

NLRP3 炎症小体与儿童自身炎症性疾病研究进展

李艳蝶, 卢美萍

浙江大学医学院附属儿童医院风湿免疫变态反应科, 浙江 杭州 310003

[摘要] 儿童自身炎症性疾病(AID)是难治性疾病之一,发病机制尚未完全明确。近年来大量研究表明,NLRP3 炎症小体失调在儿童 AID 的发生、发展中具有重要作用。NLRP3 炎症小体是细胞内的一种多蛋白复合物,它能激活半胱氨酸天冬氨酸特异蛋白酶 1(caspase-1),进一步促进炎症因子 IL-1 β 和 IL-18 的成熟和分泌,从而促进细胞凋亡,调节固有免疫应答。IL-1 受体拮抗剂(Anakinra)和 IL-1 β 单克隆抗体(Canakinumab)治疗儿童 AID 取得了较好的疗效。本文就 NLRP3 炎症小体在该类疾病发病机制中的研究进展作一综述。



[关键词] 多蛋白复合物; 自身免疫疾病; 白细胞介素 1 β ; 染色体障碍; 综述

[中图分类号] R725.9 **[文献标志码]** A

Progress on the study of NLRP3 inflammasome in autoinflammatory diseases of children

LI Yandie, LU Meiping(*Department of Rheumatology Immunology & Allergy, Children's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310003, China*)

Corresponding author: LU Meiping, E-mail: meipinglu@zju.edu.cn, <http://orcid.org/0000-0002-3264-6397>

[Abstract] Autoinflammatory diseases (AID) in childhood is one of refractory diseases, whose pathogenesis is not completely clear. In recent years, a large number of studies have shown that NLRP3 inflammasome plays an important role in the development of AIDs in children. Inflammasome is a cytosolic multiprotein complex that can activate cysteinyl aspartate-specific protease-1 (caspase-1), to further promote the maturation and secretion of proinflammatory cytokines IL-1 β and IL-18 as well as pyroptosis and regulate innate immune response. IL-1 receptor antagonist (Anakinra) and IL-1 β monoclonal antibody (Canakinumab) have good therapeutic effects in children with AIDs. This article reviews the research progress of NLRP3 inflammasome

收稿日期:2017-04-28 接受日期:2017-05-03

基金项目:浙江省科学技术厅公益性技术应用研究计划(2013C37025)

第一作者:李艳蝶(1990—),女,硕士研究生,主要从事风湿免疫过敏性疾病研究;E-mail:21518290@zju.edu.cn; <http://orcid.org/0000-0003-2082-6101>

通讯作者:卢美萍(1966—),女,博士,主任医师,博士生导师,主要从事呼吸系统、风湿免疫过敏性疾病研究;E-mail: meipinglu@zju.edu.cn; <http://orcid.org/0000-0002-3264-6397>

in the pathogenesis of autoinflammatory diseases.

[Key words] Multiprotein complexes; Autoimmune diseases; Interleukin-1 beta; Chromosome disorders; Review

[J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2017,46(4):449-453.]

