

论著·临床研究

## 川崎病患儿急性期外周血单个核细胞 NLRP3 炎症小体的表达及其临床意义

刘丽萍<sup>1</sup> 袁勇华<sup>1</sup> 何学华<sup>1</sup> 陈敏<sup>1</sup> 彭丹霞<sup>1</sup> 徐伟<sup>2</sup>  
夏晓辉<sup>3</sup> 曹友德<sup>4</sup> 王胜<sup>1</sup> 朱潜力<sup>1</sup>

(湖南省人民医院 / 湖南师范大学附属第一医院 1. 儿童心血管科; 2. 临床研究所;  
3. 超声科; 4. 医学检验科, 湖南长沙 410005)

**[摘要]** **目的** 探讨 Nod 样受体蛋白 3 (NLRP3) 炎症小体与川崎病 (KD) 患儿急性期炎症反应以及冠状动脉损伤的关系。**方法** 前瞻性纳入 2017 年 1~10 月住院的 KD 患儿 42 例为研究对象, 其中伴冠状动脉损伤 (CAL) 9 例, 非冠状动脉损伤 (NCAL) 33 例。另外选取性别、年龄相匹配的 15 例肺炎发热患儿作为发热对照组, 15 例健康儿童作为健康对照组。采用实时荧光定量 PCR 检测外周血单个核细胞 NLRP3 炎症小体 (NLRP3、ASC 和 caspase-1) mRNA 的表达。采用 Spearman 秩相关分析法评估 NLRP3 mRNA 表达与血清 C 反应蛋白 (CRP)、红细胞沉降率 (ESR)、白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、降钙素原、白蛋白及前白蛋白水平的相关性。**结果** KD 组急性期外周血 NLRP3、ASC 和 caspase-1 mRNA 表达明显高于发热对照组及健康对照组 ( $P < 0.05$ ); CAL 组患儿 NLRP3 mRNA 表达明显高于 NCAL 组 ( $P < 0.05$ )。KD 患儿急性期 NLRP3 mRNA 表达与 CRP、IL-6、IL-1 $\beta$ 、前白蛋白水平存在相关性 ( $r_s$  分别为 0.449、0.376、0.427、-0.416, 均  $P < 0.05$ )。**结论** NLRP3 炎症小体可能参与了 KD 急性期炎症反应及 CAL 的发生。 [中国当代儿科杂志, 2019, 21(10): 992-997]

**[关键词]** 川崎病; Nod 样受体蛋白; 炎症小体; 冠状动脉损伤; 儿童

### Expression of Nod-like receptor protein 3 inflammasome in peripheral blood mononuclear cells of children with Kawasaki disease in the acute stage

LIU Li-Ping, YUAN Yong-Hua, HE Xue-Hua, CHEN Min, PENG Dan-Xia, XU Wei, XIA Xiao-Hui, CAO You-De, WANG Sheng, ZHU Qian-Li. Department of Pediatric Cardiology, Hunan People's Hospital/First Affiliated Hospital of Hunan Normal University, Changsha 410005, China (He X-H, Email: he\_xh101@163.com)

**Abstract: Objective** To study the association of Nod-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome with inflammatory response in the acute stage and coronary artery lesion (CAL) in children with Kawasaki disease (KD). **Methods** A total of 42 children with KD who were hospitalized from January to October 2017 were enrolled as the KD group, among whom 9 had CAL (CAL group) and 33 had no CAL (NCAL group). Fifteen age- and gender-matched children with pneumonia and pyrexia were enrolled as the pneumonia-pyrexia group. Fifteen healthy children were enrolled as the healthy control group. Real-time PCR was used to measure the mRNA expression of NLRP3 inflammasome (NLRP3, ASC and caspase-1) in peripheral blood mononuclear cells. The Spearman rank correlation test was used to investigate the correlation of NLRP3 mRNA expression with serum levels of C-reactive protein, erythrocyte sedimentation rate, interleukin-6, interleukin-1 $\beta$ , procalcitonin, albumin and prealbumin. **Results** The KD group had significantly higher mRNA expression of NLRP3, ASC and caspase-1 in the acute stage than the pneumonia-pyrexia and healthy control groups ( $P < 0.05$ ). The CAL group had significantly higher mRNA expression of NLRP3 than the NCAL group ( $P < 0.05$ ). NLRP3 mRNA expression was correlated with C-reactive protein, interleukin-6, interleukin-1 $\beta$ , and prealbumin levels in children with KD in the acute stage ( $r_s = 0.449, 0.376, 0.427, \text{ and } -0.416$  respectively;  $P < 0.05$ ). **Conclusions** NLRP3 inflammasome may participate in inflammatory response in the acute stage and the development of CAL in children with KD. [Chin J Contemp Pediatr, 2019, 21(10): 992-997]

