

特发性膜性肾病肾组织中 NLRP3 炎性小体的表达及意义*

李巍 潘艳 倪文静 万璐 钱宇池 高佩茹 陈卫东

(蚌埠医学院第一附属医院肾内科, 安徽 蚌埠 233000)

【摘要】 目的 通过观察特发性膜性肾病(IMN)患者肾组织中核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(NLRP3)、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-1(Caspase-1)、焦亡关键蛋白(GSDMD)的表达水平,探讨 NLRP3 炎性小体相关因子在 IMN 发生、发展中的意义。方法 选取我院 2020 年 6 月—2022 年 12 月经肾活检病理初次确诊为 IMN 的患者 59 例为 IMN 组,同期选取因输尿管肿瘤、肾肿瘤或肾挫伤等行肾脏切除部分健康肾组织的患者 20 例为 NC 组。收集 IMN 组与 NC 组中一般临床资料及生化相关指标,比较两组间差异;采用免疫组化方法检测肾组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1、GSDMD、IL-1 β 和 IL-18 表达,测光密度值比较两组间差异。并将 IMN 组分为纤维化组 34 例和无纤维化组 25 例,比较两组间 NLRP3、ASC、Caspase-1、GSDMD、IL-1 β 、IL-18 的差异,并观察 NLRP3 炎性小体与肾组织纤维化关系;用 Pearson 相关性分析 NLRP3 炎性小体相关因子与临床指标之间的相关性。结果 IMN 组肾组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1、GSDMD、IL-1 β 和 IL-18 的表达明显高于 NC 组($P < 0.05$);IMN 纤维化组 NLRP3、ASC、Caspase-1、GSDMD、IL-1 β 和 IL-18 的表达强于无纤维化组($P < 0.05$);相关性结果显示,IMN 患者肾组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1、GSDMD、IL-1 β 和 IL-18 的表达与 ALB 水平呈负相关($P < 0.05$),与 24h-U_{pro}、TC、TG 水平呈正相关性($P < 0.05$),与 HB、Scr、BUN、Cys-C、UA、eGFR 水平均无相关($P > 0.05$)。结论 NLRP3 炎性小体相关因子在 IMN 肾组织中表达水平明显增加,并且各因子之间相互影响,引发肾组织损伤及纤维化,参与 IMN 的发生、发展。

【关键词】 特发性膜性肾病;ASC/Caspase-1/GSDMD;NLRP3 炎性小体

【中图分类号】 R692 **【文献标志码】** A **DOI:**10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2025. 04. 006

Expression and significance of NLRP3 inflammasome-related factors in renal tissue of idiopathic membranous nephropathy

LI Wei, PAN Yan, NI Wenjing, WAN Lu, QIAN Yuchi, GAO Peiru, CHEN Weidong

(Department of Nephrology, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233000, Anhui, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the clinical significance of NLRP 3 inflammasome-related factors in the occurrence and development of IMN by observing the expression levels of NLRP 3 inflammasome-related factor NLR family Pyrin domain protein 3 (NLRP 3), apoptosis-related spot-like protein (ASC), aspartate protease-1 (Caspase-1), and pyroptosis critical protein (GSDMD) in renal tissue of idiopathic membranous nephropathy (IMN). **Methods** In this study, 59 patients, initially diagnosed with IMN in The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College from June 2020 to December 2022, were selected as the IMN group (IMN group). During the same period, 20 patients who underwent some healthy renal tissue resection due to ureteral tumor, renal tumor or renal contusion were selected for the normal control group (NC group). General clinical data and biochemical related indicators were collected in the IMN and NC groups. The expression of NLRP 3, ASC, caspase-1, GSDMD, IL-1 β and IL-18 factors in kidney tissue were observed. Pearson correlation between NLRP 3 inflammasome related factors and its correlation with clinical indicators, and divided the IMN group into 34 patients in fibrosis group and 25 patients without fibrosis group, we observed the relationship between NLRP 3 inflammasome and renal tissue fibrosis. **Results** In the comparison of the expression of NLRP 3, ASC, caspase-1, GSDMD, IL-1 β , and IL-18 factors, IMN group was significantly higher than NC group ($P < 0.05$); The IMN

基金项目:安徽省重点研究与开发计划项目(202004j07020011)

通信作者:陈卫东,教授,博士生导师,E-mail:cwd2012@163.com

引用本文:李巍,潘艳,倪文静,等.特发性膜性肾病肾组织中 NLRP3 炎性小体的表达及意义[J].西部医学,2025,37(4):505-510. DOI:10.

