

中医药干预 NLRP3 炎症小体治疗 动脉粥样硬化的研究进展*

陈晋玉¹, 雷媛琳², 王南丁^{1,2,Δ}

1 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046; 2 西安市中医医院, 陕西 西安 710021

[摘要] 从中医药干预核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3)炎症小体入手, 阐述中医药发挥抗炎的作用机理, 认为 NLRP3 炎症小体参与的炎症反应贯穿动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)发展的全过程, 其中清热药、活血药及补虚药在治疗 AS 中具有极大优势, 为中医药治疗 AS 疾病提供新思路。

[关键词] 动脉粥样硬化; 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3; 炎症小体; 中医药

[中图分类号] R543.1+2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2096-9600(2024)04-0112-05

Research Progress of TCM Intervention of NLRP3 Inflammasome in the Treatment of Atherosclerosis

CHEN Jinyu¹, LEI Yuanlin², WANG Nanding^{1,2,Δ}

1 Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China;

2 Xi'an Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710021, China

Abstract Based on the intervention of traditional Chinese medicine on nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome, the paper discussed the anti-inflammatory mechanism of traditional Chinese medicine. It is believed that inflammatory response involved in NLRP3 runs through the entire process of the development of atherosclerosis (AS). Among them, heat-clearing drugs, blood-activating drugs and deficiency-tonifying drugs have great advantages in the treatment of AS, providing new ideas for traditional Chinese medicine treatment of AS.

Keywords atherosclerosis; nucleotide-binding oligomerized structural domain-like receptor protein 3; inflammasome; Chinese medicine

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是一种多因素引起的慢性炎症性疾病, 主要累积大中型动脉, 以动脉内膜脂质沉积、内膜灶状纤维性增厚为特征, 是导致心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)的主要病因^[1]。随着社会经济的发展、居民生活方式的改变及人口老龄化进程的加快, 我国 CVD 的患病率不断升高, 给社会带来严重的经济负担。目前临床治疗 AS 以调脂、抗血小板、溶栓、抗凝等对症治疗为主。但存在不良反应多、治疗费用高、依赖性大等缺点, 而且一旦停药或药物耐受, 可能会再次发病甚至病情加重。

中医药资源丰富、种类繁多, 治疗效果确切。从 Ross 提出 AS 属于炎症性疾病至今, 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(nucleotide binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3)炎症小体被广泛研究^[2], 近年来, 通过中医药干预 NLRP3 炎症小体的基础研究大量开展。越来越多的证据表明^[3-5], NLRP3 炎症小体参与 AS 的发生发展, 沉默 NLRP3 炎症小体可以减轻炎症

反应, 延缓 AS 的进展。现就 NLRP3 炎症小体与 AS 的关系, 以及通过中医药干预 NLRP3 炎症小体治疗 AS 的国内外研究进展进行综述。

1 NLRP3 炎症小体的概念

炎症小体是一种多蛋白复合体, 由受体蛋白 NLRP3、衔接蛋白碳端半胱天冬酶募集结构域的凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis related specklike protein containing a C-terminal caspase recruitment domain, ASC)和效应蛋白半胱氨酸蛋白酶 1(Caspase-1)组成^[6], 机体可通过模式识别受体, 识别病原体相关分子模式和损伤相关分子模式, 激活免疫应答, 从而形成炎症小体。受体蛋白是炎症小体的核心成分, 炎症小体包括核苷酸寡聚化结构域(nucleotide oligomerization domain, Nod)样受体(nod like receptor, NLR)家族和非 Nod 样受体家族, NLRP3 是 NLR 家族中的重要一员, 是目前各领域研究的热点。NLRP3 炎症小体主要由中心核苷酸结合寡聚化结构域、羧基端富含亮氨酸重复结构域和氨基端热蛋白结构域组成。

