

细胞焦亡在急性呼吸窘迫综合征中的研究进展

王雷¹ 张利鹏²

¹ 内蒙古医科大学研究生学院, 呼和浩特 010000; ² 内蒙古医科大学附属医院重症医学科, 呼和浩特 010000

通信作者: 张利鹏, Email: zlp_boy2008@163.com

【摘要】 急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的主要病理生理改变为肺血管内皮屏障被大量破坏、肺水肿、炎性细胞浸润等,严重者可发生难治性低氧血症。细胞焦亡是由天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶(caspase)触发、经一类保守的蛋白家族成员 Gasdermin D(GSDMD)蛋白介导的细胞程序性坏死,表现为细胞不断胀大直至细胞膜破裂,导致细胞内容物释放进而激活强烈的炎症反应。焦亡在脓毒症导致的 ARDS 中发挥关键作用。本文主要对细胞焦亡的分子机制以及焦亡与 ARDS 关系的相关研究进行综述。

【关键词】 焦亡; 急性呼吸窘迫综合征; 肺泡巨噬细胞; 内皮细胞

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金(2018MS08093); 内蒙古自治区卫生计生科研计划项目(201703105)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200212-00179

Research progress of pyroptosis in acute respiratory distress syndrome

Wang Lei¹, Zhang Lipeng²

¹Graduate School of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010000, Inner Mongolia Autonomous Region, China;

²Department of Critical Care Medicine, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010000, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Corresponding author: Zhang Lipeng, Email: zlp_boy2008@163.com

【Abstract】 The main pathophysiological changes of acute respiratory distress syndrome (ARDS) are massive destruction of pulmonary vascular endothelial barrier, pulmonary edema, infiltration of inflammatory cells, and refractory hypoxemia in severe cases. Pyroptosis is programmed cell necrosis, triggered by caspase and mediated by proteins in a member of conserved protein family Gasdermin D (GSDMD), which manifests as continuous cell expansion until cell membrane rupture, leading to release of cell contents and activation of a strong inflammatory response. Pyroptosis plays a key role in the development of septic ARDS. In this paper, the molecular mechanism of pyroptosis and the related researches on pyroptosis and ARDS are reviewed.

【Key words】 Pyroptosis; Acute respiratory distress syndrome; Alveolar macrophage; Endothelial cell

Fund program: Natural Science Foundation of Inner Mongolia Autonomous Region of China (2018MS08093); Health and Family Planning Scientific Research Project in Inner Mongolia Autonomous Region of China (201703105)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200212-00179

急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)时炎症刺激可导致内皮细胞和上皮细胞损伤,屏障通透性增加,从而导致中性粒细胞性肺水肿、严重的低氧血症,具有较高的发病率和病死率。焦亡是一种特殊的程序性细胞死亡,其特征为释放炎性因子。肺是脓毒症、创伤中最易受损的重要靶器官,越来越多的研究表明,细胞焦亡参与了 ARDS 的发生发展,抑制细胞焦亡可以为 ARDS 的治疗提供新方向。现通过综述焦亡的分子机制以及焦亡与 ARDS 关系的相关研究,旨在为 ARDS 的治疗提供了新的靶点。

1 焦亡

焦亡最早由 Cookson 和 Brennan^[1]于 2001 年提出,近年被证实是一种新的程序性细胞死亡方式,以依赖于天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶(caspase)为特征。焦亡的形态学特征、发生及调控机制等均不同于凋亡、坏死等其他细胞死亡方式。炎症性 caspase 切割 Gasdermin D(GSDMD)是 Gasdermin 基因家族中一类保守的蛋白家族成员,有一个重要的活性 N-末端片段(gasdermin-N)的结构域,可以向质膜迁移,能溶解磷脂酰肌醇/心磷脂脂质体,且在人工或天然

磷脂混合物制成的膜上形成直径为 10~14 nm 的孔道,进而释放大量的促炎因子,脂质体的渗漏和 GSDMD 的造孔活性是细胞焦亡的重要因素^[2]。焦亡既可以防御感染,又可以加重器官功能障碍,增加继发感染的风险, Jorgensen 等^[3]解释了这种程序性细胞死亡在感染过程中的作用,认为其既破坏了细胞内的生态位,又协调了相应的先天免疫反应,宿主可能受益,病原体可能在逃避,识别特定细胞死亡途径有助于我们理解细胞程序性死亡在感染过程中的真正作用。