3969/j. issn. 1672-3511. 2025. 04. 006

fibrosis group was stronger than the group without fibrosis ($P < 0.05$). The expression of NLRP 3, ASC, caspase-1, GSDMD, IL-1 β and IL-18 factors was negatively correlated with their ALB levels in the renal tissue of IMN patients ($P < 0.05$); a positive correlation with the 24h-Upro level, TC level and TG ($P < 0.05$). There was no correlation with HB, Scr, BUN, Cys-C, UA, or eGFR levels ($P > 0.05$). **Conclusion** The expression level of NLRP 3 inflammasome-related factors increases significantly in IMN renal tissue, and the factors influence each other, causing renal tissue injury and fibrosis, and participate in the occurrence and development of IMN.

【Key words】 Idiopathic membranous nephropathy; ASC/Caspase-1/GSDMD; NLRP 3 inflammasome

特发性膜性肾病 (Idiopathic membranous nephropathy, IMN) 是一种自身免疫性肾小球疾病, 其病理主要表现为免疫复合物沉积于肾小球上皮并伴有基底膜弥漫增生, 沉积的免疫复合物可致补体系统异常活化, 从而导致肾小球滤过屏障受损^[1]。在生理情况下, 肾小球滤过屏障是由毛细血管内皮细胞、基底膜及足细胞所形成, 其完整性对预防蛋白尿的产生起到极其重要作用^[2]。沉积的免疫复合物使 IMN 患者肾小球滤过屏障受损, 随之血清白蛋白在肾小球中被滤除, 因此大多数患者在临床上主要表现为程度不一的蛋白尿和低白蛋白血症。因 IMN 发病机制尚未明确, 在整个病程中, 部分 IMN 患者症状可自发缓解, 然而约 1/3 的 IMN 患者经治疗后因疗效欠佳, 病程迁延, 数年间可进展为终末期肾脏病^[3]。近年国内外研究学者发现了一种新型细胞死亡方式为细胞焦亡, 焦亡的细胞具有坏死和凋亡的双重形态学特征^[4], 其本质就是一种炎症反应。多种细胞焦亡方式中, 其中以核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3) 炎性小体介导焦亡途径为经典细胞焦亡方式, NLRP3 炎性小体的活化是细胞焦亡发生的关键环节, 在细胞焦亡中发挥主导作用^[5]。现已发现 NLRP3 炎性小体与尿蛋白具有一定关联性, 而且肾组织损伤及纤维化与 NLRP3 炎性小体密切相关^[6]。目前, 越来越多的研究表明多种肾脏疾病与 NLRP3 炎性小体具有极其密切的联系, 如狼疮肾炎、糖尿病肾病、缺血再灌注肾损伤等^[7-9]。因此, 本研究通过检测 IMN 患者肾组织中 NLRP3 炎性小体相关因子的表达水平, 进一步了解 NLRP3 炎性小体与 IMN 肾组织损伤发生和发展的关系, 为探索 IMN 发病机制及治疗提供相应依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取我院 2020 年 6 月—2022 年 12 月经肾活检病理初次诊断为 IMN 患者 59 例作为特发性膜性肾病组 (IMN 组)。并选取同时期在我院泌尿外科因肾挫伤、肾肿瘤或输尿管肿瘤等行部分健康肾切除手术的患者 20 例做为正常对照组 (NC 组)。主要纳入标准: 年龄均 > 18 岁, 未接受糖皮质激素及免

疫抑制剂治疗, 并均排除近期合并感染、严重心脏病、肝脏疾病等。IMN 组均经我院行肾活检病理初次诊断为 IMN, 并排除因感染、高血压、糖尿病、药物、肿瘤、自身免疫性疾病及肥胖等其他继发性膜性肾病的可能; 对照组则选取肾组织为远离病灶边缘 5 cm, 并且于我院病理科证实无肿瘤细胞浸润、感染及免疫复合物沉积的正常肾组织。本研究已经过伦理委员会批准 (伦理号: [2020] 第 117 号), 均获得纳入者同意。

1.2 临床资料 将所有对象的临床资料进行详细记录, 其中包括患者姓名、年龄、性别、既往史及个人史。所有受试者生化指标均有我院行空腹抽取外周静脉血所获, 包括患者血红蛋白 (HB)、血清白蛋白 (ALB)、血清总胆固醇 (TC)、血清甘油三酯 (TG)、血清肌酐 (Scr)、血清尿素氮 (BUN)、胱抑素 C (Cys-C)、血清尿酸 (UA) 等相关检测指标, 并检测 24 h 尿蛋白量 (24h-Upro), 估算患者的肾小球滤过率 (eGFR)。

