

网络出版时间: 2020/5/29 13:03 网络出版地址: http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20200527.1643.017.html

# 高尿酸背景下 P2X7R 的 Arg 307 > Gln 位点基因型的功能研究

李曼云 陶金辉 方璇 马艳 潘显阳 厉小梅 李向培

**摘要** 目的 通过建立稳定表达嘌呤受体 P2X 配体门控离子通道 7 (P2X7R) 的野生型或突变体人急性白血病单核细胞株 (THP-1) 源性单核细胞系, 分析高尿酸背景下 P2X7R 的 Arg 307 > Gln SNP 基因型的功能改变。方法 慢病毒转染 THP-1 细胞, 建立稳定表达野生型、突变型 Arg 307 > Gln 和空病毒型的 THP-1 细胞系, 设置野生型、突变型 Arg 307 > Gln 和空病毒型 3 型, 每型分 3 组, 分别加入尿酸单钠盐 (MSU) (M 组)、MSU + 三磷酸腺苷 (ATP) (MA 组)、空白对照组 (C 组)。丙二醇甲醚醋酸酯 (PMA) 分别刺激 3 组细胞, 离心撤去 PMA; M 组、MA 组中加入 MSU 孵育, 之后 MA 组中加入 ATP 孵育; 分别收集 3 组细胞上清液和细胞。ELISA 法检测 3 组上清液中白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 蛋白表达水平, qRT-PCR 检测 3 组细胞 IL-1 $\beta$ 、核苷酸结合寡聚化结构域样受体 3 (NLRP3)、凋亡相关斑点样蛋白含半胱氨酸天冬氨酸-1 蛋白酶结构域 (ASC) 和 Caspase-1 mRNA 表达水平。结果 单纯加入 MSU 晶体后, 野生型、突变型 Arg 307 > Gln 和空病毒型 3 者之间均无差异 ( $P > 0.05$ )。加入 ATP 孵育后, 野生型中 IL-1 $\beta$  和 NLRP3 水平均高于突变型 Arg 307 > Gln, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。而 ATP-P2X7R-IL-1 $\beta$  信号通路上 ASC 和 Caspase-1 mRNA 水平在野生型和突变型 2 者之间无差异 ( $P > 0.05$ )。结论 在高尿酸背景下, 突变型 Arg 307 > Gln 使 P2X7R 功能明显下调, IL-1 $\beta$  和 NLRP3 表达水平均降低。Caspase-1、ASC 可能分别在激活通路过程中被降解。

**关键词** 痛风性关节炎; 核苷酸多态性; Arg 307 > Gln; 白细胞介素-1 $\beta$

中图分类号 R 589.7

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)06-0911-05  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.06.017

痛风是一种由高尿酸血症和尿酸单钠盐 (monosodium urate, MSU) 晶体沉积引起的炎症性疾病。目前有研究<sup>[1]</sup>表明, 细胞外三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 的变化可激活嘌呤受体 P2X 配

体门控离子通道 7 (purinergic receptor P2X ligand-gated ion channel 7, P2X7R) 信号通路, 协同 MSU 晶体刺激产生核苷酸结合寡聚化结构域样受体 3 [oligomerization domain (NOD)-like receptor family, pyrin domain containing 3, NLRP3] 炎症小体并激活半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1 (Caspase-1), 使白细胞介素 (interleukin, IL)-1 $\beta$  分泌量增加, 导致痛风的发作。因此, ATP 的显著变化是导致急性痛风性关节炎发生的关键。另外, 临床有部分高尿酸血症患者一生从未发作痛风, 可能与 P2X7R 多态性相关。因此, P2X7R 可能是急性痛风性关节炎发作的一个关键调节因子。人类 P2RX7 基因上存在许多核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 位点。既往有研究<sup>[2-3]</sup>报道, 携带人 P2RX7 基因 Arg 307 > Gln 突变体的细胞使 P2X7R 功能降低甚至缺失。现拟探讨在人急性白血病单核细胞株 (human leukemic monocyte, THP-1) 源性巨噬细胞中, 通过建立高尿酸盐的背景, 并分别转染野生型、突变型 Arg 307 > Gln 和空病毒型 THP-1 细胞系, 比较 3 种 P2X7R 功能的差异。