儿童自身炎症性疾病(autoinflammatory diseases, AID)通常是指一组由固有免疫参与介导的遗传性疾病,但近年来发现有些 AID 不具有明确的遗传史,受多种基因和环境因素共同作用^[1]。儿童 AID 主要包括①遗传性周期热综合征:冷炎素相关周期热综合征(cryopyrin-associated periodic syndromes, CAPS,包括家族性寒冷性自身炎症综合征、Muckle-Wells 综合征、新生儿期发病的多系统炎性疾病),家族性地中海热(familial mediterranean fever, FMF),高 IgD 伴周期热综合征, TNF 受体相关周期热综合征^[2];②化脓性(非感染性)疾病:无菌性化脓性关节炎、坏疽性脓皮病、痤疮综合征(PAPA 综合征)、Majeed 综合征;③免疫介导的肉芽肿疾病:Blau 综合征、克罗恩病;④特发性发热综合征:幼年特发性关节炎(juvenile idiopathic arthritis, JIA)、白塞综合征等^[3]。该组疾病表现为反复的发热、皮疹、关节痛、关节炎等全身炎症反应,IL-1 家族细胞因子(主要包括 IL-1 β 和 IL-18)水平升高^[4]。NLRP3 炎症小体是由受体蛋白(NLR 蛋白)、接头蛋白[凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain, ASC)]和效应蛋白(pro-caspase-1)构成的多蛋白复合物^[5],它通过激活半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶 1(caspase-1),促进 IL-1 β 和 IL-18 的成熟和分泌,参与炎症反应^[6]。近些年关于 NLRP3 炎症小体与 AID 关系的研究逐渐增多。已有研究显示,IL-1 受体拮抗剂(Anakinra)和 IL-1 β 单克隆抗体(Canakinumab)对儿童 AID 患者取有较好的疗效^[7]。本文就 NLRP3 炎症小体参与儿童 AID 发病机制的研究进展作一综述。

1 NLRP3 炎症小体与冷炎素相关周期热综合征

CAPS 为常染色体显性遗传病,系 NLRP3 基因获得性功能突变所致^[8]。NLRP3 基因定位于 1 号染色体短臂上(即 1q44),编码 NLRP3 蛋白(又

称冷炎素, cryopyrin)^[9]。目前 NLRP3 基因共有 177 种突变,多位于 3 号外显子或 4 号内含子上^[10]。其中, T348M、D303N 突变与 CAPS 病情严重程度相关^[11]。有些患者生殖细胞中没有 NLRP3 突变,但是体细胞嵌合体中存在 NLRP3 突变^[12]。家族性寒冷性自身炎症综合征患者外周血白细胞中 NLRP3 杂合突变使 NLRP3 炎症小体过度激活,进而起病^[13]。Muckle-Wells 综合征是由于 NLRP3 NACHT 结构域的错义突变导致 NLRP3 蛋白功能增强使 NLRP3 炎症小体持续活化。研究显示, NLRP3 T348M 基因参与 Muckle-Wells 综合征的发生^[14]。中国汉族一例 Muckle-Wells 综合征患者 NLRP3 中 p. D31V 基因突变促进 NLRP3 炎症小体的激活^[15]。新生儿期发病的多系统炎性疾病患者脑脊液可检测到 NLRP3 基因突变,但其血清中未检测到。测序整个 NLRP3 基因发现外显子 4 (G755R、G755A) 和外显子 6 (Y859C) 的错义突变参与 CAPS 的发病^[16]。此外, Yu 等^[17]发现 NLRP3 炎症小体缺陷小鼠模型 IL-1 产生过剩,导致 CAPS 炎症症状。

CAPS 的诊断主要依据典型临床表现,基因检测有助于诊断。Anakinra 治疗 Muckle-Wells 综合征和新生儿期发病的多系统炎性疾病疗效显著,但伴有严重破坏的 CAPS 患者对 Anakinra 应答不佳^[18]; IL-1 β 单克隆抗体 Canakinumab 可使 97% 的 CAPS 患者症状改善^[19]。

2 NLRP3 炎症小体与家族性地中海热

FMF 是由编码 Pyrin 蛋白的 MEFV 基因突变引起的常染色体隐性遗传病^[20]。Pyrin 主要表达于中性粒细胞和单核细胞的细胞质中,其热蛋白结构域(PYD)可竞争性地与 ASC 分子 PYD 结合,从而减少 NLRP3 与 ASC 结合,抑制 NLRP3 炎症小体形成。MVEF 突变系功能缺失性突变,可导致 Pyrin 数量减少或功能改变,致使 NLRP3 炎症小体过度活化。Repa 等^[21]发现, FMF 患者新

