

细胞焦亡在脓毒症急性肺损伤中作用的研究进展

陆大浩 高巨

【摘要】 脓毒症是严重感染和创伤的常见并发症,为导致急性肺损伤的常见病因之一。脓毒症急性肺损伤是一种以低氧血症和通气困难为特征的临床综合征,可进展为急性呼吸窘迫综合征。脓毒症急性肺损伤的发病机制目前尚未明确,缺乏有效的靶向治疗措施。细胞焦亡是以细胞膜穿孔和炎性因子释放为特征的程序性细胞死亡。细胞焦亡在脓毒症急性肺损伤发生发展中具有重要作用,为潜在的治疗靶点。本文主要对细胞焦亡的分子机制以及不同类型细胞焦亡参与脓毒症急性肺损伤的机制进行综述,以期对制定新的脓毒症急性肺损伤治疗策略提供理论依据。

【关键词】 细胞焦亡;急性肺损伤;脓毒症;程序性细胞死亡

Research progress of pyroptosis and its effect in sepsis-induced acute lung injury LU Dahao, GAO Ju. Department of anesthesiology, Northern Jiangsu People's Hospital Affiliated to Yangzhou University, Yangzhou 225001, China

Corresponding author: GAO Ju, Email: gaoju_003@163.com

【Abstract】 Sepsis is a common complication of combat trauma and injuries, and is one of the common causes of acute lung injury. Sepsis-induced acute lung injury is a clinical syndrome characterized by hypoxemia and dyspnea, which can progress to acute respiratory distress syndrome. The pathogenesis of sepsis-induced acute lung injury is not fully understood, and there is still no effective targeted intervention. Pyroptosis is a form of programmed cell death characterized by membrane perforation and inflammatory factor releasing. In recent years, studies have found that pyroptosis plays an important role in the occurrence and development of sepsis-induced acute lung injury and is a potential therapeutic target. In this article, the molecular mechanism of pyroptosis and the mechanism of pyroptosis of different types of cells involved in sepsis-induced acute lung injury are summarized, in order to provide theoretical basis for new treatment strategies for sepsis-induced acute lung injury.

【Key words】 Pyroptosis; Acute lung injury; Sepsis; Programmed cell death

脓毒症是由感染引发的机体免疫反应失调导致的器官功能损害的临床综合征^[1]。肺是脓毒症时最易受累的靶器官,脓毒症急性肺损伤(acute lung injury, ALI)发病早、进展迅速,病死率更可高达40%^[2]。细胞焦亡是一种不同于凋亡、自噬、坏死等的细胞死亡方式,表现为细胞膜穿孔、细胞肿胀破裂、细胞内容物释放,进而诱导炎症级联反应。细胞焦亡在脓毒症ALI中具有重要作用^[3-4],本文综述了细胞焦亡的分子机制,以及不同类型细胞焦亡参与脓毒症ALI的机制,为经细胞焦亡途径防治脓毒症ALI提供理论依据。

细胞焦亡的分子机制

细胞焦亡的概念最早由Cookson和Brennan于

2001年提出,最初被定义为“半胱天冬酶-1(cysteiny aspartate specific proteinase-1, caspase-1)依赖的程序性细胞死亡方式”。随着研究的深入,发现除了caspase-1外的其他多种caspase家族成员也能介导细胞焦亡的发生。细胞焦亡激活的通路主要包括依赖caspase-1的经典焦亡途径、依赖caspase-4/5/11的非经典焦亡途径及caspase-3/8介导的焦亡途径。

经典焦亡途径 经典的细胞焦亡途径与炎性小体的组装和caspase-1的活化密切相关。炎性小体是由模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)参与组装的蛋白复合体,当病原体入侵机体时,细胞内的NOD样受体蛋白1(NLR family pyrin domain containing 1, NLRP1)、NLRP3、NLR家族CARD结构域蛋白4(NLR family CARD domain containing 4, NLRC4)、黑色素瘤缺乏因子2等PRR可识别相应的刺激信号,并与caspase-1前体(pro-caspase-1)和凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-

DOI: 10.12089/jca.2024.04.014

基金项目:国家自然科学基金(82172190);扬州市重点实验室培育专项基金(YZ20211148)