## 1 材料与方法

**1.1 实验材料** 人急性白血病单核细胞株 THP-1 购自中国科学院上海细胞生物学研究所; 胎牛血清与 RPMI-1640 培养基均购自美国 Gibco 公司; 绿色荧光蛋白 (green fluorescent protein, GFP)-慢病毒载体 (lentivirus, LVs) 购自上海汉恒生物科技有限公司; 微量 RNA 提取试剂盒、cDNA 逆转录试剂盒及 SYBR<sup>®</sup> Green PCR 试剂盒均购自德国 QIAGEN 公司; P2X7R、IL-1 $\beta$ 、NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白含半胱氨酸天冬氨酸-1 蛋白酶结构域 (apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase-1 recruitment domain, ASC)、Caspase-1 及  $\beta$ -actin PCR 引物均购自上海生工生物科技有限公司; IL-1 $\beta$  试剂盒购自美国 R&D Systems 公司。

**1.2 THP-1 细胞的培养** 将 THP-1 细胞培养于 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中, 5% CO<sub>2</sub>、37 °C 温箱中培养, 密切观察 THP-1 细胞, 培养期间每 3

2019-09-09 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81671601、81771774); 安徽省自然科学基金 (编号: 1708085MH191)

作者单位: 安徽医科大学附属省立医院风湿免疫科, 合肥 230001

作者简介: 李曼云, 女, 硕士研究生;

李向培, 女, 教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: lixiangpei55@126.com

d 更换 1 次培养基。

1.3 慢病毒搭载 GFP 荧光转染 THP-1 细胞并筛选目的基因 取  $1 \times 10^5$  个 THP-1 细胞,接种于 48 孔板培养,加入完全培养基培养过夜。第 2 天细胞融合达 40% ~ 50%,加入 GFP-LVs,同时加入聚凝胺后摇匀,放入 37 °C 温箱中培养。转染 72 h 后,荧光倒置显微镜 DMI3000B(德国 Leica 公司)下观察慢病毒转染情况。转染成功后再次传代,并在荧光倒置显微镜下观察荧光是否衰减。

1.4 实验细胞分组及功能实验 将转染过的 THP-1 细胞先用丙二醇甲醚醋酸酯 (phorbol-12-myristate-13-acetate, PMA) 刺激 3 h 后,在野生型、突变型 Arg 307 > Gln 和空病毒型中各设置 3 组: MSU (M 组)、MSU + ATP (MA 组)、对照组 (C 组),M 组、MA 组中加入 MSU 孵育 6 h 后,MA 组中加入 ATP 孵育 1 h,分别收取 3 组中转染后 THP-1 细胞上清液和细胞。

1.5 ELISA 检测细胞上清液中 IL-1 $\beta$  各标本细胞上清液冻存于 -80 °C,实验时各标本置于 4 °C 缓慢解冻,1 000 r/min、4 °C 离心 15 min,根据说明书检测上清液中 IL-1 $\beta$  表达水平。

1.6 qRT-PCR 检测 mRNA 表达水平 TRIzol(美国 Invitrogen 公司)溶液提取细胞总 RNA, -80 °C 冰箱保存,最后集中进行定量测定。使用 ABI7500 全自动实时定量 PCR 仪进行检测,以 GAPDH 为内参。反应条件: 95 °C、2 min、95 °C、5 s、60 °C、34 s、40 个循环。融解曲线分析: 温度 60 ~ 95 °C,每个样本重复 3 次,以保证结果的准确性。采用  $\Delta Ct$  和  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算目的基因的相对表达量。

1.7 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件分析,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组均值比较采用独立样本 *t* 检验,多组均值间比较用 ANOVA 分析,以  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 在 MSU 背景下,突变型 Arg 307 > Gln 降低了 ATP 刺激 P2X7R 分泌 IL-1 $\beta$  的能力 MA 组中野生型、突变型 Arg 307 > Gln 和空病毒型 THP-1 细胞上清液和细胞中 IL-1 $\beta$  表达水平差异均有统计学意义 ( $F = 4.606, P = 0.0352; F = 9.063, P = 0.00114$ ); 其中,与野生型相比,突变型 Arg 307 > Gln 上清液中 IL-1 $\beta$  表达水平降低 ( $P = 0.0164$ ) (见图 1A),细胞中 IL-1 $\beta$  mRNA 表达水平也降低 ( $P < 0.001$ ) (见图 1B)。然而,野生型和突变型