分离的白细胞中 NLRP3 和 caspase-1 表达水平较对照组下降。Mitroulis 等^[22]发现无症状 FMF 患者中性粒细胞 NLRP3 mRNA 水平降低。除 MEFV 基因突变外, Timerman 等^[23]在 FMF 样周期性发热综合征患者中还发现了 NLRP3 基因突变, 猜测其为多基因遗传病。Chae 等^[24]的 FMF 动物模型也证实, 单核细胞分泌 IL-1 β 是通过 NLRP3 介导的。

基因检查有助于 FMF 的诊断。治疗首选秋水仙碱。但 Manukyan 等^[25]发现使用秋水仙碱治疗一些难治性 FMF 时, NLRP3 和 MEFV 的表达量较健康对照组增加, 这可能是秋水仙碱疗效不佳的原因。此外, 随机对照研究结果显示, Anakinra 和 Canakinumab 治疗秋水仙碱抵抗的 FMF 患者安全、有效^[26]。

3 NLRP3 炎症小体与幼年特发性关节炎

JIA 是最常见的儿童风湿性疾病之一, 共七个亚型, 其中全身型 JIA 是最严重的亚型。NLRP3 基因突变在全身型 JIA 的发生发展中具有调控作用^[27]。Tadaki 等^[28]通过研究 50 例全身型 JIA 患者发现, NLRP 基因 19q13.42 从头重复突变与全身型 JIA 相关。急性活动期全身型 JIA 患者单个核细胞微阵列分析结果提示 IL-1 β 以及 IL-1 受体基因表达上调^[29]。在日本发现一例 3 岁 JIA 患儿存在 NLRP3 E378K 位点基因突变, 且血清 IL-1 β 、IL-6 和 IL-18 水平明显升高^[30]。中国台湾的一项研究表明, 携带 NLRP3 rs4353135 G 等位基因增加了少关节型或多关节型 JIA 发生的风险, 该基因与高水平的 CRP 和红细胞沉降率正相关, 而 rs4353135、rs2043211 单核苷酸多态性与全身型 JIA 患者易感性不相关^[31]。Day 等^[32]研究结果显示, 银屑病性关节炎与 MEFV SNP rs224204 ($P = 0.025$) 和 NLRP3 SNP rs3806265 ($P = 0.04$) 存在显著的相关性。Lamot 等^[33]研究结果表明, NLRP3 和 TLR4 是全身性自身炎症性疾病最重要的基因, CXCR4 和 PTPN12 共同参与附着点相关性关节炎的病理生理机制。随机双盲对照研究结果显示, Canakinumab 治疗全身型 JIA 是安全、有效的, 全身型 JIA 患者早期使用 Anakinra 或 Canakinumab 可延长疾病的稳定期^[34]。

4 NLRP3 炎症小体与 Majeed 综合征

Majeed 综合征是新生儿期常染色体隐性遗传病, 为脂质 2 (LPIN2) 基因突变所致, 可编码 LPIN2 蛋白^[35]。正常情况下, LPIN2 通过抑制嘌呤能离子通道型受体 7 (P2X₇R) 来抑制 NLRP3 炎症小体的活化。Majeed 综合征患者 LPIN2 基因突变, 抑制作用减弱, 炎症小体活化增强^[35]。Scianaro 等^[36]的研究结果显示, 慢性反复性多发性骨髓炎活动期 NLRP3 mRNA 表达水平较健康对照组和疾病缓解期组明显升高。治疗上, Herlin 等^[37]的研究结果显示, IL-1 阻滞剂 (Anakinra 或 Canakinumab) 治疗 Majeed 综合征疗效显著, 患者的临床症状及实验室检查结果明显改善。

传病, 为脂质 2 (LPIN2) 基因突变所致, 可编码 LPIN2 蛋白^[35]。正常情况下, LPIN2 通过抑制嘌呤能离子通道型受体 7 (P2X₇R) 来抑制 NLRP3 炎症小体的活化。Majeed 综合征患者 LPIN2 基因突变, 抑制作用减弱, 炎症小体活化增强^[35]。Scianaro 等^[36]的研究结果显示, 慢性反复性多发性骨髓炎活动期 NLRP3 mRNA 表达水平较健康对照组和疾病缓解期组明显升高。治疗上, Herlin 等^[37]的研究结果显示, IL-1 阻滞剂 (Anakinra 或 Canakinumab) 治疗 Majeed 综合征疗效显著, 患者的临床症状及实验室检查结果明显改善。

