

· 综述 ·

炎症小体介导的细胞焦亡在非酒精性脂肪肝病中的作用及机制

张文杰, 孙迪阳, 王 培(海军军医大学药学院药理学教研室, 上海 200433)

[摘要] 非酒精性脂肪肝病包含单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪肝炎和肝硬化等一系列病变, 是造成肝硬化、肝细胞癌变的主要因素和肝脏器官移植的重要诱因。非酒精性脂肪肝的发病机制尚不明确, 除了加强运动、改善饮食习惯外, 目前尚无公认有效的药物治疗方式。细胞焦亡是一种新发现的程序性细胞死亡方式, 依赖于天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶1(caspase-1)或caspase-11等介导的炎症小体的激活。细胞焦亡过程中常伴有炎症反应的发生, 而炎症小体则是细胞产生焦亡和炎症反应所必需的多聚体蛋白复合物, 其主要功能是活化caspase-1, 从而间接调控炎症因子白介素1(IL-1)和IL-18的表达和分泌。最近的研究表明, 细胞焦亡和炎症小体在非酒精性脂肪肝病的发生发展中起重要作用。针对该领域的最新研究进行综述, 以期为非酒精性脂肪肝的防治提供新的科学认识和信息。

[关键词] 炎症小体; 细胞焦亡; 非酒精性脂肪肝; 药物靶点; caspase-1

[中图分类号] R575.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2020)01-0009-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.201902051

The role and mechanism of inflammasome-associated pyroptosis in nonalcoholic fatty liver disease

ZHANG Wenjie, SUN Diyang, WANG Pei(Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai, 200433 China)

[Abstract] Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), which is a series of diseases including simple fatty liver, nonalcoholic steatohepatitis and cirrhosis, is one of the main causes of liver cirrhosis, carcinoma and liver transplantation. The mechanism of NAFLD is not fully understood. Besides the physical exercise and diet intervention, there is no recognized effective drug therapy for NAFLD. Pyroptosis is a newly discovered type of programmed cell death, which is associated with activation of caspase-1, or caspase-2 mediated inflammasome activation. The main function of inflammasome is to activate caspase-1, which indirectly regulates the expression and secretion of inflammatory factors interleukin-1 and interleukin-18. Recent studies have shown that inflammasome-associated pyroptosis plays a key role in NAFLD. This review will discuss the latest researches in this field to provide new scientific knowledge for prevention and treatment of NAFLD.

[Key words] inflammasome; pyroptosis; non-alcoholic fatty liver disease; drug target; caspase-1

非酒精性脂肪肝病(NAFLD)是非酒精因素导致肝实质细胞的脂肪变性和脂肪异常堆积为主要特征的一种肝脏疾病, 其发病率在慢性肝病中处于首位。目前, 其机制尚未研究充分, 且缺乏针对其发病机制的治疗药物。细胞焦亡是一种由消皮素(gasdermin)蛋白家族介导的新型程序性死亡, 以坏死样细胞膜孔形成、细胞肿胀和破裂为特征, 导致大量细胞质内容物泄漏, 伴有细胞核凝结, 但不伴有DNA阶梯化的DNA碎裂。近年研究发现, 与炎症小体相关的细胞焦亡在NAFLD的病程进展

中可能起到重要作用。因此, 这一新型的细胞死亡方式很可能是NAFLD的潜在治疗靶点。本文拟就炎症小体介导细胞焦亡在NAFLD病程进展中的作用及机制作一综述。

1 非酒精性脂肪肝

NAFLD是非滥用酒精引起的代谢性疾病, 包含单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪肝炎(NASH)和肝硬化等一系列病变, 是当今世界发病率最高的慢性肝病(患者约占全球成年人口的25%), 其中。NASH以严重炎症和肝纤维化为特点, 是肝硬化、肝细胞癌的主要病因。目前, “双重打击学说”认为NAFLD病程发展机制分为两步: 第一重打击的是脂质代谢障碍和胰岛素抵抗, 是造成后续发生脂

[作者简介] 张文杰, 硕士研究生, Tel: 13127866788, Email: vidazhangwenjie@163.com

[通讯作者] 王 培, 博士, 副教授, 研究方向: 心血管代谢药理学研究, Tel: 18501790357, Email: pwang@smmu.edu.cn