作者单位:225001 扬州大学附属苏北人民医院麻醉科

通信作者:高巨, Email: gaoju_003@163.com

associated speck-like protein containing a CARD, ASC) 结合形成炎性小体^[5]。NLRP3 为目前细胞焦亡研究中最受关注的 PRR, NLRP3 由 N 端的 PYD、C 端的 LRR 和中央的 NACHT 三个结构域组成。NLRP3 被激活时, 可因 NACHT 结构域的同型相互作用发生寡聚化, 并通过 PYD 结构域的相互作用募集 ASC 及下游的 pro-caspase-1 组装成 NLRP3 炎性小体, 并进一步诱导无活性的 pro-caspase-1 自身切割成活化的 caspase-1^[6]。caspase-1 可于 Asp275 位点将消皮素 D (gasdermin D, GSDMD) 切割为 GSDMD-C 和 GSDMD-N, GSDMD-N 通过与细胞膜内表面的磷脂酸、磷脂酰肌醇和磷脂酰丝氨酸相结合在细胞膜表面形成直径 10~15 nm 的寡聚孔, 最终导致细胞肿胀破裂而焦亡^[7]。此外, caspase-1 还可将无活性的白介素-18 前体 (pro-interleukin-18, pro-IL-18) 和白介素-1 β 前体 (pro-interleukin-1 β , pro-IL-1 β) 裂解为成熟的 IL-18 和 IL-1 β 并释放到细胞外, 引发炎症的级联反应^[8]。

非经典焦亡途径 Miao 等^[9] 研究表明, caspase-1 在细胞焦亡过程中是不可或缺的。随着研究的深入, Shi 等^[10] 研究表明, caspase-4/5/11 可通过 N 端的 CARD 结构域直接与细胞内的脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 结合活化, 并诱导细胞焦亡的发生, 这种不依赖于 caspase-1 的细胞焦亡途径被称为非经典焦亡途径。活化的 caspase-4/5/11 可直接通过切割 GSDMD 暴露 N 端, 并在细胞膜表面形成寡聚孔诱导焦亡过程, 通过激活 NLRP3 炎性小体间接介导 IL-18 和 IL-1 β 的成熟和释放参与炎症反应^[11]。Shi 等^[12] 研究表明, 在非经典焦亡过程中 NLRP3 炎性小体的活化途径主要有两种, 一种为 GSDMD-N 端形成的寡聚孔诱导胞内 K⁺ 外流激活 NLRP3 炎性小体, 另一种为活化的 caspase-11 通过开启缝隙连接蛋白 pannexin-1 通道诱导三磷酸腺苷释放、K⁺ 外流激活 NLRP3 炎性小体^[13]。

caspase-3/8 介导的焦亡途径 既往对于 caspase-3/8 的研究主要集中于细胞凋亡领域, 认为 caspase-3/8 是凋亡过程中的关键调节因子^[14]。Wang 等^[15] 研究表明, caspase-3/8 也参与了细胞焦亡的过程, caspase-3 可被肿瘤坏死因子及顺铂等化疗药物激活, 切割 GSDME 得到 GSDME-N, 进而在细胞膜表面形成寡聚孔触发细胞焦亡。此外, 翟延评等^[16] 研究表明, caspase-8 被激活后可进一步切割 GSDMD、促进 IL-1 β 的释放, 最终诱导细胞焦亡, 提示焦亡与凋亡可能通过 caspase-3/8 存在一定的协

同作用。

不同类型细胞焦亡参与脓毒症急性肺损伤的机制

脓毒症 ALI 的临床表现为呼吸困难及顽固性低氧血症, 发病机制主要与炎症反应引起的肺泡上皮、血管内皮损伤有关。炎症反应失调在脓毒症 ALI 发生、发展过程中具有关键作用, 焦亡作为以炎症因子释放为特征的细胞死亡方式, 多种类型细胞在脓毒症 ALI 进展过程中发生焦亡, 受到越来越多关注。

巨噬细胞焦亡与脓毒症 ALI 巨噬细胞为机体固有免疫中重要的效应细胞, 巨噬细胞焦亡时可释放大量促炎性因子引起炎症细胞浸润、肺泡结构破坏, 在脓毒症 ALI 的进展中发挥重要作用^[17]。

