

NLRP3 炎症小体抑制剂研究进展

何鸿宾, 江 维

(中国科学技术大学生命科学学院, 安徽合肥 230027)

摘要: NLRP3 是一种重要的胞内模式识别受体, 可以与 ASC 及 pro-caspase-1 形成炎症小体, 促进 IL-1 β 和 IL-18 等炎性介质的成熟和分泌, 从而促进炎症反应. NLRP3 炎症小体活化失调与多种人类重大疾病密切相关, 如痛风、动脉粥样硬化、神经退行性疾病和 2 型糖尿病等. 因此 NLRP3 炎症小体是上述疾病的潜在干预靶点, 许多 NLRP3 炎症小体抑制剂对相关疾病表现出良好的预防或者治疗效果. 本文对 NLRP3 炎症小体抑制剂最近的研究进展进行简要综述.

关键词: NLRP3 炎症小体; 疾病; NLRP3 炎症小体抑制剂

中图分类号: R364.5 **文献标识码:** A **doi:** 10.3969/j.issn.0253-2778.2018.10.006

引用格式: 何鸿宾, 江维. NLRP3 炎症小体抑制剂研究进展[J]. 中国科学技术大学学报, 2018, 48(10):801-809.
HE Hongbin, JIANG Wei. Research advance of NLRP3 inflammasome inhibitor[J]. Journal of University of Science and Technology of China, 2018, 48(10):801-809.

Research advance of NLRP3 inflammasome inhibitor

HE Hongbin, JIANG Wei

(School of Life Sciences, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China)

Abstract: NLRP3 is an important intracellular pattern recognition receptor, which can form inflammasome with ASC and pro-caspase-1. Formation of NLRP3 inflammasome leads to maturity and secretion of inflammatory cytokines, such as IL-1 β and IL-18, and then causes the inflammation. Dysregulation of NLRP3 inflammasome is associated with several human diseases, such as gout, atherosclerosis, neurodegenerative diseases and type 2 diabetes, so NLRP3 inflammasome is a potential target for treatment of those diseases, and several NLRP3 inflammasome inhibitors have shown preventive or therapeutic effects on NLRP3-driven diseases. In this paper the recent research advance of NLRP3 inflammasome inhibitor was briefly reviewed.

Key words: NLRP3 inflammasome; disease; NLRP3 inflammasome inhibitor

收稿日期: 2018-08-01; **修回日期:** 2018-09-06

基金项目: 国家自然科学基金优秀青年科学基金(81722022), 国家重大科学研究计划青年科学家专项项目(2014CB910800)资助.

作者简介: 何鸿宾, 男, 1989 年生, 博士生. 研究方向: 固有免疫. E-mail: hhb123@ustc.edu.cn

通讯作者: 江维, 教授, 博士生导师. 2007 年于中国科学技术大学获得理学博士学位. 2007~2011 年于瑞士 Ludwig 肿瘤学研究所从事博士后研究. 长期致力于探究模式识别受体在固有免疫识别、信号转导及相关疾病中的作用和机制. 以(共)第一作者/通讯作者在 Cell, Nature Immunology, Immunity, Journal of Experimental Medicine, The Journal of Immunology 等国际期刊上发表多篇研究论文. 2013 年入选教育部“新世纪优秀人才支持计划”, 2017 年获得国家自然科学基金委优秀青年科学基金项目, 2019 年入选中组部“万人计划”科技创新领军人才. E-mail: ustcjw@ustc.edu.cn



0 引言

固有免疫是机体抵抗外来威胁的第一道防线,对于维持机体稳态至关重要.固有免疫系统主要通过一系列模式识别受体(PRR)来识别病原体的保守结构,即病原相关分子模式(PAMPs)和危险相关分子模式(DAMPs)^[1].其中一些模式识别受体可以募集下游的接头蛋白形成一种叫作炎症小体(Inflammasome)的复合物,促进 IL-1 β 和 IL-18 等炎性介质的成熟和分泌,引起炎症反应的发生^[2].目前研究较多的炎症小体主要有 NLRP1, NLRP3, NLRC4, NLRP6, AIM2 以及 Pyrin 炎症小体^[3].与其他炎症小体不同, NLRP3 炎症小体不仅能够识别病毒或细菌等病原微生物,也能识别多种危险信号,例如胆固醇结晶、尿酸盐结晶、 β 淀粉样肽、神经酰胺和棕榈酸酯等.这表明 NLRP3 炎症小体不仅在机体抵抗病原体入侵方面发挥重要作用,还参与多种炎症相关疾病的发生发展,例如痛风、2 型糖尿病、动脉粥样硬化以及神经退行性疾病等^[4].对 *Nlrp3*^{-/-} 小鼠和细胞研究也证实 NLRP3 在炎症性疾病、癌症、代谢紊乱等人类重大疾病中发挥重要作用^[5].靶向抑制 NLRP3 炎症小体是治疗相关疾病的新思路,目前已经有许多 NLRP3 炎症小体抑制剂在相关疾病动物模型上表现出良好的预防或者治疗效果,提示 NLRP3 炎症小体抑制剂可以作为治疗相关疾病的候选药物^[6].本文将对 NLRP3 炎症小体抑制剂相关研究进行简要综述,希望对治疗 NLRP3 相关疾病的药物研发提供帮助.

1 NLRP3 炎症小体

NLRP3 炎症小体由 NLRP3, ASC 以及 pro-caspase-1 组成.在激动剂的作用下, NLRP3 招募接头蛋白 ASC,通过 ASC 结合 pro-caspase-1,形成 NLRP3 炎症小体.活化的 NLRP3 炎症小体剪切 pro-caspase-1 为具有酶活性的 caspase-1, caspase-1 一方面促进 IL-1 β 和 IL-18 的成熟和分泌,另一方面剪切 GSDMD 引起细胞焦亡^[7].

外源病原相关分子模式和内源危险相关分子模式都可以导致 NLRP3 炎症小体活化,因此 NLRP3 炎症小体不仅在机体抵抗外来威胁过程中发挥功能,在消除机体异常状态的过程中也起重要作用^[8].

