

张钊,葛乃嘉,马新月,等. 细胞焦亡在肝损伤微环境中的作用研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(4): 133-136.  
Zhang Z, Ge NJ, Ma XY, et al. Research progress on the role of pyroptosis in the microenvironment of liver injury [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(4): 133-136.  
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.04.019

## 细胞焦亡在肝损伤微环境中的作用研究进展

张钊,葛乃嘉,马新月,刁佳雯,全吉淑\*

(延边大学医学院,吉林 延吉 133002)

**【摘要】** 细胞焦亡(pyroptosis)是一种新型细胞程序性死亡方式,其特征是活化的消皮素 D(gasdermin D, GSDMD)在细胞膜上形成微孔,使细胞内外的渗透压发生改变,最终细胞肿胀破裂,并释放大量的炎症因子及胞质内容物,从而参与机体免疫炎症反应。研究表明,细胞焦亡与肝损伤的发生发展有着密切的关系,过度的细胞焦亡将会导致肝损伤的加剧,危害机体的健康。本文主要对细胞焦亡的不同激活途径及其在肝损伤微环境中的作用机制加以综述。

**【关键词】** 细胞焦亡;肝损伤;炎症小体;GSDMD;分子机制

**【中图分类号】** R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2022)04-0133-04

### Research progress on the role of pyroptosis in the microenvironment of liver injury

ZHANG Zhao, GE Naijia, MA Xinyue, DIAO Jiawen, QUAN Jishu\*

(College of Medicine, Yanbian University, Yanji 133002, China)

**【Abstract】** Pyroptosis is a novel type of programmed cell death characterized by the formation of micropores in the cell membrane by activated gasdermin D, which changes the osmotic pressure between the inside and outside of the cell. This eventually swells and ruptures the cell, and releases a large number of inflammatory factors and cytoplasmic contents, thereby participating in the inflammatory immune response. Studies have shown that pyroptosis is closely related to the occurrence and development of liver damage, and excessive pyroptosis aggravates liver damage. This article mainly reviews the different activation pathways of pyroptosis and its mechanisms of action in the liver injury microenvironment.

**【Keywords】** pyroptosis; liver injury; inflammasome; GSDMD; molecular mechanism

细胞焦亡(pyroptosis)是一种新型的细胞程序性死亡机制,其分子机制及形态学特征与凋亡,坏死,自噬等其他形式的细胞死亡机制有着显著的差别<sup>[1]</sup>。细胞焦亡以形成细胞微孔、细胞肿胀、胞膜破裂、最终导致炎症因子和细胞内容物的释放为主要特征。细胞焦亡激活后细胞内产生焦亡相关炎症因子及炎症小体,最终引发局部或全身的炎症反

应<sup>[2]</sup>。一方面,细胞焦亡可以协助机体免疫系统及时清除病原体<sup>[3]</sup>。另一方面,过度的炎症小体激活可引起强烈的炎症反应,并最终导致疾病的加剧<sup>[3]</sup>。肝作为人体最大的腺器官,在维持机体代谢和免疫稳态中发挥着极其重要的作用<sup>[4]</sup>。而肝组织中的许多细胞均能发生细胞焦亡,从而参与肝的免疫防御反应,但是细胞焦亡的过度发生将会导致

[基金项目] 国家自然科学基金(82060113)。

[作者简介] 张钊(1996—),男,硕士研究生,研究方向:天然成分的活性研究。E-mail:896940691@qq.com

[通信作者] 全吉淑(1968—),女,博士,教授,研究方向:天然成分的活性研究。E-mail:quanjs@ybu.edu.cn

肝损伤的加剧,危害机体的健康<sup>[5]</sup>。本文主要就细胞焦亡的分子机制及其对肝损伤微环境中的多种细胞如免疫细胞、肝细胞、肝星状细胞的影响加以综述。

## 1 细胞焦亡的激活途径

细胞焦亡依赖于半胱天冬氨酸蛋白酶(caspase),细菌感染以及细胞应激反应均能够激活炎症小体而引起细胞焦亡<sup>[6]</sup>,其特征是 caspase-1/4/5/11 被激活后,其下游蛋白如白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、白细胞介素-18(IL-18)随之释放,并诱导打孔蛋白消皮素 D(gasdermin D,GSDMD)的活化成熟,使细胞膜微孔形成,细胞快速肿胀破裂,细胞内容物及炎症因子释放,从而参与机体的免疫炎症反应<sup>[7]</sup>。细胞焦亡主要分为依赖 caspase-1 激活的经典途径,以及依赖 caspase-4/5/11 激活的非经典途径<sup>[8]</sup>。