1.3 主要试剂 兔抗 NLRP3 多克隆抗体 (货号 GB11300, 稀释比例 1:1 000)、兔抗 ASC 多克隆抗体 (货号 GB113966, 稀释比例 1:1 000)、兔抗 Caspase-1 多克隆抗体 (货号 GB11383, 稀释比例 1:1 000)、兔抗 GSDMD 多克隆抗体 (货号 GB114198, 稀释比例 1:200)、兔抗 IL-1 β 多克隆抗体 (货号 GB11113, 稀释比例 1:500)、兔抗 IL-18 多克隆抗体 (货号 GB114098, 稀释比例 1:1 000), 上述抗体均购于武汉塞维尔生物科技有限公司。

1.4 病理组织染色 将石蜡切片依次放入脱蜡液 I 10 min, 脱蜡液 II 10 min, 脱蜡液 III 10 min, 无水乙醇 I 5 min, 无水乙醇 II 5 min, 无水乙醇 III 5 min, 进行蒸馏水反复冲洗几遍, 脱蜡至水。分别进行常规 HE 染色、PAS 染色、PASM 染色、masson 染色, 经显微镜进行观察肾组织形态学变化、肾小球基底膜及肾小管病理学改变。

1.5 透射电镜观察肾组织超微结构 1% 锇酸固定, 梯度酒精脱水, 丙酮脱水, 环氧树脂包埋, 超薄切片, 醋酸铀、柠檬酸铅双重电子染色, 透射显微镜下观察足细胞超微结构变化, 并拍照。

1.6 免疫组化 (IHC) 染色 将所获取的 IMN 患者肾组织及 NC 组健康肾组织依次将切片放入脱蜡液 I

10 min, 脱蜡液 II 10 min, 脱蜡液 III 10 min, 无水乙醇 I 5 min-无水乙醇 II 5 min, 无水乙醇 III 5 min, 进行蒸馏水反复冲洗几遍, 脱蜡至水。然后放置于柠檬酸抗原修复液(pH 6.0)进行抗原修复, 阻断内源性过氧化物酶, 使用封闭液进行室温封闭 30 min, 根据抗体使用说明, 依次在 PBS 中进行滴加按一定比例配好的一抗和二抗, DAB 进行显色, 苏木素复染细胞核 3 min 左右, 脱水封片, 将制作成功的免疫组化切片进行在高倍显微镜下进行图像采集分析, 棕黄色为 DAB 显示的阳性表达, 蓝色为细胞核。免疫组化肾组织中的棕黄色为因子阳性表达, 其越深则表明表达量越高, 每张切片在高倍镜(400×)下随机选取 5 个视野, 使用 Image J 软件进行分析, 计算平均密度值, 分别以 5 个视野平均光密度值均值反应因子所表达的水平, 值越大, 表达水平越高。

1.7 统计学分析 采用 SPSS 26.0 软件进行分析, 符合正态性分布的计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示, 两组间比较采用独立样本 t 检验; 根据定量资料是否正态分布采用 Pearson 相关分析变量间相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般临床资料 IMN 组患者 59 例, 其中男性 45 例, 女性 14 例; NC 组 20 例, 男性 11 例, 女性 9 例。IMN 组患者的 ALB 水平较 NC 组降低 ($P < 0.01$), TC、TG、24h-Upro 水平较 NC 组升高 ($P < 0.01$); 两组患者年龄、HB、Scr、BUN、Cys-C、UA、eGFR 水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。

表 1 IMN 组与 NC 组一般临床资料比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of general clinical data between IMN and NC groups

组别	IMN 组(n=59)	NC 组(n=20)	t	P
年龄(岁)	49.034±10.782	51.350±10.122	-0.870	0.390
Scr($\mu\text{mol/L}$)	69.492±15.076	66.050±9.752	1.173	0.246
eGFR[mL/(min \cdot 1.73m 2)]	109.163±22.119	104.927±14.263	0.986	0.329
ALB(g/L)	25.125±4.183	41.445±4.117	-15.257	<0.001
24h-Upro(g)	4.865±2.22	0.083±0.030	9.561	<0.001
TC(mmol/L)	7.259±2.426	3.832±0.648	6.219	<0.001
TG(mmol/L)	2.450±1.601	1.261±0.512	3.254	<0.001
HB(g/L)	132.237±17.374	130.350±16.671	0.433	0.668
BUN(mmol/L)	5.261±2.013	4.464±1.061	1.688	0.095
Cys-C(mg/L)	1.051±0.604	0.909±0.209	1.555	0.124
UA($\mu\text{mol/L}$)	326.780±91.504	290.550±64.907	1.930	0.060