由于 NLRP3 炎症小体活化剂的多样性,导致 NLRP3 炎症小体活化过程较为复杂,目前关于

NLRP3 炎症小体活化的具体机制还不清楚.一般认为 NLRP3 炎症小体活化需要两个过程:预处理过程和活化过程^[9].预处理过程主要是通过 TLRs 活化 NF- κ B 信号通路,引起 pro-IL-1 β 和 NLRP3 的表达上调.炎症小体活化过程是指在激动剂的作用下,通过一系列级联信号,引起 NLRP3 炎症小体组装和活化的过程^[10].目前关于 NLRP3 炎症小体的活化机制存在三种假说:活性氧(ROS)假说、钾离子外流假说以及溶酶体破碎假说^[10].

许多 NLRP3 炎症小体活化剂能够诱导活性氧产生,通过抑制活性氧产生以及促进活性氧清除可以抑制 NLRP3 炎症小体活化^[11].本实验室之前的研究发现,刺激剂能够引起线粒体损伤,进而导致线粒体活性氧增多,过多的线粒体活性氧导致 TXNIP 活化,活化的 TXNIP 与 NLRP3 结合,介导炎症小体活化^[12-13].但是也有一些能够诱导活性氧产生的物质,如 TNF α ,不能诱导 NLRP3 炎症小体活化^[14].

钾离子外流被认为是炎症小体活化的早期信号,许多 NLRP3 炎症小体活化剂在活化 NLRP3 炎症小体的过程中都伴随着钾离子外流,通过提高胞外钾离子浓度抑制钾离子外流可以抑制 NLRP3 炎症小体活化,另外用不含钾离子的培养基促进胞内钾离子外流可以诱导 NLRP3 炎症小体活化,说明钾离子外流在 NLRP3 炎症小体活化过程中起重要作用^[15].但是有研究发现,GB111-NH2 和 CL097 诱导 NLRP3 炎症小体活化不依赖钾离子外流,而是依赖线粒体活性氧^[16-17].

大的结晶样物质通过胞吞作用进入细胞内,当吞噬溶酶体不能将其降解时,会导致溶酶体破裂,使其中的组织蛋白酶 B 释放到胞质中,进而引起 NLRP3 炎症小体活化^[18-19].虽然组织蛋白酶抑制剂 CA-074-Me 可以抑制 NLRP3 炎症小体活化,但是组织蛋白酶 B 缺陷后,并不影响结晶样物质所诱导的 NLRP3 炎症小体活化^[20].有研究认为,溶酶体破碎后,在释放组织蛋白酶的同时,会导致钾离子外流,从而引起 NLRP3 炎症小体活化^[15].溶酶体破裂在结晶样物质活化 NLRP3 炎症小体过程中起重要作用,但具体机制还需要进一步探究.

上述三种假说都有一定的理论依据,并且能够解释一些活化剂诱导炎症小体活化的机制.但是不可否认,三者都有一定的局限性,并不能解释所有活化剂诱导 NLRP3 炎症小体活化的机制.

离子流动在 NLRP3 炎症小体活化过程中起非常重要的作用,除钾离子外流之外, Ca^{2+} , Cl^- 流动在其中也扮演重要角色.有文献报道, Ca^{2+} 螯合剂可以抑制 NLRP3 炎症小体活化, Ca^{2+} 通道蛋白如 TRPM2 缺陷后, NLRP3 炎症小体活化显著降低^[21-22].本实验室之前的研究发现,氯离子抑制剂 IAA94 能够抑制 NLRP3 炎症小体活化,不含氯离子的培养基可以通过促进氯离子外流引起 NLRP3 炎症小体活化,进一步进行机制探究发现,氯离子外流位于钾离子外流和线粒体损伤的下游,通过促进 NEK7-NLRP3 相互作用进而引起 NLRP3 炎症小体组装和活化^[23].

三项独立的研究^[24-26]发现, NEK7 在 NLRP3 炎症小体活化过程中起重要作用, NEK7 缺陷之后 NLRP3 炎症小体活化明显减弱,进一步机制探究发现, NEK7 可以与 NLRP3 结合,促进 NLRP3-ASC 相互作用,启动炎症小体组装,引起炎症小体活化, NEK7 缺陷之后 NLRP3 炎症小体相关疾病明显缓解,提示 NEK7 可以作为治疗 NLRP3 相关疾病的靶点.

NLRP3 炎症小体活化是一个复杂的过程,其中涉及蛋白的转录翻译、翻译后修饰以及蛋白与蛋白之间的相互作用等^[8].总之,虽然关于 NLRP3 炎症小体活化过程的研究已经取得了一定进展,但具体活化机制还不清楚,需要继续研究.

2 NLRP3 炎症小体与疾病

NLRP3 炎症小体活化可以诱导机体产生炎症反应,清除病原体,维持机体健康,但是 NLRP3 炎症小体的过度活化会导致多种疾病发生.

Cryopyrin 蛋白相关周期性综合征(CAPS)是由于 NLRP3 发生突变引起的自身免疫性疾病, NLRP3 突变引起炎症小体持续活化,炎性细胞因子大量分泌,导致疾病发生^[27].另外 NLRP3 炎症小体的过度活化还与许多其他自身免疫性疾病相关,如多发性硬化症、类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、白塞病等^[28].

长期处于含有大的粉尘颗粒(如石棉或二氧化硅)的环境中会导致肺炎、肺纤维化甚至肺癌.石棉或者二氧化硅等进入肺内后,可以通过诱导活性氧产生活化 NLRP3 炎症小体,进而导致炎性细胞因子分泌,促进炎症发生,当 NLRP3 缺陷以后,石棉引起的炎症明显减弱,提示 NLRP3 炎症小体在粉

尘颗粒导致肺部疾病的过程中起重要作用^[29].

