

NLRP3 炎性小体与冠心病的相关性

胡龙江¹, 周音频¹, 曹运兰², 吕湛³, 蓝运竞¹, 宁琳¹, 向立权¹, 肖鹏¹

(1.重庆市涪陵中心医院心血管内科, 重庆市 408000;

2.贵州省人民医院心血管内科, 贵州省贵阳市 550002; 3.川北医学院附属医院心血管内科, 四川省南充市 637000)

[关键词] 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3; 炎性小体; 冠心病; 白细胞介素 18; 白细胞介素 1 β

[摘要] 目的 探讨核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(NLRP3)炎性小体与冠心病(CHD)的临床相关性。

方法 入选符合纳入标准的冠心病患者 60 例及对照者 30 例。收集所有研究对象的性别、年龄、吸烟史、体重指数(BMI)、平均动脉压(MAP)、空腹血糖(FPG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、血脂等临床资料,采用 RT-qPCR、Western blot 法分别检测各组外周血单个核细胞(PBMC)中 NLRP3、凋亡相关微粒蛋白(ASC)、半胱氨酸蛋白酶 1(Caspase-1)的 mRNA 及蛋白表达水平,ELISA 法检测各组血浆中白细胞介素 1 β (IL-1 β)、白细胞介素 18(IL-18)水平。应用 SPSS20.0 软件进行统计分析。结果 PBMC 中 ASC mRNA、NLRP3、ASC、Caspase-1 表达水平及血浆 IL-1 β 、IL-18 水平在冠心病组明显高于对照组($P<0.05$)。NLRP3、ASC、Caspase-1 及其 mRNA 在各组分别进行 Spearman 相关分析显示,NLRP3 mRNA 和 Caspase-1 mRNA 在冠心病组均与 IL-18 呈正相关(r 分别为 0.327 和 0.274, $P<0.05$);ASC 在冠心病组与年龄、IL-1 β 、IL-18 呈正相关(r 分别为 0.370、0.467、0.403, $P<0.05$);Caspase-1 在冠心病组与吸烟、IL-18 呈正相关(r 分别为 0.613 和 0.414, $P<0.05$)。结论 以 NLRP3 炎性小体为中心的 NLRP3-ASC-Caspase-1-IL-1 β /IL-18 信号通路可能在冠心病的发生发展过程中发挥着重要作用。

[中图分类号] R541.4

[文献标识码] A

The relationship between NLRP3 inflammasome and coronary heart disease

HU Long-Jiang¹, ZHOU Yin-Pin¹, CAO Yun-Lan², LV Zhan³, LAN Yun-Jing¹, NING Lin¹, XIANG Li-Quan¹, XIAO Peng¹

(1.Department of Cardiology, Fuling Center Hospital of Chongqing City, Chongqing 408000, China; 2.Department of Cardiology, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang, Guizhou 550002, China; 3.Department of Cardiology, the Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637000, China)

[KEY WORDS] NLRP3; Inflammasome; Coronary heart disease; Interleukin-18; Interleukin-1 β

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the relationship between nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3(NLRP3) inflammasome and coronary heart disease(CHD). **Methods** 60 CHD patients and 30 controls were recruited according to the inclusion criteria. The clinical data including sex, age, smoking history, body mass index(BMI), mean artery pressure(MAP), fasting plasma glucose(FPG), glycosylated hemoglobin(HbA1c) and blood lipids were collected for analysis. The transcription and expression of NLRP3, apoptosis-associated speck-like protein containing CARD(ASC) and caspase-1 mRNA as well as protein in peripheral blood mononuclear cells(PBMC) in all the groups were evaluated by real-time qPCR and Western blot respectively, and the levels of plasma interleukin-1 β (IL-1 β) and interleukin-18(IL-18) in all the groups were detected by ELISA assay. All data were analyzed by SPSS20.0 software.

