

## · 综述 ·

## 炎症小体与中枢神经系统疾病

杜秀明, 张子腾, 宗英, 余琛琳, 张晓冬, 陆国才 (第二军医大学卫生毒理学教研室, 上海 200433)

**[摘要]** 炎症小体是一蛋白复合物, 能够识别不同刺激信号, 活化后能诱导免疫和炎症应答。NLRP3 炎症小体是中枢神经系统中研究最广泛的炎症小体。小胶质细胞、血管周围的巨噬细胞和脑膜巨噬细胞均能表达炎症小体, 而炎症小体与急性脑部感染、急性无菌性脑损伤、帕金森病和阿尔茨海默病等的发生发展有密切关系。基于炎症小体与中枢神经系统疾病相关的机制探索和靶向药物开发是目前的研究热点。

**[关键词]** 炎症小体; 中枢神经系统; 小胶质细胞; 巨噬细胞; 帕金森病; 阿尔茨海默病

**[中图分类号]** R96 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2016)01-0012-04

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.01.004

## Inflammasome and diseases of central nervous system

DU Xiuming, ZHANG Ziteng, ZONG Ying, YU Chenlin, ZHANG Xiaodong, LU Guocai (Department of Health Toxicology, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**[Abstract]** Inflammasome is the body of protein complex which is able to identify different stimulation signals and can induce immune and inflammatory responses when it is activated. NLRP3 inflammasome has been extensively studied in the central nervous system. Microglia, perivascular macrophages and meningeal macrophages express inflammasomes. The occurrence and development of acute brain infection, aseptic acute brain injury, Parkinson disease and Alzheimer disease are closely related to inflammasomes. Based on mechanisms exploration of the inflammasome's role in the central nervous system disorders, its target drug research and development will be greatly addressed in the future.

**[Key words]** inflammasome; the central nervous system; microglia; macrophages; Parkinson disease; Alzheimer disease

随着人们对神经系统炎症研究的广泛深入, 发现炎症在多种神经系统疾病的发生和发展过程中起重要作用。内源及外源性抗原、创伤、感染等引起的神经系统疾病都可激活或招募免疫细胞, 如小胶质细胞、星型细胞、T 细胞和 B 细胞等, 产生活性氧和细胞因子等, 参与炎症应答。

炎症小体 (inflammasome) 由 Tschopp 研究小组于 2002 年首次提出, 是一蛋白复合物, 能够识别包括病原体编码的病原相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMP) 和损伤相关分子模式 (danger-associated molecular patterns, DAMP) 在内的不同刺激信号, 并通过多个信号通路

诱导免疫和炎症相关基因表达, 从而使机体能抵御各种应激造成的损伤。在刺激信号作用下, 炎症小体形成有活性的二聚体形式, 活化的炎症小体可使无活性的 caspase-1 前体 (pro-caspase-1) 转化为有活性的 caspase-1, 后者可剪切白介素 1 $\beta$  前体 (pro-IL-1 $\beta$ ) 和白介素 18 前体 (pro-IL-18), 形成有活性的 IL-1 $\beta$  和 IL-18, 二者在适应性免疫应答方面具有重要的作用<sup>[1]</sup>。炎症小体还可介导 caspase-1 依赖的炎症性细胞死亡 (pyroptosis)。本文就炎症小体与中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 疾病之间的关系作简要综述。

## 1 CNS 中的炎症小体

炎症小体通常由三大部分组成: ①胞质内模式识别受体 [一般为核苷酸结合寡聚化结构域样受体 (NLR) 家族蛋白或包含 PRIN (pyrin and HIN domain-containing) 家族结构域的蛋白], ②半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 1 (caspase-1), ③链接二者的接头蛋白 (ASC)。NLR 家族蛋白有 20 多个成员, 包括 Nod1、Nod2、cryopyrin (也称作 Nalp3)、Nalp1