**Key words:** Kawasaki disease; Nod-like receptor protein; Inflammasome; Coronary artery lesion; Child

[收稿日期] 2019-05-14; [接受日期] 2019-08-01

[基金项目] 长沙市科技计划项目 (kq1706053)。

[作者简介] 刘丽萍, 女, 硕士研究生, 副主任医师。

[通信作者] 何学华, 男, 主任医师。Email: he\_xh101@163.com。

川崎病 (Kawasaki disease, KD) 是一种急性、自限性且病因不明的儿童常见的免疫相关性血管炎综合征, 主要累及冠状动脉。虽经静脉免疫球蛋白 (intravenous immunoglobulin, IVIG) 治疗, KD 患者仍可出现冠状动脉损伤 (coronary artery lesion, CAL) 及冠状动脉瘤<sup>[1]</sup>。近年来, KD 的发病率有逐年上升趋势, 是儿童后天获得性心脏病最常见病因之一<sup>[2]</sup>。KD 病因及发病机制尚未完全明了, 目前研究认为其发病与感染、免疫活化、遗传易感性及细胞因子分泌、超抗原、血管内皮功能紊乱等有关<sup>[3-4]</sup>。

急性 KD 患者的全基因组表达谱分析已确定了白细胞介素-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) 途径激活在炎症介质谱中的关键作用<sup>[5]</sup>, 同时也与儿童时期 KD 和复发性发热综合征之间的表型相似, 并指出炎性体激活在 KD 免疫发病机制中的潜在作用。炎性体是参与感知先天免疫中的危险信号的多蛋白复合物, 其中 Nod 样受体蛋白 3 (Nod-like receptor protein 3, NLRP3) 激活是炎症激活的关键, 也是目前研究最多的炎症小体。目前发现 NLRP3 的突变与儿童期反复发烧/自身炎症综合征有关<sup>[6]</sup>。NLRP3 与接头蛋白凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein, ASC)、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 (cysteiny aspartate-specific proteases-1, caspase-1) 结合后形成炎症小体, 通过调控 caspase-1 活化, 促进 IL-1 $\beta$  及 IL-18 等炎症因子成熟、释放, 发挥促炎作用。

目前国内外对于 NLRP3 在 KD 及冠脉病变发生中的作用及机制的研究甚少。有研究使用肌醇三磷酸 3-激酶 C (ITPKC) 缺陷小鼠建立 KD 动物模型, 发现 ITPKC 通过调节钙离子动员来控制 NLRP3 活化<sup>[7]</sup>。另有研究发现, 在干酪乳酸杆菌细胞壁提取物诱导的 KD 动物模型组中, 内皮细胞 NLRP3 炎症小体激活增加, 其机制与冠状动脉炎期间溶酶体失衡有关<sup>[8]</sup>。本研究通过检测 KD 患儿的 NLRP3 炎症小体及下游 IL-1 $\beta$  的表达水平, 探讨 NLRP3 炎症小体与 KD 急性炎症反应及 CAL 的相关性。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象和分组

