis; cerebral ischemia-reperfusion injury; biological function

脑缺血再灌注损伤是指大脑血流中断后恢复供血引发的复杂病理过程。这种损伤在缺血性脑卒中、

心脏骤停等缺血性疾病中极为常见, 导致高发病率和致残率, 是急性缺血性脑卒中患者死亡和残疾

收稿日期: 2024-07-19; 修回日期: 2024-08-18

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82174261); 黑龙江省自然科学基金面上项目(LH2021H084)

*通信作者: E-mail: jiangxicheng5303@163.com

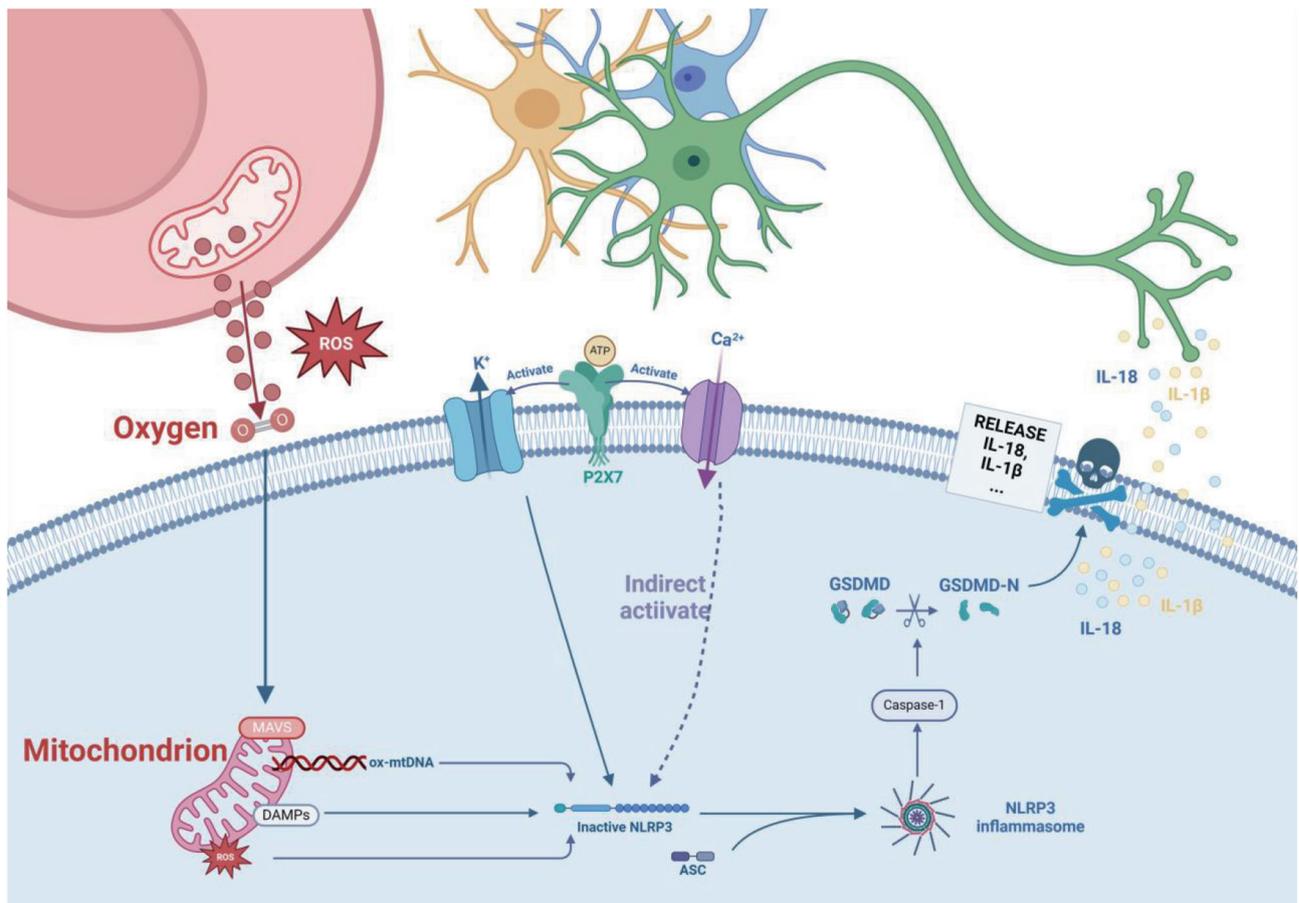
的重要原因之一。现有治疗方法虽然能部分恢复血流, 但再灌注引发的氧化应激、炎症反应和细胞死亡显著限制了其疗效, 亟需开发新型治疗方案^[1]。细胞焦亡 (pyroptosis) 是一种程序性细胞死亡方式, 具有强烈的炎症反应特性, 这与细胞凋亡和坏死不同。焦亡由炎症小体激活, 经半胱氨酸蛋白酶-1 (cysteine proteinase-1, Caspase-1) 介导, 并通过气凝胶蛋白 D (Gasdermin D, GSDMD) 在细胞膜上形成孔道, 导致细胞膜破裂和炎症介质释放。近年来的研究表明, 细胞焦亡在脑缺血再灌注损伤中起重要作用, 不仅加剧炎症反应, 还导致神经细胞死亡, 进一步恶化脑损伤^[2-3]。具体机制包括在缺血再灌注过程中, 活性氧 (reactive oxygen species, ROS)、腺苷三磷酸 (adenosine triphosphate, ATP) 和钙离子浓度变化等信号激活 NLRP3 炎症小体, 随后 Caspase-1 裂解 GSDMD。释放的 GSDMD-N 片段在细胞膜上