2 NLRP3炎症小体的激活

正常情况下,NLRP3以低浓度的形式存在于细胞中,能感知细胞内病原微生物的产物及代谢性应激,参与病原体的清除及适应性免疫应答^[7]。Caspase-1主要以半胱氨酸蛋白酶原1(pro-caspase-1)的形式存在,pro-caspase-1不具有生物学活性。当细胞感受外界刺激时,可通过核因子 κ B(nuclear factor kappa-B,NF- κ B)通路诱导NLRP3受体蛋白的表达增多,衔接蛋白招集pro-caspase-1,组装成炎症小体,继而激活caspase-1,活化的caspase-1作用于白细胞介素1 β (interleukin-1 β ,IL-1 β)和白细胞介素18(interleukin-18,IL-18)前体,促进其成熟、活化和分泌,进而引发机体的炎症反应。NLRP3能被多种刺激剂激活,包括真菌、细菌、病毒及体内的危险信号和代谢产物。目前NLRP3炎症小体的激活方式有4种较为可信的假说^[8],即钾离子外流、溶酶体破裂、钙离子内流和活性氧(reactive oxygen species,ROS)的形成。研究表明,NLRP3炎症小体的活化不是单一机制作用的结果,由多种机制共同参与完成^[9]。

3 NLRP3炎症小体在AS中的作用

NLRP3炎症小体贯穿于AS发展的始终。NLRP3炎症小体有促AS的作用,当血液中脂质含量增高,胆固醇结晶沉积于血管内皮,巨噬细胞吞

噬胆固醇结晶转化为泡沫细胞,泡沫细胞可通过破坏溶酶体释放ROS和蛋白酶激活NLRP3,上调caspase-1、IL-1 β 水平,激发炎症反应^[10]。武榕等^[11]研究表明,巨噬细胞通过其表面CD36受体与氧化低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein,ox-LDL)结合,形成胆固醇结晶,这些胆固醇结晶可以促进ROS产生,加速溶酶体的破裂,激活NLRP3炎症小体,促进IL-1 β 释放,参与AS病变。国内亦有研究指出,NLRP3炎症小体参与AS发生发展的过程,其通过上调ox-LDL的表达水平,诱发Caspase-1、IL-1 β 和IL-18等炎症因子的分泌^[12],从而抑制NLRP3炎症小体的表达,可以减轻AS。WANG等^[13]研究表明,沉默NLRP3基因表达,可明显抑制NLRP3炎性小体的激活,降低血浆中促炎性细胞因子的水平,减少巨噬细胞浸润。

4 中医药对NLRP3炎症小体的调控

为探索治疗AS的新方案,近年来,越来越多的研究着眼于利用中医药调控NLRP3炎症小体治疗AS。中医学中并无AS的病名,根据临床表现,AS可属于中医学“胸痹心痛”“心悸”“脉痹”等范畴^[14],临床多以清热化痰类、益气活血类药物为主。目前,包括清热、活血药等多种中药的有效活性成分,已被初步证明能够调控NLRP3炎性小体,以治疗AS。见表1。

表1 中医药干预NLRP3炎症小体治疗动脉粥样硬化的研究进展

中药成分	中药来源	中药类别	模型	干预相关环节	参考文献
青蒿素	青蒿	清热药	巨噬细胞	促进AMPK磷酸化,抑制NF- κ B的激活	[15]
小檗碱	黄连	清热药	人外周血单核细胞	ROS依赖通路	[16]
黄芩苷	黄芩	清热药	动脉硬化大鼠模型	主动脉血管内皮	[17][18][19]
黄连解毒汤	-	清热剂	ApoE ^{-/-} 小鼠	降低血脂、抑制炎症反应	[20]
柴胡皂苷a	柴胡	清热药	单核细胞	调控PI3K/Akt/NF- κ B/NLRP3通路降低脂蛋白摄取,阻断泡沫细胞形成,抑制LOX-1和CD36的表达	[21]
红景天苷	红景天	活血药	ApoE ^{-/-} 小鼠	主动脉血管内皮	[22]
丹参酮IIA	丹参	活血药	ApoE ^{-/-} 小鼠	抑制NF- κ B激活	[23]
姜黄素	姜黄	活血药	巨噬细胞	抑制LPS	[24]
黄芪甲苷	黄芪	补虚药	DM小鼠	抑制DM小鼠动脉内膜增厚	[25]
人参皂苷-Rg3	人参	补虚药	巨噬细胞	抑制巨噬细胞中ROS的水平	[26]
薯蓣皂苷	薯蓣	补虚药	小鼠巨噬细胞RAW264.7	抑制NF- κ B信号通路及ROS的释放	[27][28]
菝葜醇	菝葜	祛风湿药	SPF级雄性Wistar大鼠	调节抗氧化、调节大鼠血脂水平、保护内皮功能	[29]
褐藻糖胶	海藻	软坚散结药	ApoE ^{-/-} 小鼠	增强p62/SQSTM1依赖性	[30]
五味子甲素	五味子	收涩药	巨噬细胞	抑制Caspase-1的活化	[21]
原花青素B ₂	-	-	人脐静脉内皮细胞	抑制LPS	[32]
谷物纤维	-	-	ApoE ^{-/-} 小鼠	降低了主动脉组织中MyD88和TLR4的蛋白质水平	[33]