1.1 炎症小体: 炎症小体是由细胞质传感器、衔接蛋白凋亡相关斑点蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing CARD, ASC)、下游 caspase-1 组成的多聚蛋白复合物,通过病原体相关分子模式(pathogen associated molecular pattern, PAMP)和损伤相关分子模式(damage associated molecular pattern, DAMP),炎症小体可识别多种微生物、应激和损伤信号,直接导致 caspase-1 的激活,从而诱导分泌炎性细胞因子和一种称为焦亡的细胞死亡^[4-5]。

炎症小体是由胞质内模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)参与组装的多蛋白复合物,传感器分子包括

NOD样受体(NOD-like receptor, NLR)的家族成员和HIN200(具有200个氨基酸重复序列的造血干扰素诱导的核抗原)家族的黑色素瘤2(absent in melanoma 2, AIM2)受体。NLR家族包括NLRP1、NLRP3、NLRC4等, NLR家族存在一个中心核苷酸结合和齐聚(nucleotide-binding and oligomerization domain, NACHT)结构域, 该结构域通常由C-末端富含亮氨酸重复序列(leucine-rich repeat, LRR)及caspase激活和募集的结构域(caspase recruitment domain, CARD)以及PYD, 即pyrin(包含一个氮末端基序, 是蛋白质结构基序死亡域折叠超家族的一员)结构域围绕; AIM2是一类DNA感受器, 可以通过C端的HIN200结构域识别和结合自体或异体的DNA, 而 γ -干扰素(interferon- γ , IFN- γ)诱导蛋白16被认为可以在细胞核内识别一些病毒, 结构与AIM2相似, 都需要ASC作为“桥梁”发挥作用, 与炎症小体结合后, 使caspase-1前体向炎症小体靠近, 并导致caspase-1的激活, caspase-1切割GSDMD和促炎因子的活化导致焦亡^[6]。

炎症小体是在细胞感染或应激时被激活的分子平台, 参与天然免疫防御^[5]。von Moltke等^[7]研究表明, 炎症小体对细菌的识别和处理可能有以下特点: ①炎症小体能自我抑制, 在没有病原体时不会触发炎症信号; ②高度协同性可能是宿主防御的关键; ③能快速进化适应病原体逃避机制。

1.2 焦亡的途径: 目前发现有两种途径可以触发焦亡, 即由caspase-1介导的经典途径和caspase-4、caspase-5、caspase-11介导的非经典途径^[8]。

1.2.1 经典途径: NLRP3炎症小体存在两种启动和激活信号^[6]。①第一类信号: 经Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)启动, TLR下游的髓样分化因子88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)和 β -干扰素TIR结构域衔接蛋白(TIR domain-containing adaptor inducing interferon- β , TRIF)依赖性信号可以用与转录无关的方式交替启动NLRP3。在检测到它们各自的激动剂后, NLRP3、NLRC4、NLRP1b、AIM2和pyrin组装了典型的炎症小体, 这些炎症小体与ASC相连, 并导致caspase-1的激活, caspase-1通过GSDMD的裂解等机制控制前细胞因子[白细胞介素前体1 β (pro-interleukin-1 β , pro-IL-1 β)和白细胞介素前体18(pro-interleukin-18, pro-IL-18)]的成熟, 被切割的GSDMD攻击细胞膜导致细胞焦亡^[9]。②第二类信号: 由NLRP3激活剂以PAMP或DAMP的形式提供, 通过嘌呤能受体(P2X7 receptor, P2X7R)的钾外流、溶酶体破坏, 导致组织蛋白酶B和活性氧的渗漏, 线粒体释放氧化的线粒体DNA(mitochondria DNA, mtDNA), 心磷脂从线粒体内膜到外膜移位, 钙内流和细胞内的环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)减少, 以及由宿主或细菌引起的细胞膜上的孔和细胞容积的调整, 导致炎症小体的组装与激活, 进而激活caspase-1, 裂解GSDMD在细胞膜上造孔, 活化炎症因子, 引发细胞焦亡^[10]。

1.2.2 非经典途径: 研究表明脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)可用另一种不依赖于TLR的信号转导方式参与炎症反应, 即革兰阴性细菌的活化依赖于IFN诱导的鸟苷酸结合蛋白家族(guanylate binding protein, GBP)的小三磷酸鸟苷(guanosine triphosphate, GTP)酶。GBP介导空泡的溶解, 使