近年来, 众多研究对脓毒症 ALI 中巨噬细胞焦亡发生的机制进行了探索。Li 等^[18] 研究表明, 特异性敲除巨噬细胞 NLRP3 基因可缓解 LPS 诱导的小鼠脓毒症 ALI 并降低肺组织中 GSDMD 的表达。此外, Wu 等^[19] 研究表明, caspase-1 特异性抑制剂 AC-YVAD-CMK 可减轻 LPS 引起的小鼠 ALI 并抑制巨噬细胞焦亡, 表明 NLRP3 炎性小体及 caspase-1 的活化参与了脓毒症 ALI 中巨噬细胞焦亡的过程, 为巨噬细胞焦亡潜在的调控靶点之一。Ying 等^[20] 研究表明, 在 LPS 诱导肺泡巨噬细胞损伤模型中, 过表达微小 RNA-495 (microRNA-495, miR-495) 可抑制 NLRP3 炎性小体的激活并降低 GSDMD 的表达水平, 同时 miR-495 表达上调后, 脓毒症模型小鼠肺组织中 NLRP3、ASC 和 caspase-1 的表达水平降低, 肺损伤程度减轻。此外, Pu 等^[21] 研究表明, 敲除自噬相关蛋白 7 (autophagy related protein 7, ATG7) 基因后, 小鼠对铜绿假单胞菌感染的抵抗力下降, 导致肺损伤程度加重; 同时, ATG7 基因敲除可促进 NLRC4 炎性小体活化及巨噬细胞焦亡。ATG7 作为泛素连接酶在自噬体形成的过程中发挥重要作用, 表明焦亡与自噬可能以炎性小体的活化为媒介存在一定关联。He 等^[22] 研究表明, 除了增加炎性小体的活化, LPS 处理还可通过髓样分化因子 88 依赖性核因子 κ B 信号途径上调肺泡巨噬细胞表面白细胞介素-1 受体 I 型的表达, 使肺泡巨噬细胞对 IL-1 β 的敏感性增强, 放大炎症反应诱导巨噬细胞焦亡。

中性粒细胞焦亡与脓毒症 ALI 中性粒细胞为来源于骨髓并在人体血液循环中占比最高的白细胞, 在机体的急性炎症反应中发挥重要作用。当

ALI 发生时,肺泡上皮细胞、血管内皮细胞受损,活化的巨噬细胞诱导趋化因子的释放,将大量中性粒细胞招募到肺部。

近年来,中性粒细胞焦亡在脓毒症感染中的作用逐渐受到了关注。Ryu 等^[23]研究表明,铜绿假单胞菌感染只能诱导小鼠支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 中少量的中性粒细胞焦亡 (仅占 BALF 内中性粒细胞数目的 0.7%); NADPH 氧化酶 2 (non-phagocytic cell oxidase 2, NOX2) 基因缺陷时,铜绿假单胞菌感染诱导的小鼠中性粒细胞焦亡水平显著升高 (约占 BALF 内中性粒细胞数目的 11%),表明 NOX2 在中性粒细胞焦亡的过程中可能发挥调控作用。解健^[24]研究表明, LPS 气管内注射后,小鼠肺组织中 caspase-1、caspase-11 和 GSDMD 表达上调, BALF 内中性粒细胞焦亡水平明显升高。中性粒细胞 GSDMD 基因特异性敲除后小鼠对 LPS 的耐受性增强,肺组织炎症水平降低、损伤程度减轻,表明 GSDMD 在中性粒细胞焦亡的过程中同样发挥关键作用。不过,与内皮细胞及巨噬细胞不同,中性粒细胞焦亡并不依赖于 caspase-1 介导经典焦亡途径。Chen 等^[25]使用沙门氏菌感染小鼠并分离其骨髓中性粒细胞,结果表明,虽然中性粒细胞中 NLRC4 炎性小体和 caspase-1 活化增加,但并未触发细胞焦亡。Kovacs 等^[26]研究表明,在中性细胞内, caspase-1 和 caspase-11 的活化都能裂解 GSDMD 蛋白,但只有 caspase-11 活化时才能触发细胞焦亡, caspase-11 在中性粒细胞焦亡的过程中可能发挥着更重要的作用。

肺血管内皮细胞焦亡与脓毒症 ALI 肺血管内皮细胞为附着在肺微血管内腔的扁平细胞,具有维持血管张力、调节通透性及血流等作用,并与糖萼、基膜及细胞外基质共同构成血管屏障^[27]。内毒素、缺氧等多种致病因素作用于机体时,肺血管内皮细胞广泛损伤和死亡,导致血管屏障功能障碍,在 ALI 的发展过程起到重要作用。

肺微血管内皮细胞焦亡同样参与了脓毒症 ALI 的病理生理过程。Yang 等^[28]研究表明, LPS 可通过 Toll 样受体 4 (toll-like receptor 4, TLR4) 蛋白激活 NLRP3 炎性小体和 caspase-1,进一步诱导肺血管内皮细胞焦亡;失血性休克时,肺血管内皮细胞内高迁移率族蛋白 B1 表达增强激活 caspase-1,与 LPS 协同引起肺血管内皮细胞焦亡,加重肺损伤。Lai 等^[29]研究表明,脓毒症小鼠肺组织中第 2 组先天淋巴细胞 (group 2 innate lymphoid cell, ILC2) 计数明

