

细胞焦亡与动脉粥样硬化

宋辉辉 孙瑞红

150001 哈尔滨医科大学附属第一医院神经内科

通信作者: 孙瑞红, Email: sunruihong119@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2019.04.022

【摘要】 动脉粥样硬化是缺血性心血管疾病的重要病因之一, 炎症和细胞死亡在其发生发展过程中发挥重要作用。而细胞焦亡是一种促炎性细胞程序性死亡。最近的研究表明, 内皮细胞、巨噬细胞及平滑肌细胞的焦亡加速了动脉粥样硬化进程。因此更好地了解细胞焦亡可能为预防和治疗动脉粥样硬化相关疾病提供新方法。现就细胞焦亡与动脉粥样硬化的关系作一综述。

【关键词】 动脉粥样硬化; 细胞焦亡; 综述

基金项目: 黑龙江省科研计划项目(201602)

Pyroptosis and atherosclerosis Song Huihui, Sun Ruihong

Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China

Corresponding author: Sun Ruihong, Email: sunruihong119@163.com

【Abstract】 Atherosclerosis is one of the most essential causes of ischemic vascular disease, while inflammation and cell death play an important role during its development. Pyroptosis is a programmed pro-inflammatory cell death process. Recent studies have shown that the pyroptosis of endothelial cells, macrophages and smooth muscle cells accelerates the progress of atherosclerosis. Therefore, It may provide us a new method for the prevention and treatment of atherosclerosis-related diseases to have a better understanding of pyroptosis. This article aims at reviewing the relationship between pyroptosis and atherosclerosis..

【Key words】 Atherosclerosis; Pyroptosis; Review

Fund program: Heilongjiang Provincial Research Project (201602)

动脉粥样硬化(atherosclerosis)是一种严重危害中老年人健康的慢性疾病,其发病机制复杂。动脉粥样硬化通常被认为是由于脂质代谢紊乱引起的动脉壁慢性炎性病变。动脉粥样硬化病变中所有主要细胞类型均发生细胞死亡,并且影响动脉粥样硬化的进程。模式识别受体介导的炎症在脂蛋白异常引起的动脉粥样硬化中起重要作用。细胞焦亡又称细胞炎性坏死,是一种模式识别受体介导的细胞死亡方式^[1]。

一、动脉粥样硬化与细胞死亡

动脉粥样硬化是心脑血管疾病的重要病理基础。近几十年来,动脉粥样硬化的发病率急剧增加,并对人类健康造成严重危害。其特征是弹性动脉内膜中纤维组织和脂质的沉积,导致血栓形成、血管壁增厚和硬化导致的结构损伤^[2]。

动脉粥样硬化的炎性本质已经被以下几项发现所证实:(1)动脉粥样硬化斑块中存在以巨噬细胞为

主的炎性细胞浸润,并且这些细胞的数量与疾病严重程度相关;(2)动脉粥样硬化各阶段均有炎性因子和趋化因子的存在;(3)心血管疾病与血清炎性标志物之间有明显的关联^[3]。

细胞死亡和炎症机制已成为动脉粥样硬化研究的热点。许多研究小组致力于揭示动脉硬化病变中细胞死亡和炎症之间的联系。在动脉粥样硬化的发展过程中通常观察到内皮细胞(endothelial cell)、巨噬细胞、平滑肌细胞(smooth muscle cell)和其他类型的血管细胞的死亡^[1]。以往研究认为动脉粥样硬化与细胞凋亡密切相关。然而,凋亡的参与者半胱氨酸依赖性天冬氨酸特异性蛋白酶(caspase)-3,在动物及人类晚期动脉硬化病变中很少被激活。细胞凋亡是由基因控制的细胞自主地有序的死亡。在机体的发育、生长过程中,凋亡可以清除多余的、失去功能的、受损的、突变的或者衰老的细胞,在维持内环境稳定、器官和组织形成中发挥了重要的作用。从

理论上来说,如果动脉粥样硬化病变中的细胞发生细胞凋亡后死亡,应该没有炎症发生,然而动脉粥样硬化斑块内可见大量炎性细胞。而且,电镜研究发现,大多数动脉粥样硬化斑块中死亡细胞的超微结构及细胞溶解方式不同于细胞凋亡。更重要的是,靶向敲除 caspase-3 或 p53(诱导凋亡)并未改善动脉粥样硬化病变。最近的研究表明,细胞焦亡可能与动脉粥样硬化有关,并在促进动脉粥样硬化病变不稳定中发挥重要作用。