**[基金项目]** “重大新药创制”科技重大专项 (2014ZX09J14106); 国家自然科学基金 (81473291、81402651); 上海市自然科学基金 (13ZR144940); 上海市公共卫生重点实验室建设计划 (12GWZX0501)

**[作者简介]** 杜秀明, 硕士研究生. Tel: (021) 81871035; E-mail: duxiuming625888@sina.com

**[通讯作者]** 陆国才, 教授, 博士生导师. 研究方向: 新药临床前安全性. Tel: (021) 81871032; E-mail: newdrug@smmu.edu.cn

和 Ipaf 蛋白等。NLR 家族蛋白也是由三部分组成: N 端结构域、介导自身寡聚化的 NOD 中间结构域、以及具有识别病原分子模式的 C 末端[富含亮氨酸的重复序列 (leucine-rich repeat, LRRs)]。

CNS 中的炎症小体主要有 NLRP3 (NOD-like receptor family, pyrin domain-containing 3)、NLRC4 (NLR Family, CARD domain containing 4)、NLRP1 (NOD-like receptor family, pyrin domain-containing 1) 和 AIM2 (absent in melanoma-2) 4 种炎症小体, 它们可以在神经胶质细胞中被激活, 参与中枢神经系统部分疾病的发生和发展<sup>[2]</sup>。目前, NLRP3 炎症小体是神经系统疾病中研究最广泛的炎症小体, 主要集中在 CNS 中的小胶质星形细胞和小胶质细胞<sup>[3,4]</sup>。CNS 中 NLRP3 炎症小体的激活机制有溶酶体膜损坏破裂、钾离子外流、活性氧等。

## 2 CNS 中表达炎症小体的细胞

神经炎症主要表现为激活的脑内吞噬细胞和其它胶质细胞通过旁分泌途径, 引发神经细胞炎症反应, 进而导致相关神经元损伤<sup>[5]</sup>。尽管目前还不清楚神经炎症发生的详细过程及其影响疾病进程的确切机制, 但确已发现许多急、慢性神经变性疾病均与神经炎症密切相关。

研究表明, CNS 中各种单核吞噬细胞, 包括小胶质细胞、血管周围的巨噬细胞和脑膜的巨噬细胞均能表达炎症小体<sup>[1,4,6]</sup>。小胶质细胞是 CNS 中的主要吞噬细胞, 是神经炎症的主要参与者。在健康的脑组织中, 静息状态的小胶质细胞发挥正常吞噬功能, 当小胶质细胞被激活时, 能清除过多的神经毒素、死亡细胞及细胞碎片, 维持 CNS 的稳态。在大鼠实验中, 受相关刺激, 大鼠小胶质星形细胞能够分泌 NLRP3 和 NLRC4 炎症小体的组件<sup>[6]</sup>。

炎症小体激活后产生的 IL-1 $\beta$  和 IL-18 通过各自的受体 IL-1 $\beta$ R 与 IL-18R 引发核因子- $\kappa$ B (NK- $\kappa$ B) 的依赖性转录。IL-1 $\beta$  是一个关键的炎症促发剂, 它对细胞活化和细胞因子的产生有重要的诱发作用。IL-18 被认为是 T 细胞和自然杀伤细胞的干扰素  $\gamma$  应答中的一个重要的调节器。在 CNS 中, 小胶质细胞、星形胶质细胞和神经元表达受体可以监测这些细胞因子, 从而产生如发热以及神经组织炎症等反应<sup>[7,8]</sup>。

## 3 炎症小体与神经系统疾病

### 3.1 炎症小体与急性脑部感染

急性感染引起的脑膜炎或脑炎可以促使 CNS 内炎症小体的激活。

针对细菌性脑膜炎和肺炎的常见致病菌——肺炎链球菌的研究表明, 在肺炎链球菌诱发的肺炎小鼠模型中, NLRP3 基因敲除小鼠表现出更严重的疾病进程, 这表明 NLRP3 炎症小体对肺炎小鼠具有保护作用<sup>[8]</sup>。