显增加,且 ILC2 可通过分泌的 IL-9 抑制肺血管内皮细胞中 caspase-1 的活化,从而发挥抗细胞焦亡作用,表明 ILC2 计数增加可能为脓毒症时机体的内源性保护机制之一。除了 caspase-1 外, caspase-11 在肺血管内皮细胞焦亡过程的作用也受到广泛关注。Cheng 等^[30]研究表明, LPS 可通过 TLR4/caspase-11 信号通路诱导小鼠肺血管内皮细胞的焦亡,使用 LPS 在体外分别处理 TLR4-KO 及 caspase-11-KO 小鼠的肺血管内皮细胞,结果表明, caspase-11 基因缺陷时细胞焦亡被显著抑制, TLR4 基因缺陷并未对细胞焦亡产生明显影响,表明 caspase-11 在肺血管内皮细胞焦亡过程中发挥重要的作用。Huang 等^[31]研究表明, LPS 处理后,小鼠肺血管内皮细胞内 caspase-11 表达上调并切割 GSDMD 得到 GSDMD-N。GSDMD-N 不仅可与细胞内的线粒体膜结合引起线粒体损伤,还可在肺血管内皮细胞表面形成寡聚孔将线粒体 DNA 释放到细胞外,抑制内皮细胞增殖及血管壁修复。caspase-11 基因缺陷时, mtDNA 释放减少,小鼠肺损伤减轻,表明 caspase-11 可能是脓毒症 ALI 时的潜在治疗靶点之一。

其他 除了上述机制之外, Wei 等^[32]研究表明,甲型流感病毒 H1N1 亚型可通过 caspase-3/GSDME 途径诱导肺泡上皮细胞的焦亡,细胞焦亡途径同样参与肺泡上皮细胞损伤的过程。

小 结

细胞焦亡是脓毒症 ALI 重要的发病机制,靶向抑制细胞焦亡已成为脓毒症 ALI 潜在治疗方法之一。目前,关于细胞焦亡的研究主要集中在经典焦亡途径与脓毒症 ALI 的关系,对于非经典途径及 caspase-3/8 介导的焦亡途径与脓毒症 ALI 的研究相对缺乏;脓毒症 ALI 过程中不同类型细胞的焦亡过程中的相互作用尚不明确;针对脓毒症 ALI 过程中细胞焦亡通路靶向治疗的研究仍处于细胞及动物研究阶段,缺乏相应的临床研究。随着相关的研究不断深入,细胞焦亡或将成为脓毒症 ALI 重要治疗靶点。

参 考 文 献

- [1] 李海波,周琪,张析哲,等. 线粒体质量控制 在脓毒症急性肾损伤中作用机制的研究进展. 临床麻醉学杂志, 2022, 38 (9): 996-1000.
- [2] Cao Z, Qin H, Huang Y, et al. Crosstalk of pyroptosis, ferroptosis, and mitochondrial aldehyde dehydrogenase 2-related mechanisms in sepsis-induced lung injury in a mouse model. Bioengi-