LPS释放到细胞质溶胶中, 进入细胞质中的LPS可以直接激活细胞内的caspase-4、caspase-5、caspase-11, 激活并切割GSDMD, 引发细胞焦亡和介导炎症反应^[11]。Meunier等^[12]发现GBP被细胞内的细菌病原体吸收, 是诱导含空泡病原体裂解的必要条件, 溶解的空泡将细菌释放到胞质中, 从而使一种未知的LPS传感器能够检测到细菌的LPS, 结果表明, 宿主介导的含有病原体的空泡裂解是一项基本的免疫功能, 是胞质中的炎症小体复合物有效识别病原体所必需的。

2 焦亡与ARDS的关系

2.1 肺泡巨噬细胞(alveolar macrophage, AM)焦亡与ARDS的关系: 越来越多的证据表明, AM焦亡与ARDS紧密相关。巨噬细胞在ARDS发病机制中起到关键的作用, AM占肺泡腔内细胞的90%以上。Zeng等^[13]研究中, LPS诱导的小鼠肺组织和巨噬细胞中双链RNA依赖激酶(double-stranded RNA-dependent protein kinase, PKR)显著激活; PKR抑制剂可显著抑制NLRP3、caspase-1、高迁移率族蛋白B1(high mobility group protein B1, HMGB1)和白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)的mRNA表达, 表明药物抑制PKR可能对ARDS具有潜在的治疗作用。Wu等^[14]研究发现, 在急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)小鼠模型中, 血源的外泌体能够触发AM中NLRP3激活引发焦亡; 而抑制外泌体的释放或摄取则抑制了AM的焦亡, 从而减轻AP诱导的肺损伤。Shao等^[15]研究发现, 给予创伤性颅脑损伤(trumatic brain injury, TBI)模型小鼠人生长激素释放肽(Ghrelin)可以降低炎症因子[IL-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和IL-18]的mRNA水平、焦亡相关蛋白(NLRP3、caspase-1-P20、HMGB1和GSDMD)的表达以及肺组织核转录因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)的磷酸化水平, 肺血管通透性降低, 外周巨噬细胞数量减少, 表明Ghrelin抑制TBI诱导的ARDS可能是通过阻断NF- κ B信号减少焦亡, 从而减轻肺损伤。有研究者探讨了LPS通过TLR4-MyD88-NF- κ B依赖性信号刺激NLRP3炎症小体的激活和IL-1 β 的分泌, 表明AM的焦亡会加重肺部炎症反应^[16]。Ying等^[17]研究发现, 微小RNA-495(microRNA-495, miR-495)的过度表达可以负性调控NLRP3基因, 减轻肺部炎症和细胞焦亡, 抑制NLRP3炎症小体激活, 表明miR-495启动子甲基化可以下调miR-495的表达, 而miR-495的上调可以减弱AM中NLRP3炎症小体的激活。有的研究表明, AM的死亡通过影响肺部其他免疫细胞群而在肺部炎症的发展中起重要作用, 最终导致过度炎症和疾病的发展^[18]。影响AM死亡的调节机制是复杂的, 全面了解细胞焦亡的调控机制, 将有助于制定控制和治疗策略, 从而开发新的ARDS干预措施。

2.2 肺血管内皮细胞焦亡与ARDS的关系: 肺微血管内皮细胞焦亡同样也参与了ARDS的病理生理过程。Allam等^[19]探讨了细胞外组蛋白可以通过胞内氧化应激来激活NLRP3, 参与肺损伤的微血管并发症。Cheng等^[20]研究表明, LPS经转染可导致caspase-11介导的肺血管内皮细胞焦亡, 而敲除了caspase-11的肺血管内皮细胞焦亡数减少, 提示内皮细胞中炎症caspase-11可能是ARDS的重要治疗靶点。Chen等^[21]通过建立内源性调控序列下表达人防御素家族