形成孔道, 引发细胞膜破裂和炎症因子释放^[4-6]。这些过程导致血脑屏障通透性增加, 使更多炎症细胞和有害物质进入脑组织, 加剧脑损伤。因此, 调控焦亡过程的关键分子成为潜在的治疗策略, 包括抑制 NLRP3 (NOD-like receptor family pyrin domain containing 3) 炎症小体激活、Caspase-1 活性和 GSDMD 表达。本文就细胞焦亡在脑缺血再灌注损伤中的作用机制进行全面综述 (图 1)。

1 细胞焦亡

1.1 定义和特点

细胞焦亡是一种程序性细胞死亡方式, 具有不同于细胞凋亡和坏死的独特机制。焦亡由炎症小体激活, 通过 Caspase-1、Caspase-4、Caspase-5 和 Caspase-11 等蛋白酶介导^[7]。其主要过程包括 Caspase-1 裂解 GSDMD, 释放的 GSDMD-N 片段在细胞膜上形成



诱导细胞焦亡的机制涉及多个关键的信号和分子事件。ROS、细胞外液中的ATP、钙内流和DAMPs的释放共同作用, 激活NLRP3炎症小体, 募集ASC蛋白, 进而激活Caspase-1。Caspase-1裂解GSDMD, 释放GSDMD-N片段, 并在细胞膜上形成孔, 导致细胞膜破裂, 细胞焦亡。同时大量IL-1 β 、IL-18等炎症介质被释放, 进一步加重局部炎症反应。DAMPs: 损伤相关分子模式; ASC: 含有CARD的凋亡相关斑点样蛋白; GSDMD: 气凝胶蛋白D; NLRP3: Nod样受体家族pyrin结构域

图1 细胞焦亡在脑缺血再灌注损伤中的作用机制

孔道, 导致细胞膜破裂, 细胞内容物外泄, 引发强烈的炎症反应。焦亡的显著特点是快速性和强烈的炎症反应, 这与细胞凋亡的无炎性和细胞坏死的非程序性形成鲜明对比^[8]。细胞凋亡是由 Caspase-3 和 Caspase-7 介导的, 无炎性特征, 细胞内容物被膜包裹形成凋亡小体, 由邻近细胞或巨噬细胞清除。而细胞坏死则是细胞受到剧烈外界损伤或内部失调引起的非程序性死亡, 细胞膜破裂, 细胞内容物释放, 导致炎症反应。相比之下, 细胞焦亡的炎症反应主要由 IL-1 β 和 IL-18 等促炎性细胞因子的释放引起, 这些因子通过 GSDMD 孔道释放到细胞外, 激活邻近胶质细胞和免疫细胞, 进一步放大炎症反应^[9]。此外, 细胞焦亡的快速性使其能够迅速响应病原体感染或其他危险信号, 通过释放细胞内容物和损伤相关分子模式 (damage associated molecular patterns, DAMPs), 引发强烈的免疫反应^[10]。这种机制在病原体防御中起重要作用, 脑缺血再灌注损伤中过度的焦亡反应会导致严重的组织损伤和功能丧失。总之, 细胞焦亡作为一种独特的细胞死亡方式, 具有快速性、炎症性和程序性的特点, 与细胞凋亡和坏死有着明显区别, 其在病理和生理过程中均具有重要意义。

1.2 关键分子

细胞焦亡是一种由炎症小体、Caspase-1、Caspase-4、Caspase-5、Caspase-11 和 GSDMD 等关键分子介导的程序性细胞死亡方式。炎症小体是一种多蛋白复合物, 能够感知细胞内的危险信号并启动焦亡。NLRP3 是研究最为广泛的炎症小体之一, 它能够被多种危险信号激活, 如 ATP、钙离子内流、氧化应激和病原体成分等^[11]。激活后的 NLRP3 炎症小体通过 PYD 结构域 (pyrin domain) 招募 Asc 型氨基酸转运蛋白 (ASC 蛋白), 形成大分子复合物, 并进一步激活 Caspase-1。Caspase-1 是焦亡过程中最关键的蛋白酶, 它能够裂解并激活 GSDMD, 同时也促使 IL-1 β 和 IL-18 等促炎性细胞因子成熟并释放^[12]。GSDMD 是焦亡的执行人, 其 N 端片段在 Caspase-1 裂解后嵌入细胞膜, 形成孔道, 导致细胞膜破裂和内容物外泄, 最终引发细胞死亡和强烈炎症反应。除 Caspase-1 外, Caspase-4、Caspase-5 和小鼠的 Caspase-11 也在细胞焦亡中发挥重要作用, 这些蛋白酶能够直接识别细菌脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS), 并在其激活后裂解 GSDMD, 诱导焦亡^[13-14]。Caspase-4 和 Caspase-5 在人体中类似于小鼠的 Caspase-11, 能在胞内 LPS 存在时直接引发焦亡。因此, 这些