二、细胞焦亡

细胞焦亡(pyroptosis)是 caspase 激活的消皮素 D (gasdermin D)介导的炎性程序性细胞死亡。其特点是迅速的质膜破裂,随之释放细胞内物质和促炎介质,包括白细胞介素(IL)-1 β 、IL-18 和高迁移率族蛋白 B1(high mobility group box-1 protein 1, HMGB-1)。

细胞焦亡和细胞凋亡由不同的 caspase 介导。细胞凋亡由凋亡 caspase(caspase-2、3、6、7、8、9 和 10)介导。细胞焦亡由炎性 caspase(caspase-1、4、5、11、12)介导^[4]。

细胞焦亡分为 caspase-1 依赖性和 caspase-1 非依赖性。Caspase-1 依赖性的细胞焦亡途径中,病原相关模式分子或损伤相关模式分子激活炎性小体,进而活化 caspase-1, caspase-1 直接裂解消皮素 D 及促进 IL-1 β 和 IL-18 的成熟。Caspase-1 非依赖性的细胞焦亡途径中,脂多糖激活 caspase-4/5(人细胞中)及 caspase-11(小鼠细胞中)直接裂解消皮素 D。消皮素 D 的裂解产生的 N 末端可以介导 IL-1 β 和 IL-18 的胞外分泌,还可以驱动 caspase-1 依赖性 NLRP3 炎性小体的激活。IL-1 β 是炎症、血管扩张和免疫细胞外渗的有效诱导剂,但也具有形成适应性免疫应答的作用。IL-18 促进 TH1 细胞、NK 细胞和细胞毒性 T 细胞中干扰素(IFN)- γ 的产生,促进 TH2 细胞的发育,并促进局部炎症^[5]。

NLRP3 炎性小体和 caspase-1 是细胞焦亡传导通路的主要组成部分,是动脉粥样硬化相关的炎性标志物,并且可以极大地影响动脉粥样硬化的进展^[2]。大量实验发现,与对照组样本相比,NLRP3 炎性小体相关成分(即 ASC, caspase-1, IL-1 β 和 IL-18)和 caspase-1 在动脉粥样硬化病变组织的巨噬细胞和脂质核心表达增高,并且与病变严重程度和动脉粥样硬化危险因素相关^[6-9]。

三、细胞焦亡与动脉粥样硬化

1. 内皮细胞的焦亡可促进动脉粥样硬化早期病变中的单核细胞向内膜和血管炎症处募集: 排列在

血管壁内表面的内皮细胞是第一个接触循环系统中与代谢相关的内源性危险信号的细胞^[10]。单核细胞对炎性内皮细胞的黏附、结合及向内膜的迁移在动脉粥样硬化的初始阶段起着至关重要的作用。动脉粥样硬化早期,激活的内皮细胞可以表达 P-选择素、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)和血管细胞黏附分子-1(VCAM-1),这对于吸引单核细胞和其他炎性细胞的募集至关重要^[2]。据报道,经促动脉粥样硬化脂质处理 24 h 后,内皮细胞中 NLRP1、NLRP3、caspase-1 和 IL-1 β 转录物表达显著增高,表明在内皮细胞中这些脂质诱导 caspase-1 活化和细胞焦亡^[11]。有研究报道,载脂蛋白 E 基因缺失(apoE^{-/-})小鼠高脂肪饮食喂养 3 周后,单核细胞被募集到动脉内膜中,并且 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达分别增加了 17.8 倍和 3.5 倍,但在喂食相同饮食的 apoE^{-/-} caspase-1^{-/-} 小鼠中,分别只增加了 2 倍和 1.5 倍。这提示在高脂刺激下, caspase-1 的激活促进内皮细胞的活化,引起内皮细胞的焦亡,增加内皮细胞黏附分子 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达,增加内皮细胞对单核细胞的黏附。另外,在动脉粥样硬化发病时,如果内皮细胞中 caspase-1 炎性通路受到抑制,内皮细胞中 caspase-1 依赖性细胞焦亡减弱,外周血单核细胞便不会被招募到内膜中^[12]。并且抑制单核细胞募集可以清除 apoE^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化斑块中的巨噬细胞^[13]。这表明 caspase-1 可能通过激活内皮细胞促进单核细胞向内膜的迁移。有研究证实, apoE^{-/-} 小鼠的内皮活化、炎症和早期动脉粥样硬化可以被 caspase-1 的消融所抑制,证实 caspase-1 在动脉粥样硬化相关疾病进展中起着关键作用,细胞焦亡通过加剧炎症参与动脉粥样硬化病变的发展^[14-15]。总之,动脉粥样硬化形成的早期阶段,内皮细胞中的 caspase-1-炎性小体途径可以感知与动脉粥样硬化相关的风险因子,引起内皮细胞焦亡,使内膜完整性受损,通透性增加,导致更多的脂质、单核细胞和平滑肌细胞迁移和沉积到内膜中,并进一步损伤脉管系统^[2]。

