

可溶性尿酸通过下调 UCP2 蛋白激活心肌细胞中 NLRP3 炎性小体的实验研究*

王冠丽¹, 袁红敏², 王珍凤¹, 宗贝贝¹, 叶阳¹, 张军¹, 张海龙^{1△}

1. 河南大学 抗体药物开发技术国家地方联合工程实验室 河南省细胞与分子免疫重点实验室 (开封 475004);

2. 河南大学 淮河医院 乳腺甲状腺外科 (开封 475004)

【摘要】 目的 观察尿酸处理下大鼠心肌细胞系 H9C2 的损伤和 NLRP3 炎性小体的活化情况,探讨可溶性尿酸活化 NLRP3 炎性小体的机制。**方法** 采用不同质量浓度的尿酸处理 H9C2 12 h、24 h 和 48 h,通过 MTS 和乳酸脱氢酶(LDH)检测细胞活力,以反映细胞损伤情况,同时采用流式细胞术(FCM)分析 H9C2 凋亡情况。通过 Western blot 检测 NLRP3 炎性小体相关分子[NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)和 Caspase-1]的蛋白水平。分离线粒体和胞质,Western blot 检测细胞色素 C 的释放情况,评价线粒体损伤情况。MTS 和 LDH 检测活性氧(ROS)抑制剂 N-乙酰基-L-半胱氨酸(NAC)对细胞活力的影响,real time-PCR 及 Western blot 检测 NAC 对 NLRP3 炎性小体活化的改善情况。最后采用 Western blot 和免疫荧光检测解偶联蛋白 2(UCP2)蛋白的表达。**结果** 随着尿酸浓度的增加,细胞损伤和凋亡加剧,且具有时间依赖性;尿酸可上调 NLRP3 炎性小体相关分子的表达,并导致线粒体受损;NAC 可改善细胞损伤并抑制 NLRP3 炎性小体相关 mRNA 和蛋白的活化;尿酸还可下调 UCP2 的表达。**结论** 尿酸下调 UCP2 蛋白的表达,诱导线粒体损伤,激活 NLRP3 炎性小体,导致心肌细胞损伤。

【关键词】 可溶性尿酸 解偶联蛋白 2 NLRP3 炎性小体 心肌细胞损伤

Soluble Uric Acid Activates NLRP3 Inflammasome in Myocardial Cells Through Down-regulating UCP2 WANG Guan-li¹, YUAN Hong-min², WANG Zhen-feng¹, ZONG Bei-bei¹, YE Yang¹, ZHANG Jun¹, ZHANG Hailong^{1△}. 1. Henan Key Laboratory of Cellular and Molecular Immunology, Joint National Laboratory for Antibody Drug Engineering, Henan University, Kaifeng 475004, China; 2. Department of Thyroid Breast Surgery, Huaihe Hospital, Henan University, Kaifeng 475004, China

△ Corresponding author, E-mail: hailong6891@163.com

【Abstract】 Objective To determine the H9C2 cell damage and NLRP3 inflammasome activation triggered by soluble uric acid (UA). **Methods** H9C2 cells were treated with UA. The cellular damage was examined after 12 h, 24 h and 48 h of treatment using MTS and lactic dehydrogenase (LDH). The apoptosis of H9C2 cells was analyzed by flow cytometry (FCM). NLRP3 inflammasome activation was reflected by the protein levels of NLRP3, apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (ASC) and Caspase-1 detected by Western blot. The mitochondria and cytoplasm were separated and the release of cytochrome C was detected by Western blot to analyze the damage of mitochondria. The impacts of NAC, a ROS inhibitor, on the cell viability and NLRP3 inflammasome activation were analyzed. The expression of UCP2 was detected by Western blot and immunofluorescence (IF). **Results** Dose response and time dependent effects of UA on cellular damage and cell apoptosis was observed. UA up-regulated the expression of NLRP3 inflammasome-related molecules. UA damaged the mitochondria. NAC improved the cell viability and inhibited NLRP3 inflammasome activation. UA down-regulated the expression of UCP2. **Conclusion** Soluble UA can down-regulate the expression of UCP2, damage the mitochondria and activate NLRP3 inflammasome, resulting in cellular damage of H9C2 cells.