Results The expression levels of the ASC mRNA, NLRP3, ASC, caspase-1 in PBMC and plasma IL-1 β , IL-18 in CHD group were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$). The NLRP3, ASC, caspase-1 and their mRNA were evaluated with the Spearman correlation coefficient analysis in each group respectively, both NLRP3 mRNA and caspase-1 mRNA were positively correlated with IL-18 in CHD group, with the correlation coefficients of 0.327 ($P=0.011$)

[收稿日期] 2017-06-25

[修回日期] 2017-10-10

[基金项目] 重庆市卫生和计划生育委员会医学科科研项目(2015MSXM138);重庆涪陵区科技计划项目(FLKJ, 2014ABB2104)

[作者简介] 胡龙江,硕士,主治医师,主要从事冠状动脉粥样硬化机制及临床相关研究。通讯作者周音频,博士,副主任医师,主要从事冠状动脉粥样硬化发病机制研究,E-mail 为 hujfang2005@163.com。

and 0.274 ($P=0.031$) respectively; ASC were positively correlated with age, IL-18 and IL-1 β in CHD group, with the correlation coefficients of 0.370 ($P=0.024$), 0.403 ($P=0.027$) and 0.467 ($P=0.009$) respectively; caspase-1 were positively correlated with smoking and IL-18 in CHD group, with the correlation coefficients of 0.613 ($P=0.000$) and 0.414 ($P=0.023$) respectively. **Conclusion** NLRP3-ASC-Caspase-1-IL-1 β /IL-18 signal pathway centered on the NLRP3 inflammasome may play an important role in the occurrence and development of CHD.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)导致的致死性心血管疾病已严重威胁人类健康,我国每年约有350万人死于心血管疾病,随着对As发病机制研究的逐步深入,除传统的危险因素如糖尿病、高血脂、高血压等外,炎症免疫因素在As发生发展过程中具有重要作用的观点已经被广泛认可,但对其具体作用机制仍存在争议^[1]。固有免疫系统是机体第一道防御屏障,在清除外来病原体及产生适应性免疫应答方面具有至关重要的作用。核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3)炎症小体在心血管疾病中的作用是当前研究的热点^[2-4],它是机体的固有免疫反应途径之一,是炎症-免疫的桥梁,能引起促炎因子IL-1 β 和IL-18的成熟和释放,维持和激发固有和适应性免疫,抵御细菌和病毒感染,维持细胞生存,发挥细胞和机体保护作用,从而在非感染性炎症疾病的发病中起重要作用^[1];但炎症小体产生过多,存在时间过长,炎症和细胞因子的过量表达和持续作用,则可造成细胞的炎症坏死,引起慢性炎症、组织损伤和细胞死亡,产生多种疾病如冠心病(coronary heart disease, CHD)。本研究观察冠心病患者外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC)中NLRP3炎症小体组成分子的mRNA及蛋白表达情况及血浆白细胞介素1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素18(interleukin-18, IL-18)的水平变化,进一步探讨NLRP3炎症小体与冠心病的临床相关性。

1 资料和方法

1.1 临床资料

在重庆市涪陵中心医院健康体检中心收集健康对照者30例,其中男性16例,女性14例,平均年龄(59.40 ± 8.80)岁,符合无典型劳力型心绞痛等心肌缺血主诉,经冠状动脉造影排除冠心病,肝、心、肾、肺检查均正常,排除急性和慢性感染性疾病、肿瘤、自身免疫性疾病、痛风、近期创伤、正在使用抗炎药物者及代谢性疾病,排除有生育能力的妇女及妊娠试验阳性者,排除家族中有传染病及遗传病史

者。心血管内科收集冠心病患者60例,其中男性41例,女性19例,平均年龄(58.80 ± 8.75)岁,均经冠状动脉造影证实,包括稳定型心绞痛(stable angina pectoris, SAP)16例,不稳定型心绞痛(unstable angina pectoris, UAP)33例,急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)11例,排除移植血管病变者,排除严重慢性并发症如心、肝、肾功能不全及急性和慢性感染性疾病、肿瘤、自身免疫性疾病、痛风、近期创伤、正在使用抗炎药物者及代谢性疾病,排除有生育能力的妇女及妊娠试验阳性者。所有冠心病患者均予以硝酸酯类、血管紧张素转换酶抑制剂、 β 受体阻滞剂、调脂剂、抗血小板药物等常规治疗,急性心肌梗死患者加用低分子肝素抗凝治疗。所有操作程序由涪陵中心医院伦理委员会批准,所有入选对象均已对本研究内容知晓并签署知情同意书。