痛风是由于尿酸盐在关节部位沉积引起的炎症性疾病.研究发现尿酸盐结晶(MSU)可以活化 NLRP3 炎症小体, NLRP3 缺陷之后, MSU 诱导的关节炎和腹膜炎明显缓解,提示 NLRP3 炎症小体在痛风发生发展过程中扮演重要角色^[30].

阿尔兹海默症(AD)是严重威胁人类健康的一种神经退行性疾病,一个主要特征是 β 淀粉样肽沉积.研究发现, β 淀粉样肽可以通过溶酶体破碎方式活化 NLRP3 炎症小体,当 NLRP3 缺陷之后, AD 的发病情况明显减轻^[31-32].

帕金森病(PD)是一种老年人多发的神经退行性疾病,发病过程伴随着 α -突触核蛋白(α Syn)在神经元中聚集.有研究发现, α Syn 可以活化 NLRP3 炎症小体,且 NLRP3 缺陷后, 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP)诱导的 PD 发病情况明显缓解,提示 NLRP3 在其中起重要作用^[33-34].

另外有研究发现, NLRP3 炎症小体在其他神经相关疾病的发生发展过程中也扮演着重要的角色,如缺血性中风、出血性中风、癫痫以及抑郁症等^[35].

许多慢性疾病的发生发展过程中都伴随着慢性炎症,越来越多的研究表明 NLRP3 炎症小体在这些疾病中扮演着重要角色.

动脉粥样硬化(AS)是一种以脂质沉积、白细胞浸润和血管平滑肌细胞增殖为特征的慢性炎症性疾病,一个主要特征是炎性巨噬细胞浸润,发病过程伴随着胆固醇结晶的沉积^[36].研究发现,动脉粥样硬化早期就存在胆固醇结晶沉积,胆固醇结晶能够通过溶酶体破碎途径活化 NLRP3 炎症小体,当 NLRP3 缺陷后,胆固醇结晶诱导的腹膜炎和动脉粥样硬化的发病情况明显改善,提示靶向抑制 NLRP3 炎症小体活化可以用于治疗动脉粥样硬化^[37].

肥胖是目前困扰现代人的社会问题之一,长期处于肥胖状态会导致许多疾病如 2 型糖尿病发生.有研究发现,虽然没有感染以及自体抗原介导的免疫反应,肥胖过程中却伴随着炎症发生^[38].随着研究的深入,人们发现 NLRP3 炎症小体在其中扮演着重要角色.肥胖会导致代谢紊乱,使循环和组织中的葡萄糖以及脂肪酸含量升高^[39].有文献报道,体内的饱和脂肪酸(如棕榈酸酯和硬脂酸酯)可以通过 ROS 和 AMPK 信号通路活化 NLRP3 炎症小体,从而促进炎症发生^[40-41].除了不饱和脂肪本身可以活化 NLRP3 炎症小体之外,脂肪酸的代谢产物神经

酰胺也能诱导 NLRP3 炎症小体活化^[42]。机体内的高糖环境也能促进炎症发生。本实验室之前的研究发现,高糖可以在人的细胞上直接活化 NLRP3 炎症小体^[12]。除此之外,有文献报道,机体持续处在高糖环境会导致胰岛 β 细胞持续分泌胰岛素以降低血糖,同时伴随着胰岛淀粉样蛋白多肽(IAPP)分泌增多,过多的 IAPP 聚集成不溶物,导致 NLRP3 炎症小体活化^[43]。综上,肥胖过程中伴随着 NLRP3 依赖的炎症发生,而 NLRP3 炎症小体活化会导致 IL-1 β 分泌,IL-1 β 作用于胰岛,诱导胰岛 β 细胞死亡以及功能丧失,除此之外,IL-1 β 还能作用于胰岛素受体,抑制胰岛素受体信号传导,使胰岛素敏感性降低,导致 2 型糖尿病的发生^[44-45]。

此外,NLRP3 炎症小体在肠炎、紫外线所诱导的皮肤晒伤、脓毒血症、肿瘤、酒精性肝病、肾病、哮喘等疾病的发生发展过程中也发挥重要作用^[46-48]。

3 NLRP3 炎症小体抑制剂

目前治疗 NLRP3 相关疾病的策略主要是靶向 NLRP3 炎症小体活化的产物 IL-1 β ,IL-1 β 中和抗体以及 IL-1 β 受体拮抗剂在临床上对相关疾病的治疗取得了很好的效果^[49]。但是靶向 IL-1 β 存在弊端,首先活化的 NLRP3 炎症小体在产生 IL-1 β 的同时伴随着细胞焦亡以及 IL-18 等细胞因子分泌,细胞焦亡以及 IL-18 等细胞因子在相关疾病的发生发展中也发挥重要作用;其次,其他炎症小体活化过程中也会产生 IL-1 β ,靶向 IL-1 β 会影响机体其他正常生理功能,产生副作用。特异性靶向 NLRP3 炎症小体是治疗 NLRP3 相关疾病的新思路,并且已经取得了良好的进展,许多 NLRP3 炎症小体抑制剂在 NLRP3 相关疾病动物模型上表现出良好的预防或治疗效果,可以作为治疗 NLRP3 相关疾病的候选药物。根据 NLRP3 炎症小体抑制剂来源将其分为四大类:机体内源小分子、小分子化合物、天然产物以及临床药物,下面将分别进行介绍。

3.1 机体内源小分子

机体内源的 ATP、尿酸盐结晶、胆固醇结晶、 β 淀粉样肽、低密度脂蛋白等可以活化 NLRP3 炎症小体,同时机体内还存在一些 NLRP3 炎症小体调节分子以防止 NLRP3 炎症小体过度活化,下面选择几种具有代表性的小分子进行阐述。