【Key words】 Soluble uric acid UCP2 NLRP3 inflammasome Myocardial cell damage

NLRP3 炎性小体是天然免疫系统的主要组成成分,在抗细菌、病毒和真菌感染等天然免疫反应过程中发挥着至关重要的重要^[1]。然而,其过活化可

导致多种慢性炎性代谢疾病的发生发展,如动脉粥样硬化、2 型糖尿病、溃疡性结肠炎和阿尔茨海默病^[2-5]。近年来研究显示:NLRP3 炎性小体也参与高尿酸血症诱发的心肌病的发生发展^[6-8]。但是,高尿酸活化心肌细胞中 NLRP3 炎性小体的确切分子机制仍不明确。既往研究显示,线粒体中活性氧

* 国家自然科学基金面上项目(No. 81670271)资助

△ 通信作者, E-mail: hailong6891@163.com

分子(ROS)的释放可促进 NLRP3 炎性小体的活化^[9-10]。同时,ROS 的生成依赖于解偶联蛋白 2 (UCP2)^[11]。因此,本实验将尿酸作用于心肌细胞系 H9C2,观察其是否通过调控 UCP2 的含量,促进 ROS 的释放,进而激活 NLRP3 炎性小体,导致细胞受损。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 大鼠心肌细胞系 H9C2 购自于中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。

1.1.2 主要试剂和仪器 尿酸和 N-乙酰基-L-半胱氨酸(NAC, Sigma 公司),DMEM 培养基(Life Technologies 公司),金属硫蛋白混合体(MTS)检测试剂盒(Promega 公司),乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒(Roche 公司),凋亡检测试剂盒(凯基生物),线粒体分离试剂盒(Thermo Scientific 公司),ROS 检测试剂盒(碧云天),反转录酶-聚合酶链式反应(RT-PCR)试剂盒(TAKARA 公司),NLRP3 和凋亡相关斑点样蛋白(ASC)抗体(Santa Cruz 公司),Caspase-1 和电压依赖性阴离子通道(VDAC)抗体(Abcam 公司),UCP2 抗体(Proteintech 公司),细胞色素 C 抗体(Bioword 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 检测高尿酸对 H9C2 活力的影响 将处于对数生长期的 H9C2 细胞接种于 96 孔板中,待细胞贴壁后用不同质量浓度的尿酸(0、50、100、200 和 400 mg/L)分别处理 12 h、24 h 和 48 h。之后,在不同时间点收集培养上清,按照 LDH 说明书所述,每 100 μ L 培养上清加入 100 μ L 的 LDH 工作液,室温孵育 30 min 后,492 nm 处测吸光度(A_{492})值, A_{492} 值越高,LDH 水平越高,细胞损伤越严重。同时,孔内细胞经新鲜 DMEM 培养基洗涤后,加入 100 μ L 的 MTS 检测液,37 $^{\circ}$ C 避光孵育 3 h,490 nm 处检测吸光值(A_{490}), A_{490} 值越高,细胞活力越高,说明尿酸对细胞的损伤越轻。

1.2.2 流式细胞术(FCM)检测高尿酸作用下 H9C2 的凋亡 将处于对数生长期的 H9C2 细胞接种于 6 孔板中,按照 1.2.1 分组处理 H9C2,在不同时间点收集细胞,用 Annexin V-FITC/PI 对细胞进行着色,之后采用流式细胞仪检测各组凋亡率。

1.2.3 Western blot 检测 NLRP3 炎性小体的活化 用不同质量浓度尿酸作用 H9C2 后(分组同 1.2.1),收集细胞,经 RIPA 裂解液(含 PMSF)处理后获

取细胞蛋白液并定量。取适量上样缓冲液加入对应蛋白液中,煮沸 10 min,取上清液行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE,120 g/L)。之后,将蛋白转印到硝酸纤维素膜上,50 g/L 脱脂奶粉封闭后,依次加入相应的一抗[GAPDH (1 : 5 000)、NLRP3 (1 : 500)、ASC (1 : 1 000)和 Caspase-1 (1 : 2 000)]和二抗(1 : 10 000)孵育,显影呈现蛋白条带。设置 GAPDH 为内参蛋白,以目的蛋白的灰度值与 GAPDH 的灰度值比值判读其表达变化。

1.2.4 Western blot 检测细胞色素 C 的释放 收集经 100 mg/L 和 200 mg/L 尿酸处理 12 h 后的 H9C2,通过线粒体分离试剂盒获取线粒体和胞质,制备成 SDS-PAGE 样品。之后通过 Western blot 方法分别检测线粒体和胞质中的细胞色素 C 含量,以 GAPDH(1 : 5 000)和 VDAC(1 : 1 000)作为胞质和线粒体的标志物,二抗浓度为 1 : 10 000。分别以细胞色素 C 的灰度值与 GAPDH 和 VDAC 的灰度值比值判读其变化。损伤的线粒体会增加细胞色素 C 向胞体的释放,导致线粒体内细胞色素含量下降,胞质内细胞色素 C 含量增加。