### 1.1 经典途径

细胞焦亡的经典途径大多是由胞内多聚蛋白复合物炎症小体(inflammasome)介导完成<sup>[9]</sup>,其起始于炎症小体识别各种外源性和内源性危险信号,包括病原相关分子模式(PAMPs)和损伤相关分子模式(DAMPs)<sup>[10]</sup>。炎症小体系统的受体成分是由核苷酸结合寡聚结构域(NOD)样受体(NLRs)形成的,根据不同的胞质模式识别受体(PRR)蛋白,NLRs 可分为 NLRP1(NLR family pyrin domain containing 1)、NLRP3(NLR family pyrin domain containing 3)、NAIPs(NLR family apoptosis inhibitory proteins)、NLRC4(NOD-like receptor containing a caspase activating and recruitment domain 4)或黑色素瘤缺乏因子-2(absent in melanoma 2,AIM2)。这些受体蛋白与凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing caspase recruitment domains,ASCs)相结合,ASC 包含两个结构域:分别是与 PRR 相互作用的 pyrin 结构域(PYD),以及与 caspase-1 相互作用的 caspase 招募结构域(CARD)<sup>[11]</sup>。通过这两个结构域,ASC 可以与 PRR 和 caspase 前体蛋白相互结合,最终组成炎症小体<sup>[12]</sup>。

其中 caspase-1 是目前唯一确认的参与细胞焦亡经典途径的 caspase 蛋白,而 NLRP3 炎症小体由 NLRP3 蛋白、ASC 和 caspase-1 组成<sup>[13]</sup>,是目前研究较为深入,且能够接收病原体、毒素等多种刺激信

号的一种炎症小体。NLRP3 炎症小体激活 caspase-1 导致 IL-1 $\beta$  前体和 IL-18 前体的裂解,并使其产生成熟的、具有生物活性的细胞因子<sup>[13]</sup>。此外,活化的 caspase-1 也将 GSDMD 切割成具有活性的片段,并使其转移到细胞膜磷脂层,在胞膜上形成大小不等的蜂窝状孔洞,继而引起细胞肿胀破裂,最终导致 IL-1 $\beta$ 、IL-18、乳酸脱氢酶(LDH)及其他可溶性胞质内容物的大量释放,引起细胞发生焦亡<sup>[14]</sup>。因此,这证明了细胞焦亡是由炎症小体激活并通过 GSDMD 介导的细胞炎症性坏死。

### 1.2 非经典途径

与典型的焦亡相比,焦亡的非经典途径是由 caspase-4/5(小鼠中的 caspase-11)激活介导的,它可以直接被脂多糖(LPS)激活<sup>[15]</sup>。LPS 的 lipidA 部分可以识别并与 CARD 结构域结合,然后促进 caspase-4/5/11 寡聚和激活,使其切割并激活 GSDMD,这一过程类似于焦亡经典途径<sup>[16]</sup>。caspase-4/5/11 也可以激活泛连接通道蛋白 1(pannexin-1),随后打开膜通道 P2X7,导致细胞膜上形成微孔。此外,激活的 pannexin-1 可以通过 K<sup>+</sup> 外排激活 NLRP3 炎症小体,导致 caspase-1 活化及 IL-1 $\beta$  的产生和释放<sup>[16]</sup>。通过 GSDMD 和 pannexin-1,细胞焦亡的经典与非经典途径将协同发挥作用。

细胞膜上的 GSDMD 孔对细胞是有害的,但如果质膜中的孔隙数量较少,细胞正常的修复能力可以填补这些孔道。然而,如果 GSDMD 孔的数量超过细胞的自我修复能力,Na<sup>+</sup> 和水将进入细胞,细胞体积将逐渐增大,最终引起细胞的肿胀破裂<sup>[14]</sup>。此外,通过 GSDMD 孔释放的 IL-18 与 IL-1 $\beta$ ,可以招募免疫细胞至炎症部位,IL-18 可以刺激 T 细胞增殖,加强 NK 细胞活性,诱导细胞因子的生成并触发炎症急性期信号反应<sup>[17]</sup>。而 IL-1 $\beta$  能够引起肝中主要的促纤维化细胞肝星状细胞(HSCs)的增殖和反分化,导致肝纤维化组织的积累<sup>[18]</sup>。