1.2 主要试剂

人淋巴细胞分离液购自北京达科为生物技术有限公司。Western及IP细胞裂解液、BCA蛋白浓度测定试剂盒、SDS-PAGE蛋白上样缓冲液、SDS-PAGE凝胶配制试剂盒购自上海碧云天生物有限公司。RNAiso plus试剂盒、PrimeScriptTM RT reagent Kit, SYBR Premix Ex TaqTM II荧光定量试剂盒均购自Takara公司。anti-NLRP3抗体、anti-TMS1抗体、anti-Caspase-1抗体均购自Abcam公司。人IL-1 β 、IL-18 ELISA试剂盒购自上海广锐生物科技有限公司。

1.3 基本资料及临床生化资料采集

收集所有研究对象的性别、年龄、吸烟史、血压、身高、体重,并求出体重指数(body mass index, BMI)、平均动脉压(mean arterial pressure, MAP),所有研究对象入院后隔夜空腹8h以上,次日清晨空腹抽取肘静脉血20 mL,取2 mL全血离心获得血浆后置-80℃冰箱备用,剩余全血利用Ficoll-Hypaque密度梯度分离法分离人PBMC备用。在我院检验科检测所有入选对象的空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、低密度脂蛋白

胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDLC)、极低密度脂蛋白胆固醇 (very low density lipoprotein cholesterol, VLDLC)、糖化血红蛋白 (glycosylated hemoglobin, HbA1c) 等生化资料。

1.4 RNA 提取及逆转录

根据 RNAiso plus 试剂盒说明书提取人 PBMC 总 RNA, 采用分光光度仪定量及检测纯度, 符合要求后, 利用 PrimeScript™ RT reagent Kit 将提取的总 RNA 进行逆转录, 合成 cDNA, 操作严格按试剂盒说明书进行。引物序列为 NLRP3 上游 5'-AAAGCCAAGAATC-CACAGTGTAAAC-3', 下游 5'-TTGCCTCGCAGGTAAG-GT-3'; 凋亡相关微粒蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein containing CARD, ASC) 上游 5'-GGAT-GCTCTGTACGGGAAGG-3', 下游 5'-CGCATCTTGCTT-GGGTTG-3'; 半胱氨酸蛋白酶 1 (caspase-1) 上游 5'-AGGCATGACAATGCTGCTACAA-3', 下游 5'-TGTG-CAAATGCCTCCAGCTC-3'; 内参 GAPDH 上游 5'-CTTTGGTATCGTGGAAGGACTC-3', 下游 5'-GTAGAG-GCAGGGATGATGTTCT-3'; 由 Takara 公司合成。

1.5 RT-qPCR 反应

采用 SYBR Premix Ex Taq™ II 荧光定量试剂盒进行实时定量 PCR 反应, 以 GAPDH 作为内参, 反应体系参照说明书, 反应条件为 95℃ 30 s, 95℃ 5 s, 60℃ 30 s, 50 个循环。每个待测基因设置 3 个复孔, 反应结束后, 确认每个 PCR 反应的扩增及溶解曲线, 记录反应管中的荧光信号到达所设定阈值时经历的循环数, 即 Ct 值, 根据 Ct 值计算目的基因的相对表达量: $\Delta Ct = Ct_{\text{目的基因}} - Ct_{\text{GAPDH}}$, $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{病例组}} - \Delta Ct_{\text{对照组}}$ 。病例组目的基因 mRNA 的表达量即为对照组的 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 倍。