研究表明 IL-1 $\beta$  和 IL-18 对西尼罗河病毒 (West Nile virus, WNV)、A 型流感病毒和单一疱疹病毒引起的病毒性小鼠脑炎模型具有神经保护作用。在这些疾病中, 细胞信号因子转导似乎可以控制毒血症水平, 并且可以促进神经元的生长。在 WNV 感染人群中可以检测到人体内血浆水平 IL-1 $\beta$  因子水平的升高, 并且在敲除 NLRP3 或 ASC 的小鼠模型中 WNV 感染后存活时间减少<sup>[9]</sup>。ASC 基因缺陷的小鼠模型实验表明: WNV 的数量在 ASC 基因敲除小鼠中有所增加, ASC 缺陷导致了剧烈的免疫反应, 加剧了神经元细胞的损伤, 这表明炎症小体在 WNV 感染中起到一定的保护作用<sup>[9]</sup>。

与此相反, 在肺炎链球菌诱发的脑膜炎小鼠模型中, NLRP3 炎症小体的活化和继发的细胞因子反应加重了脑部病变<sup>[10]</sup>。IL-1 $\beta$  或 IL-18 对脑内细菌的生长几乎没有影响, 但却促进了脑内的炎症反应, 在这种情况下炎症小体活化的弊大于利。已报道金黄色葡萄球菌、结核分枝杆菌、嗜肺军团菌可以在体外实验中激活小胶质细胞中特定的炎症小体 (NLRP3 或 NLRC4)<sup>[10]</sup>。

上述结果提示, 炎症反应在细菌或病毒引起的不同疾病中可能发挥不同的作用, 有些有利于疾病的治愈, 有些加重病情, 因此, 在了解病理病因的情况下, 调控炎症小体激活水平可能是一种治疗方法。

### 3.2 炎症小体与急性无菌性脑损伤

先天性中风等急性无菌性颅脑损伤引起的神经组织损伤会引起免疫应答。Caspase-1 缺陷小鼠对缺血性中风损伤起到一定的神经保护作用, 表明炎症小体的活化促进了中风的发展。IL-18 基因敲除小鼠在 CNS 的缺血性损伤中与正常组无明显差异, 但使用白细胞介素 1 受体拮抗剂的大鼠对由局部缺血引起的脑损伤有抵抗性<sup>[11]</sup>, 提示 IL-1 $\beta$  和 IL-1 $\alpha$  在缺血性脑损伤中起作用。有研究表明, 中脑动脉血栓可以激活大鼠神经元表达 NLRP1 和 NLRC5 炎症小体<sup>[12]</sup>, 对啮齿动物脑外伤或中风模型分别使用 ASC 或 NLRP1 抑制剂对损伤神经具有保护作用。因此, 靶向抑制某种炎症小体的活性可以作为治疗急性脑损伤的一种手段。

因神经元表达 NLRP1 炎症小体需由通道蛋白 pannexin1 完成, 可推测急性损伤引起的炎症小体活

化可能涉及 pannexin1 相关信号通路。然而 pannexin 1 基因敲除小鼠在中风模型中较野生型小鼠表现出心肌梗死面积减少、神经功能障碍减轻,但对 IL-1 $\beta$  释放没有影响,可推测 pannexin 1 激活在中风中的作用可能不涉及炎性激活<sup>[13]</sup>。在急性脑损伤中,现有的研究大多集中在通过对炎症小体下游 IL-1 $\beta$  信号通路的调控以达到治疗作用,但是研究炎症小体自身如何在急性脑损伤中激活的机制,特别是在神经元中的激活机制还有待进一步探索。

