

## Canonical Nlrp3 inflammasome links systemic low-grade inflammation to functional decline in aging

Cell Metab. 2013 Oct 1;18(4):519-32.

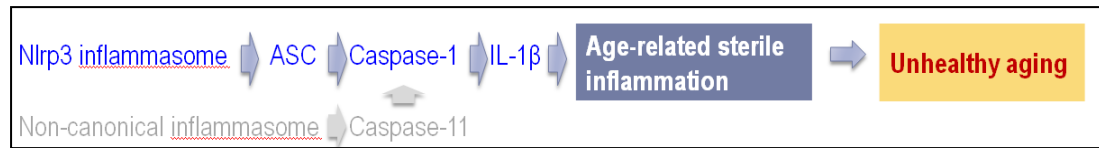
吳易謙 整理

慢性全身性發炎為生物(包含人類)老化的一重要特徵。大規模人群流行病學研究結果更指出，慢性全身性發炎是許多老人常見慢性疾病及身體、心理與認知功能衰退之重要危險因子。例如，著名的 Whitehall II 研究發現，血液中 IL-6 如果長時間(五年)維持高濃度，老人未來發生心血管疾病的風險是對照組的 1.64 倍，發生死亡(非因心血管疾病導致的死亡) 是對照組的 2.43 倍，能夠維持身體、心理與認知功能的機率僅是對照組的 0.53 倍。然而目前仍不甚清楚伴隨高齡的全身性慢性無菌性(sterile)發炎的發生機轉為何，而且我們亦仍不清楚全身性慢性發炎是否會直接造成老化相關慢性疾病之病理變化。

基本上，發炎為病原菌、組織損傷或穩態受到擾動(disturbed homeostasis)所誘發的反應，所以發炎必須是由能夠感測病原菌、組織損傷或穩態擾動的 sensors 所誘發。發炎體(inflammasomes)即是近年來日益受到重視的一類 sensors。發炎體不僅能夠辨識病原菌(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)，更能感測組織損傷或穩態擾動(damage-associated molecular pattern molecules, DAMPs)。發炎體結構由數個蛋白質所構成(protein complexes)，包含 NLR family 蛋白質(e.g. NLRP1、NLRP3、NLRP6、NLRP4)、PYHIN family 蛋白質、adaptor 蛋白質(ASC)及 inflammatory caspases (e.g. caspase-1、caspase-4、caspase-5、caspase-11、caspase-12)。而內含 NLRP3 的發炎體(NLRP3 inflammasome)非常特別地能夠感測各種組織損傷或穩態擾動而誘發所謂的無菌性發炎(sterile inflammation)。簡言之，除了 PAMPs 以外，NLRP3 可以被 ATP、glucose、MSU、amyloid  $\beta$ 、hyaluronan 等內原性訊號(endogenous signals)活化而 recruit ASC，進一步活化 procaspase-1 而產生 caspase-1，caspase-1 則可以活化 pro-inflammatory cytokines (e.g. IL-1 $\beta$ )而產生發炎反應。

所以作者研究團隊做了一個假設: NLRP3 inflammasome 可以藉由活化 caspase-1 產生全身性慢性發炎，進而造成老化相關之病理變化及身體與認知功能衰退(圖一)。為了驗證假設中的因果關係，研究團隊使用 *Nlrp3*<sup>-/-</sup>、*Asc*<sup>-/-</sup>、*Caspase11*<sup>-/-</sup> 與 *Il1r*<sup>-/-</sup> 之小鼠(in C57BL/6 background)，測量不同組織的發炎、病理變化及身體與認知功能衰退。針對發炎的部分，研究團隊分別測量周邊(脂肪組織、全身性發炎伴隨葡萄糖不耐及 thymic involution with effector T cell expansion)與中樞神經系統(microglial activation、astrogliosis、hippocampal transcriptome alteration 及 hippocampal innate immune activation)的發炎。小鼠的身體功能以 rotarod test 以及 treadmill test 進行評估，認知功能則以 Stone T-maze test 評估。研究團隊也對小鼠的骨質與眼睛罹患白內障的部分進行測量與比較。