5 NLRP3 炎症小体与 PAPA 综合征

PAPA 综合征是罕见的常染色体显性遗传病, 是由 PSTPIPI 基因突变所致, 后者又称 CD2 结合蛋白 1 (CD2BP1)。PSTPIPI 基因突变 (A230T、E250Q) 可致 CD2BP1 的过度磷酸化, 增强 Pyrin-CD2BP1 的结合, 干扰 Pyrin 对 NLRP3 炎症小体的负性抑制作用, 导致促炎细胞因子过度产生, 从而引起 PAPA 综合征^[38]。伴有骨破坏的 PAPA 综合征患者经 Anakinra 治疗后临床症状改善, 6 个月后影像学表现明显改善^[39]。

除上述 AID 外, NLRP3 还参与其他 AID 的发病机制。如在自身炎症性神经系统疾病的家系中通过基因测序检测到 NLRP3 c. 864C > G (p. I288M) 上存在突变^[40]; 也有报道儿童 Schnitzler 综合征患者出现 NLRP3 V198M 突变^[41]。

综上所述, 大量研究证实 NLRP3 炎症小体与多种 AID 相关, 但发病机制尚未完全明确。NLRP3 炎症通路上任何蛋白表达失调都会影响疾病的发生、发展。期待能有更多的研究来证实该炎症小体在 AID 中的作用, 为 AID 的治疗提供新的方案。

参考文献

- [1] ÁLVAREZ-ERRICO D, VENTO-TORMO R, BALLESTAR E. Genetic and epigenetic determinants in autoinflammatory diseases [J]. *Front Immunol*, 2017, 8:318.
- [2] PARK H, BOURLA A B, KASTNER D L, et al. Lighting the fires within: the cell biology of autoinflammatory diseases [J]. *Nat Rev Immunol*, 2012, 12(8):570-580.
- [3] 李 冀, 宋红梅. 自身炎症性疾病分类 [J]. *协和医*