## 2 细胞焦亡在肝损伤微环境中的作用

肝是机体抵御血液循环系统中各种病原微生物及毒素的第一道防线,而炎症小体作为焦亡的受体,在肝中的免疫细胞、肝细胞、肝星状细胞等多种细胞中均高表达<sup>[5]</sup>。这些细胞的焦亡途径激活后,可以及时发挥肝正常的免疫防御反应,也可以直接或间接导致肝损伤的进一步加剧。

### 2.1 免疫细胞

肝组织中的免疫细胞主要包括巨噬细胞和粒

细胞,其中巨噬细胞可以第一时间检测到肝中存在的危险信号<sup>[19]</sup>,因此巨噬细胞的焦亡是导致肝病发展的重要原因之一。Pelegrin 等<sup>[20]</sup>研究表明 LPS 与 ATP 协同作用可以诱导 J774a.1 巨噬细胞焦亡,并激活 P2X7 受体,使其快速释放大量的 IL-1 $\beta$ 。库普弗细胞(Kupffer cell)是肝组织中可以自我更新的一种巨噬细胞,它可以清除内毒素,并释放 IL-1 $\beta$ 、IL-18 等炎症因子以维持肝组织微环境的免疫稳态<sup>[21]</sup>。Mirshafiee 等<sup>[22]</sup>研究表明稀土氧化物可以引起 NLRP3 炎症小体和 caspase-1 的激活,导致库普弗细胞及其他巨噬细胞系,如 J774A.1 和 RAW264.7 细胞的焦亡。因此,肝组织中巨噬细胞焦亡对肝损伤微环境的影响主要表现在两方面:一是巨噬细胞的焦亡可以影响免疫防御系统及时对病原体,内毒素等危险信号作出应答;另一方面,巨噬细胞焦亡产生的 IL-1 $\beta$  等炎症因子可以进一步加深肝损伤的程度。

研究表明许多慢性肝损伤疾病的明显特征是免疫反应失调和肝细胞死亡<sup>[23]</sup>。Palacios-Macapagal 等<sup>[24]</sup>的体内模型研究发现坏死肝细胞能够诱导嗜酸性粒细胞的募集,使其分泌 IL-1 $\beta$  和 IL-18,并伴有脱颗粒和细胞死亡现象,而 caspase-1 抑制剂能够阻断所有这些反应。进一步研究表明曼氏血吸虫感染小鼠肝窦中的曼氏菌卵可导致肝细胞死亡、炎症和进行性肝纤维化,从中可以分离出大量嗜酸性粒细胞,并证实其发生了由 caspase-1 介导的细胞焦亡。这表明,细胞焦亡是嗜酸性粒细胞用来应对大规模肝细胞死亡的一种重要途径。

## 2.2 肝实质细胞

除免疫细胞外,细胞内在炎症小体的激活可以引起肝细胞焦亡并加剧肝组织炎症及纤维化<sup>[25]</sup>。Lebeauin 等<sup>[26]</sup>用 LPS 诱导内质网应激,引起 NLRP3 炎症小体的激活,从而导致肝细胞焦亡及炎症的发生。而 Chen YL 用盲肠结扎穿孔术诱导小鼠肝脓毒症模型,引起 NLRP3 及 caspase-1 上调,进而使肝细胞发生焦亡,并且其研究表明肝损伤程度与焦亡相关蛋白如 NLRP3、caspase-1 表达量等呈正相关<sup>[27]</sup>。肝细胞可以感知循环系统中的 PAMPs,如 LPS,随后将高迁移率族蛋白 B1(high mobility group box 1, HMGB1)释放到细胞外结合 LPS,并通过晚期糖基化终产物受体(receptor for advanced glycation end-products, RAGE)内化到巨噬细胞和内皮细胞的溶酶体中。随后 HMGB1 在溶酶体的酸性环境中使

磷脂双分子层通透性增强,导致 LPS 泄漏到细胞质中引起 caspase-11 的激活,继而引起肝损伤的进一步恶化<sup>[28]</sup>。这一结果也证实了肝细胞焦亡在肝损伤微环境中发挥着重要作用。