1.6 Western blot

运用 Western 及 IP 细胞裂解液提取人 PBMC 总蛋白, 并采用 Bicinchoninic acid (BCA) 法测定蛋白浓度。取 40 μg 总蛋白进行 8% SDS-PAGE 凝胶电泳 (条件: 80 V 30 min, 100 V 60 min), 转膜, BSA-TBS 封闭液封闭 4 h, 分别配制目的蛋白 NLRP3 (1:100)、ASC (1:1000)、Caspase-1 (2.5 mg/L) 及内参蛋白 GAPDH (1:500) 的一抗稀释液, 4℃ 孵育过夜, 次日洗膜 5 次, 加入辣根过氧化物酶标记二抗 (1:5000), 室温孵育 1 h, 洗膜 6 次后使用凝胶成像分析系统扫描蛋白条带, 以目的蛋白与内参 GAPDH 的比值作为蛋白相对表达量。实验重复 3 次, 取均值。

1.7 ELISA 检测

采用人 IL-1β、IL-18 ELISA 试剂盒检测各组血

浆 IL-1β、IL-18 浓度, 严格参照说明书操作。

1.8 统计学处理

统计分析采用 SPSS20.0 软件, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。计量资料均进行正态分布及方差齐性检验, 符合正态分布者, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 不符合正态分布者, 以中位数 ± 四分位间距 ($M \pm QU-L$) 表示; 正态分布、方差齐, 两两比较采用独立样本 t 检验; 偏态分布、方差不齐, 各组指标差异性研究采用非参数 Kruskal-Wallis 秩和检验进行两两比较; 偏态分布资料与其它变量之间的相关性分析采用 Spearman 相关; 计数资料均采用 χ^2 检验。

2 结 果

2.1 基本情况及血糖、血脂、IL-1β、IL-18 水平

冠心病组与对照组性别、吸烟、年龄、BMI、FPG、TG、TC、LDLC、VLDLC 差异无显著性 ($P > 0.05$); MAP、IL-1β、IL-18 在冠心病组高于对照组, HDLC 在冠心病组低于对照组, 差异均有显著性意义 ($P < 0.05$; 表 1)。

表 1. 冠心病组与对照组间基本情况及血糖、血脂、IL-1β、IL-18 水平比较

Table 1. Comparison of the plasma levels of plasma glucose, blood lipids, IL-1β, IL-18 and general data between CHD group and control group

变 量	对照组 (n=30)	冠心病组 (n=60)
男/女 (例)	16/14	41/19
吸烟 [例 (%)]	5 (16.7)	21 (30.0)
年龄 (岁)	59.40±8.80	58.80±8.75
BMI (kg/m ²)	24.24±2.55	24.73±3.55
MAP (mmHg)	90.83±11.64	98.62±13.10 ^a
FPG (mmol/L)	4.70±0.63	4.74±0.61
TG (mmol/L)	1.29±0.55	1.49±0.76
TC (mmol/L)	4.27±1.05	4.29±1.29
HDLC (mmol/L)	1.24±0.30	1.10±0.26 ^a
LDLC (mmol/L)	2.73±0.86	2.87±1.10
VLDLC (mmol/L)	0.59±0.25	0.68±0.34
IL-1β (ng/L)	12.53±2.79	25.29±2.42 ^a
IL-18 (ng/L)	50.02±10.18	99.92±12.86 ^a

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

2.2 NLRP3、ASC 和 Caspase-1 的 mRNA 表达水平

冠心病组 ASC mRNA 在 PBMC 中的表达较对照组显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 而 NLRP3 及 Caspase-1 的 mRNA 表达两组间差异无显

著性 ($P > 0.05$; 图 1); 冠心病组患者中 AMI 组 NLRP3、ASC mRNA 在 PBMC 中的表达较 SAP 组及 UAP 组升高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 但 Caspase-1 mRNA 表达三组间差异无显著性 ($P > 0.05$; 图 2)。