- 学杂志,2014,5(4):450-454.
- LI Ji, SONG Hongmei. Classification of inflammatory diseases [J]. **Medical Journal of Peking Union Medical College Hospital**,2014,5(4):450-454. (in Chinese)
- [4] HOFFMAN H M, BRODERICK L. The role of the inflammasome in patients with autoinflammatory diseases [J]. **J Allergy Clin Immunol**, 2016, 138 (1):3-14.
- [5] TONG Y, DING Z H, ZHAN F X, et al. The NLRP3 inflammasome and stroke [J]. **Int J Clin Exp Med**, 2015,8(4):4787-4794.
- [6] KANG M J, JO S G, KIM D J, et al. NLRP3 inflammasome mediates interleukin-1 β production in immune cells in response to *Acinetobacter baumannii* and contributes to pulmonary inflammation in mice [J]. **Immunology**,2017,150(4):495-505.
- [7] CUSH J J. Autoinflammatory syndromes [J]. **Dermatol Clin**,2013,31(3):471-480.
- [8] AKSENTIJEVICH I, NOWAK M, MALLAH M, et al. *De novo* CIAS1 mutations, cytokine activation, and evidence for genetic heterogeneity in patients with neonatal-onset multisystem inflammatory disease (NOMID): a new member of the expanding family of pyrin-associated autoinflammatory diseases [J]. **Arthritis Rheum**,2012,46(12):3340-3348.
- [9] EROGLU F K, KASAPCOPUR O, BEŞBAŞ N, et al. Genetic and clinical features of cryopyrin-associated periodic syndromes in Turkish children [J]. **Clin Exp Rheumatol**,2016,34(6 Suppl 102):S115-S120.
- [10] SARRABAY G, GRANDEMANGE S, TOUITOU I. Diagnosis of cryopyrin-associated periodic syndrome: challenges, recommendations and emerging concepts [J]. **Expert Rev Clin Immunol**,2015,11(7):827-835.
- [11] NAKAGAWA K, GONZALEZ-ROCA E, SOUTO A, et al. Somatic NLRP3 mosaicism in Muckle-Wells syndrome. A genetic mechanism shared by different phenotypes of cryopyrin-associated periodic syndromes [J]. **Ann Rheum Dis**,2015,74(3):603-610.
- [12] MENSA-VILAR A, TERESA B M, MAGRI G, et al. Brief report: late-onset cryopyrin-associated periodic syndrome due to myeloid-restricted somatic NLRP3 mosaicism [J]. **Arthritis Rheumatol**,2016, 68(12):3035-3041.
- [13] BRODERICK L, DE NARDO D, FRANKLIN B S, et al. The inflammasomes and autoinflammatory syndromes [J]. **Annu Rev Pathol**, 2015, 10:395-424.
- [14] NAZ V E, CARO G D, PINEDOI M F, et al. Muckle-Wells syndrome: a case report with an NLRP3 T348M mutation [J]. **Pediatr Dermatol**, 2016,33(5):e311-e314.
- [15] HU J, ZHU Y, ZHANG J Z, et al. A novel mutation in the pyrin domain of the NOD-like receptor family pyrin domain containing protein 3 in Muckle-Wells syndrome [J]. **Chin Med J (Engl)**,2017,130(5):586-593.
- [16] STOJANOV S, WEISS M, LOHSE P, et al. A novel CIAS1 mutation and plasma/cerebrospinal fluid cytokine profile in a German patient with neonatal-onset multisystem inflammatory disease responsive to methotrexate therapy [J]. **Pediatrics**,2004,114(1):e124-e127.
- [17] YU J R, LESLIE K S. Cryopyrin-associated periodic syndrome: an update on diagnosis and treatment response [J]. **Curr Allergy Asthma Rep**,2011,11 (1):12-20.
- [18] FINETTI M, OMENETTI A, FEDERICI S, et al. Chronic infantile neurological cutaneous and articular (CINCA) syndrome: a review [J]. **Orphanet J Rare Dis**,2016,11(1):167-177.
- [19] NEVEN B, PRIEUR A M, QUARTIER DIT MAIRE P. Cryopyrinopathies: update on pathogenesis and treatment [J]. **Nat Clin Pract Rheumatol**,2008,4 (9):481-489.
- [20] ALGHAMDI M. Familial Mediterranean fever, review of the literature [J]. **Clin Rheumatol**,2017, 36(8):1707-1713.
- [21] REPA A, BERTSIAS G K, PETRAKI E, et al. Dysregulated production of interleukin-1 β upon activation of the NLRP3 inflammasome in patients with familial Mediterranean fever [J]. **Hum Immunol**,2015,76(7):488-495.
- [22] MITROULIS I, KOURTZELIS I, KAMBAS K, et al. Evidence for the involvement of mTOR inhibition and basal autophagy in familial Mediterranean fever phenotype [J]. **Hum Immunol**,2011,72(2):135-138.
- [23] TIMERMAN D, FRANK N Y. Novel double heterozygous mutations in MEFV and NLRP3 genes in a patient with familial Mediterranean fever [J]. **J Clin Rheumatol**,2013,19(8):452-453.
- [24] CHAE J J, CHO Y H, LEE G S, et al. Gain-of-function Pyrin mutations induce NLRP3 protein-independent interleukin-1 β activation and severe autoinflammation in mice [J]. **Immunity**, 2011, 34 (5):755-768.
- [25] MANUKYAN G, PETREK M, NAVRATILOVA Z,