Caspase 蛋白的激活途径虽然略有不同, 但均会导致 GSDMD 介导的细胞膜破裂和炎症因子释放。GSDMD 作为焦亡的执行人, 其裂解产生的 N 端片段能与细胞膜磷脂结合, 形成孔道, 破坏细胞膜完整性, 引发细胞内容物外泄和炎症反应^[15]。这一过程不仅杀死受感染的细胞, 也通过释放 DAMPs 进一步招募和激活免疫细胞, 放大炎症反应。综上所述, 细胞焦亡是由炎症小体、Caspase 家族蛋白和 GSDMD 等关键分子精细调控的复杂过程, 这些分子在感知、传导和执行细胞焦亡信号中各司其职, 共同完成这一特殊的细胞死亡方式。

2 细胞焦亡的调控机制

2.1 Caspase-1的调控

Caspase-1 是细胞焦亡过程中最关键的蛋白酶, 其激活与抑制直接决定了焦亡的发生与强度。Caspase-1 的激活主要依赖于炎症小体的组装, NLRP3 炎症小体感知细胞内的危险信号 (如 ATP、ROS、钙离子内流和病原体成分) 后, 通过 PYD 结构域招募 ASC 蛋白, 形成大分子复合物。ASC 的 CARD 结构域则进一步招募并激活 Caspase-1, 使其从无活性的前体形式转变为活性形式。Gou 等^[16]的研究显示 Caspase-1 介导的细胞焦亡需要 NLRP3 等炎症小体的组装, 导致炎症细胞因子 IL-1 β 和 IL-18 通过 GSDMD 在质膜上形成的孔隙释放, 继而引起神经炎症。Caspase-1 的调控不仅依赖于炎症小体的激活, 还涉及其自身活性的抑制。Dong 等^[17]的调查研究结果也表明, 氧糖剥夺/再灌注 (oxygen glucose deprivation/reperfusion, OGD/R) 诱导小胶质细胞和神经元细胞焦亡, 并通过激活 Caspase-1/GSDMD 信号通路加重细胞损伤, 并且 Caspase-1 和 GSDMD 有可能是脑缺血再灌注后的治疗靶点。多种内源性抑制因子可以调控 Caspase-1 的活性, 例如细胞因子信号抑制因子家族蛋白和 Caspase 抑制剂等, 这些抑制因子直接与 Caspase-1 结合, 或干扰炎症小体组装, 从而抑制 Caspase-1 的活性。天然产物如姜黄素和白藜芦醇已被证实能抑制 Caspase-1 活性, 可能通过调节细胞内信号通路和基因表达实现^[18-19]。此外, Caspase-1 与其他细胞死亡机制和炎症反应相互作用, Caspase-1 的激活还可以诱导焦亡凋亡, 这一混合型细胞死亡形式涉及 Caspase-3 和 Caspase-7 的激活, 进一步加剧细胞损伤和炎症反应。Caspase-1 还可以通过影响细胞因子的释放和免疫细胞的激活, 参与多种炎症

性疾病。综上, Caspase-1 的激活由炎症小体介导, 其抑制通过多种内源性因子实现; 其他 Caspase 家族成员, 如 Caspase-4、Caspase-5 和 Caspase-11, 也通过独立于炎症小体的途径在细胞焦亡中发挥重要作用。这些复杂的调控机制共同决定了细胞焦亡的发生和发展。

2.2 GSDMD的调控

GSDMD 是细胞焦亡的关键执行者, 其裂解、抑制和表达调控在细胞焦亡中起重要作用。GSDMD 在未裂解状态下无活性, 只有被 Caspase-1、Caspase-4、Caspase-5 或 Caspase-11 裂解后, 其 N 端片段才能嵌入细胞膜, 形成孔道, 导致细胞膜破裂和焦亡^[15, 20]。Caspase-1 是通过炎症小体的激活来裂解 GSDMD 的, 而 Caspase-4、Caspase-5 和 Caspase-11 可以直接感知胞内的 LPS, 独立于 NLRP3 炎症小体激活。为了调控这一过程, 研究者们探索了多种抑制 GSDMD 裂解的方法, 小分子抑制剂已经被发现能够直接抑制 GSDMD 的 N 端片段与细胞膜的结合, 从而阻止焦亡的发生^[21]。调控 GSDMD 表达也是一种重要的干预手段, 多种转录因子在炎症和应激反应中调控 GSDMD 的基因表达。Lei 等^[22]发现抑制 NF- κ B 信号通路可以显著减少 GSDMD 的表达, 从而降低细胞焦亡的发生。miRNA 等非编码 RNA 也在 GSDMD 表达调控中扮演重要角色, 特定的 miRNA 可以通过与 GSDMD mRNA 结合, 抑制其翻译, 进而降低 GSDMD 的蛋白水平。Shan 等^[23]通过生物信息学分析发现, 促红细胞生成素可以通过 miR-325-3p/GSDMD 轴抑制星形胶质细胞焦亡。而 miR-21 和 miR-30d 被发现能够靶向 GSDMD mRNA, 减少其在细胞中的表达, 从而抑制焦亡的发生。此外, 细胞外环境和细胞内代谢状态, 如缺氧、氧化应激和高糖环境, 均可通过激活相关信号通路, 促进 GSDMD 的表达和裂解。在缺血再灌注损伤中, ROS 的产生和钙离子内流会激活 NLRP3 炎症小体, 进而导致 GSDMD 的裂解和焦亡的发生。Wu 等^[24]的研究结果表明, 淫羊藿中的活性成分可以通过抑制 ROS/NLRP3 介导的细胞焦亡来保护脑缺血再灌注损伤后的神经元丢失和神经炎症。这些外部和内部因素的调节可以间接影响 GSDMD 的活性和细胞焦亡的程度。细胞焦亡过程中释放的 DAMPs 通过激活邻近细胞的模式识别受体, 反馈调控 GSDMD 的表达和活性, 进一步放大炎症反应和焦亡范围^[25]。为切断这一反馈环路, 研究者们正在探索中和 DAMPs 或阻断其受体信号的方法, 以减少 GSDMD