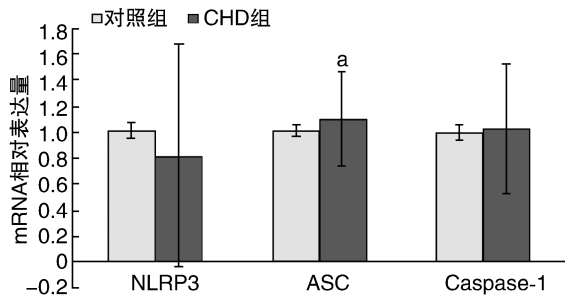


图 1. 冠心病组与对照组 NLRP3、ASC、Caspase-1 mRNA 表达 a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

Figure 1. mRNA expression of NLRP3, ASC and caspase-1 in CHD group and control group

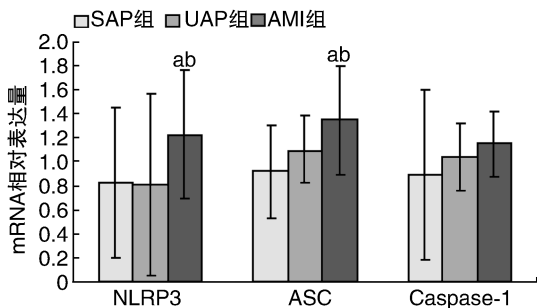


图 2. 冠心病不同临床类型 NLRP3、ASC、Caspase-1 mRNA 表达 a 为 $P < 0.05$, 与 SAP 组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 UAP 组比较。

Figure 2. mRNA expression of NLRP3, ASC and caspase-1 in different clinical types of CHD

2.3 NLRP3、ASC 和 Caspase-1 的蛋白表达水平

冠心病组 NLRP3、ASC、Caspase-1 在 PBMC 中的蛋白表达均较对照组升高, 差异均有显著性意义 ($P < 0.05$; 图 3)。冠心病患者中 AMI 组 ASC、Caspase-1 在 PBMC 中的蛋白表达均较 SAP 组及 UAP 组升高, 差异均有显著性意义 ($P < 0.05$; 图 3)。

2.4 NLRP3、ASC、Caspase-1 及其 mRNA 水平与年龄、吸烟、IL-1 β 、IL-18 等变量的 Spearman 相关分析

NLRP3 mRNA 和 Caspase-1 mRNA 在冠心病组均与 IL-18 呈正相关 (r 分别为 0.327 和 0.274, $P < 0.05$); ASC 在冠心病组与年龄、IL-1 β 、IL-18 呈正相关 (r 分别为 0.370、0.467、0.403, $P < 0.05$); Caspase-1 在冠心病组与吸烟、IL-18 呈正相关 (r 分别为 0.613 和 0.414, $P < 0.05$) (表 2)。

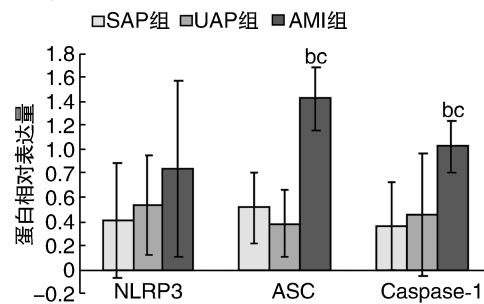
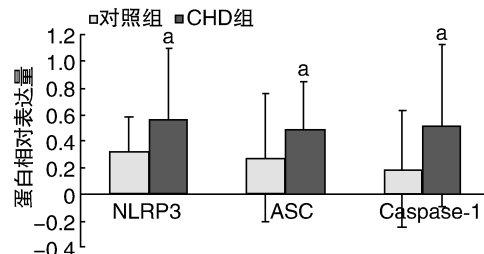
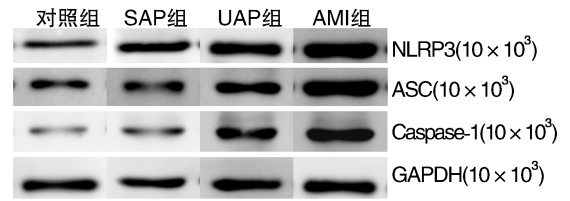


图 3. NLRP3、ASC 和 Caspase-1 蛋白表达 a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 SAP 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 UAP 组比较。