2.2 两组肾组织病理学检查 染色结果显示, NC 组肾小球结构清晰, 囊壁光滑, 球囊形态正常, IMN 组肾小球呈不同程度系膜基质增生及基底膜区增宽, 囊壁增厚; 基底膜上皮侧有嗜复红蛋白沉积, 囊腔拥挤等特征; IMN 组较 NC 组肾脏出现较明显纤维化改变, 肾小球中并出现较多蓝色条索状结构; 以及肾间质水

肿伴有炎性细胞浸润等特征。见图 1。

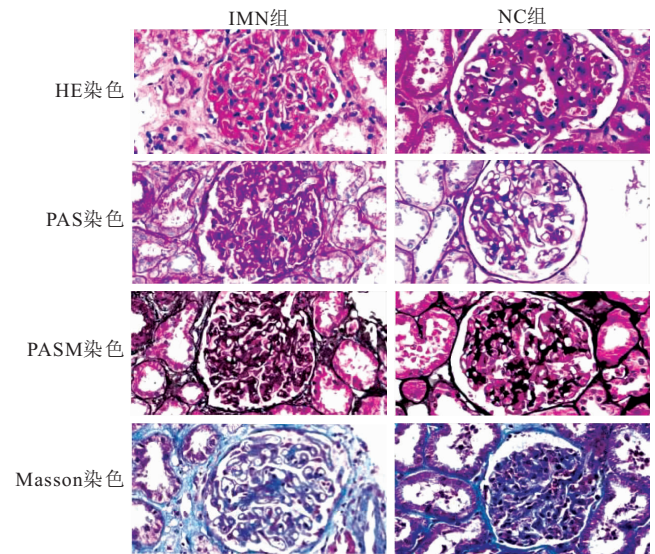


图 1 IMN 组及 NC 组肾组织病理学检查(400×)

Figure 1 Renal histopathological examination of the IMN group and NC groups

2.3 透射电镜观察两组肾组织超微结构 通过透射电镜观察肾组织超微结构, 结果显示, NC 组肾小球基底膜和系膜基质未见增厚, 结构清晰, 足细胞足突紧贴毛细血管基膜外, 成“栅栏状”结构整齐排列; IMN 组肾小球基底膜成弥漫不规则增厚, 系膜基质增生, 伴有钉突形成, 足细胞足突弥漫融合等特征。见图 2。

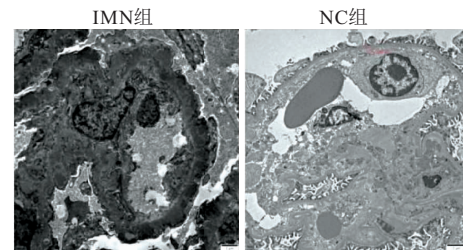


图 2 肾组织电镜下肾小球超微结构(5 000×)

Figure 2 EM ultrastructure of renal tissue

2.4 两组肾组织中 NLRP3 炎性小体中相关因子表达情况 炎性因子的阳性表达在免疫组化肾组织中表现为棕黄色, 显微镜下可观察到两组肾组织有不同程度的因子表达, 利用 Image J 图像分析软件测两组肾组织中因子的密度值进行统计比较, 结果表示, 与 NC 组相比较, IMN 组肾组织中的 NLRP3 ($t = 31.900$, $P < 0.01$)、ASC ($t = 12.447$, $P < 0.01$)、Caspase-1 ($t = 14.497$, $P < 0.01$)、GSDMD ($t = 17.022$, $P < 0.01$)、IL-1 β ($t = 19.320$, $P < 0.01$)、IL-18 ($t = 19.396$, $P < 0.01$) 的图像平均光密度值明显增高, 炎性因子表达明显增强, 并且可见 IMN 纤维化组中 NLRP3 ($t = 2.218$, $P < 0.05$)、ASC ($t = 2.140$, $P < 0.05$)、Caspase-1 ($t =$

2.299, $P < 0.05$), GSDMD ($t = 2.449, P < 0.05$), IL-1 β ($t = 2.611, P < 0.05$), IL-18 ($t = 2.185, P < 0.05$)