的再激活和裂解。综上, GSDMD 的裂解、抑制及表达调控在细胞焦亡中起关键作用。通过抑制 GSDMD 裂解、调控其基因表达、干预细胞环境与代谢状态, 以及阻断 DAMPs 反馈环路, 可有效调控焦亡的发生与强度。这些调控方法不仅为深入理解细胞焦亡的机制提供了重要线索, 也为开发新的治疗手段以减轻相关疾病的炎症和细胞损伤提供了潜在的方向。

2.3 炎症小体的调控

炎症小体是细胞焦亡的核心组成部分, 其中 NLRP3 炎症小体是研究最广泛的类型, 其调控机制在细胞焦亡过程中尤为重要。NLRP3 炎症小体的激活受多种危险信号的调控, 这些信号通过多途径触发其组装和激活。ATP 通过 P2X7 受体介导钾离子外流, ROS 通过氧化应激损伤线粒体, 引发 NLRP3 的构象变化和寡聚化^[26]。钙离子内流同样可以改变细胞内环境, 促进 NLRP3 炎症小体的激活。此外, 溶酶体破裂释放的酶和细胞质中的病原体成分也能直接激活 NLRP3。激活后的 NLRP3 通过 NOD 结构域 (nucleotide binding oligomerization domain, NOD) 招募 ASC 蛋白, ASC 的 PYD 结构域与 NLRP3 的 PYD 结构域相互作用, 形成大分子复合物。该复合物进一步招募并激活 Caspase-1, 启动细胞焦亡过程。ASC 蛋白在 NLRP3 炎症小体的组装和功能中起关键作用。ASC 是一种适配蛋白, 其 CARD 结构域 (Caspase recruitment domain, CARD) 和 PYD 结构域分别与 Caspase-1 和 NLRP3 结合, 充当连接桥梁, 确保炎症小体的正确组装和功能发挥。ASC 通过形成大的聚合体, 称为 “specks”, 集中激活 Caspase-1, 这些 specks 在显微镜下可见, 是 NLRP3 炎症小体活性的标志之一^[27]。抑制 ASC 的功能可以有效阻断炎症小体的组装和激活, 从而抑制细胞焦亡。Ma 等^[28]发现一些化合物和小分子抑制剂能直接与 ASC 结合, 阻断其与 NLRP3 和 Caspase-1 的相互作用, 从而抑制炎症小体功能。此外, ASC 的磷酸化和去磷酸化修饰也会影响其聚合状态和活性, 调控这些修饰也可以控制 ASC 的功能。抑制 NLRP3 炎症小体的激活是减少细胞焦亡的重要方法之一, 已有多种 NLRP3 抑制剂被发现, 包括小分子化合物、天然产物和抗体。Wu 等^[29]通过 NLRP3 特异性抑制剂 MCC950 逆转了脑缺血再灌注介导的 NLRP3 炎症小体激活和神经元焦亡。综上, NLRP3 炎症小体的激活与抑制是细胞焦亡调控的关键环节, ASC 蛋白作为炎症小体组装的核心适配蛋白,

其功能对于 NLRP3 炎症小体的活性至关重要。深入研究 NLRP3 和 ASC 的相互作用及其调控机制, 不仅为理解细胞焦亡的复杂调控提供线索, 也为开发新的抗炎药物和治疗方法开辟了途径。

3 细胞焦亡在脑缺血再灌注损伤中的作用

3.1 诱导机制

在脑缺血再灌注损伤过程中, 细胞焦亡的诱导机制涉及多个关键信号和分子事件。再灌注期间, 恢复的血流带来了大量的氧气, 导致 ROS 的迅速积累。ROS 是炎症小体激活的主要诱因之一, 通过氧化应激损伤线粒体, 引发线粒体 DNA 和其他内源性危险信号的释放, 直接或间接激活 NLRP3 炎症小体^[30-31]。此外, ATP 外流是再灌注过程中激活 NLRP3 炎症小体的关键信号。外泌的 ATP 通过 P2X7 受体介导钾离子外流, 导致细胞内钾离子浓度下降, 从而激活 NLRP3^[32]。与此同时, 再灌注引起的细胞损伤和坏死会释放大量的 DAMPs, 这些 DAMPs 进一步激活 NLRP3 炎症小体。钙离子内流是炎症小体激活的另一个重要信号。再灌注引起的钙离子内流增加了细胞内钙离子浓度, 过高的钙离子水平通过促进线粒体损伤和溶酶体破裂, 进一步放大 NLRP3 炎症小体的激活^[33]。细胞焦亡的发生通过这种方式放大了再灌注引起的损伤效应, 形成一个恶性循环, 导致更大范围的组织损伤和神经细胞死亡。这一复杂的信号转导和分子事件不仅解释了脑缺血再灌注损伤中细胞焦亡的发生机制, 还为寻找新的治疗靶点提供了重要依据。通过调控这些关键分子和信号通路, 有望减轻再灌注引起的组织损伤和炎症反应。