- neered, 2022, 13(3): 4810-4820.
- [3] Liu B, Wang Z, He R, et al. Buformin alleviates sepsis-induced acute lung injury via inhibiting NLRP3-mediated pyroptosis through an AMPK-dependent pathway. *Clin Sci (Lond)*, 2022, 136(4): 273-289.
- [4] 李增攀, 方建江, 周挺, 等. Caspase-1 介导的细胞焦亡在脓毒症小鼠急性肺损伤中的作用. *中华急诊医学杂志*, 2022, 31(4): 531-533.
- [5] Liu T, Hou M, Li M, et al. Pyroptosis: a developing foreland of ovarian cancer treatment. *Front Oncol*, 2022, 12: 828303.
- [6] Boucher D, Monteleone M, Coll RC, et al. Caspase-1 self-cleavage is an intrinsic mechanism to terminate inflammasome activity. *J Exp Med*, 2018, 215(3): 827-840.
- [7] Huang Y, Wang JW, Huang J, et al. Pyroptosis, a target for cancer treatment. *Apoptosis*, 2022, 27(1-2): 1-13.
- [8] 李翠, 董树安, 宋凯, 等. NLRP3 在小鼠脓毒症相关性脑病中的作用及其与小胶质细胞焦亡的关系. *中华麻醉学杂志*, 2023, 43(2): 206-209.
- [9] Miao EA, Rajan JV, Aderem A. Caspase-1-induced pyroptotic cell death. *Immunol Rev*, 2011, 243(1): 206-214.
- [10] Shi J, Zhao Y, Wang Y, et al. Inflammatory caspases are innate immune receptors for intracellular LPS. *Nature*, 2014, 514(7521): 187-192.
- [11] Aglietti RA, Estevez A, Gupta A, et al. GsdmD p30 elicited by caspase-11 during pyroptosis forms pores in membranes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(28): 7858-7863.
- [12] Shi J, Zhao Y, Wang K, et al. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature*, 2015, 526(7575): 660-665.
- [13] He B, Nie Q, Wang F, et al. Role of pyroptosis in atherosclerosis and its therapeutic implications. *J Cell Physiol*, 2021, 236(10): 7159-7175.
- [14] 江利, 姜梦婕, 韩克. 桂枝茯苓丸对慢性盆腔炎大鼠血清炎症因子水平及子宫组织 caspase-3、caspase-8 表达的影响. *中成药*, 2021, 43(10): 2846-2850.
- [15] Wang Y, Gao W, Shi X, et al. Chemotherapy drugs induce pyroptosis through caspase-3 cleavage of a gasdermin. *Nature*, 2017, 547(7661): 99-103.
- [16] 翟延评, 何耀军, 潘嘉宇, 等. Casp-8 通过调控 NLRP3 炎症小体介导的细胞焦亡减轻脓毒症引起的急性肺损伤. *东南大学学报(医学版)*, 2023, 42(1): 64-71.
- [17] Liu Y, Zhang Y, Feng Q, et al. GPA peptide attenuates sepsis-induced acute lung injury in mice via inhibiting oxidative stress and pyroptosis of alveolar macrophage. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 5589472.
- [18] Li N, Xiong R, He R, et al. Mangiferin mitigates lipopolysaccharide-induced lung injury by inhibiting NLRP3 inflammasome activation. *J Inflamm Res*, 2021, 14: 2289-2300.
- [19] Wu DD, Pan PH, Liu B, et al. Inhibition of alveolar macrophage pyroptosis reduces lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice. *Chin Med J (Engl)*, 2015, 128(19): 2638-2645.
- [20] Ying Y, Mao Y, Yao M. NLRP3 Inflammasome activation by microRNA-495 promoter methylation may contribute to the progression of acute lung injury. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, 18: 801-814.
- [21] Pu Q, Gan C, Li R, et al. Atg7 deficiency intensifies inflammasome activation and pyroptosis in pseudomonas sepsis. *J Immunol*, 2017, 198(8): 3205-3213.
- [22] 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. *Sci Rep*, 2016, 6: 31663.
- [23] Ryu JC, Kim MJ, Kwon Y, et al. Neutrophil pyroptosis mediates pathology of *P. aeruginosa* lung infection in the absence of the NADPH oxidase NOX2. *Mucosal Immunol*, 2017, 10(3): 757-774.
- [24] 解健. GSDMD 介导的中性粒细胞焦亡在急性肺损伤中的作用和机制研究. 中国人民解放军海军军医大学, 2021.
- [25] Chen KW, Groß CJ, Sotomayor FV, et al. The neutrophil NLR4 inflammasome selectively promotes IL-1 β maturation without pyroptosis during acute salmonella challenge. *Cell Rep*, 2014, 8(2): 570-582.
- [26] Kovacs SB, Oh C, Maltez VI, et al. Neutrophil caspase-11 is essential to defend against a cytosol-invasive bacterium. *Cell Rep*, 2020, 32(4): 107967.
- [27] 卢中秋, 倪菁晶. 脓毒症血管内皮细胞屏障损害研究进展. *医学研究杂志*, 2020, 49(10): 4-6, 11.
- [28] Yang J, Zhao Y, Zhang P, et al. Hemorrhagic shock primes for lung vascular endothelial cell pyroptosis: role in pulmonary inflammation following LPS. *Cell Death Dis*, 2016, 7(9): e2363.
- [29] Lai D, Tang J, Chen L, et al. Group 2 innate lymphoid cells protect lung endothelial cells from pyroptosis in sepsis. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3): 369.
- [30] Cheng KT, Xiong S, Ye Z, et al. Caspase-11-mediated endothelial pyroptosis underlies endotoxemia-induced lung injury. *J Clin Invest*, 2017, 127(11): 4124-4135.
- [31] Huang LS, Hong Z, Wu W, et al. mtDNA activates cGAS signaling and suppresses the YAP-mediated endothelial cell proliferation program to promote inflammatory injury. *Immunity*, 2020, 52(3): 475-486.
- [32] Wei Z, Gao R, Sun Z, et al. Baicalin inhibits influenza A (H1N1)-induced pyroptosis of lung alveolar epithelial cells via caspase-3/GSDME pathway. *J Med Virol*, 2023, 95(5): e28790.

(收稿日期: 2023-01-07)