

## 综述

# 细胞焦亡与脑卒中

唐标, 邓常清\*

湖南中医药大学医学院, 长沙 410028

**摘要:** 细胞焦亡是一种依赖于caspase-1和caspase-4/5/11的程序性细胞死亡方式, 参与感染性疾病和神经系统疾病等的发展过程。细胞焦亡主要由经典炎症小体途径和非经典炎症小体途径介导, 而经典炎症小体途径在脑卒中中活化并且加重脑损伤, 抑制炎症小体和下游分子能减轻损伤发挥保护作用。经典炎症小体途径介导了脑卒中损伤, 因而焦亡成为脑卒中干预的潜在靶点。本文就细胞焦亡与脑卒中关系的研究进展进行综述, 旨在为相关领域的研究提供参考。

**关键词:** 细胞焦亡; 炎症小体; 脑卒中

**中图分类号:** R329

## Pyroptosis and stroke

TANG Biao, DENG Chang-Qing\*

Medical School, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410028, China

**Abstract:** Pyroptosis is a form of inflammatory programmed cell death activated by caspase-1 and caspase-4/5/11, and involves in the pathogenesis of infectious diseases and nervous system diseases. Pyroptosis is mediated by canonical inflammasome pathway and non-canonical inflammasome pathway. The canonical inflammasome pathway is activated in stroke and aggravates brain injury. Inhibition of inflammasome, caspase-1, IL-1 $\beta$  and IL-18 ameliorates brain injury. These studies indicate that canonical inflammasome pathway contributes to post-stroke brain injury, therefore, pyroptosis has become a potential therapeutic target for preventing excessive cell death during stroke. We reviewed the relationship between pyroptosis and stroke to provide some perspectives on future researches in this field.

**Key words:** pyroptosis; inflammasome; stroke

细胞焦亡 (pyroptosis) 是一种促炎性的程序性细胞死亡方式。2001年, Brennan 和 Cookson 在沙门菌感染巨噬细胞模型中发现一种有别于凋亡且依赖于天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1 (cysteiny l aspartate specific proteinase 1, caspase-1) 的程序性细胞死亡方式, 命名为焦亡, 焦亡是一种与炎症反应有关的细胞死亡方式<sup>[1]</sup>, 是机体的重要免疫防御反应, 能破坏病原菌生长的环境和限制其生长, 是一种限制细胞内病原菌感染的有效策略, 此外, 细胞焦亡在清除内源危险信号过程中也起重要作用<sup>[2]</sup>。同时过度的细胞焦亡也能导致病理性的炎症, 诱发

多种自身炎症和自身免疫反应, 介导疾病的发生和发展, 研究表明, 细胞焦亡在感染性疾病、神经系统疾病、动脉粥样硬化、免疫系统缺陷性疾病的发生和发展中发挥了重要的作用<sup>[3]</sup>。

### 1 细胞焦亡的特征

细胞焦亡兼有凋亡和坏死的生化和形态学特征, 主要表现为细胞膜形成孔洞, 细胞逐渐膨胀至质膜破裂, 细胞膜破裂, 细胞内容物释放引起强烈的炎症反应, 同时也表现出细胞核浓缩和染色质 DNA 断裂等凋亡的特征。细胞焦亡还伴有大量促

炎症因子的释放,对邻近细胞产生促炎信号,快速启动机体天然免疫而引起炎症反应,最终使细胞发生渗透性崩解<sup>[4]</sup>。细胞焦亡依赖于 caspase-1 和感知细胞内细菌内毒素脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 的 caspase-4/5/11, caspase-4/5 为小鼠 caspase-11 在人体中的同源蛋白。研究证实,人和小鼠体内焦亡由 caspase-1 介导的经典炎症小体 (inflammasome) 途径和 caspase-4/5/11 介导的非经典炎症小体途径介导<sup>[5]</sup>。