**3.3 炎症小体与帕金森病** 帕金森病(Parkinson disease, PD)是一种进行性神经变性疾病<sup>[14]</sup>。PD 病理改变以黑质纹状体多巴胺(dopamin, DA)能神经元失能,胞质内出现特征性嗜酸性包涵体——路易小体为特征。其病因及发病机制主要包括环境毒素、感染因素、内生毒素机制、氧化应激和免疫异常等。病理解剖发现 PD 患者黑质中的一氧化氮、活性氧以及致炎细胞因子如肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、IL-1 $\beta$ 、 $\gamma$ -干扰素(interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )的含量较正常者有显著增加。

神经炎症明显促进帕金森病的进展,尤其是小胶质细胞的激活及促炎因子,如 IL-1 $\beta$  等的释放,可加速神经元的损伤和死亡。另一方面,受损或死亡的神经元又可以进一步促进小胶质细胞的炎症反应。Godolo 等<sup>[15]</sup>的研究表明,死亡神经元释放的突触核蛋白( $\alpha$ -synuclein)可激活人外周血单核细胞中的 NLRP3 炎症小体。该蛋白与多种神经退行性病相关,包括帕金森病。在 Lu 等<sup>[16]</sup>的实验中,用 1-甲基-4-苯基吡啶离子(1-methyl-4-phenylpyridinium, MPP)刺激星形胶质细胞可以激活 NLRP3 炎症小体,说明 NLRP3 炎症小体应该参与了 MPP 诱导的帕金森病的进程。

**3.4 炎症小体与阿尔茨海默病** 阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)是一种神经系统退行性疾病,其主要临床表现为进行性认知能力减退、学习和记忆能力障碍等。其病理学特征包括细胞外出现大量老年斑(senile plaques, SPs)、神经原纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFTs)以及突触和神经元缺失等。

最近发现  $\beta$  样淀粉蛋白(Amyloid- $\beta$ , A $\beta$ )可以激活小胶质细胞内的 NLRP3 炎症小体<sup>[2,17]</sup>,并调控促炎因子的切割成熟和随后的炎性反应。更重要的是,已经证明 NLRP3 炎症小体的活化以及其介导的有害的慢性炎症反应在 AD 发病机制中起到关键作用,而在抑制 NLRP3 炎症小体的 AD 小鼠模型中可以观察到小鼠免受空间记忆丧失,并降低 A $\beta$

的沉积。Halle 等首先描述了在 AD 的情况下由 A $\beta$  激活小胶质细胞中的 NLRP3 炎症小体以及 NLRP3 炎症小体介导的 IL-1 $\beta$  的成熟和分泌<sup>[18]</sup>。小胶质细胞吞噬 A $\beta$  的增加可引起胞质溶胶中溶酶体不稳定和组织蛋白酶 B 的释放,而单就溶酶体破裂就可以作为危险内源性信号激活 NLRP3。据报道,由 A $\beta$  活化的 NLRP3 炎症小体可以产生 IL-1 $\beta$ ,这进一步促进了下游小胶质细胞参与的炎症反应和潜在神经毒性因素的积聚<sup>[2,18]</sup>。在 AD 转基因小鼠模型中,一项研究表明 NLRP3 炎症小体的激活在淀粉样变性和神经病理中发挥作用,而且敲除 NLRP3 炎症小体的小鼠可以改善空间记忆障碍的发生,减少 A $\beta$  的沉积<sup>[19]</sup>。

## 4 展望

研究表明<sup>[19]</sup>炎症反应参与了绝大部分 CNS 疾病,且炎症小体在其中起重要作用。可从以下方面进一步研究炎症小体与 CNS 疾病的关系:①深入探索全身炎症反应的机制以及炎症反应所涉及的促炎因子、抑炎因子,为神经系统疾病中炎症小体的研究打下坚实基础;②从建立的经典神经系统疾病动物模型出发,利用临床手段,分析神经炎症的病理生理变化,检测病变组织中异常表达的生物因子,然后利用蛋白组学等手段,分析探讨神经炎症与神经系统疾病的关系;③利用模型动物如基因敲除小鼠,可以为研究神经炎症与神经系统疾病的关系打开广阔的空间。