前瞻性地纳入 2017 年 1~10 月在我院儿童心

内科住院的初发的 KD 患儿 42 例 (病程在 7 d 以内), 其中男 25 例, 女 17 例。最小年龄为 2 个月, 最大年龄为 6 岁, 平均年龄为  $31 \pm 20$  个月。

纳入标准: (1) 根据 2017 年美国心脏学会更新的 KD 诊断标准<sup>[2]</sup> 确诊为 KD; (2) 未接受过 IVIG 治疗的初发患儿; (3) 有完整的临床及实验室检查资料。

另外选取在我院体检的 15 例健康儿童作为健康对照组, 其中男 9 例, 女 6 例, 平均年龄  $30 \pm 18$  个月。选取 15 例于我院住院的肺炎患儿作为发热对照组, 其中男 9 例, 女 6 例, 平均年龄  $29 \pm 17$  个月。发热对照组的纳入标准: (1) 符合社区获得性肺炎的诊断标准<sup>[9]</sup>; (2) 发热时间  $>4$  d; (3) 排除既往有 KD 病史者。KD 组与肺炎发热组、健康对照组性别、年龄的比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。所有 KD 患儿行心脏超声心动图检查, 根据 2017 年美国心脏学会更新的 KD 诊断及治疗指南<sup>[2]</sup>, 按照冠状动脉受累程度 (冠脉 Z 值) 分级标准分为 CAL 组和无 CAL 组 (NCAL 组)。CAL 组 9 例, NCAL 组 33 例。KD 患儿均在确诊 10 d 内接受 IVIG 治疗。

本研究获得湖南省人民医院医学伦理委员会批准 (批准文号: 2016053) 及研究对象家属的知情同意。

### 1.2 标本采集

KD 组及发热对照组患儿于入院第 1 天 (急性期), 健康对照组儿童于健康体检时, 采集两份外周静脉血, 1 份为非抗凝血, 离心后收集血清; 另一份为 EDTA 抗凝血, 分离外周血单个核细胞, 加 1 mL Trizol (美国 Invitrogen 公司) 裂解后待提取 RNA, 两份血液标本均保存于  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱。

### 1.3 实时荧光定量 PCR 检测细胞中的 NLRP3、ASC 和 caspase-1 mRNA 的表达

取外周血单个核细胞, 加入细胞裂解液, 按 Trizol 法提取总 RNA (美国 Invitrogen 公司), 按 RevertAid™ H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas) 说明配制 mRNA 逆转录体系, 逆转录合成 cDNA。引物序列: NLRP3 上游引物为 5'-ATGTGGGGGAGAATGCCTTG-3', 下游引物为 5'-TTGTCTCCGAGAGTGTGTC-3'; caspase-1 上游引物为 5'-CATCCCACAATGGGCTCTGT-3', 下游引物为 5'-GCATCTGCGCTCTACCATCT-3'。ASC 上游

引物为 5'-ATCCAGGCCCTCCTCAG-3', 下游引物为 5'-AGAGCTTCCGCATCTTGCTT-3' (190 bp)。PCR 反应条件为: 94℃ 预变性 3 min, 共 40 个循环 (94℃ 30 s, 60℃ 30 s, 72℃ 45 s), 每个循环在 72℃ 延伸阶段收集荧光。每个样品设 3 个平行复孔。使用 2- $\Delta\Delta$ Ct 法计算外周血 NLRP3、ASC 和 caspase-1 mRNA 相对表达量。

#### 1.4 IL-1 $\beta$ 、IL-6 及其他生化指标的测定

采用 ELISA 法检测血清中细胞因子 IL-1 $\beta$  和 IL-6 水平, 其试剂盒购自上海科华生物工程股份有限公司 (KHB 公司)。

其他常规检查, 包括血常规、C 反应蛋白 (CRP)、红细胞沉降率 (ESR)、降钙素原 (PCT) 等血液生化指标的检测, 由我院检验科完成。

#### 1.5 心脏彩超结果判定

心脏超声心动图检查由我院心脏彩超室完成。按照波士顿儿童医院 Z 值计算系统 (<http://www.bostonzscores.com/>) 评估是否存在 CAL: Z 值 <2 为未合并 CAL; Z 值  $\geq 2.5$  或 Z 值在 2.0~<2.5 之间, 伴冠状动脉周围回声增强或冠状动脉缺乏正常的