## 2 细胞焦亡的分子机制

### 2.1 经典炎症小体途径

经典炎症小体途径由 caspase-1 介导, caspase-1 又称作白介素 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 转换酶,为炎症反应相关 caspase,以酶原的形式存在,活化的 caspase-1 可以诱导细胞膜穿孔使细胞溶解、死亡,胞内物质通过不完整的胞膜释放引起炎症反应; caspase-1 还可以促进 IL-1 $\beta$  前体和白介素 18 (IL-18) 前体的成熟,使之形成有活性的 IL-1 $\beta$  和 IL-18 并分泌到细胞外,募集更多的炎症细胞聚集,扩大炎症反应,其中 IL-1 $\beta$  能促进淋巴组织迁移和广泛的炎症因子表达,IL-18 能够同时刺激 Th1 和 Th2 型免疫反应<sup>[6,7]</sup>。Caspase-1 是如何引起细胞焦亡的目前还未完全明确,已有的研究表明 GSDMD (Gasdermin D) 可能是 caspase-1 的下游靶标并参与经典焦亡途径中, GSDMD 是炎症 caspases 的共有底物,被炎症 caspases 切割后引起炎症坏死,且 GSDMD 对成熟 IL-1 $\beta$  的分泌是必需的<sup>[8]</sup>。

Caspase-1 的活化过程已经得到了充分地揭示,其中炎症小体起到了关键作用。当炎症小体被包括病原体编码的病原相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMP) 和损伤相关分子模式 (danger-associated molecular patterns, DAMP) 在内的不同刺激信号激活后,招募 pro-caspase-1,形成细胞内局部相对高浓度的 pro-caspase-1 聚集,酶原发生自体水解,分解产生发挥 caspase-1 活性的 P20 和 P10 两个大小亚基,亚基形成异二聚体并进一步形成四聚体,最终形成具有活性的 caspase-1<sup>[9,10]</sup>。

炎症小体是由细胞质内模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 参与组装形成的多蛋白复合体,其作为固有免疫的重要组成部分,广泛存在于经典免疫细胞及非免疫细胞中,炎症小体由受体蛋白、凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated

speck-like protein containing CARD, ASC) 和 pro-caspase-1 三部分构成,炎症小体的受体蛋白包括胞浆内广泛表达的 NOD 样受体 (nucleotide-binding and oligomerization domain-like receptors, NLRs) 家族中的 NLRP1、NLRP3、NLRC4 及 HIN-200 家族的细胞质 DNA 传感器黑色素瘤缺乏因子 2 (absent in melanoma 2, AIM2)<sup>[11]</sup>。炎症小体主要依靠结构域与结构域之间结合而激活 caspase-1<sup>[9-11]</sup>。

### 2.2 非经典炎症小体途径

非经典炎症小体途径由 caspase-4/5/11 介导, caspase-11 可以直接识别并结合 LPS 从而引起 caspase-11 的寡聚化导致 caspase-11 激活,活化的 caspase-11 可以裂解 GSDMD 蛋白, GSDMD 蛋白 N 端介导细胞膜穿孔和细胞焦亡,同时 caspase-11 也可以激活 NLRP3 炎症小体活化 caspase-1,从而引起细胞内容物的释放<sup>[8,12]</sup>。此外 caspase-11 也可以激活 Pannexin-1 通道,释放 ATP 打开细胞膜上的 P2X7 通道,引起细胞膜穿孔诱导细胞焦亡<sup>[13]</sup>。

### 2.3 GSDMD在焦亡中的作用

GSDMD 属于 Gasdermin 蛋白家族,该家族还包括 GSDMA、GSDMB、GSDMC、DFNA5、DFNB59 等蛋白,含有 N 端和 C 端两个结构域,该家族具有自动抑制的孔形成结构域<sup>[14]</sup>。最近的研究表明 GSDMD 为焦亡的关键底物蛋白,为 caspase 诱导焦亡的直接执行蛋白,当 caspase 切割 GSDMD,使得 N 端和 C 端结构域分开,解除其自动抑制功能,释放出有活性 N 端残基片段, N 端残基片段通过形成低聚物识别细胞膜上的磷脂分子,导致细胞膜成孔,改变细胞的渗透压,破坏细胞膜的功能,使得细胞膜破裂,诱导焦亡发生<sup>[8,12,15]</sup>。因此也有将细胞焦亡的概念重新定义为“由 Gasdermin 家族蛋白介导的程序性细胞死亡”。此外, GSDME (DFNA5) 能被 caspase-3 切割,释放出有活性的、能使细胞成孔的 N 端片段,诱导细胞焦亡,使得细胞从凋亡迅速转入焦亡<sup>[16]</sup>。