Arg 307 > Gln 与空病毒型相比 THP-1 细胞上清液和细胞中 IL-1 $\beta$  表达水平均基本无差异(上清液:  $P = 0.1208, P = 0.5972$ ; 细胞:  $P = 0.1199, P = 0.2261$ )。C 组和 M 组的野生型、突变型 Arg 307 > Gln 和空病毒型上清液和细胞之间差异均无统计学意义(上清液 C 组:  $F = 0.8915, P = 0.4581$ ; 上清液 M 组:  $F = 2.375, P = 0.1389$ ; 细胞 C 组:  $F = 4.794, P = 0.0570$ ; 细胞 M 组:  $F = 1.399, P = 0.3012$ )。见图 1。

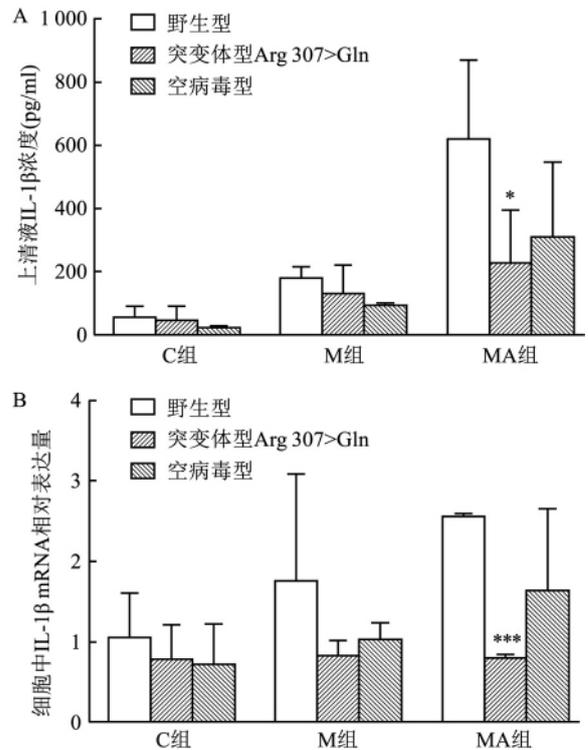


图 1 3 种 THP-1 细胞上清液及细胞中 IL-1 $\beta$  表达水平比较 A: 上清液中 IL-1 $\beta$  浓度; B: 细胞中 IL-1 $\beta$  mRNA; 与野生型比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*\*  $P < 0.001$

2.2 在 MSU 背景下,突变型 Arg 307 > Gln 抑制了 ATP 刺激 P2X7R 对 NLRP3 的调控 MA 组中野生型、突变型 Arg 307 > Gln 和空病毒型 THP-1 细胞中 NLRP3 mRNA 的表达差异均无统计学意义 ( $F = 7.958; P = 0.0205$ ); 其中,与野生型比较,突变型中 NLRP3 mRNA 表达水平降低 ( $P = 0.0279$ )。然而,野生型和突变型 Arg 307 > Gln 与空病毒型相比 NLRP3 mRNA 表达水平差异均无统计学意义 ( $P = 0.0859, P = 0.4915$ )。C 组和 M 组中野生型、突变型 Arg 307 > Gln 和空病毒型之间 NLRP3 mRNA 的表达水平均亦无差异(分别是  $F = 3.906, P = 0.0820; F = 0.3398, P = 0.7217$ )。见图 2。