酮体 β -羟基丁酸(BHB)产生于哺乳动物肝脏,在营养缺失或低碳水化合物饮食期间作为脑、心脏

和骨骼肌的替代能源^[50]。饥饿、能量限制、高强度的运动或者低碳水化合物生酮饮食能够提高机体免疫力,增强自身抵抗力,这些过程中伴随着体内 BHB 水平升高,提示 BHB 可能参与机体免疫应答。文献报道,BHB 特异性抑制 NLRP3 炎症小体活化,不影响 AIM2,NLRC4 炎症小体活化,进行机制探究发现,BHB 抑制炎症小体活化过程中 K^+ 外流,进而抑制 NLRP3 炎症小体活化,在动物水平,BHB 对 NLRP3 突变引起的 MWS,FCAS 疾病有良好的保护效果,并且能够缓解 MSU 诱导的急性腹膜炎,提示通过改变饮食方式或者外源直接补充的方法提高机体内 BHB 量可以治疗 NLRP3 相关疾病^[51]。

机体内的脂肪酸主要分为饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸,其中饱和脂肪酸中的棕榈酸脂和硬脂酸可以活化 NLRP3 炎症小体,但是不饱和脂肪酸却能抑制 NLRP3 炎症小体活化^[52]。 ω -3 脂肪酸已经表现出抗炎活性,但是抗炎机制不清楚。本实验室发现 ω -3 脂肪酸特异性抑制 NLRP3 炎症小体活化,对于 AIM2,NLRC4 和 NLRP1 炎症小体活化无影响,机制探究发现, ω -3 脂肪酸通过活化 G 蛋白偶联受体 GPR40 和 GPR120,促进下游 ARRB2 蛋白与 NLRP3 发生相互作用,进而抑制 NLRP3 炎症小体活化,随后体内实验发现, ω -3 脂肪酸能够抑制 NLRP3 依赖的炎症,缓解高脂食物诱导的胰岛素抵抗和代谢紊乱,提示 ω -3 脂肪酸通过抑制 NLRP3 炎症小体活化行使抗炎功能,可用于治疗 NLRP3 相关疾病^[53]。

多巴胺(DA)是一种神经递质,在调节机体行为、运动、内分泌以及心血管和胃肠道功能方面起重要作用,除此之外 DA 在免疫调节方面也发挥一定功能,DA 缺陷跟帕金森发病过程中的系统性炎症密切相关^[54]。本实验室研究发现,DA 特异性抑制 NLRP3 炎症小体活化,对于其他炎症小体如 AIM2,NLRC4 炎症小体无影响,机制探究发现,DA 通过 DRD1 受体促进细胞内 cAMP 产生,进而促进 NLRP3 泛素化降解,抑制 NLRP3 炎症小体活化,体内实验显示,DA 可以缓解 MPTP 诱导的神经炎症,DA 明显缓解急性炎症,如 MSU 诱导的腹膜炎和 LPS 诱导的系统性炎症,提示 DRD1 激动剂可以作为治疗 NLRP3 炎症小体相关疾病的候选分子^[34]。

机体内存在 NLRP3 炎症小体活化和调节分子,探究机体自身调控机制有助于提高对炎症小体

活化的理解,更好地预防或治疗 NLRP3 相关疾病。

3.2 小分子化合物

随着对 NLRP3 炎症小体研究的深入,越来越多 NLRP3 炎症小体活化过程中的关键蛋白和信号通路被发现.通过靶向关键蛋白或者信号通路可以抑制 NLRP3 炎症小体活化,缓解 NLRP3 相关疾病.下面对主要的小分子化合物进行简要介绍。

INF39 是在丙烯酸酯的基础上改造而来的小分子化合物,通过一系列化学结构的改变,提高对 NLRP3 炎症小体的抑制效果,降低细胞毒性. INF39 通过抑制 NLRP3 ATP 酶活性从而抑制 NLRP3 炎症小体活化,体内实验发现,其能够被小肠吸收,对于 DNBS 诱导的结肠炎有很好的保护效果^[55].但是本实验室的研究发现,INF39 对 NF κ B 信号通路也有抑制^[56]。

2ABP 是一种通过影响 Ca²⁺ 离子流动进而抑制 NLRP3 炎症小体活化的小分子化合物. Ca²⁺ 离子平衡对于机体的稳态至关重要. Baldwin 等^[57] 通过对 2ABP 进行一系列改造,保留功能官能团,但不再抑制 Ca²⁺ 离子流动,降低副作用,体内实验证实,改造后的化合物能够明显缓解 LPS 诱导的系统性炎症,提示可以作为治疗 NLRP3 相关疾病的候选药物。

MCC950 是基于二芳基磺酰脲改造而来的小分子化合物.研究发现 MCC950 可以在较低浓度抑制 NLRP3 炎症小体活化,且不影响 AIM2, NLRC4 炎症小体以及 TLR 信号通路,对于 NLRP3 炎症小体活化过程中 K⁺, Ca²⁺ 流动无影响,目前发现其可以抑制 NLRP3 炎症小体活化过程中 ASC 聚合,但具体机制不清楚,在体内, MCC950 通过抑制 NLRP3 依赖的炎症,对于实验性自身免疫性脑脊髓炎 (EAE) 以及 CAPS 都有良好的保护作用^[58]. 后续研究发现, MCC950 对于肠炎、阿尔兹海默症以及动脉粥样硬化等 NLRP3 相关疾病有良好的治疗效果^[59-61],提示 MCC950 在治疗 NLRP3 相关疾病方面具有一定的应用前景.但作为人工合成的小分子,在应用之前,还需要更多的药理毒理等实验数据支撑。

虽然有许多 NLRP3 抑制剂出现,但是缺少直接靶向 NLRP3 本身的抑制剂.本实验室通过对氯离子通道蛋白 CFTR 抑制剂 CFTR_(inh)-172 进行改造,找到了一种抑制效果较好且不影响氯离子流动的小分子 CY-09. CY-09 特异性抑制经典和非经典