基因 DEFA1/DEFA3 的转基因小鼠模型,结果表明有高拷贝数小鼠的脓毒症相关重要器官损伤更严重,死亡率更高,是因为有更严重的内皮屏障功能障碍和内皮细胞焦亡;同时也发现,针对人中性粒细胞肽-1 (human neutrophil peptide 1, HNP-1) 的单克隆抗体阻断与 P2X7R 的相互作用,可以保护高拷贝数小鼠免受致死性脓毒症的侵袭。周细胞存在于肺血管内皮细胞的基膜中, Li 等^[22] 研究发现,盲肠结扎穿孔术 (cecal ligation and perforation, CLP) 诱导的脓毒症小鼠模型中,周细胞 Fli-1 基因可以减少周细胞丢失和血管渗漏,并且能提高小鼠的存活率, CLP 诱导的肺周细胞焦亡得到缓解。Wang 等^[23] 研究表明,二氢杨梅素通过抑制血管内皮细胞 NLRP3 炎症小体活化而发挥抗炎作用,对 CLP 诱导的 ARDS 具有保护作用。Mitra 等^[24] 研究显示, ARDS 患者血浆中 GSDMD 水平明显升高,表明同时含有 GSDMD 和 caspase-1 的受激的单核细胞释放的微粒体能破坏人肺血管内皮细胞,提示微囊化的 GSDMD 在 caspase-1 介导的内皮细胞损伤中起关键作用。Abrams 等^[25] 在创伤后的肺损伤研究中发现,高水平的组蛋白与 ARDS 的发生率、序贯器官衰竭评分 (sequential organ failure assessment, SOFA) 以及内皮损伤显著相关,表明循环组蛋白是改善患者生存结果的可行治疗靶点。第 2 组先天淋巴样细胞 (Group 2 innate lymphoid cell, ILC2) 是在肺部发现的主要 ILC 群体, Lai 等^[26] 研究表明,脓毒症产生的 IL-33 通过生长刺激表达基因 2 蛋白受体作用,介导 ILC2 在肺中的增加,而肺中 ILC2 的增加会分泌 IL-9,进而通过减少 caspase-1 的激活,从而阻止肺内皮细胞的焦亡。因此,抑制肺内皮细胞焦亡可能是治疗 ARDS 的关键。

3 结 语

综上所述,焦亡可以通过免疫防御反应保护宿主,使宿主免受病原微生物的感染,而过度的焦亡可以导致严重的器官功能障碍^[27],如 ARDS。对 AM 和肺内皮细胞焦亡通路上各靶点 (如 NLRP3、caspase、GSDMD、RNA、mtDNA^[28] 等) 的调控,可以减轻肺损伤,调控肺损伤的发生发展,为 ARDS 提供新的治疗靶点。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Cookson BT, Brennan MA. Pro-inflammatory programmed cell death [J]. *Trends Microbiol*, 2001, 9 (3): 113-114. DOI: 10.1016/S0966-842X(00)01936-3.
- [2] Ding J, Wang K, Liu W, et al. Pore-forming activity and structural autoinhibition of the gasdermin family [J]. *Nature*, 2016, 535 (7610): 111-116. DOI: 10.1038/nature18590.
- [3] Jorgensen I, Rayamajhi M, Miao EA. Programmed cell death as a defence against infection [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17 (3): 151-164. DOI: 10.1038/nri.2016.147.
- [4] Strowig T, Henao-Mejia J, Elinav E, et al. Inflammasomes in health and disease [J]. *Nature*, 2012, 481 (7381): 278-286. DOI: 10.1038/nature10759.
- [5] Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes [J]. *Cell*, 2010, 140 (6): 821-832. DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.040.
- [6] Lamkanfi M, Dixit VM. Mechanisms and functions of inflammasomes [J]. *Cell*, 2014, 157 (5): 1013-1022. DOI: 10.1016/j.cell.2014.04.007.
- [7] von Moltke J, Ayres JS, Kofoed EM, et al. Recognition of bacteria by inflammasomes [J]. *Annu Rev Immunol*, 2013, 31: 73-106. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032712-095944.
- [8] Lu F, Lan Z, Xin Z, et al. Emerging insights into molecular mechanisms underlying pyroptosis and functions of inflammasomes