2. 巨噬细胞的焦亡可促进动脉粥样硬化晚期病变中的坏死核心形成和斑块不稳定增加: 易损斑块的特征在于死亡细胞的积累,尤其是巨噬细胞和平滑肌细胞。在晚期动脉粥样硬化斑块中,高达 50% 的死亡细胞是巨噬细胞,巨噬细胞死亡可能促进坏死核心扩张和斑块不稳定性增加^[2]。内皮通透性和内皮下细胞外基质组成的变化促进了低密度脂蛋白(LDL)在动脉壁的进入和滞留。LDL 转化为氧化

低密度脂蛋白(ox-LDL),并促进动脉粥样硬化的发展^[12]。最近有研究表明^[16],ox-LDL和胆固醇晶体可以触发NLRP3炎性小体和caspase-1的产生,并导致巨噬细胞中caspase-1介导的IL-1 β 和IL-18的激活。结合两个小干扰RNA(siRNAs)来抑制THP-1巨噬细胞中NLRP3受体(NLRP3炎性小体的关键组成部分)的表达,使NLRP3表达降低72%,并且NLRP3基因的沉默完全消除了胆固醇晶体诱导的IL-1 β 分泌。然而,在阴性对照siRNA转染的细胞中没有观察到对NLRP3表达和IL-1 β 分泌的明显抑制。此外,Rajamäki等^[17]发现胆固醇晶体可触发人类巨噬细胞中的NLRP3炎性小体活化,加速apoE^{-/-}鼠动脉粥样硬化的发展。因此,胆固醇晶体引起的炎性小体的激活可能是动脉粥样硬化炎症的关键触发因素^[2]。以往研究已详细描述了炎性小体-caspase-1介导的细胞焦亡促进病变不稳定的作用。在急性冠脉综合征患者中,NLRP3炎性小体与冠状动脉粥样硬化的严重程度和预后相关^[18]。有研究观察到NLRP3炎性小体定位于泡沫细胞和巨噬细胞的细胞质中,颈动脉内膜剥脱术患者颈动脉粥样硬化斑块中NLRP3、ASC、caspase 1、IL-1 β 和IL-18表达增多;与稳定的斑块相比,这些分子在不稳定斑块中的表达更多^[9]。研究表明,NLRP3-caspase-1通路参与了ox-LDL诱导的人巨噬细胞溶解、DNA破碎以及IL-1 β 和IL-18的产生,并且对NLRP3炎性小体(NLRP3^{-/-}、ASC^{-/-}或caspase-1^{-/-})的单个成分的靶向破坏能显著地保护小鼠免受动脉粥样硬化性疾病的侵袭^[19]。动脉粥样硬化晚期,巨噬细胞吞噬胆固醇晶体后,如果不能消化晶体便发生细胞焦亡,然后另一个巨噬细胞吞噬相同的晶体也发生细胞焦亡,大量焦亡细胞释放促炎细胞因子和介质导致炎症加剧,并最终促进病变不稳定性增加^[1]。细胞因子和介质也可以引发泡沫细胞的细胞焦亡,从而在晚期病变中形成富含脂质的池,称为斑块的坏死核心。此外,促炎细胞因子和介质对促动脉粥样硬化危险因素如ox-LDL和胆固醇晶体的反应依赖于caspase-1,表明细胞焦亡可能参与晚期动脉粥样硬化病变的巨噬细胞死亡,进而促进病变中的坏死核心形成和斑块不稳定性增加。