## 3 细胞焦亡与脑卒中的相关性

焦亡一般存在于吞噬细胞中,如巨噬细胞和中性粒细胞等,但焦亡也存在于内皮细胞和神经元中<sup>[17]</sup>。细胞焦亡介导了肾的缺血再灌注损伤<sup>[18,19]</sup>。已有的研究已经揭示脑卒中中存在经典炎症小体途径的活化,意味着细胞焦亡是干预脑卒中的重要潜在靶点。

### 3.1 经典炎症小体途径与脑卒中

#### 3.1.1 caspase-1与脑卒中

经典的焦亡途径由 caspase-1 介导，已有的研究表明，炎症小体介导的 caspase-1 活化能诱导吞噬细胞焦亡，而 caspase-1 在脑卒中中的作用已经得到了充分的揭示，在脑卒中模型中，缺血后神经元、星形胶质细胞以及小胶质细胞上 caspase-1 的表达显著增加，抑制 caspase-1 能减轻脑卒中损伤，如 caspase-1 基因敲除小鼠脑卒中后损伤显著减轻，caspase-1 抑制剂 Ac-YVAD-cmk 和 VRT-018858 在脑卒中动物模型上都能减轻缺血损伤，此外，caspase-1 的抑制剂在体外的脑卒中模型中也有明显保护作用<sup>[20-23]</sup>，这表明 caspase-1 在脑卒中起到了重要作用，介导了脑卒中的损伤。

#### 3.1.2 炎症小体与脑卒中

Caspase-1 的活化主要受到炎症小体的调控，已有的研究已经表明，NLRC4、NLRP1、NLRP3 和 AIM2 四种炎症小体都介导了脑卒中损伤。

##### 3.1.2.1 NLRP1炎症小体与脑卒中

NLRP1 炎症小体是第一个被发现介导脑卒中损伤的炎症小体，在小鼠颈总动脉血栓模型中，NLRP1 炎症小体各组成蛋白表达增加，并且 caspase-1、IL-1 $\beta$  和 IL-18 水平升高，意味着 NLRP1 炎症小体的活化，免疫组化结果揭示 NLRP1 炎症小体的活化存在于神经元、星形胶质细胞和小胶质细胞中，而且抗 NLRP1 抗体能降低 caspase-1、IL-1 $\beta$  水平，减少脑缺血损伤，这表明在脑缺血中 NLRP1 炎症小体表达增加并且活化，加重脑缺血损伤<sup>[22, 24]</sup>。此外，在脑缺血体外神经元模型和小鼠大脑中动脉栓塞模型中，缺血导致神经元和缺血脑组织中 NLRP1 炎症小体各组成蛋白表达增加和 NLRP1 炎症小体活化，而 NLRP1 炎症小体活化主要存在于神经元中，并且 NLRP1 炎症小体的活化加重脑缺血损伤，抑制 NLRP1 炎症小体的表达和活化减轻损伤<sup>[25, 26]</sup>。

##### 3.1.2.2 NLRP3炎症小体与脑卒中

NLRP3 炎症小体是在脑卒中研究最多的炎症小体，在脑缺血体外神经元模型和小鼠大脑中动脉栓塞模型中，缺血导致神经元和缺血脑组织中 NLRP3 炎症小体各组成蛋白 NLRP3、ASC、pro-caspase-1 和 pro-IL-1 $\beta$  和 pro-IL-18 表达增加，NLRP3 炎症小体活化的产物 caspase-1、IL-1 $\beta$  和 IL-18 水平升高，并且 caspase-1、IL-1 $\beta$  和 IL-18 存在于神经元的胞浆中，这表明脑缺血能促进神经元中 NLRP3 炎症