脂肪肝的前提因素;第二重打击包含炎症、氧化应激、线粒体功能失调和脂质过氧化反应等多种因素,可促使 NAFLD 进展为 NASH,其中,炎症在 NAFLD 所有致病因素中最受关注,因为炎症是联系上游因素(肝脂肪变形和胰岛素抵抗)和下游因素(产生细胞损伤,甚至导致肝硬化)的中心事件。经过适当的治疗,NAFLD 的病程进展可以延迟甚至被逆转,治疗主要包括两种方式:一是生活方式的干预治疗,包括减轻体重、改善饮食和身体锻炼;二是药物治疗,但药物治疗仅局限在辅助减轻体重与改善饮食方面,目前尚无公认有效的药物治疗可针对其发病机制改善 NASH,也还没有专门针对 NASH 治疗的药物获批^[1]。

2 NASH 病理生理学机制

目前,脂毒性是关于 NASH 发病机制中最有说服力的学说^[2-4]。脂毒性损伤是由过量的游离脂肪酸 (FFAs) 进入肝细胞产生的。FFAs 特别是饱和脂肪酸 (SFAs) 主要来自饮食、脂肪组织脂解作用和葡萄糖的脂肪重新合成作用^[2]。生理条件下, SFAs 可以转移到线粒体中用于 β 氧化,也可以合成极低密度脂蛋白 (VLDL) 形成脂滴或者进入血液,而过多的 SFAs 可以产生包含磷脂酸、溶血磷脂酸、溶血磷脂酰胆碱、神经酰胺和二酰甘油等多种脂毒性的中间产物^[2]。这些中间产物可通过内质网 (ER) 中未折叠或折叠错误的蛋白质积累、线粒体功能障碍、活性氧 (ROS) 形成和氧化应激诱导内质网 (ER) 应激,引起细胞凋亡。SFAs 与 TOLL 样受体 4 (TLR4) 结合可以产生一系列的级联反应,包括激活促炎症核因子 κ B (NF- β) 通路、激活凋亡前信号调节激酶 1/c-jun N 末端激酶 (ASK1/JNK) 通路和造成线粒体功能障碍扩增^[3]。胰岛素抵抗在脂肪组织脂解作用和外周葡萄糖处理中起着重要作用,这会导致过量的 FFA 转运,促使氧化应激和脂肪毒性的发生^[2,4]。

越来越多的研究表明饮食习惯与 NASH 病程进展高度相关,多不饱和脂肪酸 (PUFAs)、果糖和高膳食胆固醇在 NAFLD/NASH 发展过程起重要作用。 ω -3、 ω -6 多不饱和脂肪酸都属于 PUFAs,前者减少炎症反应而后者则加重炎症反应。动物实验中,与 ω -6/ ω -3 低比率喂食的动物相比, ω -6/ ω -3 高比率喂食的动物可产生更为严重的脂肪肝^[5]。果糖饮食可以增加脂肪质量、脂肪的重新合成和炎症,并且诱导胰岛素抵抗,提示果糖的过度摄入与 NAFLD 的致病及肝纤维化有关^[6]。肝脏的 X 受体

可以被高膳食胆固醇激活,致使脂质生成与脂质氧化的失衡,产生过量的 FFA,增加肝脏的脂毒性损伤。有研究表明,在高脂、高胆固醇饮食诱导小鼠 NASH 模型中发现利用药物分解胆固醇晶体可改善 NASH 的纤维化^[7]。

肠道微生物、肠源性内毒素、肠道高通透性在 NAFLD/NASH 病程发展中也起到重要作用。肠道微生物可以产生大量的脂多糖 (LPS)、细菌 DNA 和肽聚糖等细菌产物。以上产物均可通过局部静脉循环转移至肝脏。血清中的 LPS 水平升高和肠道的通透性增加与 NAFLD 有关,NASH 患者的血清中 LPS 水平上升,由于肠道通透性增加而被吸收的微生物危险信号被模式识别受体 (包括 TLR) 识别^[8]。