1.2.5 检测 NAC 作用下 H9C2 的活力 将不同浓度的 NAC(1 mmol/L、5 mmol/L 和 10 mmol/L)分别加入 200 mg/L 尿酸处理的 H9C2 中,同时设置正常组(正常培养基)和 DMSO(200 mg/L 尿酸 + DMSO)对照组。12 h 后,用 LDH 试剂盒检测细胞上清中释放的 LDH,MTS 试剂盒检测细胞活力。

1.2.6 Real time-PCR 检测 NAC 作用下 NLRP3 炎性小体基因变化 将 10 mmol/L NAC 和 200 mg/L 尿酸同时处理 H9C2。12 h 后,弃去细胞培养上清液,提取细胞 RNA。之后按照 RT-PCR 试剂盒检测 GAPDH、NLRP3、Caspase-1 和 ASC 基因水平。引物序列如下:GAPDH-上游:ACGGGAAACCCATCACCAT,下游:CTCGTGGTTCACACCCATCA;NLRP3-上游:GGCCTCAAGGGGAAGAATC,下游:ATCTCCCGACCATTGCTGT;Caspase-1-上游:GACCGAGTGGTTCCTCAAG,下游:GACGTGTACGAGTGGGTGTT;ASC-上游:TTGCTGGATGCTCTGTATG,下游:CCAAGTAGGGCTGTGTTTGC。设 GAPDH 为内参基因,计算每组检测基因与内参基因的相对表达量,再设正常组基因表达量为 1,计算其他组相对正常组的基因表达量。

1.2.7 Western blot 检测 NAC 作用下 H9C2 细胞

中 NLRP3 炎性小体蛋白变化 将 10 mmol/L NAC 和 200 mg/L 尿酸同时处理 H9C2。12 h 后,弃去细胞培养上清液,获取蛋白裂解液。按照 1.2.3 所述检测 NLRP3 炎性小体的活化水平。设置 GAPDH 为内参蛋白,以目的蛋白的灰度值与 GAPDH 的灰度值比值判读其表达变化。

1.2.8 Western blot 检测高尿酸对 UCP2 水平的影响 用不同浓度(50、100 和 200 mg/L)尿酸处理 H9C2。12 h 后,按照 1.2.3 所述收集细胞蛋白裂解液,并用 Western blot 检测 UCP2 水平的变化,一抗浓度为 1:1 000,二抗浓度为 1:10 000。设置 GAPDH 为内参蛋白,以目的蛋白的灰度值与 GAPDH 的灰度值比值判读其表达变化。

1.2.9 免疫荧光检测高尿酸对 UCP2 水平的影响 将 H9C2 接种于含有细胞爬片专用玻片的六孔板中,待细胞贴壁后,用不同浓度的尿酸(0、50、100 和 200 mg/L)处理 12 h。弃去上清液,并用 4%多聚甲醛固定 15 min。用 30 mmol/L 甘氨酸终止反应 5 min,之后用 0.1% Triton X-100 打孔 5 min。3% BSA 封闭 1 h,分别用相应一抗(1:500)、二抗(1:2 000)孵育。之后,用 DAPI 染核 2 min,封片,荧光

显微镜下观测,采用 Image proplus 软件通过绿色荧光强度和细胞个数检测 UCP2 的水平。

1.3 统计学方法

所有数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 尿酸对 H9C2 活力的影响

由表 1 可见,不同浓度尿酸处理 H9C2 12 h 时,各组 MTS 水平并无明显差异,随着处理时间的延长,尿酸可下调 MTS 水平,促进 H9C2 损伤,且具有浓度依赖性。50 mg/L、100 mg/L 和 200 mg/L 尿酸作用 H9C2 12 h 和 24 h 后,细胞培养上清中 LDH 的含量虽有上升,但与正常组相比差异并无统计学意义。而相同作用时间下,400 mg/L 尿酸可显著促进 LDH 的释放($P < 0.01$)。在尿酸作用 H9C2 48 h 时,除 50 mg/L 浓度组以外,其余各尿酸浓度组细胞培养上清中的 LDH 值均明显上升($P < 0.01$)(表 1)。

2.2 尿酸对 H9C2 凋亡的影响

由图 1 可见,50 mg/L、100 mg/L 和 200 mg/L

表 1 不同浓度尿酸对 H9C2 活力的影响
Table 1 Effects of uric acid on the vitality of H9C2 cells