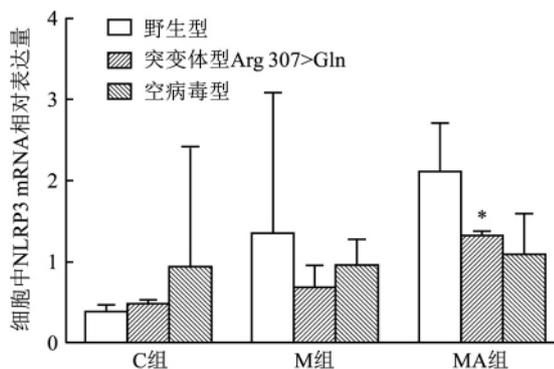


图2 3种THP-1细胞中NLRP3 mRNA表达水平比较  
与野生型比较: \*  $P < 0.05$

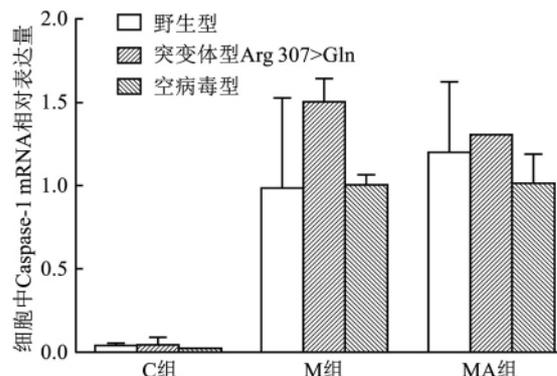


图4 3种THP-1细胞中Caspase-1 mRNA表达水平比较

**2.3 MSU背景下,野生型和突变型 Arg 307 > Gln THP-1 细胞中 ASC 表达均显著增高** 突变型 Arg 307 > Gln 不影响 ATP 刺激 P2X7R 对 ASC 的调控 MA 组中野生型、突变型 Arg 307 > Gln 和空病毒型 THP-1 细胞中 ASC mRNA 的表达水平存在差异 ( $F = 14.22, P = 0.0053$ ) 野生型和突变型 Arg 307 > Gln 组的 ASC mRNA 表达水平升高,但 2 组间 ASC mRNA 表达水平均无差异 ( $P = 0.1694$ )。然而,野生型和突变型 Arg 307 > Gln 与空病毒型相比,ASC mRNA 表达水平均存在差异 ( $P = 0.0022, P = 0.0283$ )。C 组和 M 组中野生型、突变型 Arg 307 > Gln 和空病毒型三者之间 ASC mRNA 的表达水平差异均无统计学意义 ( $F = 1.097, P = 0.3792; F = 4.761, P = 0.0578$ )。

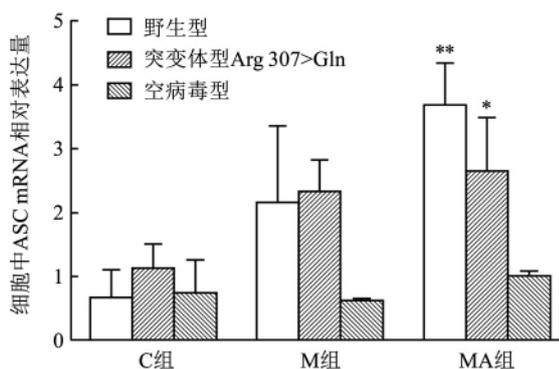


图3 3种THP-1细胞中ASC mRNA表达水平比较  
与空病毒型比较: \*\*  $P < 0.01, * P < 0.05$

**2.4 在 MSU 背景下,突变型 Arg 307 > Gln THP-1 细胞不影响 ATP 刺激 P2X7R 对 Caspase-1 的调控** C 组、M 组和 MA 组中野生型、突变型 Arg 307 > Gln 和空病毒型 THP-1 细胞中 Caspase-1 mRNA 表达水平差异均无统计学意义 ( $F = 0.5915, P = 0.5828; F = 2.445, P = 0.1672; F = 0.9038, P = 0.4538$ )。

### 3 讨论

痛风作为一种自身炎症性疾病,IL-1 $\beta$  在 MSU 诱导的炎症通路中起着不可或缺的作用<sup>[4]</sup>。IL-1 $\beta$  的产生有 3 个步骤: IL-1 $\beta$  前体 (pro-IL-1 $\beta$ ) 蛋白的产生;切割 pro-IL-1 $\beta$  产生活性 IL-1 $\beta$  蛋白;将 IL-1 $\beta$  释放到细胞外环境中。其中,pro-IL-1 $\beta$  的处理,涉及到 Caspase-1 的激活,也是炎症小体活化的基本特征。