3 炎症小体与细胞焦亡

炎症小体是在胞质模式识别受体识别危险相关分子模式 (DAMPs) 和病原相关分子模式 (PAMPs) 时,在多种免疫和非免疫细胞中形成,与固有免疫反应产生相关的三聚蛋白复合物。到目前为止,已知在炎症小体装配中具有确定作用的模式识别受体家族成员有 3 种成分:神经凋亡蛋白 (NAIPs) 和结节样受体 (NLR) 家族成员中的 NLRP1、NLRP3、NLRC4; AIM2 样受体 (ALR) 家族成员中 AIM2 和 TRIM 家族成员中的 pyrin。炎症小体家族里首个被记载作用的炎症小体是 NLRP1,有报道^[9]指出 NLRP1 由 NACHT、PYD (pyrin 结构域) 和 LRR 结构域组成,在 ASC 参与下,NLRP1 的活性可以被明显增强。NLRP2 炎症小体在 2012 年被发现。有报道称发现人星形胶质细胞表达一种由 NLRP2、ASC 和 caspase-1 的炎症小体,被 ATP 激活后,裂解 caspase-1 为活性片段,促使 IL-1 β 分泌^[10]。NLRP3 可以感受广泛的刺激,包括各种分子、细菌和病毒,因此成为包括代谢障碍和感染等相关疾病新的靶点。NLRP6 在维持肠道菌群平衡和调节 IL-18 水平方面起关键作用。NLRP6 缺陷的小鼠更容易引起肠道炎症和化学诱导出大肠炎,提示其在肠道的功能是促进表皮修复和增殖。新的报告阐述 NLRP6 以自噬的方式来调整杯状细胞黏液分泌,减少 NLRP6 的表达损害黏膜层,导致感染发生^[11]。NLRP10 是唯一没有 LLR 结构域的 NLR,是其他炎症小体的负调节体,不能通过组装炎症小体调节 caspase-1 的作用。NLRP10 缺陷小鼠在一系列的刺激下表现出肝脏 T 细胞源性免疫反应进一步的缺陷。NLRP12 与 ASC 结合,并且

激活 IL-1 β , 也参与到周期性发热和抵抗鼠疫耶尔森菌的机制中。NLRC4 最重要的功能是活化 caspase-1 对抗 G 菌感染, 比如通过巨噬细胞感染沙门菌后, 通过其三型分泌系统(T3SS)传递细菌的鞭毛蛋白和杆状蛋白到 NLRC4, 从而使其活化启动反应。有报道指出在 NAFLD 背景下的结肠直肠癌肝转移病程中, NLRC4 通过改变肿瘤相关巨噬细胞(TAM)的浸润和分化, 促进肿瘤细胞的生长^[12]。AIM2 存在于细胞质中, 可以感应 dsDNA, 可被病毒、细菌甚至是宿主自身 DNA 刺激从而激活。

尽管参与炎症小体激活的成分种类多样, 但在炎症小体被激活后, 都裂解 caspase 使其激活, 裂解胞质蛋白 gasdermin 家族, 产生 N 片段, 作用于细胞膜内侧, 致使细胞膜穿孔, 细胞溶解性死亡, 这个过程称为细胞焦亡。细胞焦亡是一种由 gasdermin 蛋白家族介导的程序性死亡, 在形态学上兼有细胞凋亡与坏死的特征。细胞焦亡时, 坏死样细胞膜孔形成、细胞肿胀和破裂, 导致大量细胞质内容物泄漏, 同时伴有凋亡样细胞核凝缩和不伴有 DNA 阶梯化的 DNA 碎裂, 然而与细胞凋亡相比, 线粒体保持完整且不伴有细胞色素 C 的泄露。在经典的细胞焦亡信息通路中, 包含 NLR 家族(NLRP3、NLRP1、NLRC4、NLRP9 和 NLRP6), PYHIN 蛋白家族(比如 AIM2 和 Pypin 蛋白)等特定的炎症小体可识别 PAMPs 或 DAMPs, 并激活 caspase-1, 致使细胞焦亡发生。在非经典细胞焦亡细胞通路中, caspase-11 和 caspase-4/5 主要通过 CARD 结构域识别胞质中的 LPS 激活, 引发细胞焦亡。

当前的研究发现, 人类体内有 6 种 gasdermin (GSDMA、GSDMB、GSDMC、GSDMD、GSDME 和 PJVK), 小鼠体内有 10 种 gasdermin(GSDMA1~3、GSDMC1~4、GSDMD、GSDME 和 PJVK)。除了 PJVK 外, GSDMs 均由 N 片段与 C 片段 2 个保守结构域组成, 其中 N 片段为活性片段, 而 C 片段则起到自身抑制作用与 N 片段结合^[13]。GSDMA、GSDMA3、GSDMB、GSDMC、GSDMD 和 GSDME 的 N 片段在蛋白水解作用下释放至细胞膜内侧的脂质成分, 形成低聚物死亡诱导穿孔^[13]。

4 炎症小体与细胞焦亡在 NAFLD/NASH 中的关键作用

越来越多的证据表明, 肝脏可以通过局部循环接触到产生于消化道的多种微生物分子或受各种嗜肝病毒感染而导致炎症小体活化, 产生细胞焦亡, 从而介导炎症反应以抵御病原体。最近研究表