圖一：



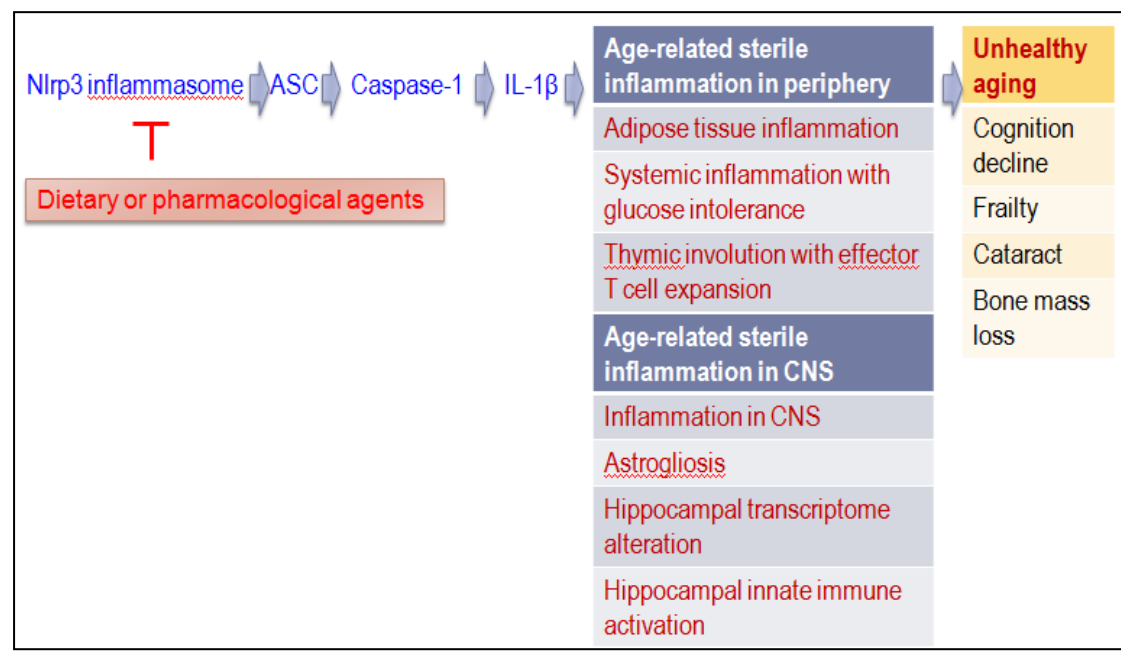
研究團隊發現，與 wild type 高齡小鼠比較，*Nlrp3*<sup>-/-</sup>高齡小鼠的脂肪組織確實有較少的 IL-1 $\beta$  表現量，*Nlrp3*<sup>-/-</sup>與 *Asc*<sup>-/-</sup>高齡小鼠的 circulating IL-18 也較低，同時 *Nlrp3*<sup>-/-</sup>高齡小鼠的葡萄糖不耐程度也較輕微。另外，*Nlrp3*<sup>-/-</sup>與 *Asc*<sup>-/-</sup>高齡小鼠在 thymic involution with effector T cell expansion 方面也有較輕微的情形。以上在 *Nlrp3*<sup>-/-</sup>與 *Asc*<sup>-/-</sup>高齡小鼠觀察到的現象並無法在 *Caspase11*<sup>-/-</sup>高齡小鼠身上看到。顯然，NLRP3 inflammasome 可以藉由活化 ASC、caspase-1 來造成 age-related 周邊組織的發炎，而 non-canonical pathway 則與此無關。

就中樞神經系統發炎的部分，研究團隊發現，與 wild type 高齡小鼠比較，*Nlrp3*<sup>-/-</sup>高齡小鼠的 hippocampus(特別在 dentate gyrus region) (but not in hypothalamus)有較輕微的 microglial activation，而且該腦部區域的 proinflammatory cytokines *Il1b* and *Tnf* 之表現量亦較少。同樣地，*Nlrp3*<sup>-/-</sup>高齡小鼠的 hippocampus(特別在 dentate gyrus region)也有較輕微的 astrogliosis。為了詳細探究 NLRP3 inflammasome 如何調控 hippocampus 的發炎活性，作者分析 hippocampus 區域腦部組織的 transcriptome，發現 *Nlrp3* 剔除會顯著地反轉該腦部區域隨年齡而發生的基因表現改變，特別是發炎路徑相關的基因表現，包含 *IL-1 $\beta$* 、*IL-8*、*NF-kB* 路徑等。作者以 quantitative real-time RT-PCR analyses 驗證 microarray analysis 的結果，發現與 wild type 高齡小鼠比較，*Nlrp3*<sup>-/-</sup>高齡小鼠的 hippocampus 確實有較低的 innate immune activation (例如較少的 *IL-1*、interferon、complement、astrogliosis pathways 基因表現量)。以上在 *Nlrp3*<sup>-/-</sup>高齡小鼠觀察到的現象並無法在 *Caspase11*<sup>-/-</sup>高齡小鼠身上看到。顯然，NLRP3 inflammasome 可以藉由活化 ASC、caspase-1 來造成 age-related hippocampus 的發炎，而 non-canonical pathway 則與此無關。

為了釐清以上發現的可能臨床應用，接下來作者研究團隊想要驗證 NLRP3 inflammasome 是否可以進一步調控老化相關之病理變化及身體與認知功能衰退。與 wild type 高齡小鼠比較，*Nlrp3*<sup>-/-</sup>與 *Il1r*<sup>-/-</sup>高齡小鼠的確有較佳的認知功能，在 rotarod test 與 treadmill test 中也有較佳的表現。在病理變化方面，*Nlrp3*<sup>-/-</sup>高齡小鼠罹患白內障的情形較輕微，且有較高的骨質。以上在 *Nlrp3*<sup>-/-</sup>與 *Il1r*<sup>-/-</sup>高齡小鼠觀察到的現象並無法在 *Caspase11*<sup>-/-</sup>高齡小鼠身上看到。顯然，NLRP3 inflammasome 可以藉由活化 ASC、caspase-1 來造成老化相關之病理變化及身體與認知功能衰退，而 non-canonical pathway 則與此無關。

作者研究團隊於本篇研究證實 NLRP3 inflammasome 可以藉由活化 ASC、caspase-1 來造成全身性慢性發炎，進而造成老化相關之病理變化及身體與認知功能衰退（圖二）。

圖二：



本篇研究的結果不僅提供一個 age-related 全身性慢性無菌性發炎之可能發生機轉，更證實全身性慢性發炎的確可能直接造成老化相關之病理變化。此發現為與慢性發炎相關的老人疾病之預防與治療提供一個嶄新的方向（圖二）。