NLRP3 炎症小体活化,对于 AIM2 和 NLRC4 炎症小体的活化无影响.机制探究发现, CY-09 不影响 NLRP3 炎症小体活化的上游信号,如 K⁺ 离子外流、线粒体损伤和线粒体活性氧产生,进一步探究发现 CY-09 可以直接与 NLRP3 的 NACHT 结构域结合,抑制 NLRP3 的 ATP 酶活性,进而抑制 NLRP3 炎症小体的组装和活化.体内实验发现, CY-09 能够缓解高脂食物诱导的胰岛素抵抗和代谢紊乱,对于 NLRP3 突变引起的 MWS 同样有较好的治疗效果,并且 CY-09 能够抑制人单核细胞中 NLRP3 炎症小体活化以及痛风病人关节液细胞中炎症因子分泌,提示 CY-09 在人和鼠中都具有抑制 NLRP3 炎症小体活化的生物活性,是治疗 NLRP3 相关疾病的潜在药物分子^[56]。

随着对 NLRP3 研究的深入,不断有新的人工合成小分子出现.改造后的小分子抑制作用更强也更特异,并且对原骨架化合物的缺点进行了规避,是目前 NLRP3 炎症小体抑制剂重要的发展方向.但是作为人工合成的化合物,应用前景还需进一步确定。

3.3 天然产物

植物入药具有悠久的历史,但是由于成分复杂,作用机制未知.随着科学技术的进步,可以对植物的主要成分进行分离提纯,确定其活性成分,一方面可以提高药效,另一方面可以避免其他成分引起的不良反应.目前研究发现,许多植物来源的天然产物通过抑制 NLRP3 炎症小体活化行使抗炎功能.下面对几种主要天然产物进行简介。

白藜芦醇是一种多酚,主要存在于葡萄和桑树皮中.有研究发现白藜芦醇具有抗炎和抗氧化功能,并且对一些疾病具有缓解作用,但抗炎机制不清^[62].有文章报道,白藜芦醇能够特异性抑制 NLRP3 炎症小体活化,且不影响 NF κ B 信号通路以及 AIM2 和 NLRC4 炎症小体活化,进行机制探究发现,白藜芦醇可以抑制炎症小体活化过程中微管蛋白 α -tubulin 的乙酰化,进而抑制 NLRP3-ASC 的相互作用,抑制 NLRP3 炎症小体的组装和活化,随后发现白藜芦醇能缓解 MSU 诱导的急性腹膜炎,提示白藜芦醇通过抑制 NLRP3 炎症小体实现抗炎功能,可以作为治疗 NLRP3 相关疾病的先导化合物^[63]。

萝卜硫素存在于十字花科蔬菜中,对于心血管疾病以及神经系统疾病有缓解作用.有报道发现,萝卜硫素可以抑制 NF κ B 信号通路活化^[64-65].文献报

道,萝卜硫素可以抑制 NLRC4 和 NLRP3 炎症小体活化,但不影响 AIM2 炎症小体活化,机制探究发现,萝卜硫素通过抑制线粒体活性氧产生发挥功能,且对于 MSU 诱导的腹膜炎有较好的缓解作用^[66]。但是另外有文献报道,萝卜硫素可以抑制 NLRP1, NLRP3, NLRC4 和 AIM2 炎症小体,且不影响炎症小体活化过程中线粒体的产生^[67]。虽然萝卜硫素可以抑制炎症小体活化,但是作用机制以及特异性还需进一步确定。

甘草入药具有悠久的历史,可用于治疗 2 型糖尿病、肺部疾病以及咳嗽。异甘草素是甘草主要成分之一,具有一定抗炎效果,但机制不清。研究发现异甘草素特异性抑制 NLRP3 炎症小体活化,机制探究发现,异甘草素通过抑制 ASC 聚合影响 NLRP3 炎症小体活化,在高脂食物诱导肥胖模型鼠中,异甘草素处理组小鼠胰岛素抵抗、代谢紊乱和炎症有明显改善,提示异甘草素可作为治疗 NLRP3 相关疾病的候选分子^[68]。

冬凌草是一种广泛用于治疗炎症性疾病的中药,其制剂冬凌草片是抗炎的非处方药。冬凌草甲素是冬凌草主要成分之一,具有良好的抗炎效果,对于脓毒血症和阿尔茨海默症有明显缓解作用,但是作用机制的未知大大限制了其使用^[69-70]。本实验室研究发现,冬凌草甲素特异性抑制 NLRP3 炎症小体活化,机制探究发现,冬凌草甲素通过自身碳碳双键官能团与 NLRP3 279 位半胱氨酸结合,抑制 NEK7-NLRP3 相互作用,进而抑制炎症小体组装和活化;冬凌草甲素对于 NLRP3 依赖的急性炎症,如 MSU 诱导的关节炎和腹膜炎,有明显改善,对 NLRP3 依赖的慢性炎症性疾病,如高脂食物诱导的肥胖,有显著治疗效果,冬凌草甲素处理组相较于对照组胰岛素敏感性、葡萄糖耐量有显著改善,能明显缓解高脂诱导的肝脏脂肪变性,显著降低机体炎症状态,提示冬凌草甲素可能是冬凌草主要抗炎成分,冬凌草甲素以及含有冬凌草甲素的物质可以作为治疗 NLRP3 相关疾病的潜在药物^[71]。

除上述四种比较有代表性的天然产物以外,芦荟、姜黄素、表没食子儿茶素没食子酸酯、京尼平、芒果苷等也能抑制炎症小体活化^[72]。深入研究天然产物一方面可以为药物使用提供指导,另一方面可以为治疗相关疾病提供候选药物。

3.4 临床药物

许多临床药物具有抗炎功能,但是作用机制不

清,使得其使用范围大大受限。NLRP3 炎症小体可以介导炎症发生,目前发现一些抗炎药物能够抑制 NLRP3 炎症小体活化,提示可能通过抑制 NLRP3 炎症小体行使抗炎功能,或可用于治疗 NLRP3 相关疾病。

文献报道非甾体类抗炎药(NSAIDs)中的芬那酸类药物可以抑制 NLRP3 炎症小体活化,不影响 AIM2, NLRC4 炎症小体活化,机制探究发现,芬那酸类药物通过作用 VRAC 氯离子通道抑制 Cl⁻ 外流,从而抑制 NLRP3 炎症小体活化,芬那酸类药物可以缓解 NLRP3 依赖的腹膜炎和阿尔兹海默症,提示可以开发靶向 VRAC 的药物用于治疗 NLRP3 相关疾病^[73]。