4.1 清热药 研究表明,清热药在抗炎中具体表现为抑制致炎因子分泌、调控炎症介质合成和释放、调节甚至中断炎症反应。青蒿素是一种四萜内酯类化合物,主要存在于中药黄花蒿中。青蒿素除具有抗疟作用外,还具有抗氧化、抗炎和血管保护等多种生物功能。JIANG等^[15]研究发现,青蒿素(50、100 mg/kg)能有效减轻ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化病变的程度,如主动脉内膜泡沫细胞形成、增生和纤维化。其作用机制可能是通过上调AMP活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)的激活,下调NF- κ B的磷酸化和NLRP3炎症小体的表达,减轻炎症反应。小檗碱对多种细胞具有明确的抗炎作用,是中药黄连的主要有效成分。JIANG等^[16]研究表明,小檗碱既可抑制巨噬细胞中IL-1 β 表达,也可抑制ROS的产生,从而减少NLRP3炎症小体的组装与激活,其作用机制可能是通过NF- κ B通路发挥抗炎作用,这可能是动脉粥样硬化的一个重要治疗靶点。黄芩苷是黄芩中一种亲脂类黄酮苷,具有抗炎、抗氧化、降脂等生物活性。王新东等^[17]研究发现,黄芩和黄芩苷可减轻脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)/三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)诱导的炎症反应,并且黄芩的抗炎效果并不局限于黄芩苷。研究表明,黄芩苷可降低NLRP3、caspase-1、ASC蛋白、白细胞介素1(interleukin-1, IL-1)、IL-18的表达水平,减轻炎症反应,减少动脉斑块面积^[18-19]。由清热药黄连、黄芩、黄柏等组成的黄连解毒汤,可通过调控NLRP3炎症小体阻断IL-1 β 和IL-18的成熟和分泌,减轻机体的炎症反应,发挥抗AS作用。许丽婷等^[20]研究表明,ApoE^{-/-}小鼠经黄连解毒汤治疗后,血清炎症因子IL-1 β 、IL-18和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)表达量下调,NLRP3炎症小体通路上的NLRP3蛋白和NLRP3、caspase-1、IL-1 β 、TNF- α 信使RNA(messenger RNA, mRNA)指标含量均降低。说明中药复方亦具有很好的抗炎效果。柴胡皂苷a(saikosaponin a, Ssa)是柴胡的主要生物活性提取物。HE^[21]等证明Ssa可通过调控PI3K/AKT/NF- κ B/NLRP3通路降低脂蛋白摄取,阻断泡沫细胞形成,抑制(lectin like oxidized low density lipoprotein receptor-1, LOX-1)和CD36的表达。Ssa还可抑制ox-LDL诱导的AKT和NF- κ B的激活、NLRP3炎症小体的组装及促炎细胞因子的产生。提示Ssa在治疗AS方面具有强大潜力。

4.2 活血药 红景天有益气活血,通脉平喘的作

用,可用于治疗心脑血管疾病。王明明^[22]研究发现,红景天苷高、低剂量组均能降低AS模型小鼠血清胆固醇含量;红景天苷高剂量组能增加高密度脂蛋白的含量;且高剂量组中的NLRP3、IL-1 β 表达明显减弱。说明红景天苷可以抑制AS模型小鼠NLRP3的表达,减少IL-1 β 等炎症因子的分泌。丹参具有改善微循环、保护血管内皮细胞、抗动脉粥样硬化的作用,丹参中的脂溶性成分丹参酮II A(tanshinone II A, Tan II A)是其重要提取物。Tan II A具有较强的抗动脉粥样硬化作用。WEN等^[23]研究发现,以Tan II A处理高脂饲料喂养ApoE^{-/-}小鼠可显著降低体内NLRP3炎症小体水平。其机制可能是抑制NF- κ B激活,下调IL-1 β 和NLRP3的表达,并减少ox-LDL表达,从而衰减ox-LDL细胞吸收和线粒体和溶酶体的破坏活动,抑制NLRP3组装,从而改善动脉粥样硬化的发生。研究发现,姜黄中所含的姜黄素能抑制LPS诱导的小鼠巨噬细胞中NLRP3炎症小体的活化,下调Caspase-1和IL-1 β 的生成^[24]。