## 2.3 肝星状细胞

肝星状细胞中炎症小体的激活在肝纤维化的发展中起着重要作用<sup>[29]</sup>。肝纤维化的特征是细胞外基质的沉积,而肝星状细胞是主要储存细胞外基质的细胞<sup>[30]</sup>。Boaru 等<sup>[31]</sup>研究表明 NLRP3 炎症小体激活后释放的促炎细胞因子(IL-1 $\beta$  和 IL-18)可以在体外激活肝星状细胞和组织成纤维细胞的焦亡。Watanabe 等<sup>[32]</sup>研究证实从损伤的肝细胞和巨噬细胞中释放的细胞因子和 DAMPs 可以激活肝星状细胞的焦亡并诱导肝纤维化。Wree 等<sup>[25]</sup>的体内实验表明,NLRP3 突变小鼠高表达的 NLRP3 诱导肝星状细胞发生焦亡,使其结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)和基质金属蛋白酶组织抑制剂 1(tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 1, TIMP1)表达增高,致肝组织胶原沉积增多,引起较为严重的肝炎及肝纤维化。因此,肝组织中肝星状细胞焦亡的激活是肝炎,肝纤维化发生、发展的关键环节。

## 3 总结与展望

综上所述,细胞焦亡对肝组织在抵御病原体及各种危险信号时发挥的免疫防御作用极其重要,但过度的焦亡会促进肝损伤的进一步加剧。然而细胞焦亡过程复杂,其在肝多种细胞中的详细分子机制以及不同细胞间的串扰作用有待进一步研究。近年来,抗细胞焦亡药物以及针对焦亡的靶点治疗在肝损伤的治疗上有着非常可观的发展前景。我们可以通过阻断相关分子(如 NLRP3、caspases 和 IL-1 等)来抑制焦亡对肝损伤的影响,这对于肝病来说是一种潜在的治疗方法。但是细胞焦亡是抵御病原体及危险信号的一道重要防线,抑制焦亡可能影响机体正常的免疫反应,进而增加机会性感染的风险。因此,如何在维持机体正常免疫的情况下,抑制细胞焦亡的发生,并达到动态的平衡,仍需要更多的研究。所以,对于细胞焦亡机制的进一步探索将有助于抗细胞焦亡药物与细胞焦亡相关靶点治疗的研究与利用。