氟西汀是一种抗抑郁药,在抗抑郁的同时也具有抗炎功能。文献报道,氟西汀可以抑制巨噬细胞和小胶质细胞中 NLRP3 炎症小体活化,氟西汀通过抑制炎症小体活化中活性氧产生,降低 PKR 磷酸化,抑制 PKR-NLRP3 相互作用,进而抑制 NLRP3 炎症小体活化,在抑郁症模型鼠海马区中存在 NLRP3 炎症小体活化,氟西汀处理后,能明显改善抑郁症模型鼠海马区的炎症状态,提示氟西汀发挥作用部分依赖对 NLRP3 炎症小体的抑制,或可作为治疗 NLRP3 相关疾病的候选药物分子^[74]。

曲尼司特是一种临床用于治疗支气管哮喘、非典型性皮炎、过敏性结膜炎和肥厚性瘢痕的药物,但是抗炎机制未知。本实验室发现曲尼司特特异性抑制 NLRP3 炎症小体活化,探索机制发现,曲尼司特可与 NLRP3 结合,进而抑制 NLRP3 多聚,从而抑制 NLRP3 炎症小体活化,在 MSU 诱导的关节炎和 MWS 模型鼠上,曲尼司特表现出良好的保护效果,在慢性炎症性疾病 T2D 模型鼠上,曲尼司特具有显著的预防和治疗效果,并且曲尼司特可以抑制痛风病人关节液细胞中炎症小体活化,曲尼司特在临床上具有较高的安全性,曲尼司特或可用于治疗 NLRP3 相关疾病^[75]。

揭示抗炎药物的作用机制,可以更好地指导临床用药。NLRP3 在炎症性疾病中扮演重要角色,阐明抗炎药物与 NLRP3 之间的关系,有助于扩展抗炎药物的应用范围,也能为 NLRP3 相关疾病的治疗提供帮助。

4 结论

NLRP3 炎症小体与人类机体多种重大疾病密

切相关,但是还缺乏直接靶向 NLRP3 炎症小体的临床药物.目前已经有各种各样的小分子在细胞水平表现出良好的 NLRP3 炎症小体抑制效果,且有部分抑制剂在相关疾病动物模型中取得了较好的预防或治疗效果,可为 NLRP3 相关疾病的治疗提供候选分子.药物的开发是一个漫长的过程,需要综合考虑各方面因素,从中选取合适的分子用于治疗 NLRP3 相关疾病是未来研究的重点,希望在不久的将来可以开发出直接靶向 NLRP3 炎症小体的临床药物.

参考文献(References)

- [1] SCHRODER K, TSCHOPP J. The inflammasomes[J]. *Cell*, 2010, 140(6): 821-832.
- [2] MARTINON F, BURNS K, TSCHOPP J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL- β [J]. *Mol Cell*, 2002, 10(2): 417-426.
- [3] MAN S M, KANNEGANTI T D. Regulation of inflammasome activation[J]. *Immunol Rev*, 2015, 265(1): 6-21.
- [4] GUO H, CALLAWAY J B, TING J P. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics[J]. *Nat Med*, 2015, 21(7): 677-687.
- [5] MENU P, VINCE J E. The NLRP3 inflammasome in health and disease: the good, the bad and the ugly[J]. *Clin Exp Immunol*, 2011, 166(1): 1-15.
- [6] SHAO B Z, XU Z Q, HAN B Z, et al. NLRP3 inflammasome and its inhibitors: a review[J]. *Front Pharmacol*, 2015, 6: 262.
- [7] SHARMA D, KANNEGANTI T D. The cell biology of inflammasomes: Mechanisms of inflammasome activation and regulation[J]. *J Cell Biol*, 2016, 213(6): 617-629.
- [8] JO E K, KIM J K, SHIN D M, et al. Molecular mechanisms regulating NLRP3 inflammasome activation[J]. *Cell Mol Immunol*, 2016, 13(2): 148-159.
- [9] OZAKI E, CAMPBELL M, DOYLE S L. Targeting the NLRP3 inflammasome in chronic inflammatory diseases: current perspectives [J]. *J Inflamm Res*, 2015, 8: 15-27.
- [10] HE Y, HARA H, NÚÑEZ G. Mechanism and regulation of NLRP3 inflammasome activation [J]. *Trends Biochem Sci*, 2016, 41(12): 1012-1021.
- [11] ELLIOTT EI, SUTTERWALA F S. Initiation and perpetuation of NLRP3 inflammasome activation and assembly[J]. *Immunol Rev*, 2015, 265(1): 35-52.
- [12] ZHOU R, TARDIVEL A, THORENS B, et al. Thioredoxin-interacting protein links oxidative stress to inflammasome activation[J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(2): 136-140.
- [13] ZHOU R, YAZDI A S, MENU P, et al. A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation[J]. *Nature*, 2011, 469(7329): 221-225.
- [14] FRANCHI L, EIGENBROD T, NÚÑEZ G. Cutting edge: TNF- α mediates sensitization to ATP and silica via the NLRP3 inflammasome in the absence of microbial stimulation[J]. *J Immunol*, 2009, 183(2): 792-796.
- [15] MUNOZ-PLANILLO R, KUFFA P, MARTÍNEZ-COLÓN G, et al. K⁺ efflux is the common trigger of NLRP3 inflammasome activation by bacterial toxins and particulate matter[J]. *Immunity*, 2013, 38(6): 1142-1153.
- [16] GROB C J, MISHRA R, SCHNEIDER K S, et al. K⁺ efflux-independent NLRP3 inflammasome activation by small molecules targeting mitochondria[J]. *Immunity*, 2016, 45(4): 761-773.
- [17] SANMAN L E, QIAN Y, EISELE N A, et al. Disruption of glycolytic flux is a signal for inflammasome signaling and pyroptotic cell death[J]. *Elife*, 2016, 5: e13663.
- [18] CHU J, THOMAS L M, WATKINS S C, et al. Cholesterol-dependent cytolysins induce rapid release of mature IL-1 β from murine macrophages in a NLRP3 inflammasome and cathepsin B-dependent manner[J]. *J Leukoc Biol*, 2009, 86(5): 1227-1238.
- [19] HORNUNG V, BAUERNFEIND F, HALLE A, et al. Silica crystals and aluminum salts activate the NLRP3 inflammasome through phagosomal destabilization [J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(8): 847-856.
- [20] DOSTERT C, GUARDA G, ROMERO J F, et al. Malarial hemozoin is a Nalp3 inflammasome activating danger signal[J]. *PLoS One*, 2009, 4(8): e6510.
- [21] ZHONG Z, ZHAI Y, LIANG S, et al. TRPM2 links oxidative stress to NLRP3 inflammasome activation [J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 1611.
- [22] BROUGH D, LE FEUVRE R A, WHEELER R D, et al. Ca²⁺ stores and Ca²⁺ entry differentially contribute to the release of IL-1 β and IL-1 α from murine macrophages [J]. *J Immunol*, 2003, 170(6): 3029-3036.
- [23] TANG T, LANG X, XU C, et al. CLICs-dependent chloride efflux is an essential and proximal upstream event for NLRP3 inflammasome activation [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 202.
- [24] HE Y, ZENG M Y, YANG D, et al. NEK7 is an essential mediator of NLRP3 activation downstream of potassium efflux [J]. *Nature*, 2016, 530(7590): 354-357.