Figure 3. Protein expression of NLRP3, ASC and Caspase-1

表 2. 两组 NLRP3、ASC、Caspase-1 及其 mRNA 与各变量 Spearman 相关分析

Table 2. The NLRP3, ASC, Caspase-1 and their mRNA were evaluated with the Spearman correlation coefficient analysis in CHD group and control group

变 量	对照组			冠心病组		
	相关因子	r 值	P 值	相关因子	r 值	P 值
NLRP3 mRNA	—			IL-18	0.327	0.011
ASC mRNA	—			—		
Caspase-1 mRNA	FPG	0.394	0.031	IL-18	0.274	0.031
NLRP3	性别	0.429	0.020	—		
ASC	FPG	0.405	0.026	年龄	0.370	0.024
				IL-1 β	0.467	0.009
				IL-18	0.403	0.027
Caspase-1	MAP	0.447	0.013	吸烟	0.613	0.000
	FPG	0.396	0.030	IL-18	0.414	0.023

3 讨 论

炎症反应是具有血管系统的活体组织对损伤因子应激的防御反应, 而心血管反应是其中心环节。NLRP3 炎性小体是机体固有免疫系统的一员,

是炎性免疫反应的重要组成部分,它不仅是炎性反应的“感受器”,亦是炎性反应的“调节器”。目前 NLRP3 炎症小体是在心血管领域研究最多的炎症小体,亦是心血管疾病中研究的热点。

NLRP3 炎症小体是由 NLRP3、ASC 和无活性的 Caspase-1 前体组成的能感受病原入侵或细胞应激的多蛋白复合体。通常情况下 NLRP3 炎症小体处于自身抑制状态,在某种病理条件下,NLRP3 炎症小体能够通过亮氨酸重复区域(leucine rich repeats, LRR)识别特定信号病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMP)或危险相关分子模式(danger-associated molecular patterns, DAMP)而被激活,继而活化 IL-1 β 和 IL-18 等细胞因子,参与体内诸多慢性疾病非感染性炎性反应。而目前认为 NLRP3 炎症小体被激活的主要模式有半通道依赖途径、溶酶体依赖途径、ROS 的依赖途径三种^[5]。在 NLRP3 炎症小体组分中,NLRP3 是 NLRP3 炎症小体多种蛋白质成分中最核心的组成部分,由三个重要区域组成,即羧基端的 LRR,其作用是感受和识别 PAMP 及 DAMP;中间的核苷酸寡聚化结构域(nucleoside triphosphatase domain, NACHT),其作用是介导 NLR 寡聚化并形成炎症小体核心结构;氨基端热蛋白结构域(pyrin domain, PYD)或称 CARD(caspase recruitment domain)或 BIR(baculovirus inhibitory repeats),它是效应结构域,其作用是起信号传导作用。ASC 是 NLRP3 炎症小体的衔接蛋白,氨基端含有一个与 NLRP3 相同的 PYD 结构域,羧基端含有一个与 Caspase-1 前体相同的 CARD 募集结构域,作为双重衔接蛋白分子,能够以 PYD-PYD 和 CARD-CARD 桥梁的形式将 NLRP3 和 Caspase-1 前体连接起来,形成 Caspase-1 前体的相对高浓度,此时酶原以水解的方式形成四聚体发生自身活化,形成具有酶活性的异二聚体 Caspase-1, Caspase-1 作为炎症小体的效应蛋白,参与炎症小体的形成并在其中被激活,并最终激活促炎性细胞因子的前体转化为活性形式^[6-8]。

本实验,我们将 PBMC 分离后,采用实时荧光 PCR 检测 PBMC 中 NLRP3、ASC、Caspase-1 的 mRNA 表达,发现来源冠心病患者 PBMC 表达衔接蛋白的 ASC mRNA 水平高于对照组,提示冠心病患者在转录水平即增加部分 NLRP3 炎症小体组成分子的表达,说明冠心病患者更容易形成 NLRP3 炎症蛋白复合体。我们进一步提取 PBMC 总蛋白,并测定 NLRP3 炎症小体组成分子相关蛋白即 NLRP3、ASC、Caspase-1 在 PBMC 中的浓度,并测定血浆 IL-