### 参考文献:

[1] Bergsbaken T, Fink SL, Cookson BT. Pyroptosis: host cell death

- and inflammation [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2009, 7(2): 99–109.
- [ 2 ] 王烁, 卿笃信. 炎性小体激活与细胞焦亡及其在酒精性肝病中的研究进展 [J]. *中南大学学报(医学版)*, 2020, 45(8): 999–1004.
- [ 3 ] 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.
- [ 4 ] 郭笑潇, 陈明泉. 细胞焦亡在脓毒症肝损伤中的分子机制和研究进展 [J]. *肝脏*, 2021, 26(3): 321–323.
- [ 5 ] Knorr J, Wree A, Feldstein AE. Pyroptosis in steatohepatitis and liver diseases [J]. *J Mol Biol*, 2021, 27: 167271.
- [ 6 ] Jorgensen I, Zhang Y, Krantz BA, et al. Pyroptosis triggers pore-induced intracellular traps (PITs) that capture bacteria and lead to their clearance by efferocytosis [J]. *J Exp Med*, 2016, 213(10): 2113–2128.
- [ 7 ] Loveless R, Bloomquist R, Teng Y. Pyroptosis at the forefront of anticancer immunity [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 264.
- [ 8 ] Wright SS, Vasudevan SO, Rathinam VA. mechanisms and consequences of noncanonical inflammasome-mediated pyroptosis [J]. *J Mol Biol*, 2021, 16: 167245.
- [ 9 ] Fink SL, Cookson BT. Caspase-1-dependent pore formation during pyroptosis leads to osmotic lysis of infected host macrophages [J]. *Cell Microbiol*, 2006, 8(11): 1812–1825.
- [ 10 ] Jorgensen I, Miao EA. Pyroptotic cell death defends against intracellular pathogens [J]. *Immunol Rev*, 2015, 265(1): 130–142.
- [ 11 ] 王子, 王雪峰, 吴振起. 清肺透邪汤介导 NLRP3 炎性小体抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路改善肺炎支原体小鼠炎性反应 [J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(4): 470–477.
- [ 12 ] Rathinam VA, Fitzgerald KA. Inflammasome complexes: emerging mechanisms and effector functions [J]. *Cell*, 2016, 165(4): 792–800.
- [ 13 ] 丁世彬, 高丽云, 李玉春, 等. 慢性 PM<sub>2.5</sub> 暴露对 C57BL/6J 小鼠肺组织炎症和 NLRP3 炎性小体活性的影响 [J]. *中国实验动物学报*, 2019, 27(4): 444–449.
- [ 14 ] Kayagaki N, Wong MT, Stowe IB, et al. Noncanonical inflammasome activation by intracellular LPS independent of TLR4 [J]. *Science*, 2013, 341(6151): 1246–1249.
- [ 15 ] Ji J, Ye W, Sun G. LncRNA OIP5-AS1 knockdown or miR-223 overexpression can alleviate LPS-induced ALI/ARDS by interfering with miR-223/NLRP3-mediated pyroptosis [J]. *J Gene Med*, 2021, 4: e3385.
- [ 16 ] Kayagaki N, Stowe IB, Lee BL, et al. Caspase-11 cleaves gasdermin D for non-canonical inflammasome signalling [J]. *Nature*, 2015, 526(7575): 666–671.
- [ 17 ] 金萍, 邵勇. IL-18 在肝细胞损伤中的作用机制研究进展 [J]. *中华内分泌外科杂志*, 2013, 7(2): 171–173.
- [ 18 ] Gaul S, Leszczynska A, Alegre F, et al. Hepatocyte pyroptosis and release of inflammasome particles induce stellate cell activation and liver fibrosis [J]. *J Hepatol*, 2021, 74(1): 156–167.
- [ 19 ] Krenkel O, Tacke F. Liver macrophages in tissue homeostasis and disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(5): 306–321.
- [ 20 ] Pelegrin P, Barroso-Gutierrez C, Surprenant A. P2X7 receptor differentially couples to distinct release pathways for IL- $\beta$  in mouse macrophage [J]. *J Immunol*, 2008, 180(11): 7147–7157.
- [ 21 ] Dixon LJ, Barnes M, Tang H, et al. Kupffer cells in the liver [J]. *Compr Physiol*, 2013, 3(2): 785–797.
- [ 22 ] Mirshafiee V, Sun B, Chang CH, et al. Toxicological profiling of metal oxide nanoparticles in liver context reveals pyroptosis in kupffer cells and macrophages versus apoptosis in hepatocytes [J]. *ACS Nano*, 2018, 12(4): 3836–3852.
- [ 23 ] McDonald B, Kubes P. Innate immune cell trafficking and function during sterile inflammation of the liver [J]. *Gastroenterology*, 2016, 151(6): 1087–1095.
- [ 24 ] Palacios-Macapagal D, Connor J, Mustelin T, et al. Cutting edge: eosinophils undergo caspase-1-mediated pyroptosis in response to necrotic liver cells [J]. *J Immunol*, 2017, 199(3): 847–853.
- [ 25 ] Wree A, Eguchi A, McGeough MD, et al. NLRP3 inflammasome activation results in hepatocyte pyroptosis, liver inflammation, and fibrosis in mice [J]. *Hepatology*, 2014, 59(3): 898–910.
- [ 26 ] Lebeauvin C, Proics E, de Bievil CH, et al. ER stress induces NLRP3 inflammasome activation and hepatocyte death [J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6(9): e1879.
- [ 27 ] Chen YL, Xu G, Liang X, et al. Inhibition of hepatic cells pyroptosis attenuates CLP-induced acute liver injury [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(12): 5685–5695.
- [ 28 ] Deng M, Tang Y, Li W, et al. The endotoxin delivery protein hmgb1 mediates Caspase-11-dependent lethality in sepsis [J]. *Immunity*, 2018, 49(4): 740–753.
- [ 29 ] Wang H, Wang Z, Wang Y, et al. miRNA-130b-5p promotes hepatic stellate cell activation and the development of liver fibrosis by suppressing SIRT4 expression [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(15): 7381–7394.
- [ 30 ] Wu J, Lin S, Wan B, et al. Pyroptosis in liver disease: new insights into disease mechanisms [J]. *Aging Dis*, 2019, 10(5): 1094–1108.
- [ 31 ] Boaru SG, Borkham-Kamphorst E, Tihaa L, et al. Expression analysis of inflammasomes in experimental models of inflammatory and fibrotic liver disease [J]. *J Inflamm (Lond)*, 2012, 9(1): 49.
- [ 32 ] Watanabe A, Sohail MA, Gomes DA, et al. Inflammasome-mediated regulation of hepatic stellate cells [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2009, 296(6): 1248–1257.

[ 收稿日期 ] 2021-11-15