的图像平均光密度值高于 IMN 无纤维化组, 见图 3、4, 表 2。

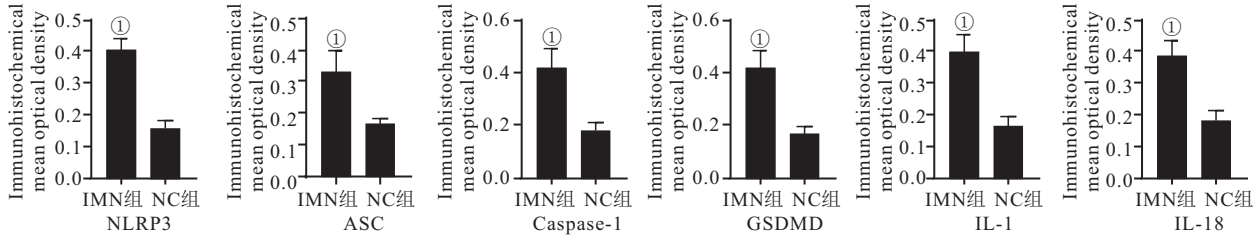


图 3 IMN 组与 NC 组肾组织中相关因子图像光密度值比较

Figure 3 Comparison of optical density values of correlation factor images in kidney tissue between IMN and NC groups

注: 与 NC 组比较, ① $P < 0.05$ 。

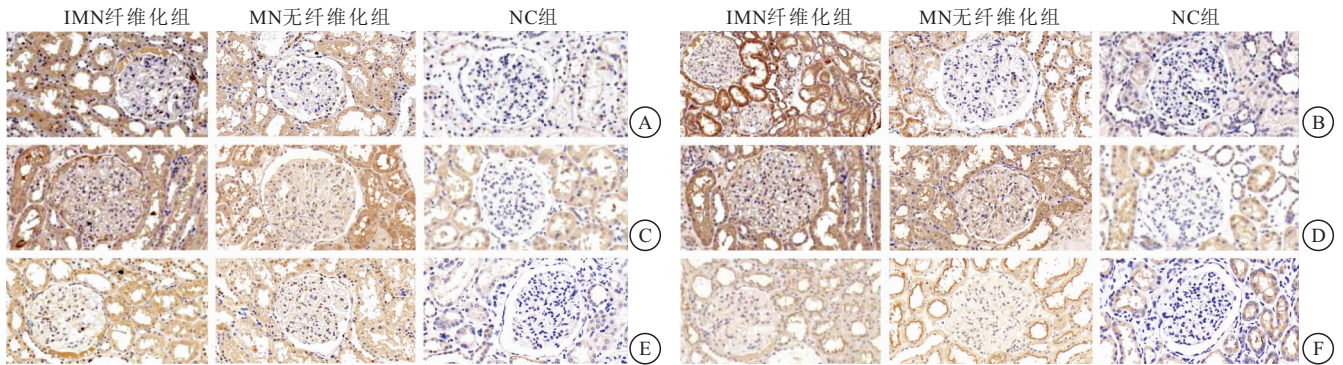


图 4 IMN 组与 NC 组肾组织中相关因子的表达(免疫组织化学染色, 400 \times)

Figure 4 Expression of associated factors in renal tissues of IMN and NC groups

注: A. NLRP3 的表达; B. ASC 的表达; C. Caspase-1 的表达; D. GSDMD 的表达; E. IL-1 β 的表达; F. IL-18 的表达。

表 2 NLRP3 炎性小体相关因子的光密度值比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of optical density values for the NLRP 3 inflammasome-associated factors

组别	NLRP3	ASC	Caspase-1	GSDMD	IL-1 β	IL-18
IMN 纤维化组	0.410 \pm 0.041 ^①	0.353 \pm 0.057 ^①	0.434 \pm 0.063 ^①	0.434 \pm 0.065 ^①	0.410 \pm 0.046 ^①	0.402 \pm 0.044 ^①
IMN 无纤维化组	0.388 \pm 0.034	0.319 \pm 0.061	0.392 \pm 0.074	0.395 \pm 0.058	0.377 \pm 0.050	0.377 \pm 0.044

注: 与 IMN 无纤维化组比较, ① $P < 0.05$ 。

2.5 IMN 组肾组织中因子表达水平与其临床指标相关性分析 通过用 Pearson 相关性分析 IMN 患者的肾组织中 NLRP3 炎性小体因子与其临床指标间的相关性, 结果显示, IMN 患者肾组织中 NLRP3、ASC、

Caspase-1、GSDMD、IL-1 β 和 IL-18 的表达与其 ALB 水平呈负相关($P < 0.05$); 与 24h-Upro、TC、TG 水平呈正相关($P < 0.05$); 与 HB、Scr、BUN、Cys-C、UA、eGFR 水平均无相关($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 IMN 组肾组织中 NLRP3 炎性小体相关因子与各指标相关性分析

Table 3 Association analysis of NLRP 3 inflammasome-related factors and each index in renal tissue of IMN group