4.3 补虚药 黄芪是常用的补气中药,具有补气固表、托毒排脓、利尿、生肌之功效。黄芪甲苷(astragaloside IV, AS-IV)是黄芪的主要有效成分,AS-IV有保护心脑血管、提高免疫力的作用。贾新菊等^[25]研究表明,AS-IV可抑制DM小鼠动脉内膜增厚,减少主动脉血管内皮NLRP3蛋白表达量,血清中IL-1 β 含量显著降低。另有研究报道,人参皂苷20(R)-Rg3和20(S)-Rg3通过调节iNOS的表达抑制NO的产生,降低巨噬细胞中ROS的水平,抑制NLRP3炎症小体的活化^[26]。薯蓣皂苷是中药薯蓣的提纯物,具有较强的抗炎、保护心脏等作用^[27]。王丽娜等^[28]研究表明,薯蓣皂苷可有效抑制NLRP3炎症小体的表达,其作用是通过抑制NF- κ B信号通路及ROS的释放而实现。

4.4 其他 现代研究表明,祛风湿药菝葜有抗AS的作用,其主要提取物是菝葜醇,菝葜醇可显著减少AS大鼠主动脉中NLRP3、ASC、pro-Caspase-1、caspase-1、IL-1 β 和AIM2蛋白的表达量^[29]。软坚散结药海藻可能是通过增强p62/SQSTM1依赖性选择自噬来抑制NLRP3炎症小体激活,从而减轻动脉粥样硬化^[30]。收涩药中五味子也可起到同样的作用,其提取物五味子甲素能够调控小鼠巨噬细胞中Caspase-1的活化,抑制其对IL-1 β 前体的剪切,进而抑制NLRP3炎症小体的活性,减轻炎症反应^[31]。原花青素B₂^[32]、谷物纤维^[33]也可以通过NLRP3炎症小体减轻AS。随着研究的深入,有学者发现中药复方制剂也有抗炎作用,温肾化痰方

具有保护血管平滑肌细胞、延缓动脉粥样硬化进程的作用,其作用机制是抑制 ox-LDL 诱导的炎症反应^[34]。

5 小结

大量的动物实验及细胞实验表明,中药可降低 NLRP3 炎症小体的表达水平,减轻动脉病变的程度,发挥抗 AS 的作用,为临床研究奠定基础。但具体干预环节尚不清楚,有待进一步研究。NLRP3 炎症小体贯穿炎症发展的始终,可激活炎症反应、启动下游传导信号。此外,NLRP3 炎症小体可能成为炎症性疾病预防、发现和治疗的临床检验指标,找出靶向治疗的中药,对治疗疾病具有积极意义。然而还有更多中药可以靶向 NLRP3 炎症小体治疗 AS,需要我们继续开展更多的基础研究。总之,中医药通过干预 NLRP3 炎症小体治疗 AS 有巨大的潜力和广阔的市场,期待今后有更多的研究成果。