明, NLRP3 及其组分在 NASH 患者和小鼠模型中表达显著升高^[14-15]。有研究报道饱和脂肪酸棕榈酸酯(而非不饱和油酸)可介导 NLRP3-ASC 炎症小体的活化, 致使 caspase-1、IL-1 β 和 IL-18 等细胞焦亡组分的产生, 作为 NASH 的致病机制, 自噬和氧化应激也与这一过程息息相关^[16]。利用敲除和插入 NLRP3 基因的小鼠, 已经证明 NLRP3 炎症小体的激活在 NASH 病程进展中是细胞焦亡和肝纤维化的必备条件^[14, 17]。胆固醇晶体可以激活炎症小体导致 NASH, 但利用 MCC-950 阻断 NLRP3 可在部分逆转小鼠(尤其是糖尿病肥胖小鼠)的肝脏中减轻炎症及肝纤维化^[18]。利用正常饮食或高脂饮食(HFD)喂食 6 周诱导的肥胖小鼠模型, 通过安慰剂或白藜芦醇处理 4 周, 发现白藜芦醇不仅改善血糖, 还通过作用于沉默调节蛋白 1(Sirt1)和沉默调节蛋白 6(Sirt6)减轻 NLRP3 相关的肝脏炎症, 从而改善 NAFLD^[19]。最新研究发现, 由 GSDMD 介导的细胞焦亡参与 NASH 病理机制, 相比野生型小鼠, GSDMD^{-/-}小鼠的 NASH 表型得到显著改善^[20]。此外, IL-1 β 的 mRNA 和蛋白水平在蛋氨酸胆碱缺乏饮食(MCD)、HFD 和缺乏胆碱的氨基酸饮食(CDAA)喂食诱导 NASH 的模型中均被发现上调^[16, 21-23]。当敲除 IL-1 α 、IL-1 β 或 IL-1R 基因时, NASH 诱导的肝损伤症状有所减轻^[24-25], 进一步提示 NLRP3 介导的细胞焦亡在 NAFLD 进展为 NASH 病程中有重要作用。

另一个 NLRP3 炎症小体潜在的负调节是自噬。自噬功能缺陷可以导致功能失调的线粒体堆积, 从而促进 ROS 产生, 激活 NLRP3 炎症小体。研究发现依泽替米贝通过诱导自噬抑制 NLRP3 炎症活性, 改善 MCD 喂食诱导 NASH 小鼠的肝脏脂质堆积和炎症^[26], 提示自噬通过抑制 NLRP3 炎症小体改善 NASH。与上述研究结论相反, 也有实验结果表明敲除 NLRP3 基因后可导致细菌菌群失调, 从而加重 NASH^[27]。NLRP3 在 NASH 进程中作用的不同可用 NLRP3 在不同器官的活性不同来解释。在 NASH 致病过程中, 肝脏中 NLRP3 炎症小体表达水平升高, 是 NASH 的致病机制之一; 但肠道中 NLRP3 炎症小体表达水平降低, 则减弱了肠道屏障抵御细菌易位的功能, 造成脂多糖(LPS)进入肝脏增多, 加重 NASH^[28]。这些发现提示, 肝脏 NLRP3 特异性阻断可以改善肝脏炎症与肝脂肪变性并且避免导致肠道菌群失调。

最近研究发现^[29], 在利用 MCD 喂食诱发的 NASH 小鼠模型中, 与补充蛋氨酸的对照组小鼠相

比,除了 NLRP3 外,AIM2、TLR4 和 TLR9 的 mRNA 水平在 NASH 模型小鼠中也出现上调。且在该模型中,AIM2 表达与激活可通过添加 TLR9 配体进一步增强,提示 AIM2 作为 DNA 感受器促进了 NASH 病程进展中炎症的发生。