- et al. Transcriptional activity of neutrophils exposed to high doses of colchicine: short communication[J]. **J Biol Regul Homeost Agents**, 2015, 29(1):125-130.
- [26] BEN-ZVI I, KUKUY O, GIAT E, et al. Anakinra for colchicine-resistant familial mediterranean fever: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial [J]. **Arthritis Rheumatol**, 2017, 69(4):854-862.
- [27] HERSH A O, PRAHALAD S. Immunogenetics of juvenile idiopathic arthritis: a comprehensive review [J]. **J Autoimmun**, 2015, 64(1):113-124.
- [28] TADAKI H, SAITSU H, NISHIMURA-TDAKI A, et al. *De novo* 19q13.42 duplications involving NLRP gene cluster in a patient with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis [J]. **J Hum Genet**, 2011, 56(5):343-347.
- [29] HAYEM F, HAYEM G. Still's disease and the mitochondrion: the other face of an old friend? [J]. **Med Hypotheses**, 2012, 79(2):136-137.
- [30] OHNISHI H, TERAMOTO T, IWATA H, et al. Characterization of NLRP3 variants in Japanese cryopyrin-associated periodic syndrome patients [J]. **J Clin Immunol**, 2012, 32(2):221-229.
- [31] YANG C A, HUANG S T, CHANG B L. Association of NLRP3 and CARD8 genetic polymorphisms with juvenile idiopathic arthritis in a Taiwanese population [J]. **Scand J Rheumatol**, 2014, 43(2):146-152.
- [32] DAY T G, RAMANAN A V, HINKS A, et al. Autoinflammatory genes and susceptibility to psoriatic juvenile idiopathic arthritis [J]. **Arthritis Rheum**, 2008, 58(7):2142-2146.
- [33] LAMOT L, BOROVECKI F, TAMBIC B L, et al. Aberrant expression of shared master-key genes contributes to the immunopathogenesis in patients with juvenile spondyloarthritis [J/OL]. **PLoS One**, 2014, 9(12):e115416.
- [34] HORNEFF G, PEITZ J, KEKOW J, et al. Canakinumab for first line steroid-free treatment in a child with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis [J]. **Scand J Rheumatol**, 2017:1-2.
- [35] LORDEN G, GARCIA S I, PABLO N, et al. Lipin-2 regulates NLRP3 inflammasome by affecting P2X7 receptor activation [J]. **Exp Med**, 2017, 214(2):511-528.
- [36] SCIANARO R, INSALACO A, LAUDIERO L B, et al. Deregulation of the IL-1 β axis in chronic recurrent multifocal osteomyelitis [J]. **Pediatr Rheumatol**, 2014, 12(30):1-6.
- [37] HERLIN T, FIGGAARD B, BJERRE M, et al. Efficacy of anti-IL-1 treatment in Majeed syndrome [J]. **Ann Rheum Dis**, 2013, 72(3):410-413.
- [38] SHOHAM N G, CENTOLA M, MANSFIELD E, et al. Pyrin binds the PSTPIP1/CD2BP1 protein, defining familial Mediterranean fever and PAPA syndrome as disorders in the same pathway [J]. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 2003, 100(23):13501-13506.
- [39] CAORSI R, PICCO P, BUONCOMPAGNI A, et al. Osteolytic lesion in PAPA syndrome responding to anti-interleukin 1 treatment [J]. **J Rheumatol**, 2014, 41(11):2333-2334.
- [40] SALSANOL E, RIZZO A, BEDINI G, et al. An autoinflammatory neurological disease due to interleukin 6 hypersecretion [J]. **J Neuroinflammation**, 2013, 10(1):29-36.
- [41] LOOCK J, LAMPRECHT P, TIMMANN C, et al. Genetic predisposition (NLRP3 V198M mutation) for IL-1-mediated inflammation in a patient with Schnitzler syndrome [J]. **J Allergy Clin Immunol**, 2010, 125(2):500-502.

[本文编辑 沈 敏 余 方]