急性痛风性关节炎与 MSU 晶体形成密切相关。已有文献<sup>[5]</sup>证明,在体内 MSU 可被膜结合受体 (如 Toll 样受体,TLRs) 和细胞内模式识别受体 (如 NOD 样受体) 识别。THP-1 源性单核细胞在 PMA 的作用下分化为 THP-1 源性巨噬细胞并通过 Toll 2 样受体 (Toll-like receptor 2,TLR2) 和 TLR4 识别 MSU 晶体破坏溶酶体,释放到胞质中的溶酶体组织蛋白酶 B 可结合 NLRP3 并激活 NLRP3 炎症小体<sup>[6]</sup>。在 NOD 样受体 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors,NLRs) 的作用中,NLRP3 可以通过其富含亮氨酸的重复序列结构域 (leucine rich repeat,LRR) 识别并结合 MSU 晶体参与痛风发病。目前认为 PMA 通过激活 NF- $\kappa$ B 通路诱导 pro-IL-1 $\beta$ 、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1 前体 (pro-caspase-1) 的表达,在 NLRP3 炎症小体的作用下使 pro-caspase-1 活化成为 Caspase-1,促使 pro-IL-1 $\beta$  分化成为成熟 IL-1 $\beta$ <sup>[7]</sup>。

既往 Fettelschoss et al<sup>[8]</sup>用 NLRP3 激活剂即脂多糖刺激单核细胞系,后用 ATP 刺激。而 Jhang et al<sup>[6]</sup>用 PMA 先刺激 THP-1 细胞分化为巨噬细胞系,再用 MSU 晶体激活下游信号通路,使 IL-1 $\beta$  的分泌量显著增加。研究<sup>[6]</sup>发现 pro-IL-1 $\beta$  水平上调,但 NLRP3 炎症小体和 pro-caspase-1 的表达水平不受影响。本研究中,使用 ATP 分别干预经 PMA 诱导并转染过野生型、突变型 Arg 307 > Gln 和空病毒

型的 THP-1 源性巨噬细胞,比较它们分泌 IL-1 $\beta$  的能力以及 ATP-P2X7R-IL-1 $\beta$  信号通路上 3 个因子的表达水平。在 MSU 晶体建立的高尿酸背景下,由 ATP 孵育的野生型 THP-1 细胞上清液 IL-1 $\beta$  和细胞中 IL-1 $\beta$ 、NLRP3 的 mRNA 表达水平均显著高于突变体型。提示突变体型 Arg 307 > Gln 可能影响了 P2X7R 功能,使 ATP 诱导的 ATP-P2X7R-IL-1 $\beta$  通路分泌 IL-1 $\beta$  的能力明显降低,从而可能降低了炎症的发生及痛风的发作。

NLR 家族包含 2 种炎症小体,分别为 NLRP3 和黑色素瘤缺乏因子 2( absent in melanoma 2, AIM2)。当识别特异性激动剂后,NLRP3 和 AIM2 可分别形成炎症小体。而凋亡相关斑点样蛋白含半胱氨酸天冬氨酸-1 蛋白酶结构域( apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase-1 recruitment domain, ASC) 是一种衔接 NLRP3 和 AIM2 的衔接蛋白,它们相互作用。一方面,ASC 可募集 pro-caspase-1 到 NLRP3 炎症小体复合物中,另一方面 NLRP3 和 AIM2 可诱导几乎所有的 ASC 分子聚合,形成 Caspase-1 活化平台—ASC 斑点<sup>[9]</sup>,从而诱导了 Caspase-1 的活化和成熟<sup>[10]</sup>。在本研究中,当 MSU 或 ATP 作为激动剂作用于野生型和突变体型 THP-1 细胞时,MA 组野生型 ASC mRNA 表达水平高于突变体型,但差异无统计学意义,推测与 ASC 斑点形成后大部分被释放到细胞外,相邻巨噬细胞通过吞噬作用摄取 ASC 斑点导致部分 ASC 损失有关<sup>[10-11]</sup>。

近年来,Keller et al<sup>[12]</sup> 提出 Caspase-1 可激活其他底物,调控大量细胞因子和应激信号的分泌。Caspase-1 还可以切割 IL-1 $\beta$  的前体分子,使 pro-IL-1 $\beta$  成为有活性成熟的 IL-1 $\beta$  蛋白并在巨噬细胞中分泌出来<sup>[4]</sup>。由于 Caspase-1 可催化失活的酶原,通常在催化过程中自身被蛋白酶水解。本研究中,各组 Caspase-1 蛋白的 mRNA 表达水平基本无差异,