5 炎症小体与细胞焦亡参与 NAFLD/NASH 发病的可能分子机制

5.1 炎症小体/细胞焦亡调节肝脏脂代谢

最新证据表明,以 NLRP 家族为主的炎症小体复合物是抑制肝脏脂质沉积的关键调节因子。NLRP1 基因敲除小鼠可自发 NASH,该症状在喂食 HFD 后加重,而 NLRP1-mutant (NLRP1a 激活变异体)小鼠肝脏中没有脂质空泡^[24]。NLRP1 炎症小体敲除后可导致小鼠肥胖及代谢综合征,IL-18 表达和肝细胞脂解作用也随之下降。NLRP1 的抗肥胖能力似乎依赖于 IL-18,因为敲除 IL-18 基因后逆转了其保护作用^[30]。此外,给予外源性 IL-18 可逆转小鼠脂肪性肝炎,更进一步明确 NLRP1-IL-18 信号控制代谢综合征的重要性^[30]。给 NLRP3 和 NLRP6 基因敲除小鼠予 HFD 或者 MCD 食物后,可加重肝脏脂肪变性与微生物失调^[27]。有意思的是,将 NLRP3 或 NLRP6 基因敲除导致微生物失调的小鼠的粪便转移至共同饲养的野生型小鼠,则可诱发 NAFLD,并且微生物失调程度与肝脏疾病严重程度高度关联^[27]。目前,对于该现象的可能解释是“肠-肝轴”作用,即经过 HFD 与 MCD 喂食后,导致肠道微生物功能改变,细菌产物更容易易位至肝脏,从而加重肝脏脂肪变性与炎症反应^[31]。目前,NLRP6 被认为是维护肠道内菌群平衡的调节分子,在微生物代谢物的刺激下通过裂解 caspase-1 致 IL-18 成熟、分泌^[32]。作为细胞焦亡的主要产物之一,IL-18 不仅能诱导抗微生物肽的合成,控制肠道微生物群的组成,同时也上调 IL-22 信号,促进伤口愈合。

5.2 炎症小体/细胞焦亡调节肝细胞氧化应激

氧化应激由过多的活性氧引起,是肝损伤的标志之一。氧化应激时,固有免疫系统可以识别被释放到胞质中的细胞核 DNA 和线粒体 DNA(mtDNA)。近年有报道称,caspase-1 通过上调 Beclin 1 蛋白与线粒体自噬减少 ROS 与产生异常 mtDNA,对抗损伤性休克复苏产生的氧化应激诱导的肝细胞损伤^[33]。后续的研究表明,caspase-1 的激活由 AIM2 介导,因为敲除 AIM2 后小鼠 caspase-1 活化减少并且肝细胞死亡加重。AIM2 炎症小体是一种识别功能失

调 DNA 的胞内受体,与免疫原性 DNA 传感器 HMGB1 相互作用以促进肝保护^[34]。这些研究提示,AIM2 是固有免疫感受器与有益自噬之间的枢纽,可以减少氧化应激过程中肝细胞的损伤。

5.3 炎症小体/细胞焦亡调节肝纤维化

作为细胞外基质主要的存储细胞,细胞核 DNA 和 mtDNA 的多种功能可被 NLRP3 改变,包括抑制趋化性、上调胶原蛋白和转化生长因子 β (TGF- β)合成^[35]。敲除 NLRP3 基因可激活肝脏星状细胞(HSCs),并增加其胶原蛋白的堆积,而且不能为外源性 IL-1Ra 治疗所逆转,提示存在 NLRP3 以外的其他炎症小体通路而不是 IL-1 β 促进肝纤维化。NLRP3 在肝纤维产生过程中起着关键作用,特别表现为 IL-1 β 分化 Th17,使其分泌 IL-17。而 IL-17 是放大炎症反应和 NLRP3 持续激活肝纤维化的关键促炎症因子^[36]。综上所述,研究者可能需要投入更多精力去研究炎症小体介导的细胞焦亡通路和新的焦亡通路在 NAFLD/NASH 中的作用,以寻找治疗 NAFLD/NASH 乃至肝纤维化的新药物治疗靶点。

6 结论

NAFLD/NASH 作为全球性卫生问题,越来越受到重视,但从 NAFLD 发展到 NASH 及肝纤维化的致病机制还需更全面深入的研究。作为新发现的功能性蛋白复合体,炎症小体及其介导的细胞焦亡与 NAFLD/NASH 的发病机制密切相关。在生理条件下,肝脏通过炎症小体感受到来自肠道和自身的 PAMPs 和 DAMPs,裂解 caspase 产生活性片段,引起炎症反应与介导细胞焦亡,从而对抗病原体感染、氧化应激、代谢综合征和肿瘤的发生,对于维持机体健康有重要意义。但是在病理条件下,炎症小体过量的激活可促使 NAFLD 加重,向 NASH 进展。

基于以上结论,本课题组认为细胞焦亡作为新发现的参与 NAFLD/NASH 发病的细胞死亡,是一个极具前景的药物开发靶点。开发针对细胞焦亡和炎症小体的化合物或生物药物,将是 NAFLD/NASH 药物研发的重要途径。