项目	NLRP3		ASC		Caspase-1		GSDMD		IL-1 β		IL-18	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
Scr	0.176	0.183	0.150	0.255	0.128	0.335	0.239	0.068	0.149	0.261	0.168	0.203
eGFR	-0.141	0.288	0.031	0.815	-0.030	0.820	-0.203	0.123	-0.174	0.188	-0.099	0.457
ALB	-0.563	<0.001	-0.386	0.003	-0.428	0.001	-0.499	<0.001	-0.456	<0.001	-0.553	<0.001
24h-Upro	0.483	<0.001	0.522	<0.001	0.475	<0.001	0.490	<0.001	0.280	0.032	0.359	0.005
TC	0.546	<0.001	0.298	0.022	0.390	0.002	0.594	<0.001	0.426	0.001	0.424	0.001
TG	0.313	0.016	0.262	0.045	0.266	0.041	0.326	0.012	0.311	0.017	0.334	0.010
HB	0.121	0.363	0.088	0.509	0.127	0.336	0.173	0.191	-0.012	0.927	0.080	0.549
BUN	0.164	0.215	0.226	0.085	0.164	0.215	0.022	0.871	0.214	0.103	0.136	0.303
Cys-C	-0.113	0.396	0.033	0.807	0.049	0.712	-0.042	0.750	-0.255	0.051	-0.191	0.147
UA	0.026	0.843	0.113	0.395	-0.211	0.109	0.037	0.780	0.173	0.189	0.114	0.391

3 讨论

近年来,大多数的膜性肾病被归为 IMN,并认为是老年人肾病综合征中最为常见的病因之一^[10],而且 IMN 的患者所占比例趋势不断升高,发病年龄逐渐年轻化^[11]。IMN 不仅使部分患者治疗效果不佳,而且会带来静脉血栓栓塞等严重并发症^[12],给社会、家庭及个人带来沉重负担,因此寻求 IMN 发病机制及治疗迫在眉睫。所有肾脏疾病均可由一定的炎症反应所引起,并且炎症在慢性肾脏病的发生发展中具有极其重要作用^[13]。

现有研究证明 NLRP3 炎性小体在 IMN 发病机制中扮演着重要角色,因此,通过探讨 NLRP3 炎性小体在 IMN 肾组织损伤中的机制,对于了解 IMN 发生发展极为重要。NLRP3 炎性小体是由 NLRP3、ASC 和前半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-1(Pro-Caspase-1)所组成的一种多蛋白复合物。NLRP3 炎性小体的激活分为两步,分别为启动阶段和激活阶段^[14]:在启动阶段中,作为 NOD 受体家族一员的 NLRP3,其是一种胞质传感器,机体识别相关危险信号时,可激活识别损伤相关分子模式和病原体相关模式^[15],进行通过与细胞因子受体和 Toll 样受体(TLRs)相结合导致转录因子 NF- κ B 激活,继而促进 NLRP3 及 pro-IL-1 β 表达;在激活阶段中 NLRP3 通过聚寡并招募 ASC 和 pro-caspase-1,从而激活诱导释放具有活性的 Caspase-1,活化后的 Caspase-1 可以将 pro-IL-1 β 及 pro-IL-18 分别裂解为成熟的 IL-1 β 和 IL-18,还可以将 GSDMD 进行切割分为 GSDMD-N 和 GSDMD-C, GSDMD-N 是具有活性的 N 端结构域,其可易位至质膜上,作用于细胞表面的磷脂酰肌醇,从而导致细胞膜穿孔,改变细胞渗透压,导致膜破裂,使分裂成熟的 IL-1 β 和 IL-18 释放到细胞外,从而扩大细胞炎症反应^[16]。有研究发现,NLRP3 炎性小体上游通路被激活后,NLRP3 炎性小体在肾组织中表达明显增加,并观察到实验组小鼠肾组织损伤严重,并且抑制其上游通路的活化可见对肾组织的保护效应^[17-18];也有研究表明,抑制 NLRP3-ASC-Caspase-1-IL-1 β -IL-18/GSDMD 信号通路可降低 NLRP3 炎性小体表达,改善肾组织损伤,进而延缓肾脏疾病进展,在大鼠模型实验中可观察到 NLRP3 炎性小体在 PHN 大鼠肾组织中显著活化上调,NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 及 GSDMD 表达量明显增加,PHN 小鼠肾组织损伤较为严重^[19]。本研究通过免疫组化对 IMN 患者肾组织中 NLRP3 炎性小体相关因子水平检测,发现 IMN 组 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 及 GSDMD 表达水平明显上调,并且 NC 组中为低表达,结果与既