- in diseases [J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235 (4): 3207-3221. DOI: 10.1002/jcp.29268.
- [9] Yuan J, Najafv A, Py BF. Roles of caspases in necrotic cell death [J]. *Cell*, 2016, 167 (7): 1693-1704. DOI: 10.1016/j.cell.2016.11.047.
- [10] Mathur A, Hayward JA, Man SM. Molecular mechanisms of inflammasome signaling [J]. *J Leukoc Biol*, 2018, 103 (2): 233-257. DOI: 10.1189/jlb.3MR0617-250R.
- [11] Hagar JA, Powell DA, Aachoui Y, et al. Cytoplasmic LPS activates caspase-11: implications in TLR4-independent endotoxic shock [J]. *Science*, 2013, 341 (6151): 1250-1253. DOI: 10.1126/science.1240988.
- [12] Meunier E, Dick MS, Dreier RF, et al. Caspase-11 activation requires lysis of pathogen-containing vacuoles by IFN-induced GTPases [J]. *Nature*, 2014, 509 (7500): 366-370. DOI: 10.1038/nature13157.
- [13] Zeng Y, Qin Q, Li K, et al. PKR suppress NLRP3-pyroptosis pathway in lipopolysaccharide-induced acute lung injury model of mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 519 (1): 8-14. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.08.054.
- [14] Wu XB, Sun HY, Luo ZL, et al. Plasma-derived exosomes contribute to pancreatitis-associated lung injury by triggering NLRP3-dependent pyroptosis in alveolar macrophages [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020, 1866 (5): 165685. DOI: 10.1016/j.bbdis.2020.165685.
- [15] Shao XF, Li B, Shen J, et al. Ghrelin alleviates traumatic brain injury-induced acute lung injury through pyroptosis/NF- κ B pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 79: 106175. DOI: 10.1016/j.intimp.2019.106175.
- [16] He X, Qian Y, Li Z, et al. TLR4-upregulated IL-1 β and IL-1RI promote alveolar macrophage pyroptosis and lung inflammation through an autocrine mechanism [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 31663. DOI: 10.1038/srep31663.
- [17] Ying Y, Mao Y, Yao M. NLRP3 inflammasome activation by microRNA-495 promoter methylation may contribute to the progression of acute lung injury [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, 18: 801-814. DOI: 10.1016/j.omtn.2019.08.028.
- [18] Fan EKY, Fan J. Regulation of alveolar macrophage death in acute lung inflammation [J]. *Respir Res*, 2018, 19 (1): 50. DOI: 10.1186/s12931-018-0756-5.
- [19] Allam R, Kumar SV, Darisipudi MN, et al. Extracellular histones in tissue injury and inflammation [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2014, 92 (5): 465-472. DOI: 10.1007/s00109-014-1148-z.
- [20] Cheng KT, Xiong S, Ye Z, et al. Caspase-11-mediated endothelial pyroptosis underlies endotoxemia-induced lung injury [J]. *J Clin Invest*, 2017, 127 (11): 4124-4135. DOI: 10.1172/JCI94495.
- [21] Chen Q, Yang Y, Hou J, et al. Increased gene copy number of DEFA1/DEFA3 worsens sepsis by inducing endothelial pyroptosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116 (8): 3161-3170. DOI: 10.1073/pnas.1812947116.
- [22] Li P, Goodwin AJ, Cook JA, et al. Fli-1 transcription factor regulates the expression of caspase-1 in lung pericytes [J]. *Mol Immunol*, 2019, 108: 1-7. DOI: 10.1016/j.molimm.2019.02.003.
- [23] Wang YC, Liu QX, Zheng Q, et al. Dihydroquercetin alleviates sepsis-induced acute lung injury through inhibiting NLRP3 inflammasome-dependent pyroptosis in mice model [J]. *Inflammation*, 2019, 42 (4): 1301-1310. DOI: 10.1007/s10753-019-00990-7.
- [24] Mitra S, Exline M, Habyarimana F, et al. Microparticulate caspase 1 regulates gasdermin D and pulmonary vascular endothelial cell injury [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2018, 59 (1): 56-64. DOI: 10.1165/ajrmb.2017-0393OC.
- [25] Abrams ST, Zhang N, Manson J, et al. Circulating histones are mediators of trauma-associated lung injury [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013, 187 (2): 160-169. DOI: 10.1164/rccm.201206-1037OC.
- [26] Lai D, Tang J, Chen L, et al. Group 2 innate lymphoid cells protect lung endothelial cells from pyroptosis in sepsis [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9 (3): 369. DOI: 10.1038/s41419-018-0412-5.
- [27] 沈灵芝, 李莉, 严静. 焦亡在脓毒症中的研究进展 [J]. *中华危重病急救医学*, 2019, 31 (4): 498-500. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.04.026.
- [28] Shen LZ, Li L, Yan J. Research progress of pyroptosis in sepsis [J]. *Chin Crit Care Med*, 2019, 31 (4): 498-500. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.04.026.
- [28] 赵宁, 李勇, 刘芬, 等. 线粒体 DNA 介导细胞焦亡放大肺泡巨噬细胞炎症反应 [J]. *中华危重病急救医学*, 2018, 30 (2): 97-100. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.02.001.
- Zhao N, Li Y, Liu F, et al. Pyroptosis mediated by mitochondrial DNA amplifies the inflammatory response of alveolar macrophage [J]. *Chin Crit Care Med*, 2018, 30 (2): 97-100. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.02.001.

(收稿日期: 2020-02-12)