小体表达和活化。在脑卒中患者脑中也观察到了 NLRP3、caspase-1、IL-1 $\beta$ 、IL-18 表达增加，并且 NLRP3 主要表达于小胶质细胞、血管内皮细胞<sup>[22]</sup>。此外，该研究进一步显示，caspase-1 抑制剂降低 caspase-1、IL-1 $\beta$  和 IL-18 水平，并且减少体外模型中神经元损伤以及缺血再灌注脑组织梗死面积和神经功能损伤。免疫球蛋白和间断性禁食通过抑制 NLRP3 炎症小体的表达和活化发挥抗脑缺血性损伤作用<sup>[25, 26]</sup>。这些研究表明脑缺血后 NLRP3 炎症小体的表达和活化加重了损伤，因而有可能成为缺血性脑卒中干预的靶点。

NLRP3 炎症小体的活化不仅存在于神经元中，也存在于星形胶质细胞和小胶质细胞中，抑制 NLRP3 炎症小体能抑制星形胶质细胞和小胶质细胞的激活，降低炎症因子的水平，降低 MPO 含量，调控小胶质细胞的极化，从而减轻炎症反应<sup>[27-30]</sup>。此外，也有研究报道，NLRP3 炎症小体介导了脑缺血中的血脑屏障损伤，而抑制 NLRP3 炎症小体活化能减轻脑缺血后血脑屏障的损伤，这与紧密连接蛋白 ZO-1 和 Occludin 的表达上调有关<sup>[31]</sup>。NLRP3 炎症小体介导的脑缺血损伤与炎症反应和血脑屏障损伤密切相关。

脑缺血后 NLRP3 炎症小体活化的调控与 NF- $\kappa$ B 和 MAPK 通路、活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 以及自噬等多种因素有关。有大量的研究揭示了脑缺血中 NLRP3 炎症小体活化的调控机制，研究表明 NF- $\kappa$ B 和 MAPK 通路能促进 NLRP3 炎症小体的表达和活化，介导了 NLRP3 炎症小体的启动过程，而抑制 NF- $\kappa$ B 和 MAPK 通路在脑缺血中发挥保护作用<sup>[22, 25, 26, 32]</sup>。此外，ROS 也是脑缺血中 NLRP3 炎症小体活化调控的重要因素，且与 ROS/TXNIP/NLRP3 途径有关，抑制 ROS 能抑制 NLRP3 炎症小体的活化，减轻脑缺血损伤<sup>[33-36]</sup>。也有研究报道 AMPK 和自噬也参与了脑缺血中 NLRP3 炎症小体活化的调控<sup>[29, 37]</sup>。

NLRP3 炎症小体也介导了脑出血性损伤，在脑内出血和蛛网膜下腔出血中，NLRP3 炎症小体的活化能加重出血性损伤，抑制 NLRP3 炎症小体能减少损伤，改善预后，NLRP3 炎症小体也有望成为脑出血性损伤中一个潜在的干预靶点<sup>[38-40]</sup>。

此外，也有研究表明 NLRC4 和 AIM2 的活化也介导了脑缺血损伤，NLRC4 和 AIM2 基因缺失的小鼠脑缺血后梗死面积显著减少，缺血后免疫反

应受到抑制, 脑缺血区域小胶质细胞和淋巴的活化也受到了抑制<sup>[41]</sup>。

这些研究表明在脑卒中中存在着炎症小体的表达增加和活化, 以及炎症小体活化的产物 caspase-1、IL-1 $\beta$  和 IL-18 水平明显升高, 抑制炎症小体和下游分子能减少脑卒中损伤, 这表明经典炎症小体途径介导了脑卒中损伤, 焦亡成为了脑卒中干预的潜在靶点。