1 β 、IL-18 水平,发现 NLRP3、ASC、Caspase-1 表达水平及血浆 IL-1 β 、IL-18 水平均明显高于对照组($P < 0.05$),提示在冠心病患者中,在固有免疫系统免疫功能正常发挥中具有重要作用的 NLRP3 炎症小体的调控失去平衡,NLRP3 炎症小体被激活,导致过量的促炎细胞因子 IL-1 β 和 IL-18 生成,进一步通过下游的信号转导通路,引发一系列炎症瀑布反应,参与冠状动脉的炎性损伤。为了进一步明确 NLRP3 炎症小体与冠心病严重性的关系,本研究对冠心病患者进行冠状动脉造影后,根据其临床表现分组,比较不同冠心病类型之间 NLRP3、ASC、Caspase-1 及其 mRNA 在 PBMC 中的表达,结果发现,AMI 组 NLRP3、ASC mRNA 在 PBMC 中的表达较 SAP 组及 UAP 组升高($P < 0.05$),AMI 组 ASC、Caspase-1 在 PBMC 中的表达均较 SAP 组及 UAP 组升高($P < 0.05$),提示冠心病患者病情程度的不同,NLRP3 炎症小体的表达亦有所不同,NLRP3 炎症小体可作为冠心病患者心血管病事件的预测因子。已有研究证实,NLRP3 炎症小体及其下游信号通路激活后将诱导炎症反应和氧化应激^[8-9],促进血管新生内膜形成^[10],促进血管平滑肌细胞增殖、迁移及钙化^[11-12],促进巨噬细胞脂质沉积、迁移及泡沫细胞的形成^[13-14],导致血管内皮细胞功能紊乱^[15-16],促进血小板的聚集、激活及血栓形成^[17-18],这些均与冠心病的发生发展及预后密切相关。由此可见,NLRP3 炎症小体、IL-1 β 、IL-18 均参与冠心病的发生发展。最后,我们在各组用 NLRP3、ASC、Caspase-1 及其 mRNA 分别与其他变量进行 Spearman 相关分析发现: NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA 在冠心病组与 IL-18 呈正相关,提示,虽然冠心病患者 NLRP3 mRNA、Caspase-1 mRNA 较对照组未见明显增高,但由于冠心病患者内环境的改变,本质上 NLRP3 炎症小体已经存在促进 IL-18 等炎性因子表达的倾向。ASC 在冠心病组与年龄、IL-1 β 、IL-18 呈正相关, Caspase-1 在冠心病组与吸烟、IL-18 呈正相关,提示促进冠心病发生发展的 IL-1 β 和 IL-18 等炎性分子与 ASC、Caspase-1 表达增加后激活 NLRP3 炎症小体密切相关。由此可见,NLRP3 炎症小体作为固有免疫和炎症反应的重要调节器,在冠心病发生发展中起关键作用。

综上所述,以 NLRP3 炎症小体为中心的 NLRP3-ASC-Caspase-1- IL-1 β /IL-18 信号通路可能在冠心病的发生发展过程中发挥重要作用,NLRP3 炎症小体活化及下游信号转导的调控至关重要。继续深入研究 NLRP3 炎症小体、IL-1 β 、IL-18 在冠

心病中的作用,进一步研究其激活和调控机制,有望为冠心病的预防、诊断和治疗提供新思路 and 靶点。但本研究主要针对 PBMC 中 NLRP3 炎性小体,并未对斑块内的 NLRP3 炎性小体进行检测;没有对 NLRP3 炎性小体与冠心病血管狭窄程度进行相关性分析,下一步本课题组将进一步深入研究。另外,在本研究中,为遵守医学伦理要求,对照组为健康体检者,没有采用常规冠心病药物治疗,且冠心病不同类型之间基本用药不能保证完全一致,可能对本实验结果产生一定影响。

[参考文献]