Group	MTS (A ₄₉₀)			LDH (A ₄₉₂)		
	12 h	24 h	48 h	12 h	24 h	48 h
Normal	0.52±0.03	0.71±0.01	0.86±0.05	0.15±0.04	0.35±0.05	0.25±0.03
50 mg/L UA	0.45±0.09	0.64±0.02	0.76±0.05 *	0.30±0.06	0.49±0.13	0.26±0.02
100 mg/L UA	0.54±0.02	0.62±0.01	0.56±0.03 **,#,△,△△	0.33±0.09	0.57±0.08 *	0.33±0.02 *
200 mg/L UA	0.53±0.03	0.50±0.03 **,*#	0.49±0.04 **,*#	0.33±0.10	0.66±0.08 **	0.36±0.03 **,*#
400 mg/L UA	0.53±0.04	0.47±0.09 **,*# ,△	0.4±0.03 **,*# ,△,△	0.58±0.09 **,*# ,△,▲	0.83±0.02 **,*# ,△	0.62±0.05 **,*# ,△,△,▲▲

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, vs. normal group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, vs. 50 mg/L UA group; △ $P < 0.05$, △△ $P < 0.01$, vs. 100 mg/L UA group; ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$, vs. 200 mg/L UA group

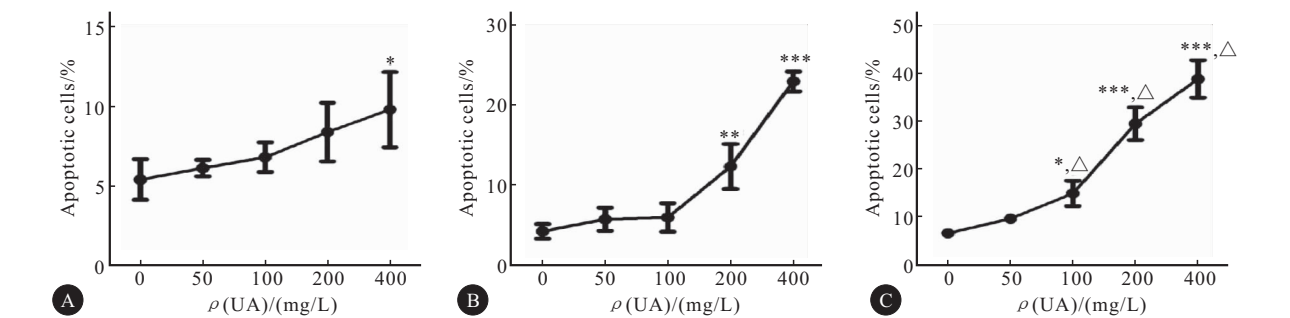


图 1 流式细胞术检测尿酸处理后 H9C2 的凋亡率

Fig 1 The apoptosis rate detected by flow cytometry in H9C2 cells treated with uric acid

A: Treated for 12 h; B: Treated for 24 h; C: Treated for 48 h; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, vs. 0 mg/mL UA (normal) group; △ $P < 0.05$, vs. other groups (except 0 mg/L UA)

尿酸作用 H9C2 12 h 和 24 h,H9C2 的凋亡率虽有上升,除 200 mg/L 尿酸组处理 24 h 外($P<0.01$),其他处理组与正常组相比并无差异。而相同作用时间下,400 mg/L 尿酸可诱导 H9C2 的凋亡($P<0.05$)。在尿酸作用 H9C2 48 h 时,随着浓度的升高(100 mg/L、200 mg/L 和 400 mg/L),细胞的凋亡率值上升($P<0.05$),同时各处理组之间差异分

别具有统计学意义($P<0.01$)。

2.3 尿酸对 H9C2 中 NLRP3 炎性小体的影响

结果(图 2)显示不同浓度尿酸处理 H9C2 12 h 时,胞内 NLRP3 炎性小体相关分子 NLRP3、Caspase-1 和 ASC 的含量上升,但未显示有浓度依赖性。同时,随着处理时间的延长(24 h,48 h),三者的蛋白水平增加未显示有时间依赖性。