3.平滑肌细胞焦亡可以促进动脉粥样硬化病变中的纤维帽不稳定性增加:平滑肌细胞是动脉粥样硬化病变的主要细胞成分,被认为是血管疾病发展的关键。动脉粥样硬化的形成涉及平滑肌细胞从动脉壁中间层向内膜中的聚集,而内膜中的平滑肌细

胞的积聚是动脉粥样硬化的一个关键事件。在内膜中,平滑肌细胞产生细胞外基质分子,包括间质胶原和弹性蛋白,并形成覆盖斑块的纤维帽。因此,apoE^{-/-}鼠动脉粥样硬化斑块中平滑肌细胞的死亡持续可导致纤维帽明显变薄、胶原和基质丧失以及严重的血管炎症,这会导致斑块不稳定性增加。研究表明,内膜中ox-LDL阳性细胞的数量与平滑肌细胞死亡的易感性显著相关,低浓度的ox-LDL通过触发平滑肌细胞向促炎表型的转变、破坏平滑肌细胞中收缩蛋白的表达以及促进促炎分子的表达来激活动脉粥样硬化信号^[20]。高浓度的ox-LDL具有细胞毒性^[13]。Tangi等^[21]发现TNF- α 等细胞因子通过调节IL-1 β 和NLRP3基因的表达来调节人血管平滑肌细胞的炎性小体的启动,抑制平滑肌细胞中的NLRP3可以降低IL-1 β 的激活和分泌。综上,我们推测ox-LDL可能激活平滑肌细胞中caspase-1-炎症通路,导致平滑肌细胞发生焦亡,焦亡的平滑肌细胞释放促炎细胞因子,如IL-1 β 和IL-18,并通过促进胶原和基质的减少引起纤维帽不稳定性增加,从而导致炎症持续、动脉粥样硬化恶化,以及促进斑块不稳定或糜烂^[2]。

四、小结与展望

细胞焦亡是一种炎性程序性细胞死亡,可能与动脉粥样硬化的发展密切相关。一方面,内皮细胞中的caspase-1-炎性小体途径可以感知升高的脂质或炎症,促进内皮细胞激活,并引起内皮细胞的细胞焦亡。焦亡的内皮细胞可以释放黏附分子,吸引单核细胞和其他炎性细胞向内膜募集,这在动脉粥样硬化的初始阶段起着重要作用。Ox-LDL和胆固醇晶体可以触发NLRP3炎性小体和caspase-1,并最终导致病变巨噬细胞的焦亡。巨噬细胞的焦亡可促进动脉粥样硬化晚期病变中的坏死核心形成和斑块不稳定性增加。Ox-LDL激活平滑肌细胞中的caspase-1-炎性小体通路,导致平滑肌细胞发生焦亡,并且焦亡的平滑肌细胞释放促炎细胞因子,使纤维帽胶原蛋白和基质的减少,并导致炎症加剧及动脉粥样硬化的恶化,进而促进斑块不稳定性增加。

细胞焦亡相关研究表明,抑制炎性小体或caspase-1可能成为预防和治疗动脉粥样硬化和血管炎症的新型治疗方法。然而,我们对细胞焦亡在动脉粥样硬化形成中的作用的理解仍然有限。细胞焦亡促进动脉粥样硬化机制的进一步阐明及相关靶向药物的研发,将为动脉粥样硬化的治疗带来新的希望。