- [1] 贾乙,周丽,李晓辉. Nod 样受体蛋白 3 炎症小体与动脉粥样硬化关系的研究现状与进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2014, 22(1): 79-84.
- [2] Ozaki E, Campbell M, Doyle SL. Targeting the NLRP3 inflammasome in chronic inflammatory diseases: current perspectives[J]. J Inflamm Res, 2015, 8(1): 15-27.
- [3] Bronner DN, Abuaita BH, Chen X, et al. Endoplasmic reticulum stress activates the inflammasome via NLRP3 and Caspase-2-driven mitochondrial damage[J]. Immunity, 2015, 7613(15): 320-329.
- [4] Cao Z, Li Y, Chen R, et al. Effect of NLRP3 inflammasome on vascular diseases[J]. Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban, 2016, 41(11): 1232-236.
- [5] 胡龙江,周音频,吕湛,等. NLRP3 炎性小体与 2 型糖尿病及冠心病并发症的关系[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版), 2015, 9(23): 4428-431.
- [6] Jo EK, Kim JK, Shin DM, et al. Molecular mechanisms regulating NLRP3 inflammasome activation[J]. Cell Mol Immunol, 2016, 13(2): 148-159.
- [7] Shao BZ, Xu ZQ, Han BZ, et al. NLRP3 inflammasome and its inhibitors: a review[J]. Front Pharmacol, 2015, 6: 262.
- [8] Abderrazak A, Syrovets T, Couchie D, et al. NLRP3 inflammasome: from a danger signal sensor to a regulatory node of oxidative stress and inflammatory diseases[J]. Redox Biol, 2015, 4: 296-307.
- [9] Jin C, Flavell RA. Inflammasome activation. The missing link: how the inflammasome senses oxidative stress[J]. Immunol Cell Biol, 2010, 88(5): 510-512.
- [10] Ordovas-Montanes JM, Ordovas JM. Cholesterol, inflammasomes and atherogenesis[J]. Curr Cardiovasc Risk Rep, 2012, 6(1): 45-52.
- [11] Wen C, Yang X, Yan Z, et al. NALP3 inflammasome is activated and required for vascular smooth muscle cell calcification[J]. Int J Cardiol, 2013, 168(3): 2242-247.
- [12] Eun SY, Ko YS, Park SW, et al. IL-1 β enhances vascular smooth muscle cell proliferation and migration via P2Y2 receptor-mediated RAGE expression and HMGB1 release[J]. Vascu Pharmacol, 2015, 72: 108-117.
- [13] Li X, Zhang Y, Xia M, et al. Activation of NLRP3 inflammasomes enhances macrophage lipid-deposition and migration: implication of a novel role of inflammasome in atherogenesis[J]. PLoS One, 2014, 9(1): e87552.
- [14] Liu W, Yin Y, Zhou Z, et al. OxLDL-induced IL-1 β secretion promoting foam cells formation was mainly via CD36 mediated ROS production leading to NLRP3 inflammasome activation[J]. Inflamm Res, 2014, 63(1): 33-43.
- [15] Yin Y, Zhou Z, Liu W, et al. Vascular endothelial cells senescence is associated with NOD-like receptor family pyrin domain-containing 3 (NLRP3) inflammasome activation via reactive oxygen species (ROS)/thioredoxin-interacting protein (TXNIP) pathway[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2017, 84: 22-34.
- [16] Liu P, Xie Q, Wei T, et al. Activation of the NLRP3 inflammasome induces vascular dysfunction in obese OLETF rats[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 468(1-2): 319-325.
- [17] Murthy P, Durco F, Miller-Ocuin JL, et al. The NLRP3 inflammasome and bruton's tyrosine kinase in platelets co-regulate platelet activation, aggregation, and in vitro thrombus formation[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 483(1): 230-236.
- [18] Li Q, Kuang Y, Qiu J, et al. The correlation between plasma tissue factor and interleukin 18 and their significance in patients with acute coronary syndrome[J]. Cardiovasc Toxicol, 2015, 15(3): 276-282.

(此文编辑 许雪梅)