3.2 炎症反应

在脑缺血再灌注损伤中, 炎症反应是细胞焦亡的重要特征, 主要通过炎症因子的释放和免疫细胞的浸润实现。在焦亡过程中, 活化的 Caspase-1 裂解 GSDMD, 释放的 GSDMD-N 片段嵌入细胞膜形成孔道, 导致细胞膜破裂, 并为炎症因子的释放提供通道^[34-35]。IL-1 β 和 IL-18 是强效的促炎介质, 能够启动和放大炎症反应^[36]。Wei 等^[37]的研究结果显示, IL-1 β 通过与 IL-1 受体结合, 激活下游信号通路, 导致更多的促炎因子产生, 并增加血管通透性, 促进炎症细胞的迁移, 而 IL-18 则通过与其受体结合, 促进 IFN- γ 的产生, 进一步放大炎症反应。这些炎症因子不仅在局部诱导强烈的炎症反应, 还通过化学趋化机制招募大量免疫细胞浸润损伤部

位。中性粒细胞是最早到达炎症部位的免疫细胞, 它们通过趋化因子的作用迅速迁移到损伤部位, 释放酶类和活性氧, 进一步加剧组织损伤和炎症反应。随后, 巨噬细胞也被吸引到炎症部位, 通过其强大的吞噬和清除功能, 处理凋亡和坏死细胞, 释放更多的炎症介质, 进一步放大炎症反应^[38]。巨噬细胞在炎症反应中起双重作用, 既参与初期的促炎反应, 又在后期通过分泌抗炎因子和生长因子促进组织修复和炎症消退^[39]。然而, 在脑缺血再灌注损伤中, 过度 and 持续的巨噬细胞激活往往会导致炎症失控, 损伤周围健康组织, 阻碍恢复进程。He 等^[40]发现释放的 IL-1 β 和 IL-18 等炎症因子还激活其他免疫细胞, 进一步加剧炎症反应, 形成自我增强的炎症网络。尤其在慢性或严重损伤情况下, 这种网络的持续活跃可能导致慢性炎症和神经退行性病变。因此, 调控细胞焦亡及其介导的炎症反应是减少脑缺血再灌注损伤的关键方法, 通过靶向这些关键炎症因子和相关信号通路, 可以有效减轻炎症, 保护脑组织, 改善患者预后。

3.3 细胞焦亡抑制剂

细胞焦亡抑制剂在调控细胞焦亡过程中展现出强大治疗潜力, 尤其在脑缺血再灌注损伤中, 靶向 NLRP3 炎症小体、Caspase-1 和 GSDMD 等关键分子, 显著减轻脑组织损伤^[41]。小分子抑制剂是当前研究的热点, 已开发出的多种抑制剂在动物模型中展现良好效果。MCC950 是一种高效的 NLRP3 抑制剂, 通过直接结合并抑制 NLRP3 的 ATP 酶活性, 从而阻止其激活, 显著减少炎症反应和细胞焦亡的发生^[42]。Li 等^[43]在脑缺血再灌注损伤的动物模型中证明 MCC950 能够降低炎症因子水平, 减少神经元损伤, 改善神经功能。此外, VX-765 是一种有效的 Caspase-1 抑制剂, 通过阻断 Caspase-1 活性减少 GSDMD 裂解, 保护细胞完整性。VX-765 在多种炎症性疾病模型中, 包括脑缺血再灌注损伤, 均表现出显著的抗炎和神经保护作用^[44]。除小分子抑制剂外, 天然产物也在抑制细胞焦亡方面展现出巨大潜力。白藜芦醇被证明能通过抑制 NLRP3 炎症小体的组装和活化, 显著抑制 Caspase-1 的活性及 IL-1 β 和 IL-18 的释放, 发挥抗炎和神经保护作用^[45]。相关研究也显示在脑缺血再灌注损伤的动物模型中, 白藜芦醇显著减轻神经炎症, 减少神经元死亡并改善神经功能^[46-47]。姜黄素是从姜黄中提取的天然化合物, 具有抗炎、抗氧化和抗癌等多种生物活性。姜黄素通过调控 NLRP3 炎症小体和 Caspase-1

的活性, 抑制细胞焦亡, 在脑缺血再灌注损伤中展现出显著的神经保护作用。Huang 等^[48] 研究显示, 姜黄素能够下调脑组织中的炎症因子水平, 保护血脑屏障完整性, 减轻脑水肿, 改善神经功能恢复。此外, 其他天然化合物, 如绿茶中的表没食子儿茶素没食子酸酯 ((-)-epigallocatechin-3-gallate, EGCG) 和中药黄芩中的黄芩苷等也被证明通过调控细胞焦亡途径发挥神经保护作用的潜力^[49]。这些天然产物通过多种机制抑制 NLRP3 炎症小体、Caspase-1 和 GSDMD 的活性, 减轻炎症和细胞死亡, 保护神经元。综上所述, 小分子抑制剂和天然产物在抑制细胞焦亡方面展现出广阔的应用前景。通过进一步优化这些抑制剂的结构和功能, 开发出更高效、特异性更强的抑制剂, 有望为脑缺血再灌注损伤及其他相关疾病提供新的治疗策略。