逐渐变细为合并 CAL。

#### 1.6 统计学分析

采用 SPSS 20.0 统计软件对数据进行统计学分析, 计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组间比较采用两独立样本 *t* 检验; 非正态分布计量资料以中位数 (四分位数间距) [ $M(P_{25}, P_{75})$ ] 表示, 两组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验, 多组间比较采用 Kruskal-Wallis *H* 检验, 组间两两比较采用 Nemenyi 检验; 相关性分析采用 Spearman 秩相关分析法。P<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 KD 组与发热对照组实验室指标检测结果

急性期 KD 患儿 ESR、CRP、PCT、IL-6 水平明显高于发热对照组 (P<0.05), 而前白蛋白 (PA) 水平则明显低于发热对照组 (P<0.05); 血小板 (PLT) 计数、血浆白蛋白 (ALB) 水平在两组间比较差异无统计学意义 (P>0.05)。见表 1。

表 1 KD 组和发热对照组实验室各检测指标的比较 ( $\bar{x} \pm s$ ) 或 [ $M(P_{25}, P_{75})$ ]

组别	例数	PLT ( $\times 10^9/L$ )	ESR (mm/h)	CRP (mg/L)	PCT (ng/mL)	IL-6 (pg/mL)	ALB (mg/L)	PA (mg/L)
发热对照组	15	288 $\pm$ 135	18(9, 30)	20(4, 32)	0.67(0.13, 0.98)	20(5, 28)	36.5 $\pm$ 2.6	208(150, 245)
KD 组	42	362 $\pm$ 124	68(44, 90)	82(48, 157)	1.21(0.52, 2.23)	123(65, 158)	35.9 $\pm$ 3.4	50(22, 79)
<i>t</i> /Z 值		1.362	4.283	4.091	2.194	2.742	-0.749	-4.187
<i>P</i> 值		0.207	<0.001	<0.001	0.035	0.028	0.472	<0.001

注: [PLT] 血小板; [ESR] 红细胞沉降率; [CRP] C 反应蛋白; [PCT] 降钙素原; [IL-6] 白细胞介素-6; [ALB] 血浆白蛋白; [PA] 前白蛋白。

### 2.2 各组儿童 NLRP3 炎症小体表达和细胞因子 IL-1 $\beta$ 水平的变化

KD 组急性期外周血 NLRP3 炎症小体 (NLRP3、caspase-1、ASC) mRNA 相对表达量显著高于

发热对照组和健康对照组, 差异有统计学意义 (P<0.05)。KD 组 IL-1 $\beta$  水平显著高于健康对照组 (P<0.05), 但和发热对照组比较差异无统计学意义 (P>0.05)。见表 2。

表 2 各组儿童 NLRP3 炎症小体 mRNA 相对表达量和细胞因子 IL-1 $\beta$  水平的比较 [ $M(P_{25}, P_{75})$ ]

组别	例数	NLRP3 mRNA	caspase-1 mRNA	ASC mRNA	IL-1 $\beta$ (pg/mL)
健康对照组	15	0.32(0.15, 0.58)	0.35(0.20, 0.61)	0.47(0.25, 0.74)	0.45(0.18, 1.64)
发热对照组	15	1.71(0.46, 3.04) <sup>a</sup>	1.06(0.43, 2.95) <sup>a</sup>	1.53(0.63, 3.28) <sup>a</sup>	2.86(1.47, 6.95) <sup>a</sup>
KD 组	42	3.98(1.89, 8.03) <sup>ab</sup>	2.38(0.92, 4.56) <sup>ab</sup>	3.66(1.63, 7.82) <sup>ab</sup>	4.28(1.79, 7.42) <sup>a</sup>
<i>H</i> 值		13.643	11.427	10.627	10.539
<i>P</i> 值		0.001	0.0013	0.0015	0.0018