往研究相符合。Li 等^[20]研究表明 GSDMD 基因敲除可对肾组织保护作用;Lv 等^[21]相关实验中可观察到某些抑制剂能够有效抑制 NLRP3-ASC-Caspase-1-IL-18/GSDMD 信号通路的活化,并可显著抑制 GSDMD(N) 的膜转位,进而对肾组织具有保护作用。因此,我们可以通过抑制 NLRP3 炎性小体的活化,减少蛋白尿,进而保护肾功能。

NLRP3 炎性小体活化既发生于免疫细胞,也见于非免疫细胞如肾脏固有细胞(包括系膜细胞、足细胞和上皮细胞)^[22]。近年来,越来越多的研究表明 NLRP3 炎性小体与肾组织纤维化也具有密切联系,Ren 等^[23]研究表明,通过抑制 NLRP3 炎症小体的激活可以相应阻断肾小管上皮细胞纤维化密切。NLRP3 炎性小体激活释放 IL-1 β 、IL-18,IL-1 β 可刺激系膜细胞及纤维细胞增殖,导致转化生长因子 β 1 生成^[24],IL-18 可使单核细胞及巨噬细胞产生多种炎症介质及细胞外黏附分子,促进细胞外基质增加^[25],均可促使肾小球滤过率降低,从而促进肾组织纤维化,并加重肾组织损伤。本研究 IMN 患者肾小球系膜基质呈不同程度增生增宽,肾组织出现不同程度的纤维化改变,肾间质水肿伴有炎症细胞浸润等特征,也发现 IMN 纤维化组肾组织中 NLRP3 炎性小体相关因子的表达高于无纤维组($P < 0.05$)。综上所述,NLRP3 炎性小体的活化可以引起肾组织损伤,促进肾组织纤维化,共同参与 IMN 肾组织损伤的发生发展。

在此次研究的基础上,并将患者相应的临床资料与 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 和 GSDMD 进行 Pearson 相关性分析,结果显示 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 和 GSDMD 与 ALB 呈负相关,与 24 h-Upro、TC、TG 均呈正相关。在小鼠足细胞中 NLRP3 炎性小体激活后可出现肾组织无菌性炎症,持续损伤肾小球,并加重蛋白尿症状^[26]。通过结合以上研究分析,NLRP3 炎性小体等因子可使 IMN 患者肾组织损伤,导致出现大量蛋白尿和低血清白蛋白症状。因本研究未对患者进行治疗后随访观察,后期将通过增加检测手段,随访 IMN 患者治疗后的临床资料与 NLRP3 炎性小体相关因子间的相关性,进一步探讨 NLRP3 炎性小体在 IMN 患者肾组织损伤机制的作用。

4 结论

在 IMN 患者肾组织中 NLRP3 炎性小体介导 NLRP3-ASC-Caspase-1-IL-1 β -IL-18/GSDMD 信号通路中各因子之间可相互影响,促进肾组织纤维化,导致肾组织损伤,提示 NLRP3 炎性小体在 IMN 发病机制中发挥重要作用,这为 IMN 的诊治提供新思路。