推测与其自身被蛋白酶水解有关<sup>[13]</sup>。

### 参考文献

- [1] Tao J H, Zhang Y, Li X P, et al. P2X7R: a potential key regulator of acute gouty arthritis[J]. *Semin Arthritis Rheum*, 2013, 43(3): 376-80.
- [2] 李曼云,陶金辉,李向培. P2X 配体门控离子通道 7 基因多态性在痛风发病机制中的作用[J]. *中华临床免疫和变态反应杂志*, 2018, 12(6): 641-5.
- [3] Gu B J, Field J, Dutertre S, et al. A rare P2X7 variant Arg307Gln with absent pore formation function protects against neuroinflammation in multiple sclerosis[J]. *Hum Mol Genet*, 2015, 24(19): 5644-54.
- [4] Martinon F. Mechanisms of uric acid crystal-mediated autoinflammation[J]. *Immunol Rev*, 2010, 233(1): 218-32.
- [5] Church L D, Cook G P, McDermott M F. Primer: inflammasomes and interleukin1beta in inflammatory disorders[J]. *Nat Clin Pract Rheumatol*, 2008, 4(1): 34-42.
- [6] Jhang J J, Cheng Y T, Ho C Y, et al. Monosodium urate crystals trigger Nrf2- and heme oxygenase-1-dependent inflammation in THP-1 cells [J]. *Cell Mol Immunol*, 2015, 12(4): 424-34.
- [7] Cheng J, Waite A L, Tkaczyk E R, et al. Kinetic properties of ASC protein aggregation in epithelial cells [J]. *J Cell Physiol*, 2010, 222(3): 738-47.
- [8] Fetteschoss A, Kistowska M, LeibundGut-Landmann S, et al. Inflammasome activation and IL-1 $\beta$  target IL-1 $\alpha$  for secretion as opposed to surface expression [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(44): 18055-60.
- [9] Franklin B S, Bossaller L, De Nardo D, et al. The adaptor ASC has extracellular and 'prionoid' activities that propagate inflammation [J]. *Nat Immunol*, 2014, 15(8): 727-37.
- [10] Fang R, Uchiyama R, Sakai S, et al. ASC and NLRP3 maintain innate immune homeostasis in the airway through an inflammasome-independent mechanism [J]. *Mucosal Immunol*, 2019, 12(5): 1092-103.
- [11] Baroja-Mazo A, Martín-Sánchez F, Gomez A I, et al. The NLRP3 inflammasome is released as a particulate danger signal that amplifies the inflammatory response [J]. *Nat Immunol*, 2014, 15(8): 738-48.
- [12] Keller M, Rüegg A, Werner S, et al. Active caspase-1 is a regulator of unconventional protein secretion [J]. *Cell*, 2008, 132(5): 818-31.
- [13] Cohen G M. Caspases: the executioners of apoptosis [J]. *Biochem J*, 1997, 326(Pt 1): 1-16.

## Functional research of Arg 307 > Gln locus genotype of P2X7R under high uric acid background

Li Manyun, Tao Jinhui, Fang Xuan, et al

( Dept of Rheumatology, Provincial Hospital Affiliated to Anhui Medical University, Hefei 230001)

**Abstract Objective** To analyze the functional changes of Arg 307 > Gln mutant of purinergic receptor P2X ligand-gated ion channel 7( P2X7R) in high uric acid background by establishing a human leukemic monocyte( THP-1) derived monocyte cell line in wild type or different mutants to express P2X7R stably. **Methods** THP-1 cells were transfected by lentivirus to establish a THP-1 cell line that stably expressed wild type, Arg 307 > Gln mutant

网络出版时间: 2020/5/29 13:03 网络出版地址: http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20200527.1643.018.html