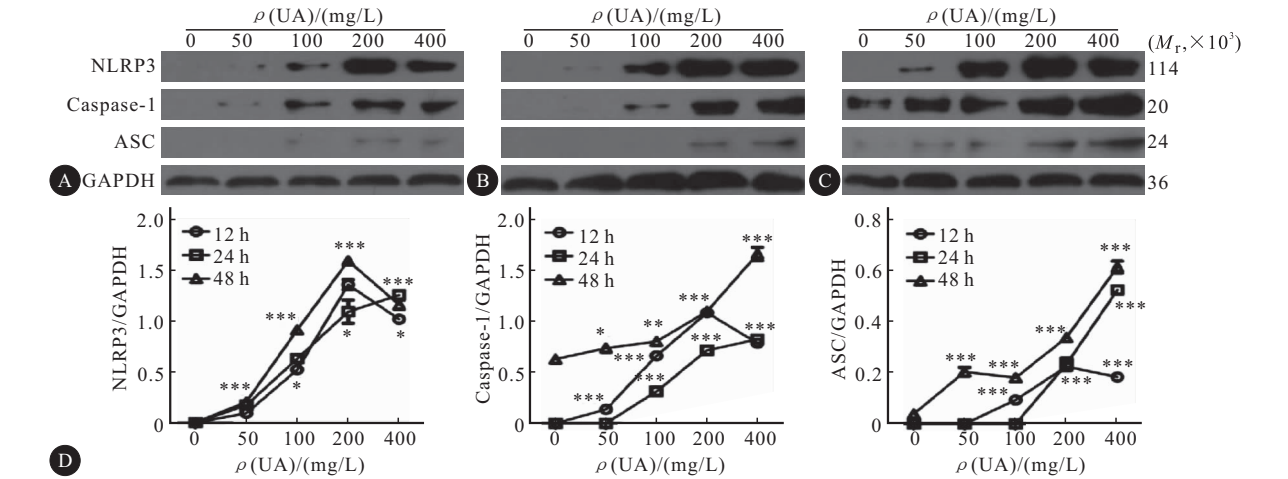


图 2 Western blot 检测尿酸处理 H9C2 后 NLRP3 炎性小体相关分子的表达

Fig 2 The expressions of NLRP3 inflammasome-related molecules in H9C2 cells treated with UA detected by Western blot
A: Treated for 12 h; B: Treated for 24 h; C: Treated for 48 h; D: Gray value analyses of NLRP3/GAPDH, Caspase-1/GAPDH and ASC/GAPDH; * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, vs. 0 mg/mL UA (normal) group

2.4 尿酸对线粒体损伤的影响

由图3可见,尿酸处理12 h,线粒体中的细胞色

素 C 含量下降;同时,相对应的胞质中细胞色素 C 含量增加,均以 200 mg/L 尿酸组明显。

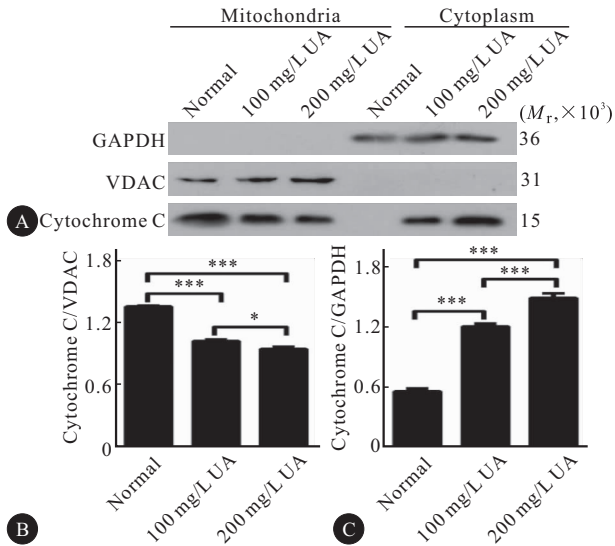


图 3 Western blot 检测 UA 处理后 H9C2 中细胞色素 C 的释放
Fig 3 The release of cytochrome C in H9C2 cells treated with UA detected by Western blot

A: Electrophoretogram; B: Cytochrome C in mitochondria; C: Cytochrome C in cytoplasm; VDAC: Voltage-dependent anion-selective channel; * $P<0.05$, *** $P<0.001$

2.5 NAC 作用下尿酸对 H9C2 活力的影响

由图 4 可见,NAC 可改善 200 mg/L 尿酸对 H9C2 活力的影响,LDH 水平明显下调,同时 MTS 水平得到回升,且这种作用具有浓度依赖性,各组间差异均具有统计学意义($P<0.05$)。