注: a 示与健康对照组比较, P<0.05; b 示与发热对照组比较, P<0.05。

### 2.3 CAL 组和 NCAL 组 NLRP3 mRNA 和 IL-1 $\beta$ 等指标的比较

CAL 组 NLRP3 mRNA 相对表达量明显高于 NCAL 组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); IL-1 $\beta$

水平在 CAL 组较 NCAL 组稍高, 但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); CAL 组 CRP 水平明显高于 NCAL 组 ( $P < 0.05$ )。其他实验室检测指标在两组间比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 3。

表 3 KD 患儿 NCAL 组和 CAL 组间 NLRP3 mRNA 等指标的比较 ( $\bar{x} \pm s$ ) 或 [ $M(P_{25}, P_{75})$ ]

组别	例数	PLT ( $\times 10^9/L$ )	ESR (mm/h)	CRP (mg/L)	PCT (ng/mL)	IL-6 (pg/mL)	ALB (mg/L)	PA (mg/L)	NLRP3 mRNA	IL-1 $\beta$ (pg/mL)
NCAL 组	33	387 $\pm$ 139	52 $\pm$ 29	67 $\pm$ 51	1.01(0.48, 2.13)	105(59, 168)	36 $\pm$ 27	57 $\pm$ 34	3.65(1.54, 6.87)	2.76(1.43, 5.86)
CAL 组	9	402 $\pm$ 154	79 $\pm$ 36	109 $\pm$ 57	1.36(0.52, 2.24)	150(94, 295)	35 $\pm$ 23	48 $\pm$ 42	5.42(2.13, 9.71)	5.46(2.56, 7.38)
<i>t/Z</i> 值		0.692	1.92	2.741	-0.873	-1.482	0.649	0.987	-1.947	-0.475
<i>P</i> 值		0.435	0.145	0.013	0.495	0.083	0.526	0.129	0.041	0.692

注: [PLT] 血小板; [ESR] 红细胞沉降率; [CRP] C 反应蛋白; [PCT] 降钙素原; [IL-6] 白细胞介素-6; [ALB] 血浆白蛋白; [PA] 前白蛋白; [NLRP3] Nod 样受体蛋白 3; [IL-1 $\beta$ ] 白细胞介素-1 $\beta$ 。

### 2.4 NLRP3、IL-1 $\beta$ 与其他炎性指标之间的相关性分析

KD 患儿急性期 NLRP3 mRNA 的表达水平与 CRP、IL-6 及 IL-1 $\beta$  水平呈正相关 ( $P < 0.05$ ), 与 PA 水平呈负相关 ( $P < 0.05$ ); KD 患儿急性期 IL-1 $\beta$  的表达水平与 CRP、ESR、PCT、IL-6、ALB、PA 水平均无相关性 ( $P > 0.05$ )。见表 4。

表 4 KD 急性期 NLRP3 mRNA 相对表达量和 IL-1 $\beta$  与各临床指标的相关性

临床指标	NLRP3 mRNA		IL-1 $\beta$	
	$r_s$ 值	<i>P</i> 值	$r_s$ 值	<i>P</i> 值
IL-1 $\beta$	0.427	0.018	/	/
CRP	0.449	0.021	0.211	0.164
ESR	0.028	0.879	0.305	0.125
PCT	0.244	0.179	0.034	0.853
IL-6	0.376	0.046	0.076	0.680
ALB	-0.057	0.756	-0.125	0.496
PA	-0.416	0.018	-0.259	0.153

注: [NLRP3] Nod 样受体蛋白 3; [IL-1 $\beta$ ] 白细胞介素-1 $\beta$ ; [CRP] C 反应蛋白; [ESR] 红细胞沉降率; [PCT] 降钙素原; [IL-6] 白细胞介素-6; [ALB] 血浆白蛋白; [PA] 前白蛋白。