【参考文献】

- [1] VILLANUEVA M T. Conscious uncoupling in NASH[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(4): 239.
- [2] NEUSCHWANDER-TETRI B A. Hepatic lipotoxicity and the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: The central role of nontriglyceride fatty acid metabolites[J]. *Hepatology*, 2010,

- 52(2): 774-788.
- [3] MARRA F, SVEGLIATI-BARONI G. Lipotoxicity and the gut-liver axis in NASH pathogenesis[J]. *J Hepatol*, 2018, 68(2): 280-295.
- [4] PEVERILL W, POWELL L, SKOEN R. Evolving concepts in the pathogenesis of NASH: beyond steatosis and inflammation [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(5): 8591-8638.
- [5] LAZIC M, INZAUGARAT M E, POVERO D, et al. Reduced dietary omega-6 to omega-3 fatty acid ratio and 12/15-lipoxygenase deficiency are protective against chronic high fat diet-induced steatohepatitis[J]. *Plos One*, 2014, 9(9): e107658.
- [6] ABDELMALEK M F, SUZUKI A, GUY C, et al. Increased fructose consumption is associated with fibrosis severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Hepatology*, 2010, 51(6): 1961-1971.
- [7] IOANNOU G N, VAN ROOYEN D M, SAVARD C, et al. Cholesterol-lowering drugs cause dissolution of cholesterol crystals and disperse Kupffer cell crown-like structures during resolution of NASH[J]. *J Lipid Res*, 2015, 56(2): 277-285.
- [8] MIELE L C, MARRONE G, LAURITANO C, et al. Gut-liver axis and microbiota in NAFLD: insight pathophysiology for novel therapeutic target[J]. *Curr Pharm Des*, 2013, 19(29): 5314-5324.
- [9] SCHRODER K, TSCHOPP J. The inflammasomes[J]. *Cell*, 2010, 140(6): 821-832.
- [10] MINKIEWICZ J, DE RIVERO VACCARI J P, KEANE R W. Human astrocytes express a novel NLRP2 inflammasome[J]. *Glia*, 2013, 61(7): 1113-1121.
- [11] Wlodarska M, Thaiss CA, Nowarski R, et al. NLRP6 inflammasome orchestrates the colonic host-microbial interface by regulating goblet cell mucus secretion[J]. *Cell*, 2014, 156(5): 1045-1059.
- [12] OHASHI K, WANG Z J, YANG Y M, et al. NOD-like receptor C4 inflammasome regulates the growth of colon cancer liver metastasis in NAFLD[J]. *Hepatology*, 2019; 30693.
- [13] DING J J, WANG K, LIU W, et al. Pore-forming activity and structural autoinhibition of the gasdermin family[J]. *Nature*, 2016, 535(7610): 111-116.
- [14] WREE A, MCGEOUGH M D, PEÑA C A, et al. NLRP3 inflammasome activation is required for fibrosis development in NAFLD[J]. *J Mol Med*, 2014, 92(10): 1069-1082.
- [15] MATSUZAKA T, ATSUMI A, MATSUMORI R, et al. Elov16 promotes nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Hepatology*, 2012, 56(6): 2199-2208.
- [16] WEN H T, 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.
- [17] WREE A, EGUCHI A, MCGEOUGH M D, et al. NLRP3 inflammasome activation results in hepatocyte pyroptosis, liver inflammation, and fibrosis in mice[J]. *Hepatology*, 2014, 59(3): 898-910.
- [18] MRIDHA A R, WREE A, ROBERTSON A A B, et al. NLRP3 inflammasome blockade reduces liver inflammation and fibrosis in experimental NASH in mice[J]. *J Hepatol*, 2017, 66(5): 1037-1046.