- [25] SHI H, WANG Y, LI X, et al. NLRP3 activation and mitosis are mutually exclusive events coordinated by NEK7, a new inflammasome component [J]. *Nat Immunol*, 2016, 17(3): 250-258.
- [26] SCHMID-BURGK J L, CHAUHAN D, SCHMIDT T, et al. A genome-wide CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) screen identifies NEK7 as an essential component of NLRP3 inflammasome activation[J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(1): 103-109.
- [27] AGOSTINI L, MARTINON F, BURNS K, et al. NALP3 forms an IL-1beta-processing inflammasome with increased activity in Muckle-Wells autoinflammatory disorder [J]. *Immunity*, 2004, 20(3): 319-325.
- [28] SHAW P J, MCDERMOTT M F, KANNEGANTI T D. Inflammasomes and autoimmunity[J]. *Trends Mol Med*, 2011, 17(2): 57-64.
- [29] DOSTERT C, PÉTRILLI V, VAN BRUGGEN R, et al. Innate immune activation through Nalp3 inflammasome sensing of asbestos and silica [J]. *Science*, 2008, 320(5876): 674-677.
- [30] MARTINON F, PÉTRILLI V, MAYOR A, et al. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome [J]. *Nature*, 2006, 440(7081): 237-241.
- [31] HALLE A, HORNING V, PETZOLD G C, et al. The NALP3 inflammasome is involved in the innate immune response to amyloid-beta [J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(8): 857-865.
- [32] HENEKA M T, KUMMER M P, STUTZ A, et al. NLRP3 is activated in Alzheimer's disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice [J]. *Nature*, 2013, 493(7434): 674-678.
- [33] 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.
- [34] YAN Y, JIANG W, LIU L, et al. Dopamine controls systemic inflammation through inhibition of NLRP3 inflammasome [J]. *Cell*, 2015, 160(1/2): 62-73.
- [35] SONG L, PEI L, YAO S, et al. NLRP3 inflammasome in neurological diseases, from functions to therapies [J]. *Front Cell Neurosci*, 2017, 11: 63.
- [36] TALL A R, YVAN-CHARVET L. Cholesterol, inflammation and innate immunity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(2): 104-116.
- [37] DUEWELL P, KONO H, RAYNER K J, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals [J]. *Nature*, 2010, 464(7293): 1357-1361.
- [38] DIXIT V D. Adipose-immune interactions during obesity and caloric restriction: reciprocal mechanisms regulating immunity and health span [J]. *J Leukoc Biol*, 2008, 84(4): 882-892.
- [39] DONATH M Y, SHOELSON S E. Type 2 diabetes as an inflammatory disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11(2): 98-107.
- [40] WEN H, GRIS D, LEI Y, et al. Fatty acid-induced NLRP3-ASC inflammasome activation interferes with insulin signaling [J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(5): 408-415.
- [41] L'HOMME L, ESSER N, RIVA L, et al. Unsaturated fatty acids prevent activation of NLRP3 inflammasome in human monocytes/macrophages [J]. *J Lipid Res*, 2013, 54(11): 2998-3008.
- [42] VANDANMAGSAR B, YOUM Y H, RAVUSSIN A, et al. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance [J]. *Nat Med*, 2011, 17(2): 179-188.
- [43] MASTERS S L, DUNNE A, SUBRAMANIAN S L, et al. Activation of the NLRP3 inflammasome by islet amyloid polypeptide provides a mechanism for enhanced IL-1beta in type 2 diabetes [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(10): 897-904.
- [44] MANDRUP-POULSEN T. The role of interleukin-1 in the pathogenesis of IDDM [J]. *Diabetologia*, 1996, 39(9): 1005-1029.
- [45] JAGER J, GRÉMEAUX T, CORMONT M, et al. Interleukin-1beta-induced insulin resistance in adipocytes through down-regulation of insulin receptor substrate-1 expression [J]. *Endocrinology*, 2007, 148(1): 241-251.
- [46] HUTTON H L, OOI J D, HOLDSWORTH S R, et al. The NLRP3 inflammasome in kidney disease and autoimmunity [J]. *Nephrology (Carlton)*, 2016, 21(9): 736-744.
- [47] SZABO G, PETRASEK J. Inflammasome activation and function in liver disease [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2015, 12(7): 387-400.
- [48] COOK G P, SAVIC S, WITTMANN M, et al. The NLRP3 inflammasome, a target for therapy in diverse disease states [J]. *Eur J Immunol*, 2010, 40(3): 631-634.
- [49] DINARELLO C A, VAN DER MEER J W. Treating inflammation by blocking interleukin-1 in humans [J]. *Semin Immunol*, 2013, 25(6): 469-484.
- [50] COTTER D G, SCHUGAR R C, CRAWFORD P A. Ketone body metabolism and cardiovascular disease [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2013, 304(8): H1060-H1076.
- [51] YOUM Y H, NGUYEN K Y, GRANT R W, et al. The ketone metabolite beta-hydroxybutyrate blocks NLRP3 inflammasome-mediated inflammatory disease