未来若干年,基于炎症小体与 CNS 关系的研究可能会聚焦于:①NLR 家族成员是否存在活化炎症小体的直接配体;②是否还有其他类型的炎症小体参与;③新型神经系统疾病动物模型的研究;④炎症小体的调节机制及其对神经系统疾病的影响等。

基于炎症小体的 CNS 药物研发方面的热点:①针对 CNS 中炎症小体下游引起炎症通路的联合用药;②针对炎症小体上游靶向给药的研发;③针对 pyroptosis 机制的药物研究。例如,从分子水平揭示调节小胶质细胞在炎症状态下的活化过程和作用机制,可为设计新药提供靶点。抑制促炎因子药物如 IL-1 $\beta$  靶向抑制剂的开发也将会成为辅助治疗神经系统疾病的研究热点。

## 【参考文献】

- [1] de Rivero Vaccari JP, Dietrich WD, Keane RW. Activation and regulation of cellular inflammasomes: gaps in our knowledge for central nervous system injury [J]. J Cereb Blood

- Flow Metab, 2014, 34(3):369-375.
- [2] Heneka MT, Kummer MP, Andrea Stutz, *et al.* NLRP3 is activated in Alzheimer's disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice[J]. Nature, 2013, 493(7434):674-678.
- [3] Weber MD, Frank MG, Tracey KJ, *et al.* Stress induces the danger-associated molecular pattern HMGB-1 in the hippocampus of male Sprague Dawley rats: a priming stimulus of microglia and the NLRP3 inflammasome [J]. J Neurosci, 2015, 35(1):316-324.
- [4] Ying P, Yang CX, Yu ZQ, *et al.* Microglial NLRP3 inflammasome activation mediates IL-1 $\beta$ -related inflammation in prefrontal cortex of depressive rats[J]. Brain Behav Immun, 2014, 41:90-100.
- [5] Cribbs DH, Berchtold NC, Perreau V, *et al.* Extensive innate immune gene activation accompanies brain aging, increasing vulnerability to cognitive decline and neurodegeneration: a microarray study[J]. J Neuroinflammation, 2012, 9:179-196.
- [6] Shao BZ, Wei W, Ke P, *et al.* Activating cannabinoid receptor 2 alleviates pathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis via activation of autophagy and Inhibiting NLRP3 inflammasome [J]. CNS Neurosci Ther, 2014, 20(12):1021-1028.
- [7] Weber MD, Frank MG, Tracey KJ, *et al.* Stress induces the danger-associated molecular pattern HMGB-1 in the hippocampus of male Sprague Dawley rats: a priming stimulus of microglia and the NLRP3 inflammasome [J]. J Neurosci, 2015, 35:316-324.
- [8] Walsh JG, Muruve DA, Paver C. Inflammasomes in the CNS [J]. Nat Rev Neurosci, 2014, 15(2):84-97.
- [9] Kumar M, Roe K, Orillo B, *et al.* Inflammasome adaptor protein apoptosis-associated speck-like protein containing CARD (ASC) is critical for the immune response and survival in West Nile virus encephalitis [J]. Virol, 2013, 87:3655-3667.
- [10] Hoegen T, Tremel N, *et al.* The NLRP3 inflammasome contributes to brain injury in pneumococcal meningitis and is activated through ATP-dependent lysosomal cathepsin B release[J]. J Immunol, 2011, 187:5440-5451.
- [11] Pradillo JM, Denes A, Greenhalgh AD, *et al.* Delayed administration of interleukin-1 receptor antagonist reduces ischemic brain damage and inflammation in comorbid rats[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2012, 32:1810-1819.
- [12] Lupfer C, Kanneganti TD. Unsolved Mysteries in NLR Biology[J]. Front Immunol, 2013, 4:285-294.
- [13] Richter K, Kiefer KP, Grzesik BA, *et al.* Hydrostatic pressure activates ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels in lung epithelium by ATP release through pannexin and connexin hemichannels [J]. FASEB J, 2014, 28(1):45-55.
- [14] Kampen JMV, Baranowski D, Kay DG. Progranulin gene delivery protects dopaminergic neurons in a mouse model of Parkinson's disease[J]. PLoS One, 2014, 9(5):e97032.
- [15] Codolo G, Plotegher N, Pozzobon T, *et al.* Triggering of inflammasome by aggregated  $\alpha$ -synuclein, an inflammatory response in synucleinopathies [J]. PLoS One, 2013, 8(1):e55375.
- [16] Lu M, Sun XL, Qiao C, *et al.* Uncoupling protein 2 deficiency aggravates astrocytic endoplasmic reticulum stress and nod-like receptor protein 3 inflammasome activation[J]. Neurobiology Aging, 2014, 35:421-430.
- [17] Guillot-Sestier MV, Town T. Innate immunity in Alzheimer's disease: a complex affair[J]. CNS Neurol Disord Drug Targets, 2013, 12:593-607.
- [18] Halle A, Hørnung V, Petzold GC, *et al.* The NALP3 inflammasome is involved in the innate immune response to amyloid-beta[J]. Nat Immunol, 2008, 9(8):857-865.
- [19] Tan Ms, Yu JT, Jiang T, *et al.* The NLRP3 inflammasome in Alzheimer's disease[J]. Mol Neurobiol, 2013, 48(3):875-882.
- [收稿日期] 2015-07-09 [修回日期] 2015-10-15  
[本文编辑] 陈静