利益冲突 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突

作者贡献声明 文章撰写为宋辉辉, 论文修订为宋辉辉、孙瑞红, 孙瑞红审校

参 考 文 献

- [1] Chang W, Lin J, Dong J, et al. Pyroptosis: an inflammatory cell death implicates in atherosclerosis[J]. *Med Hypotheses*, 2013, 81(3): 484-486. DOI: 10.1016/j.mehy.2013.06.016.
- [2] Xu YJ, Zheng L, Hu YW, et al. Pyroptosis and its relationship to atherosclerosis[J]. *Clin Chim Acta*, 2018, 476: 28-37. DOI: 10.1016/j.cca.2017.11.005.
- [3] Karasawa T, Takahashi M. Role of NLRP3 Inflammasomes in Atherosclerosis[J]. *J Atheroscler Thromb*, 2017, 24(5): 443-451. DOI: 10.5551/jat.RV17001.
- [4] Yin Y, Pastrana JL, Li X, et al. Inflammasomes: sensors of metabolic stresses for vascular inflammation[J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2013, 18: 638-649.
- [5] Man SM, Karki R, Kanneganti TD. Molecular mechanisms and functions of pyroptosis, inflammatory caspases and inflammasomes in infectious diseases[J]. *Immunol Rev*, 2017, 277(1): 61-75. DOI: 10.1111/imr.12534.
- [6] Zheng F, Xing S, Gong Z, et al. NLRP3 inflammasomes show high expression in aorta of patients with atherosclerosis [J]. *Heart Lung Circ*, 2013, 22(9): 746-750. DOI: 10.1016/j.hlc.2013.01.012.
- [7] Zheng F, Gong Z, Xing S, et al. Overexpression of caspase-1 in aorta of patients with coronary atherosclerosis[J]. *Heart Lung Circ*, 2014, 23(11): 1070-1074. DOI: 10.1016/j.hlc.2014.04.256.
- [8] Paramel Varghese G, Folkersen L, Strawbridge RJ, et al. NLRP3 Inflammasome Expression and Activation in Human Atherosclerosis [J]. *J Am Heart Assoc*, 2016, 5(5).pii: e003031. DOI: 10.1161/JAHA.115.003031.
- [9] Shi X, Xie W, Kong W, et al. Expression of the NLRP3 Inflammasome in Carotid Atherosclerosis[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2015, 24(11): 2455-2466. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.03.024.
- [10] Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis[J]. *Nature*, 2011, 473(7347): 317-325. DOI: 10.1038/nature10146.
- [11] Yin Y, Li X, Sha X, et al. Early hyperlipidemia promotes endothelial activation via a caspase-1-sirtuin 1 pathway[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(4): 804-816. DOI: 10.1161/ATVBAHA.115.305282.
- [12] Lopez-Pastrana J, Ferrer LM, Li YF, et al. Inhibition of Caspase-1 Activation in Endothelial Cells Improves Angiogenesis: A NOVEL THERAPEUTIC POTENTIAL FOR ISCHEMIA[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(28): 17485-17494. DOI: 10.1074/jbc.M115.641191.
- [13] Potteaux S, Gautier EL, Hutchison SB, et al. Suppressed monocyte recruitment drives macrophage removal from atherosclerotic plaques of Apoe -/- mice during disease regression [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(5): 2025-2036. DOI: 10.1172/JCI43802.
- [14] Rayner KJ. Cell Death in the Vessel Wall: The Good, the Bad, the Ugly[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37(7): e75-e81. DOI: 10.1161/ATVBAHA.117.309229.
- [15] Hoseini Z, Sepahvand F, Rashidi B, et al. NLRP3 inflammasome: Its regulation and involvement in atherosclerosis [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(3): 2116-2132. DOI: 10.1002/jcp.25930.
- [16] Duewell P, Kono H, Rayner KJ, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals[J]. *Nature*, 2010, 464: 1357-1361.
- [17] Rajamäki K, Lappalainen J, Oörni K, et al. Cholesterol crystals activate the NLRP3 inflammasome in human macrophages: a novel link between cholesterol metabolism and inflammation [J]. *PLoS One*, 2010, 5(7): e11765. DOI: 10.1371/journal.pone.0011765.
- [18] Afrasyab A, Qu P, Zhao Y, et al. Correlation of NLRP3 with severity and prognosis of coronary atherosclerosis in acute coronary syndrome patients[J]. *Heart Vessels*, 2016, 31(8): 1218-1229. DOI: 10.1007/s00380-015-0723-8.
- [19] Lin J, Shou X, Mao X, et al. Oxidized low density lipoprotein induced caspase-1 mediated pyroptotic cell death in macrophages: implication in lesion instability?[J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e62148. DOI: 10.1371/journal.pone.0062148. e62148.
- [20] Kiyani Y, Tkachuk S, Hilfiker-Kleiner D, et al. oxLDL induces inflammatory responses in vascular smooth muscle cells via urokinase receptor association with CD36 and TLR4 [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 66: 72-82. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2013.11.005.
- [21] Tangi TN, Elmabsout AA, Bengtsson T, et al. Role of NLRP3 and CARD8 in the regulation of TNF- α induced IL-1 β release in vascular smooth muscle cells[J]. *Int J Mol Med*, 2012, 30(3): 697-702. DOI: 10.3892/ijmm.2012.1026.

(收稿日期: 2019-02-23)

(本文编辑: 戚红丹)