参考文献

- [1] 王玉珏,柳思源,陈瑜,等. NOD 样受体蛋白 3 在动脉粥样硬化血管损伤中的作用及中医药干预相关进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2021,19(3):442-445.
- [2] ROSS R. Atherosclerosis:an inflammatory disease[J]. N Engl J Med,1999,340(2):115-126.
- [3] 李彦龙,李斌儒,任彦彦,等. 细胞焦亡与相关疾病的中医药干预研究进展[J]. 西部中医药,2022,35(9):158-161.
- [4] 杨闻君,罗秋林,张强. 黄芪注射液对病毒性心肌炎患者外周血 Th17 及 Treg 细胞亚群的影响[J]. 西部中医药,2022,35(9):91-94.
- [5] ZHENG F,XING S,GONG Z,et al. Silence of NLRP3 suppresses atherosclerosis and stabilizes plaques in apolipoprotein E-deficient mice [J]. Mediators Inflamm,2014,2014:507208.
- [6] GREBE A,HOSS F,LATZ E. NLRP3 inflammasome and the IL-1 pathway in atherosclerosis[J]. Circ Res,2018,122(12):1722-1740.
- [7] 高森,王立平,董晶晶,等. 核苷酸结合寡聚结构域 3 蛋白参与血管动脉粥样硬化的研究进展[J]. 心血管病学进展,2018,39(5):816-819.
- [8] LATZ E,XIAO T S,STUTZ A. Activation and regulation of the inflammasomes[J]. Nat Rev Immunol,2013,13(6):397-411.
- [9] PELLEGRINI C,MARTELLI A,ANTONIOLI L,et al. NLRP3 inflammasome in cardiovascular diseases: pathophysiological and pharmacological implications[J]. Med Res Rev,2021,41(4):1890-1926.
- [10] 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.
- [11] 武榕,李晓燕,潘国显,等. NLRP3 炎症小体与动脉粥样硬化研究进展[J]. 临床医药实践,2018,27(10):784-787,800.
- [12] 黄巧玲,覃聪,黄广群. NLRP3 炎症小体及其下游炎症因子在动脉粥样硬化炎症反应中的作用[J]. 海南医学,2017,28(1):86-88.
- [13] WANG R,WANG Y,MU N,et al. Activation of NLRP3 inflammasomes contributes to hyperhomocysteinemia-aggravated inflammation and atherosclerosis in apoE-deficient mice[J]. Lab Invest,2017,97(8):922-934.
- [14] 李杰. 中医药治疗动脉粥样硬化研究进展[J]. 内蒙古中医药,2019,38(12):167-168.
- [15] JIANG Y,DU H,LIU X,et al. Artemisinin alleviates atherosclerotic lesion by reducing macrophage inflammation via regulation of AMPK/NF- κ B/NLRP3 inflammasomes pathway[J]. J Drug Target,2020,28(1):70-79.
- [16] JIANG Y,HUANG K,LIN X,et al. Berberine attenuates NLRP3 inflammasome activation in macrophages to reduce the secretion of interleukin- β [J]. Ann Clin Lab Sci,2017,47(6):720-728.
- [17] 王新东,孙雪梅,祁晓霞. 黄芩抑制脂多糖/三磷酸腺苷诱导的内皮细胞 NIMA 相关蛋白激酶 7(NEK7)表达和 Nod 样受体蛋白 3(NLRP3)炎症小体激活[J]. 广州中医药大学学报,2021,38(3):556-561.
- [18] 张林玲,石伟林. 基于 NLRP3/caspase-1 通路研究黄芩苷对大鼠动脉硬化模型的保护作用[J]. 热带医学杂志,2020,20(11):1405-1409,1394.
- [19] ZHAO J,WANG Z,YUAN Z,et al. Baicalin ameliorates atherosclerosis by inhibiting NLRP3 inflammasome in apolipoprotein E-deficient mice [J]. Diab Vasc Dis Res,2020,17(6):147-181.
- [20] 许丽婷,于红红,许滔,等. 黄连解毒汤调控 NLRP3 炎症小体改善动脉粥样硬化的机制研究[J]. 中国免疫学杂志,2020,36(7):815-820.
- [21] HE D,WANG H,XU L,et al. Saikosaponin-a attenuates oxidized LDL uptake and prompts cholesterol efflux in THP-1 cells [J]. J Cardiovasc Pharmacol,2016,67(6):510-518.
- [22] 王明明. 基于 NLRP3 探讨红景天苷抑制 AS 中泡沫细胞形成的机制研究[D]. 昆明:云南中医学院,2018.
- [23] WEN J,CHANG Y,HUO S,et al. Tanshinone II A attenuates atherosclerosis via inhibiting NLRP3 inflammasome activation [J]. (Albany NY), 2020, 13(1):910-932.
- [24] 刘孟楠,罗钢,杨思进. 中药提取物通过抑制 NLRP3 途径治疗动脉粥样硬化性疾病研究进展[J]. 甘肃中医药大学学报,2020,37(5):91-96.
- [25] 贾新菊,康岩,杨爱格,等. 黄芪甲苷抑制 NLRP3/IL-1 β 轴改善糖尿病小鼠血管炎性病损[J]. 上海中医药大学学报,2020,34(2):66-70.
- [26] YOON S J,PARK J Y,CHOI S,et al. Ginsenoside Rg3 regulates S-nitrosylation of the NLRP3 inflammasome via suppression of iNOS [J]. Biochem Biophys Res Commun,2015,463(4):1184-1189.
- [27] 陈亚琴,曹拥军. 薯蓣皂苷的现代药理学研究进展[J]. 现代中西医结合杂志,2019,28(23):2613-2617.