2.6 Real time-PCR 和 Western blot 检测 NAC 作用下尿酸对 NLRP3 炎性小体活化的影响

由图 5 可见,200 mg/L 尿酸可显著上调 NLRP3、Caspase-1 和 ASC 的基因水平和蛋白表达,促进 NLRP3 炎性小体的活化。10 mmol/L NAC 作用下,三者的基因水平得到恢复,同时蛋白水平下调。

2.7 Western blot 和 IF 检测尿酸对 UCP2 的影响

由图 6 可见,尿酸可下调 UCP2 的蛋白水平,且具有浓度依赖性。同时,IF 检测结果也显示尿酸可抑制 H9C2 中 UCP2 的表达。

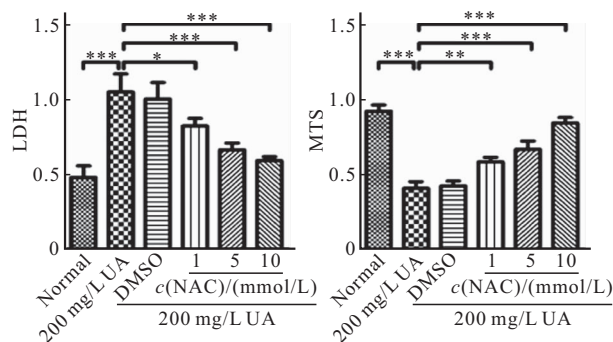


图 4 LDH 和 MTS 检测 NAC 作用下 H9C2 的活力

Fig 4 Effects of NAC on the vitality of H9C2 cells detected by LDH and MTS

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

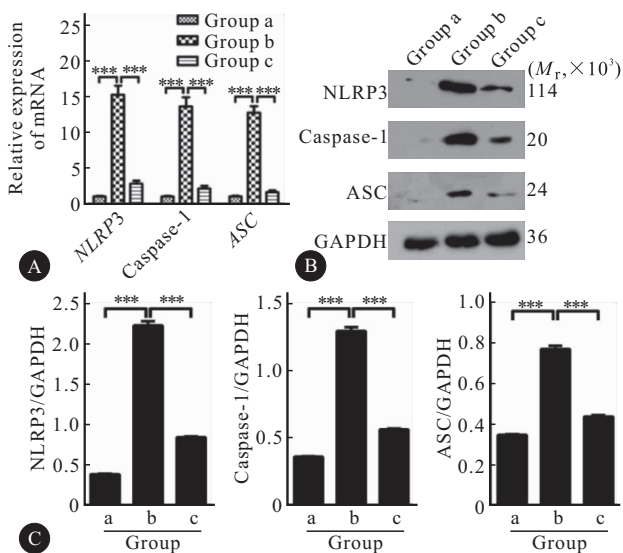


图 5 NAC 作用下 NLRP3 炎性小体 mRNA(A)和蛋白(B~C)的活化

Fig 5 Effects of NAC on the activation of NLRP3 inflammasome mRNAs (A) and proteins (B-C)

B: Electrophoretogram of Western blot; C: Gray value analyses; Group a: Normal group; Group b: 200 mg/L UA group; Group c: 200 mg/L UA+10 mmol/L NAC group; *** $P < 0.001$

3 讨论

高尿酸血症是由于体内尿酸含量过高,导致血液中的尿酸盐以结晶的形式沉积于人体的组织和器官上,进而引起多种并发症,如痛风、肾病、高血压和心肌病等。在这些并发症中,高尿酸心肌病发病率及死亡率逐年上升,威胁人类的生命和健康。因此,探寻其发生发展机制并基于此进行靶向治疗是当前的研究重点及热点。