【参考文献】

- [1] SEALFON R, MARIANI L, AVILA-CASADO A C, *et al.* Molecular characterization of membranous nephropathy[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2022, 33(6): 1208-1221.
- [2] AYPEK H, KRISP C, LU S, *et al.* Loss of the collagen IV modifier prolyl 3-hydroxylase 2 causes thin basement membrane nephropathy[J]. *J Clin Invest*, 2022, 132(9): e147253.
- [3] WU L, LAI J, LING Y, *et al.* A review of the current practice of diagnosis and treatment of idiopathic membranous nephropathy in China[J]. *Med Sci Monit*, 2021, 27: e930097. DOI: 10. 12659.
- [4] MAN S M, KARKI R, KANNEGANTI T D. Molecular mechanisms and functions of pyroptosis, inflammatory caspases and inflammasomes in infectious diseases[J]. *Immunol Rev*, 2017, 277: 61-75.
- [5] HUANG Y, XU W, ZHOU R B. NLRP3 inflammasome activation and cell death[J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18: 2114-2127.
- [6] CHANG A, KO K, CLARK M R. The emerging role of the inflammasome in kidney diseases[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2014, 23(3): 204-210.
- [7] CAO H, LIANG J Y, LIU J, *et al.* Novel Effects of Combination Therapy Through Inhibition of Caspase-1/Gasdermin D Induced-Pyroptosis in Lupus Nephritis[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 720877.
- [8] GAO Y, MA Y, XIE D, *et al.* ManNAc protects against podocyte pyroptosis via inhibiting mitochondrial damage and ROS/NLRP3 signaling pathway in diabetic kidney injury model [J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 107: 108711.
- [9] WU W Y, LIU D Y, ZHAO Y X, *et al.* Cholecalciferol pretreatment ameliorates ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury through inhibiting ROS production, NF- κ B pathway and pyroptosis[J]. *Acta Histochem*, 2022, 124: 151875.
- [10] NIETO-GAÑÁN I, ITURRIETA-Zuazo I, RITA C, *et al.* Revisiting immunological and clinical aspects of membranous nephropathy[J]. *Clin Immunol*, 2022, 237: 108976.
- [11] LI Y, YU X, ZHANG W, *et al.* Epidemiological characteristics and pathological changes of primary glomerular diseases[J]. *PLoS One*, 2022, 17(8): e0272237.
- [12] ZOU H, LI Y, XU G. Management of anticoagulation and antiplatelet therapy in patients with primary membranous nephropathy[J]. *BMC Nephrol*, 2019, 20(1): 442.
- [13] SCHUNK S J, KLEBER M E, MÄRZ W, *et al.* Genetically determined NLRP3 inflammasome activation associates with systemic inflammation and cardiovascular mortality[J]. *Eur Heart J*, 2021, 42(18): 1742-1756.
- [14] SEUNGWHA P, JIN K K, PRASHANTA S, *et al.* An update on the regulatory mechanisms of NLRP3 inflammasome activation [J]. *Cellular & Molecular Immunology*, 2021, 18: 1141-1160.
- [15] FAN J J, XIE K F, WAANG L Q, *et al.* Roles of inflammasomes in inflammatory kidney diseases [J]. *Mediator Inflamm*, 2019, 2019: 2923072.
- [16] WANG C, YANG T, XIAO J Q, *et al.* NLRP3 inflammasome activation triggers gasdermin D-independent inflammation[J]. *Sci Immunol*, 2021, 6: eabj3859.
- [17] LIU B H, LU R R, LI H L, *et al.* Zhen-wu-tang ameliorates membranous nephropathy rats through inhibiting NF- κ B pathway and NLRP3 inflammasome [J]. *Phytomedicine*, 2019, 59: 152913.
- [18] TIAN R, WANG L, CHEN A, *et al.* San qi oral solution ameliorates renal damage and restores podocyte injury in experimental membranous nephropathy via suppression of NF- κ B[J]. *Biomol Pharmacother*, 2019, 115: 108904.
- [19] WANG H, LV D, JIANG S, *et al.* Complement induces podocyte pyroptosis in membranous nephropathy by mediating mitochondrial dysfunction[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13: 281.
- [20] LI H, ZHAO K, LI Y. Gasdermin D protects mouse podocytes against high-glucose-induced inflammation and apoptosis via the c-Jun N-terminal Kinase (JNK) pathway [J]. *Med Sci Monit*, 2021, 27: e928411.
- [21] LV D, JIANG S, ZHANG M, *et al.* Treatment of Membranous Nephropathy by Disulfiram through Inhibition of Podocyte Pyroptosis[J]. *Kidney Dis (Basel)*, 2022, 8(4): 308-318.
- [22] SAKAI, WADA T. Revisiting inflammation in diabetic nephropathy: the role of the Nlrp3 inflammasome in glomerular resident cells [J]. *Kidney international*, 2015, 87: 12-14.
- [23] REN C, BAO X, LU X, *et al.* Complanoside A targeting NOX4 blocks renal fibrosis in diabetic mice by suppressing NLRP3 inflammasome activation and autophagy [J]. *Phytomedicine*, 2022, 104: 154310.
- [24] HOU Y, LIN S, QIU J, *et al.* NLRP3 inflammasome negatively regulates podocyte autophagy in diabetic nephropathy[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2020, 521(3): 791-798.
- [25] DU L, WANG J, CHEN Y, *et al.* Novel biphenyl diester derivative AB-38b inhibits NLRP3 inflammasome through Nrf2 activation in diabetic nephropathy[J]. *Cell Biol Toxicol*, 2020, 36(3): 243-260.
- [26] SHAHZAD K, FATIMA S, KHAWAJA H, *et al.* Podocyte-specific Nlrp3 inflammasome activation promotes diabetic kidney disease[J]. *Kidney Int*, 2022, 102(4): 766-779.

(收稿日期: 2023-09-20; 修回日期: 2025-03-16; 编辑: 黎仕娟)