## 3 讨论

NLRP3 炎症小体是目前最具代表性的炎症小体, 是由 NLRP3、ASC 以及 caspase-1 蛋白共同组成的蛋白复合物。当机体遇到外源病原毒素侵袭或内源危险信号刺激时, 衔接蛋白 ASC 招募效应

蛋白 pro-caspase-1, 装配形成炎症小体, 炎症小体自我激活后切割 pro-caspase-1 发生水解, 成为具有活性的 caspase-1<sup>[10-11]</sup>, 并进一步促进下游更多的促炎因子 (如 IL-1 $\beta$ 、IL-18) 成熟, 从而促进细胞凋亡, 调节固有免疫并发挥生物学功能<sup>[12]</sup>。而炎症因子的产生可进一步引起免疫细胞如 T 细胞、NK 细胞等的激活和干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 等炎症因子的释放, 这种反复发生、甚至扩散的炎症, 导致血管内皮的损伤, 可能在 KD 全身血管炎症及 CAL 中发挥作用。

NLRP3 炎症小体是天然免疫系统的重要组成部分, 参与机体免疫反应和炎症性疾病的发生<sup>[13]</sup>。研究发现, 类风湿性关节炎患者的外周血细胞中, NLRP3 和 NLRP3 介导的 IL-1 $\beta$  分泌明显增加<sup>[14]</sup>。支气管哮喘小鼠模型中 NLRP3 mRNA 表达显著增加, 通过介导对 IL-1 $\beta$  的表达使哮喘恶化, NLRP3 炎症小体与哮喘病情严重程度有关<sup>[15]</sup>。NLRP3 基因缺陷的小鼠感染结肠炎的易感性明显增加<sup>[16]</sup>。NLRP3、ASC 基因敲除的骨髓移植入 LDL 受体缺陷的小鼠进行高脂饮食喂养, 其动脉硬化程度及炎症反应有明显减轻<sup>[17]</sup>。NLRP3 炎症小体的形成和激活不仅发生在免疫细胞如巨噬细胞中, 还发生在其他血管细胞如内皮细胞、纤维细胞中, 这表明无论早期、中期还是晚期, NLRP3 炎症小体均有参与心血管疾病的发生<sup>[18-19]</sup>。KD 是自身免疫性血管炎性疾病, 发病机制目前仍不清楚。免疫系统的高度活化及免疫损伤性血管炎是 KD 的显著特征。研究发现在注射干酪乳杆菌细胞壁提取

物的KD动物模型中,血管内皮内NLRP3的激活与KD的冠状动脉炎有关<sup>[8]</sup>。本研究采用荧光定量PCR法检测外周血NLRP3炎症小体的表达量,发现KD患儿急性期NLRP3、ASC、caspase-1 mRNA的表达较健康对照组和发热对照组明显升高,与Alphonse等<sup>[20]</sup>的研究结果一致,表明NLRP3炎症小体参与了KD的发生发展过程,NLRP3炎症小体的激活在KD早期诊断中可能有重要的临床意义。KD患者的主要病变为中小血管,尤其是冠状动脉的损害。因此本研究对比了CAL和NCAL组外周血NLRP3 mRNA表达的改变,发现CAL组NLRP3 mRNA的表达显著高于NCAL组,这也进一步表明NLRP3炎症小体活化在KD血管炎形成及进一步发展成CAL过程中可能有重要作用。研究还发现ITPKC通过调节钙离子的流动介导NLRP3炎症小体的活化,从而参与KD的发生发展<sup>[7]</sup>。因此我们推测,在急性期进行外周血NLRP3炎症小体的检测并进行相关干预,可能对KD的早期诊断及预防CAL的发生起一定的作用。