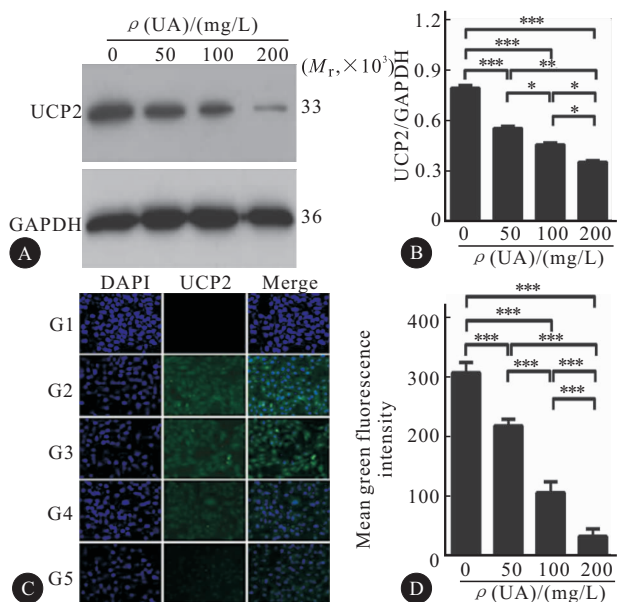


图 6 尿酸处理后 UCP2 的表达

Fig 6 Effects of UA on the expression of UCP2

A-B: Western blot (A: Electrophoretogram; B: Gray value analysis of UCP2/GAPDH); C-D: IF (C: Images; D: Mean green fluorescence intensity); G1: Blank control; G2: 0 mg/L UA group; G3: 50 mg/L UA group; G4: 100 mg/L UA group; G5: 200 mg/L UA group. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

先前研究发现高尿酸诱发心肌损伤涉及到抑制 NO 生成、促进血小板聚集和氧自由基产生等多种因素^[12-13]。近年来,多项研究显示过度的炎症反应在其中发挥着至关重要的作用^[14-15]。NLRP3 炎性小体是由 NLRP3、ASC 和 pro-Caspase-1 组成的多聚体蛋白复合物,可促使 Caspase-1 的活化,进而诱导 IL-1 β 和 IL-18 加工成其成熟形式。多种刺激可以导致 NLRP3 炎性小体的激活,包括细菌、病毒、真菌以及结晶和 ATP 等危险相关信号^[16]。研究显示:尿酸盐结晶作为一种危险相关信号,可被内吞进胞内,诱导 ROS 的产生;同时尿酸盐结晶进入溶酶体后,可导致其肿胀和裂解,释放其内蛋白分子,进一步引起胞内钾离子外流,激活 NLRP3 炎性小体^[17-18]。此外,NLRP3 炎性小体作为一种介导炎症反应的蛋白复合物,主要存在于髓系细胞内。然而,高浓度可溶性的尿酸(未成晶体)是否可诱导心肌细胞中 NLRP3 炎性小体的活化? 如果可以,其分子机制是什么? 这些都尚未报道。在本研究中,我们用不同浓度的尿酸处理大鼠心肌细胞系 H9C2,结果显示尿酸可诱导心肌细胞的损伤,促进其凋亡。当尿酸浓度达到 400 mg/L 的时候,其在培养基中易形成晶体,且诱导的心肌细胞凋亡过于

严重,故在后续实验中我们采用了200 mg/L的尿酸,发现200 mg/L尿酸上调NLRP3炎性小体相关蛋白NLRP3、ASC和Caspase-1的含量,进而激活NLRP3炎性小体。

有研究显示,当线粒体受损时,可导致ROS释放至胞内,而ROS可活化NLRP3炎性小体,进而促进IL-1 β 的加工和分泌^[19-20]。在本研究中,高浓度可溶性尿酸可诱导线粒体损伤,促进细胞色素C释放进胞质,活化NLRP3炎性小体,诱导炎症的发生。同时,我们采用ROS清除剂NAC作用H9C2,发现细胞的活力得到了改善。进一步,NAC可下调尿酸诱导的NLRP3相关分子的表达和活化。这些说明高浓度的可溶性尿酸通过损伤心肌细胞中线粒体,导致ROS释放至胞内,进而激活NLRP3炎性小体,诱导心肌细胞凋亡。

UCP2是位于线粒体内膜的阳离子载体蛋白,具有抗氧化应激作用,可通过解耦联效应抑制ROS的产生^[20-21]。国外一项研究显示,将人类UCP2基因转染入心肌细胞,之后加入外源性过氧化物造成氧化应激,结果显示UCP2可抑制心肌细胞的凋亡^[22]。此外,先前研究揭示尿酸盐可直接诱导ROS的释放,激活炎性小体^[14]。在本研究中,我们发现,尿酸可下调UCP2含量,进而可能导致ROS含量的增加,进一步完善了可溶性尿酸激活NLRP3炎性小体的机制。

总之,高浓度的可溶性尿酸可通过下调UCP2的含量,诱导线粒体受损,进而激活非髓系细胞——心肌细胞系H9C2中NLRP3炎性小体,介导其损伤和凋亡。这不仅丰富了尿酸诱导NLRP3炎性小体活化的机制,而且也可作为临床诊断、预防及治疗高尿酸血症及其并发症提供较为理想的策略。