3.4 多靶点联合治疗及药物开发

多靶点联合治疗和药物开发在减轻脑缺血再灌注损伤中显示出巨大的潜力。靶向细胞焦亡的药物与其他抗炎、抗氧化剂联合使用可以多角度、多靶点干预病理过程, 从而显著提高治疗效果。相关研究表明, 单一靶向细胞焦亡的药物, 如抑制 NLRP3 炎症小体或 Caspase-1 抑制剂, 可以有效减少细胞焦亡和炎症反应, 但联合其他抗炎药物, 如糖皮质激素或非甾体抗炎药, 可以进一步减少炎症介质的释放和免疫细胞的浸润, 减轻组织损伤^[50-52]。Li 等^[53] 发现 MCC950 与抗炎药物联合使用显著减少了神经炎症和细胞死亡, 改善了神经功能。联合使用神经保护剂和细胞焦亡抑制剂能够通过清除自由基、减少氧化应激和抑制炎症反应, 保护神经细胞, 显示出显著的治疗潜力。另一种方案是将基因疗法与药物治疗相结合, 通过基因编辑技术敲除或抑制关键的细胞焦亡基因。同时, 联合使用抗炎和抗氧

化药物, 可以更有效地抑制焦亡并减轻脑损伤。此外, 抗氧化剂如维生素 E、N-乙酰半胱氨酸与细胞焦亡抑制剂联合使用, 可以通过减少氧化应激, 进一步保护神经元。氧化应激是脑缺血再灌注损伤中的重要致病因素, ROS 的积累会加剧细胞损伤和焦亡, 通过使用抗氧化剂清除 ROS 可以减轻氧化应激对细胞的损害, 增强细胞焦亡抑制剂的保护效果^[54]。在药物开发方面, 设计多靶点药物或多功能纳米载体同时靶向多个病理机制, 优化治疗效果。纳米载体可以同时装载 NLRP3 抑制剂、抗炎药物和抗氧化剂, 通过靶向递送至脑组织, 提高药物的局部浓度和治疗效果^[55]。近年来, 纳米技术在药物递送中的应用越来越广泛, 这些纳米载体不仅提高了药物的生物利用度, 还能通过靶向分子修饰, 实现对病变组织的精准递送, 减少全身副作用^[56]。综上所述, 多靶点联合治疗和药物开发在脑缺血再灌注损伤的治疗中显示出广阔的应用前景 (表 1)。通过联合靶向细胞焦亡、炎症和氧化应激等多个病理机制, 可以显著提高治疗效果, 减轻脑损伤, 改善神经功能。未来的研究应进一步优化联合治疗方案和多靶点药物的设计, 以期为脑缺血再灌注损伤及其他相关疾病的治疗提供更多效用。

4 小结与展望

细胞焦亡在脑缺血再灌注损伤中发挥着重要作用。通过对 NLRP3 炎症小体、Caspase-1 和 GSDMD 等关键分子的研究, 可以深入了解细胞焦亡在脑缺血再灌注过程中的作用机制。焦亡不仅加剧了神经炎症, 还导致大量神经元死亡, 进一步恶化了脑损伤。针对这些分子的调控, 不仅为缓解脑缺血再灌注损伤提供了新的治疗思路, 也为未来的研究和药物开发指明了方向。多靶点联合治疗方案展现出显

表1 靶向药物及多靶点联合药物治疗

| | 药物使用方案 | 作用机制 |
|-------|-------------------|---|
| 现阶段药物 | MCC950 | NLRP3炎症小体抑制剂 ^[42-43] |
| | VX-765 | Caspase-1蛋白酶抑制剂 ^[44] |
| | 白藜芦醇 | 抑制NLRP3炎症小体的组装和活化 ^[45-47] |
| | 姜黄素 | 通过调控NLRP3炎症小体和Caspase-1蛋白酶抑制细胞焦亡 ^[48] |
| | EGCG | 通过调节NLRP3炎症小体抑制炎症反应 ^[49] |
| | 黄芩苷 | 通过PI3K/AKT/FoxO1途径抑制Toll样受体4的表达, 改善神经炎症 ^[57] |
| 联合用药 | MCC950与抗炎药物联合使用 | 减少神经炎症和细胞死亡, 改善神经功能 ^[53] |
| | 抗氧化剂和细胞焦亡抑制剂联合使用 | 减少氧化应激, 进一步保护神经元 ^[54] |
| | 神经保护剂和细胞焦亡抑制剂联合使用 | 清除自由基、减少氧化应激和抑制炎症反应, 保护神经细胞 ^[58] |

著的潜力, 靶向细胞焦亡的药物与抗炎、抗氧化剂联合使用, 可以有效干预病理过程, 增强治疗效果。未来的研究应优化这些抑制剂, 开发更高效的细胞焦亡抑制剂。此外, 应当探索开发多靶点药物和多功能纳米载体, 以实现多病理机制的同时干预, 进一步提高治疗效果。这将为脑缺血再灌注损伤及其他相关疾病的治疗提供新的思路和方法。

[参 考 文 献]