为进一步研究NLRP3激活后如何促进KD的血管炎症反应,本研究采用ELISA方法检测下游炎症因子IL-1 $\beta$ 的表达,发现KD患儿血清IL-1 $\beta$ 的表达水平明显高于健康对照组,这与国内外的研究结果一致<sup>[20-21]</sup>。IL-1 $\beta$ 属于IL-1家族,目前研究发现IL-1信号通路的激活在KD的发生机制中起重要的作用<sup>[22]</sup>。Wakita等<sup>[23]</sup>在KD小鼠模型中发现,冠状动脉瘤的形成是由IL-1 $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 两者共同介导的,通过IL-1受体拮抗剂阿那白滞素拮抗IL-1受体、阻断IL-1信号通路,可减少冠脉瘤的发生。IL-1 $\beta$ 为强有力的促炎细胞因子,还可以促进TNF- $\alpha$ 、IL-6和血管内皮黏附分子等的表达,这些因子均与KD的发病相关联。IL-1 $\beta$ 能激活血小板衍生生长因子和前凝血因子,增加内皮素和前列腺素的合成,增加体内脂质过氧化物的产生,造成凝血功能障碍、血管内皮损伤、血管壁通透性增加。本研究发现NCAL和CAL组的IL-1 $\beta$ 表达无明显差别,提示IL-1 $\beta$ 的升高与KD的发生有关,但不能早期预测CAL的发生。另外,本研究对KD患儿急性期外周血NLRP3 mRNA表达和IL-1 $\beta$ 水平之间的相关性进行分析,发现NLRP3 mRNA表达与IL-1 $\beta$ 水平存在正相关关系,这表明急性期NLRP3 mRNA表达活性增强,进一步促进了IL-1 $\beta$ 的分泌,

二者可能共同参与了KD血管炎症及CAL的发生。

CRP、PCT、ESR、ALB、PA、IL-6是判断炎症活动度的常用指标,与KD的严重程度相关<sup>[24-25]</sup>。2017年美国心脏学会将CRP、ESR、PCT作为评估KD严重程度及不完全KD的诊断指标<sup>[2]</sup>。本研究发现,KD组ESR、CRP、PCT、IL-6水平明显高于发热对照组,这与国内外的研究一致<sup>[2,21]</sup>,提示急性期KD患儿的炎症反应程度明显高于肺炎发热患儿。本研究还发现KD组PA的水平明显低于发热对照组,与国内的研究结果一致<sup>[25]</sup>,提示PA可作为一项早期诊断KD的参考指标。本研究对KD患儿急性期外周血NLRP3 mRNA、IL-1 $\beta$ 与CRP、PCT、IL-6、ALB、PA进行相关性分析发现,KD患儿急性期NLRP3 mRNA的表达水平与CRP和IL-6水平呈正相关,与PA呈负相关,IL-1 $\beta$ 与各指标无显著相关性。因此,推测NLRP3可作为反映KD患儿疾病活动性的新指标。

综上所述,本研究显示,NLRP3炎症小体可能参与了KD急性期炎症反应及CAL的发生。早期检测外周血NLRP3炎症小体的表达并进行干预治疗,可能为KD的诊治及CAL的防治提供新的思路。但本研究存在样本量小等局限性,需进一步大规模深入研究NLRP3炎症小体的激活机制以及其与KD血管炎及CAL的关系。

#### [参 考 文 献]

- [1] Newburger JW, Takahashi M, Burns JC. Kawasaki disease[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 67(14): 1738-1749.
- [2] McCrindle BW, Rowley AH, Newburger JW, et al. Diagnosis, treatment, and long-term management of Kawasaki disease: a scientific statement for health professionals from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2017, 135(17): e927-e999.
- [3] Agarwal S, Agrawal DK. Kawasaki disease: etiopathogenesis and novel treatment strategies[J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2017, 13(3): 247-258.
- [4] Kim KY, Kim DS. Recent advances in Kawasaki disease[J]. *Yonsei Med J*, 2016, 57(1): 15-21.
- [5] Hoang LT, Shimizu C, Ling L, et al. Global gene expression profiling identifies new therapeutic targets in acute Kawasaki disease[J]. *Genome Med*, 2014, 6(11): 541.
- [6] Masters SL, Simon A, Akseptijevich I, et al. Horror autoinflammaticus: the molecular pathophysiology of autoinflammatory disease[J]. *Annu Rev Immunol*, 2009, 27: 621-668.
- [7] Chen Y, Li X, Boini KM, et al. Endothelial Nlrp3 inflammasome activation associated with lysosomal destabilization during