(上接第7页)

- to a tumor-associated carbohydrate antigen [J]. Chemistry, 2010, 16(4):1319-1325.
- [12] Pan Y, Chefalo P, Nagy N, *et al.* Synthesis and immunological properties of *N*-modified GM3 antigens as therapeutic cancer vaccines [J]. J Med Chem, 2005, 48(3):875-883.
- [13] Fujikawa K, Imamura A, Ishida H, *et al.* Synthesis of a GM3 ganglioside analogue carrying a phytoceramide moiety by intramolecular glycosylation as a key step [J]. Carbohydr Res, 2008, 343(16):2729-2734.
- [14] Ando H, Koike Y, Ishida H, *et al.* Extending the possibility of an *N*-Troc-protected sialic acid donor toward variant sialoglycoside synthesis [J]. Tetrahedron Lett, 2003, 44(36):6883-6.
- [15] Ando H, Ishida H, Kiso M, *et al.* A synthetic approach to the *c*-series gangliosides containing sialyl- $\alpha$  (2 $\rightarrow$ 8) sialyl- $\alpha$  (2 $\rightarrow$ 8) sialic acid; Synthesis of ganglioside GT4,  $\alpha$  (2 $\rightarrow$ 6) GT4 and GT3[J]. Carbohydr Res, 1997, 300(3):207-217.
- [16] Kameyama A, Ishida H, Kiso M, *et al.* Stereoselective synthesis of sialyl-lactotetraosylceramide and sialylneo-lactotetraosylceramide [J]. Carbohydr Res, 1990, 200:269-285.
- [17] Sun B, Jiang H. Total synthesis of dansyl and biotin functionalized ganglioside GM3 by chemoenzymatic method [J]. Sci China Chem, 2013, 56(7):933-938.
- [18] Sun B, Jiang H. An efficient approach for total synthesis of aminopropyl functionalized ganglioside GM1b [J]. Tetrahedron Lett, 2012, 53(42):5711-5715.
- [19] Sun B, Yang B, Huang X. Total synthesis of the aminopropyl functionalized ganglioside GM1 [J]. Sci China Chem, 2012, 55(1):31-35.
- [收稿日期] 2014-12-03 [修回日期] 2015-03-27  
[本文编辑] 陈静