- [1] Jurcau A, Simion A. Neuroinflammation in cerebral ischemia and ischemia/reperfusion injuries: from pathophysiology to therapeutic strategies. *Int J Mol Sci*, 2021, 23: 14
- [2] Zhang Q, Jia M, Wang Y, et al. Cell death mechanisms in cerebral ischemia-reperfusion injury. *Neurochem Res*, 2022, 47: 3525-42
- [3] Mao R, Zong N, Hu Y, et al. Neuronal death mechanisms and therapeutic strategy in ischemic stroke. *Neurosci Bull*, 2022, 38: 1229-47
- [4] Wu MY, Yiang GT, Liao WT, et al. Current mechanistic concepts in ischemia and reperfusion injury. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46: 1650-67
- [5] Zhang M, Liu Q, Meng H, et al. Ischemia-reperfusion injury: molecular mechanisms and therapeutic targets. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9: 12
- [6] Wang L, Ren W, Wu Q, et al. NLRP3 Inflammasome activation: a therapeutic target for cerebral ischemia-reperfusion injury. *Front Mol Neurosci*, 2022, 15: 847440
- [7] Green DR. Inflammasomes and other caspase-activation platforms. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2022, 14: a041061
- [8] Yang F, Bettadapura SN, Smeltzer MS, et al. Pyroptosis and pyroptosis-inducing cancer drugs. *Acta Pharmacol Sin*, 2022, 43: 2462-73
- [9] Fang Y, Tian S, Pan Y, et al. Pyroptosis: a new frontier in cancer. *Biomed Pharmacother*, 2020, 121: 109595
- [10] Anderson MJ, den Hartigh AB, Fink SL. Molecular mechanisms of pyroptosis. *Methods Mol Biol*, 2023, 2641: 1-16
- [11] Hafner-Bratkovic I. NLRP3 is its own gatekeeper: a group hug of NLRP3 monomers controls inflammation. *Trends Biochem Sci*, 2022, 47: 635-7
- [12] Xia S, Zhang Z, Magupalli VG, et al. Gasdermin D pore structure reveals preferential release of mature interleukin-1. *Nature*, 2021, 593: 607-11
- [13] Unnisa A, Greig NH, Kamal MA. Inhibition of caspase 3 and caspase 9 mediated apoptosis: a multimodal therapeutic target in traumatic brain injury. *Curr Neuropharmacol*, 2023, 21: 1001-12
- [14] Li J, Wang JL, Gan CY, et al. Caspase sensors based on nanoluc. *J Biotechnol*, 2022, 357: 100-7
- [15] Dai Z, Liu WC, Chen XY, et al. Gasdermin D-mediated pyroptosis: mechanisms, diseases, and inhibitors. *Front Immunol*, 2023, 14: 1178662
- [16] Gou X, Xu D, Li F, et al. Pyroptosis in stroke-new insights into disease mechanisms and therapeutic strategies. *J Physiol Biochem*, 2021, 77: 511-29
- [17] Dong Z, Peng Q, Pan K, et al. Microglial and neuronal cell pyroptosis induced by oxygen-glucose deprivation/reoxygenation aggravates cell injury via activation of the caspase-1/GSDMD signaling pathway. *Neurochem Res*, 2023, 48: 2660-73
- [18] Cetin F, Kosba S, Abdik H, et al. Synergistic anti-proliferative and apoptotic effect of NVP-BE235 and curcumin on human SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Med Oncol*, 2023, 41: 11
- [19] Sarkaki A, Rashidi M, Ranjbaran M, et al. Therapeutic effects of resveratrol on ischemia-reperfusion injury in the nervous system. *Neurochem Res*, 2021, 46: 3085-102
- [20] Xu W, Jin Q, Li X, et al. Crosstalk of HDAC4, PP1, and GSDMD in controlling pyroptosis. *Cell Death Dis*, 2024, 15: 115
- [21] Burdette BE, Esparza AN, Zhu H, et al. Gasdermin D in pyroptosis. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11: 2768-82
- [22] Lei P, Li Z, Hua Q, et al. Ursolic acid alleviates neuroinflammation after intracerebral hemorrhage by mediating microglial pyroptosis via the NF- κ B/NLRP3/GSDMD pathway. *Int J Mol Sci*, 2023, 24: 14771
- [23] Shan W, Wang J, Cheng R, et al. Erythropoietin alleviates astrocyte pyroptosis by targeting the miR-325-3p/GSDMD axis in rat spinal cord injury. *Inflammopharmacology*, 2024, 32: 523-36
- [24] Wu X, Wei J, Yi Y, et al. Epimedium aqueous extract ameliorates cerebral ischemia/reperfusion injury through inhibiting ROS/NLRP3-mediated pyroptosis. *Antioxidants (Basel)*, 2023, 12: 999
- [25] Maehara N, Taniguchi K, Okuno A, et al. AIM/CD51 attenuates DAMPs in the injured brain and thereby ameliorates ischemic stroke. *Cell Rep*, 2021, 36: 109693
- [26] Sayaf K, Battistella S, Russo FP. NLRP3 inflammasome in acute and chronic liver diseases. *Int J Mol Sci*, 2024, 25: 4537
- [27] Yu TG, Cha JS, Kim G, et al. Oligomeric states of ASC specks regulate inflammatory responses by inflammasome in the extracellular space. *Cell Death Discov*, 2023, 9: 142
- [28] Ma ZY, Jiang C, Xu LL. Protein-protein interactions and related inhibitors involved in the NLRP3 inflammasome pathway. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2023, 74: 14-28
- [29] Wu X, Wang B, Zhou Y, et al. NLRP3 inflammasome inhibitor MCC950 reduces cerebral ischemia/reperfusion induced neuronal ferroptosis. *Neurosci Lett*, 2023, 795: 137032
- [30] Yuan Q, Yuan Y, Zheng Y, et al. Anti-cerebral ischemia reperfusion injury of polysaccharides: a review of the mechanisms. *Biomed Pharmacother*, 2021, 137: 111303
- [31] Kapanova G, Tashenova G, Akhenbekova A, et al. Cerebral ischemia reperfusion injury: from public health perspectives to mechanisms. *Folia Neuropathol*, 2022, 60: 384-9
- [32] Zhang T, Tsutsuki H, Islam W, et al. ATP exposure stimulates glutathione efflux as a necessary switch for