参 考 文 献

- [1] YU SX, DU CT, CHEN W, *et al.* Genipin inhibits NLRP3 and NLRC4 inflammasome activation via autophagy suppression. *Sci Rep*,2015(5):17935[2017-03-16]. <https://www.nature.com/articles/srep17935>. doi: 10.1038/srep17935.
- [2] DUEWELL P, KONO H, RAYNER KJ, *et al.* NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. *Nature*,2010,464(7293):1357-1361.
- [3] VANDANMAGSAR B, YOUM YH, RAVUSSIN A, *et al.* The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nat Med*,2011,17(2):179-188.
- [4] ZAKI MH, BOYD KL, VOGEL P, *et al.* The NLRP3 inflammasome protects against loss of epithelial integrity and mortality during experimental colitis. *Immunity*,2010,32(3):379-391.
- [5] HALLE A, HORNING V, PETZOLD GC, *et al.* The NALP3 inflammasome is involved in the innate immune response to amyloid-beta. *Nat Immunol*,2008,9(8):857-865.
- [6] GAZI E, TEMIZ A, ALTUN B, *et al.* The association between serum uric acid level and heart failure and mortality in the early period of ST-elevation acute myocardial infarction. *Turk Kardiyol Dern Ars*,2014,42(6):501-508.
- [7] YAN L, LIU Z, ZHANG C. Uric acid as a predictor of in-hospital mortality in acute myocardial infarction: a meta-analysis. *Cell Biochem Biophys*,2014,70(3):1597-1601.
- [8] LAZZERI C, VALENTE S, CHIOSTRI M, *et al.* Uric acid in the acute phase of ST elevation myocardial infarction submitted to primary PCI: its prognostic role and relation with inflammatory markers: a single center experience. *Int J Cardiol*,2010,138(2):206-209.
- [9] XIAO J, ZHANG XL, FU C, *et al.* Soluble uric acid increases NALP3 inflammasome and interleukin-1beta expression in human primary renal proximal tubule epithelial cells through the Toll-like receptor 4-mediated pathway. *Int J Mol Med*,2015,35(5):1347-1354.
- [10] GUPTA N, SAHU A, PRABHAKAR A, *et al.* Activation of NLRP3 inflammasome complex potentiates venous thrombosis in response to hypoxia. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2017,114(18):4763-4768.
- [11] RAJANBABU V, GALAM L, FUKUMOTO J, *et al.* Genipin suppresses NLRP3 inflammasome activation through uncoupling protein-2. *Cell Immunol*,2015,297(1):40-45.
- [12] LEYVA F, ANKER S, SWAN JW, *et al.* Serum uric acid as an index of impaired oxidative metabolism in chronic heart failure. *Eur Heart J*,1997,18(5):858-865.
- [13] GINSBERG MH, KOZIN F, O'MALLEY M, *et al.* Release of platelet constituents by monosodium urate crystals. *J Clin Invest*,1977,60(5):999-1007.
- [14] JIN C, FLAVELL RA. Molecular mechanism of NLRP3 inflammasome activation. *J Clin Immunol*,2010,30(5):628-631.
- [15] STROWIG T, HENAO-MEJIA J, ELINAV E, *et al.* Inflammasomes in health and disease. *Nature*,2012,481(7381):278-286.
- [16] RATHINAM VA, VANAJA SK, FITZGERALD KA. Regulation of inflammasome signaling. *Nat Immunol*,2012,13(4):333-342.
- [17] HORNING V, BAUERNFEIND F, HALLE A, *et al.* Silica crystals and aluminum salts activate the NALP3 inflammasome through phagosomal destabilization. *Nat Immunol*,2008,9(8):847-856.
- [18] DOSTERT C, PETRILLI V, VAN BRUGGEN R, *et al.* Innate immune activation through Nalp3 inflammasome sensing of asbestos and silica. *Science*,2008,320(5876):674-677.
- [19] SORBARA MT, GIRARDIN SE. Mitochondrial ROS fuel the inflammasome. *Cell Res*,2011,21(4):558-560.
- [20] MAILLOUX RJ, HARPER ME. Uncoupling proteins and the control of mitochondrial reactive oxygen species production. *Free Radic Biol Med*,2011,51(6):1106-1115.
- [21] PI J, COLLINS S. Reactive oxygen species and uncoupling protein 2 in pancreatic beta-cell function. *Diabetes Obes Metab*,2010,12(Suppl 2):141-148.
- [22] TESHIMA Y, AKAO M, JONES SP, *et al.* Uncoupling protein-2 overexpression inhibits mitochondrial death pathway in cardiomyocytes. *Circ Res*,2003,93(3):192-200.

(2018-01-07 收稿,2018-03-21 修回)

编辑 汤洁