- [19] YANG S J, LIM Y. Resveratrol ameliorates hepatic metaflam-
mation and inhibits NLRP3 inflammasome activation[J]. *Metabolism*, 2014, 63(5): 693-701.
- [20] XU B, JIANG M, CHU Y, et al. Gasdermin D plays a key role as a pyroptosis executor of non-alcoholic steatohepatitis in humans and mice[J]. *J Hepatol*, 2018, 68(4): 773-782.
- [21] MIURA K, KODAMA Y, INOKUCHI S, et al. Toll-like receptor 9 promotes steatohepatitis by induction of interleukin-1 β in mice[J]. *Gastroenterology*, 2010, 139(1): 323-334.e7.
- [22] STIENSTRA R, SAUDALE F, DUVAL C, et al. Kupffer cells promote hepatic steatosis via interleukin-1 β -dependent suppression of peroxisome proliferator-activated receptor α activity[J]. *Hepatology*, 2010, 51(2): 511-522.
- [23] VANDANMAGSAR B, YOUM Y, RAVUSSIN A, et al. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance[J]. *Nat Med*, 2011, 17(2): 179-188.
- [24] PETRASEK J, BALA S S, CSAK T, et al. IL-1 receptor antagonist ameliorates inflammasome-dependent alcoholic steatohepatitis in mice[J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(10): 3476-3489.
- [25] WITEK R P, STONE W C, KARACA F G, et al. Pan-caspase inhibitor VX-166 reduces fibrosis in an animal model of nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Hepatology*, 2009, 50(5): 1421-1430.
- [26] KIM S H, KIM G, HAN D H, et al. Ezetimibe ameliorates steatohepatitis via AMP activated protein kinase-TFEB-mediated activation of autophagy and NLRP3 inflammasome inhibition[J]. *Autophagy*, 2017, 13(10): 1767-1781.
- [27] HENAO-MEJIA J, ELINAV E, JIN C C, et al. Inflammasome-mediated dysbiosis regulates progression of NAFLD and obesity[J]. *Nature*, 2012, 482(7384): 179-185.
- [28] DE MINICIS S, RYCHLICKI C, AGOSTINELLI L, et al. Dysbiosis contributes to fibrogenesis in the course of chronic liver injury in mice[J]. *Hepatology*, 2014, 59(5): 1738-1749.
- [29] CSAK T, PILLAI A, GANZ M, et al. Both bone marrow-derived and non-bone marrow-derived cells contribute to AIM2 and NLRP3 inflammasome activation in a MyD88-dependent manner in dietary steatohepatitis[J]. *Liver Int*, 2014, 34(9): 1402-1413.
- [30] MURPHY A J, KRAAKMAN M J, KAMMOUN H L, et al. IL-18 production from the NLRP1 inflammasome prevents obesity and metabolic syndrome[J]. *Cell Metab*, 2016, 23(1): 155-164.
- [31] ANITHA M, REICHARDT F, TABATABAVAKILI S, et al. Intestinal dysbiosis contributes to the delayed gastrointestinal transit in high-fat diet fed mice[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2016, 2(3): 328-339.
- [32] CHEN G Y, LIU M C, WANG F Y, et al. A functional role for Nlrp6 in intestinal inflammation and tumorigenesis[J]. *J Immunol*, 2011, 186(12): 7187-7194.
- [33] ZHANG Q, RAOOF M, CHEN Y, et al. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury[J]. *Nature*, 2010, 464(7285): 104-107.
- [34] SUN Q, LOUGHRAN P, SHAPIRO R, et al. Redox-dependent regulation of hepatocyte absent in melanoma 2 inflammasome activation in sterile liver injury in mice[J]. *Hepatology*, 2017, 65(1): 253-268.