- [J]. *Nat Med*, 2015, 21(3): 263-269.
- [52] LEGRAND-POELS S, ESSER N, L'HOMME L, et al. Free fatty acids as modulators of the NLRP3 inflammasome in obesity/type 2 diabetes[J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 92(1): 131-141.
- [53] YAN Y, JIANG W, SPINETTI T, et al. Omega-3 fatty acids prevent inflammation and metabolic disorder through inhibition of NLRP3 inflammasome activation [J]. *Immunity*, 2013, 38(6): 1154-1163.
- [54] SARKAR C, BASU B, CHAKROBORTY D, et al. The immunoregulatory role of dopamine: an update [J]. *Brain Behav Immun*, 2010, 24(4): 525-528.
- [55] COCCO M, PELLEGRINI C, MARTÍNEZ-BANACLOCHA H, et al. Development of an acrylate derivative targeting the NLRP3 inflammasome for the treatment of inflammatory bowel disease[J]. *J Med Chem*, 2017, 60(9): 3656-3671.
- [56] JIANG H, HE H, CHEN Y, et al. Identification of a selective and direct NLRP3 inhibitor to treat inflammatory disorders [J]. *J Exp Med*, 2017, 214(11): 3219-3238.
- [57] BALDWIN A G, RIVERS-AUTY J, DANIELS M J D, et al. Boron-based inhibitors of the NLRP3 inflammasome[J]. *Cell Chem Biol*, 2017, 24(11): 1321-1335.
- [58] COLL R C, ROBERTSON A A B, CHAE J J, et al. A small-molecule inhibitor of the NLRP3 inflammasome for the treatment of inflammatory diseases[J]. *Nat Med*, 2015, 21(3): 248-255.
- [59] DEMPSEY C, ARAIZ A R, BRYSON K J, et al. Inhibiting the NLRP3 inflammasome with MCC950 promotes non-phlogistic clearance of amyloid-beta and cognitive function in APP/PS1 mice[J]. *Brain Behav Immun*, 2017, 61: 306-316.
- [60] PERERA A P, FERNANDO R, SHINDE T, et al. MCC950, a specific small molecule inhibitor of NLRP3 inflammasome attenuates colonic inflammation in spontaneous colitis mice [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 8618.
- [61] VAN DER HEIJDEN T, KRITIKOU E, VENEMA W, et al. NLRP3 inflammasome inhibition by MCC950 reduces atherosclerotic lesion development in apolipoprotein E-deficient mice—brief report [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37(8): 1457-1461.
- [62] INOUE H, NAKATA R. Resveratrol targets in inflammation[J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2015, 15(3): 186-195.
- [63] MISAWA T, SAITOH T, KOZAKI T, et al. Resveratrol inhibits the acetylated alpha-tubulin-mediated assembly of the NLRP3-inflammasome[J]. *Int Immunol*, 2015, 27(9): 425-434.
- [64] HOUGHTON C A, FASSETT R G, COOMBES J S. Sulforaphane: translational research from laboratory bench to clinic[J]. *Nutr Rev*, 2013, 71(11): 709-726.
- [65] HEISS E, HERHAUS C, KLIMO K, et al. Nuclear factor kappa B is a molecular target for sulforaphane-mediated anti-inflammatory mechanisms [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(34): 32008-32015.
- [66] LEE J, AHN H, HONG E J, et al. Sulforaphane attenuates activation of NLRP3 and NLRC4 inflammasomes but not AIM2 inflammasome[J]. *Cell Immunol*, 2016, 306-307: 53-60.
- [67] GREANEY A J, MAIER N K, LEPLA S H, et al. Sulforaphane inhibits multiple inflammasomes through an Nrf2-independent mechanism [J]. *J Leukoc Biol*, 2016, 99(1): 189-199.
- [68] HONDA H, NAGAI Y, MATSUNAGA T, et al. Isoliquiritigenin is a potent inhibitor of NLRP3 inflammasome activation and diet-induced adipose tissue inflammation[J]. *J Leukoc Biol*, 2014, 96(6): 1087-1100.
- [69] WANG S, YU L, YANG H, et al. Oridonin attenuates synaptic loss and cognitive deficits in an $A\beta_{1-42}$ -induced mouse model of Alzheimer's disease [J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0151397.
- [70] ZHAO Y J, LV H, XU P B, et al. Protective effects of oridonin on the sepsis in mice[J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2016, 32(9): 452-457.
- [71] HE H, JIANG H, CHEN Y, et al. Oridonin is a covalent NLRP3 inhibitor with strong anti-inflammasome activity [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2550.
- [72] TOZSER J, BENKO S. Natural compounds as regulators of NLRP3 inflammasome-mediated IL-1 β production [J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016: 5460302.
- [73] DANIELS M J D, RIVERS-AUTY J, SCHILLING T, et al. Fenamate NSAIDs inhibit the NLRP3 inflammasome and protect against Alzheimer's disease in rodent models[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 12504.
- [74] DU R H, TAN J, SUN X Y, et al. Fluoxetine inhibits NLRP3 inflammasome activation: implication in depression[J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2016, 19(9): pyw037;doi: 10.1093/ijnp/pyw037.
- [75] HUANG Y, JIANG H, CHEN Y, et al. Tranilast directly targets NLRP3 to treat inflammasome-driven diseases[J]. *EMBO Mol Med*, 2018, 10(4): e8689; doi: 10.15252/emmm.201708689.