- coronary arteritis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1853(2): 396-408.
- [8] Pouillon V, Hascakova-Bartova R, Pajak B, et al. Inositol 1,3,4,5-tetrakisphosphate is essential for T lymphocyte development[J]. *Nat Immunol*, 2003, 4(11): 1136-1143.
- [9] 中华医学会儿科学分会呼吸学组, 中华儿科杂志编辑委员会. 儿童社区获得性肺炎管理指南(2013修订)(上)[J]. *中华儿科杂志*, 2013, 51(10): 745-752.
- [10] Ozaki E, Campbell M, Doyle SL. Targeting the NLRP3 inflammasome in chronic inflammatory diseases: current perspectives[J]. *J Inflamm Res*, 2015, 8: 15-27.
- [11] Dusser P, Koné-Paut I. IL-1 inhibition may have an important role in treating refractory Kawasaki disease[J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 163.
- [12] Liu Q, Zhang D, Hu D, et al. The role of mitochondria in NLRP3 inflammasome activation[J]. *Mol Immunol*, 2018, 103: 115-124.
- [13] Miao EA, Rajan JV, Aderem A. Caspase-1-induced pyroptotic cell death[J]. *Immunol Rev*, 2011, 243(1): 206-214.
- [14] Mariathasan S, Newton K, Monack DM, et al. Differential activation of the inflammasome by caspase-1 adaptors ASC and Ipaf [J]. *Nature*, 2004, 430(6996): 213-218.
- [15] Gross O, Thomas CJ, Guarda G, et al. The inflammasome: an integrated view[J]. *Immunol Rev*, 2011, 243(1): 136-151.
- [16] de Torre-Minguela C, Mesa Del Castillo P, Pelegrín P. The NLRP3 and pyrin inflammasomes: implications in the pathophysiology of autoinflammatory diseases[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 43.
- [17] Choulaki C, Papadaki G, Repa A, et al. Enhanced activity of NLRP3 inflammasome in peripheral blood cells of patients with active rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Res Ther*, 2015, 17: 257.
- [18] Liu X, Shen J, Fan D, et al. Yupingfeng San inhibits NLRP3 inflammasome to attenuate the inflammatory response in asthma mice[J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 944.
- [19] Zaki MH, Boyd KL, Vogel P, et al. The NLRP3 inflammasome protects against loss of epithelial integrity and mortality during experimental colitis[J]. *Immunity*, 2010, 32(3): 379-391.
- [20] Alphonse MP, Duong TT, Shumitsu C, et al. Inositol-triphosphate 3-kinase C mediates inflammasome activation and treatment response in Kawasaki disease[J]. *J Immunol*, 2016, 197(9): 3481-3489.
- [21] 张新艳, 何婷, 凌加云, 等. 川崎病患者急性期 IL-38 和 IL-1 $\beta$  水平及其临床意义 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2018, 20(7): 543-548.
- [22] Barranco C. Vasculitis syndromes: Kawasaki disease is IL-1 $\beta$ -mediated[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2016, 12(12): 693.
- [23] Wakita D, Kurashima Y, Crother TR, et al. Role of interleukin-1 signaling in a mouse model of Kawasaki disease-associated abdominal aortic aneurysm[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2016, 36(5): 886-897.
- [24] Song XY, Huang JY, Hong Q, et al. Platelet count and erythrocyte sedimentation rate are good predictors of Kawasaki disease: ROC analysis[J]. *J Clin Lab Anal*, 2010, 24(6): 385-388.
- [25] 张春雨, 金红芳, 杜军保. 川崎病患者血浆前白蛋白的变化及其意义 [J]. *临床儿科杂志*, 2010, 28(7): 628-629.

(本文编辑: 邓芳明)