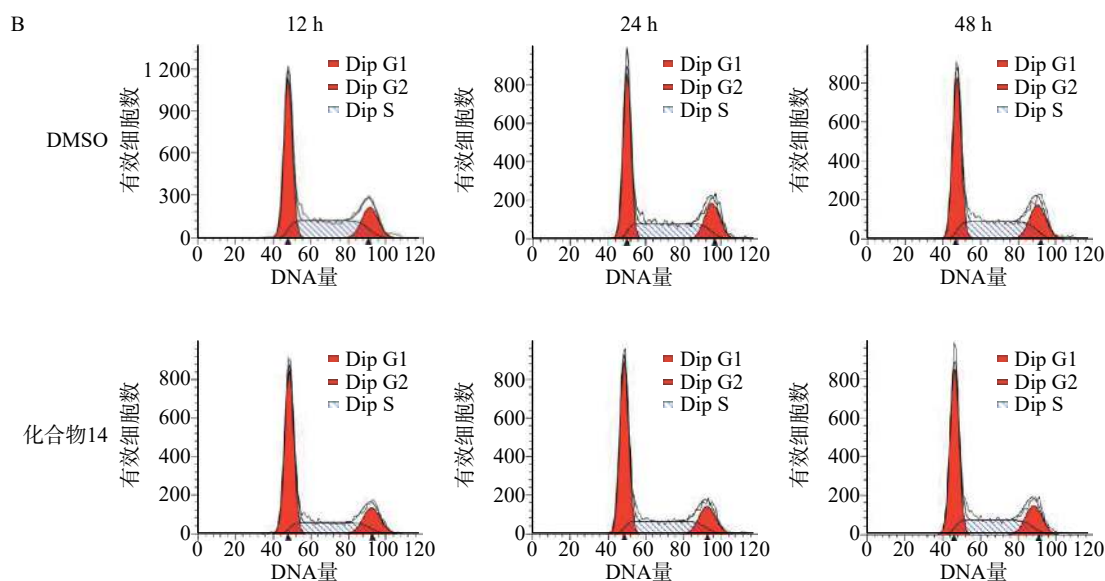


图5 化合物14对HCT116细胞的诱导凋亡(A)和细胞阻滞作用(B)

替 MLN4924 的吡咯并嘧啶骨架, 得到一类非核苷的 NAE 抑制剂, 显示出广谱的抗肿瘤活性。机制研究表明, 双磺酰胺类化合物 14 能显著诱导 PANC-1 细胞的凋亡作用, 导致细胞周期阻滞, 是值得进一步研究的 NAE 抑制剂先导化合物。

【参考文献】

- [1] SOUCY T A, SMITH P G, MILHOLLEN M A, et al. An inhibitor of NEDD8-activating enzyme as a new approach to treat cancer[J]. *Nature*, 2009, 458(7239): 732-736.
- [2] SWORDS R T, KELLY K R, SMITH P G, et al. Inhibition of NEDD8-activating enzyme: A novel approach for the treatment of acute myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2010, 115(18): 3796-3800.
- [3] TANAKA T, NAKATANI T, KAMITANI T. Inhibition of NEDD8-conjugation pathway by novel molecules: potential approaches to anticancer therapy[J]. *Mol Oncol*, 2012, 6(3): 267-275.
- [4] XU B, DENG Y Y, BI R, et al. A first-in-class inhibitor, MLN4924 (pevonedistat), induces cell-cycle arrest, senescence, and apoptosis in human renal cell carcinoma by suppressing UBE2M-dependent neddylation modification[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2018, 81(6): 1083-1093.
- [5] LU P, GUO Y H, ZHU L J, et al. A novel NAE/UAE dual inhibitor LP0040 blocks neddylation and ubiquitination leading to

growth inhibition and apoptosis of cancer cells[J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 154: 294-304.

- [6] ZHANG S P, TAN J N, LAI Z H, et al. Effective virtual screening strategy toward covalent ligands: identification of novel NEDD8-activating enzyme inhibitors[J]. *J Chem Inf Model*, 2014, 54(6): 1785-1797.
- [7] ZHONG H J, LEUNG K H, LIN S, et al. Discovery of deoxyvasicinone derivatives as inhibitors of NEDD8-activating enzyme[J]. *Methods*, 2015, 71: 71-76.
- [8] VERMA S, SINGH A, MISHRA A. Molecular dynamics investigation on the poor sensitivity of A171T mutant NEDD8-activating enzyme (NAE) for MLN4924[J]. *J Biomol Struct Dyn*, 2014, 32(7): 1064-1073.
- [9] MIAO Z Y, ZHU L J, DONG G Q, et al. A new strategy to improve the metabolic stability of lactone: discovery of (20S, 21S)-21-fluorocamptothecins as novel, hydrolytically stable topoisomerase I inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2013, 56(20): 7902-7910.
- [10] WU K J, ZHONG H J, LI G D, et al. Structure-based identification of a NEDD8-activating enzyme inhibitor via drug repurposing[J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 143: 1021-1027.
- [11] LEE H W, NAM S K, CHOI W J, et al. Stereoselective synthesis of MLN4924, an inhibitor of NEDD8-activating enzyme[J]. *J Org Chem*, 2011, 76(9): 3557-3561.

[收稿日期] 2019-01-10 [修回日期] 2019-04-17

[本文编辑] 李睿旻

(上接第 13 页)

- [35] WATANABE A, SOHAIL M A, GOMES D A, et al. Inflammation-mediated regulation of hepatic stellate cells[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2009, 296(6): G1248-G1257.

- [36] WREE A, MCGEOUGH M D, INZAUGARAT M E, et al. NLRP3 inflammasome driven liver injury and fibrosis: Roles of IL-17 and TNF in mice[J]. *Hepatology*, 2018, 67(2): 736-749.

[收稿日期] 2019-02-22 [修回日期] 2019-07-18

[本文编辑] 李睿旻