## 桥本甲状腺炎对妊娠早期小鼠海马 5-羟色胺及受体的影响

夏琴 杨昊 柳田田 程锦 吴章碧 王囡 朱德发

**摘要** 目的 研究桥本甲状腺炎(HT)对妊娠早期小鼠海马组织 5-羟色胺(5-HT)含量及 5-羟色胺 2c 受体(5-HT<sub>2CR</sub>)分布的影响。方法 将 70 只 NOD 雌性小鼠随机均分为正常怀孕组(CON 组)、HT 怀孕组(HT 组)。通过猪甲状腺球蛋白(pTg)联合弗氏佐剂 2 次诱导免疫建立 HT 小鼠模型。随后与雄鼠合笼,妊娠 4.5 d 结束,每组随机选取 16 只孕鼠取材。通过 ECLIA、ELISA 测定血清甲状腺激素及抗体水平;甲状腺 HE 染色;ELISA 检测各组小鼠海马 5-HT 含量;Western blot 及免疫组织化学法观察各组小鼠海马 5-HT<sub>2CR</sub> 含量及分布情况。结果 与 CON 组相比,HT 组血清甲状腺过氧化物酶抗体(TPOAb)、抗甲状腺球蛋白抗体(TGAb)水平升高( $P < 0.05$ )。游离三碘甲状腺原氨酸(FT<sub>3</sub>)、游离四碘甲状腺原氨酸(FT<sub>4</sub>)、促甲状腺激素(TSH)差异无统计学意义;HE 染色显示,HT 组小鼠较 CON 组小鼠甲状腺可见部分甲状腺滤泡破坏及淋巴细胞浸润;与 CON 组相比,HT 组小鼠海马 5-HT 表达水平降低( $P < 0.01$ );与 CON 组相比,HT

组 5-HT<sub>2CR</sub> 表达水平升高( $P < 0.001$ ),主要分布在海马 CA3 区锥体细胞层( $P < 0.01$ ),CA1 和 DG 区有增高趋势。结论 HT 导致妊娠早期小鼠海马 5-HT 表达降低,5-HT<sub>2CR</sub> 表达增加。

**关键词** 桥本甲状腺炎;妊娠;5-羟色胺;5-羟色胺 2C 受体

中图分类号 R 581.9; R 714.1; R 338.14

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)06-0915-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.06.018

桥本甲状腺炎(hashimoto's thyroiditis, HT)是一种自身免疫性疾病,又称慢性淋巴细胞性甲状腺炎,多发于女性<sup>[1]</sup>。其特征为血清甲状腺过氧化物酶抗体(thyroid peroxidase antibody, TPOAb)、抗甲状腺球蛋白抗体(thyroid globulin antibody, TGAb)滴度显著升高,伴部分甲状腺滤泡破坏、甲状腺淋巴细胞浸润。近年来临床<sup>[2-3]</sup>发现妊娠合并 TPOAb、TGAb 阳性患者情绪障碍的发病率增加。5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)是一种参与情绪调节的重要神经递质,其神经元位于脑中缝核投射大脑半球的许多区域,包括前额叶皮质、海马、伏隔核、纹状体等<sup>[4]</sup>。5-HT 有 7 种受体,可通过与受体作用发挥

2019-10-15 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81272152)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院老年内分泌科,合肥 230022

作者简介:夏琴,女,硕士研究生;

朱德发,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者, E-

mail: zdfa0168@sina.com

and empty virus. Then three types of wild type, Arg 307 > Gln mutant and empty virus were set up separately, and each type was randomized into three groups: monosodium urate (MSU) (Group M), MSU and adenosine triphosphate (ATP) (Group MA) and unstimulated control group (Group C). Three groups of cells were stimulated by Phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA), then PMA was removed by centrifugation. Group M and MA were added with MSU incubation, then ATP was added to MA group. Three groups of serum and cells were collected. Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) protein expression level in serum was detected by ELISA while mRNA expression of IL-1 $\beta$ , oligomerization domain (NOD)-like receptor family, pyrin domain containing 3 (NLRP3), apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase-1 recruitment domain (ASC) and Caspase-1 in transfected THP-1 cells was detected by qRT-PCR. **Results** There was no significant difference between wild type, Arg 307 > Gln mutant and empty virus after adding MSU crystals alone ( $P > 0.05$ ). However after incubation with ATP, the levels of IL-1 $\beta$  and NLRP3 in the wild type were significantly higher than those in the Arg 307 > Gln mutant, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The mRNA levels of ASC and Caspase-1 in the ATP-P2X7R-IL-1 $\beta$  signaling pathway were not significantly different between wild type and Arg 307 > Gln mutant ( $P > 0.05$ ). **Conclusion**

Arg 307 > Gln mutant significantly down-regulated the function of P2X7R and reduced the expression levels of IL-1 $\beta$  and NLRP3. Caspase-1 and ASC may be degraded during the activation pathway under high uric acid background.

**Key words** gouty arthritis; single nucleotide polymorphism; Arg 307 > Gln; interleukin-1 $\beta$