- NLRP3 inflammasome activation. *Redox Biol*, 2021, 41: 101930
- [33] Hou Y, He H, Ma M, et al. Apilimod activates the NLRP3 inflammasome through lysosome-mediated mitochondrial damage. *Front Immunol*, 2023, 14: 1128700
- [34] Zhao Y, Shi J, Shao F. Inflammatory caspases: activation and cleavage of Gasdermin-D *in vitro* and during pyroptosis. *Methods Mol Biol*, 2018, 1714: 131-48
- [35] Wang K, Ding J, Shao F. Determination of gasdermin pores. *Methods Mol Biol*, 2023, 2696: 149-67
- [36] Li Z, Ji S, Jiang ML, et al. The regulation and modification of GSDMD signaling in diseases. *Front Immunol*, 2022, 13: 893912
- [37] Wei C, Jiang W, Wang R, et al. Brain endothelial gsdmd activation mediates inflammatory BBB breakdown. *Nature*, 2024, 629: 893-900
- [38] Dejas L, Santoni K, Meunier E, et al. Regulated cell death in neutrophils: from apoptosis to netosis and pyroptosis. *Semin Immunol*, 2023, 70: 101849
- [39] Zhang FY, Lian N, Li M. Macrophage pyroptosis induced by *Candida albicans*. *Pathog Dis*, 2024, 82: ftac003
- [40] He X, Fan X, Bai B, et al. Pyroptosis is a critical immune-inflammatory response involved in atherosclerosis. *Pharmacol Res*, 2021, 165: 105447
- [41] Wei S, Feng M, Zhang S. Molecular characteristics of cell pyroptosis and its inhibitors: a review of activation, regulation, and inhibitors. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 16115
- [42] Bai R, Lang Y, Shao J, et al. The role of NLRP3 inflammasome in cerebrovascular diseases pathology and possible therapeutic targets. *ASN Neuro*, 2021, 13: 523078284
- [43] Li J, Xu P, Hong Y, et al. Lipocalin-2-mediated astrocyte pyroptosis promotes neuroinflammatory injury via NLRP3 inflammasome activation in cerebral ischemia/reperfusion injury. *J Neuroinflammation*, 2023, 20: 148
- [44] 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
- [45] Zhang X, Wang Z, Li X, et al. Polydatin protects against atherosclerosis by activating autophagy and inhibiting pyroptosis mediated by the NLRP3 inflammasome. *J Ethnopharmacol*, 2023, 309: 116304
- [46] Zhang H, Zhao W. Resveratrol alleviates ischemic brain injury by inhibiting the activation of pro-inflammatory microglia via the CD147/MMP-9 pathway. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2022, 31: 106307
- [47] Xu L, Mi Y, Meng Q, et al. Anti-inflammatory effects of quinolinyl analog of resveratrol targeting TLR4 in MCAO/R ischemic stroke rat model. *Phytomedicine*, 2024, 128: 155344
- [48] Huang L, Li X, Liu Y, et al. Curcumin alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting NLRP1-dependent neuronal pyroptosis. *Curr Neurovasc Res*, 2021, 18: 189-96
- [49] Fang HY, Zhao XN, Zhang M, et al. Beneficial effects of flavonoids on cardiovascular diseases by influencing NLRP3 inflammasome. *Inflammopharmacology*, 2023, 31: 1715-29
- [50] Chiang MC, Tsai TY, Wang CJ. The potential benefits of quercetin for brain health: a review of anti-inflammatory and neuroprotective mechanisms. *Int J Mol Sci*, 2023, 24: 6328
- [51] Li Y, Chang LH, Huang WQ, et al. IL-17A mediates pyroptosis via the ERK pathway and contributes to steroid resistance in CRSwNP. *J Allergy Clin Immunol*, 2022, 150: 337-51
- [52] Tan Y, Zhang M, Pan Y, et al. Suppression of the caspase-1/GSDMD-mediated pyroptotic signaling pathway through dexamethasone alleviates corneal alkali injuries. *Exp Eye Res*, 2022, 214: 108858
- [53] Li H, Guan Y, Liang B, et al. Therapeutic potential of MCC950, a specific inhibitor of NLRP3 inflammasome. *Eur J Pharmacol*, 2022, 928: 175091
- [54] Orellana-Urzua S, Rojas I, Libano L, et al. Pathophysiology of ischemic stroke: role of oxidative stress. *Curr Pharm Des*, 2020, 26: 4246-4260
- [55] Kanika, Khan R. Functionalized nanomaterials targeting NLRP3 inflammasome driven immunomodulation: friend or foe. *Nanoscale*, 2023, 15: 15906-28
- [56] Hamimed S, Jabberi M, Chatti A. Nanotechnology in drug and gene delivery. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2022, 395: 769-87
- [57] Guo LT, Wang SQ, Su J, et al. Baicalin ameliorates neuroinflammation-induced depressive-like behavior through inhibition of Toll-like receptor 4 expression via the PI3K/AKT/FOXO1 pathway. *J Neuroinflammation*, 2019, 16: 95
- [58] Tao T, Liu M, Chen M, et al. Natural medicine in neuroprotection for ischemic stroke: challenges and prospective. *Pharmacol Ther*, 2020, 216: 107695