### 3.2 非经典炎症小体途径与脑卒中

目前尚未明确非经典炎症小体途径在脑卒中的作用, 虽然已有的研究表明脑缺血后 caspase-11 表达明显增加, 并且 caspase-11 介导了缺血导致的星形胶质细胞损伤<sup>[42]</sup>, 也有报道 caspase-11 介导了缺血再灌注导致的肾小管细胞焦亡<sup>[18]</sup>, 但是 caspase-11 在脑卒中的活化是否导致细胞焦亡, 非经典炎症小体途径在脑卒中损伤中活化的机制以及发挥何种作用, 是否介导了脑卒中的发生和发展过程, 还需要进一步研究。

## 4 小结

已有的研究表明, 介导细胞焦亡的经典炎症小体途径在脑卒中中活化并且加重脑损伤, 抑制炎症小体途径的活化能减轻脑卒中损伤而发挥保护作用。但是在不同模型中和不同干预方式下, 炎症小体途径介导的细胞焦亡是否介导脑卒中损伤还需要进一步明确; 非经典炎症小体途径以及 GSDMD 在脑卒中中的作用还需要进一步研究; 脑卒中中焦亡的调控机制也待探究。这些问题的解决有望明确细胞焦亡在脑卒中中的作用, 为焦亡成为脑卒中干预的重要靶点提供依据和支持, 为脑卒中的干预提供新的思路 and 方向。

\* \* \*

**致谢:** 本综述受国家自然科学基金项目 (No. 81503385) 资助。

### 参考文献

- 1 Cookson BT, Brennan MA. Pro-inflammatory programmed cell death. *Trends Microbiol* 2001; 9(3): 113–114.
- 2 Man SM, Karki R, Kanneganti TD. Molecular mechanisms and functions of pyroptosis, inflammatory caspases and inflammasomes in infectious diseases. *Immunol Rev* 2017; 277(1): 61–75.
- 3 Jorgensen I, Miao EA. Pyroptotic cell death defends against

- intracellular pathogens. *Immunol Rev* 2015; 265(1): 130–142.
- 4 Bergsbaken T, Fink SL, Cookson BT. Pyroptosis: host cell death and inflammation. *Nat Rev Microbiol* 2009; 7(2): 99–109.
- 5 Shalini S, Dorstyn L, Dawar S, Kumar S. Old, new and emerging functions of caspases. *Cell Death Differ* 2015; 22(4): 526–539.
- 6 Rathinam VA, Fitzgerald KA. Inflammasome complexes: emerging mechanisms and effector functions. *Cell* 2016; 165(4): 792–800.
- 7 Sun Q, Scott MJ. Caspase-1 as a multifunctional inflammatory mediator: noncytokine maturation roles. *J Leukoc Biol* 2016; 100(5): 961–967.
- 8 Shi J, Zhao Y, Wang K, Shi X, Wang Y, Huang H, Zhuang Y, Cai T, Wang F, Shao F. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature* 2015; 526(7575): 660–665.
- 9 Hu Z, Chai J. Structural mechanisms in NLR inflammasome assembly and signaling. *Curr Top Microbiol Immunol* 2016; 397: 23–42.
- 10 Lu A, Wu H. Structural mechanisms of inflammasome assembly. *FEBS J* 2015; 282(3): 435–444.
- 11 Man SM, Kanneganti TD. Regulation of inflammasome activation. *Immunol Rev* 2015; 265(1): 6–21.
- 12 Kayagaki N, Stowe IB, Lee BL, O'Rourke K, Anderson K, Warming S, Cuellar T, Haley B, Roose-Girma M, Phung QT, Liu PS, Lill JR, Li H, Wu J, Kummerfeld S, Zhang J, Lee WP, Snipas SJ, Salvesen GS, Morris LX, Fitzgerald L, Zhang Y, Bertram EM, Goodnow CC, Dixit VM. Caspase-11 cleaves gasdermin D for non-canonical inflammasome signalling. *Nature* 2015; 526(7575): 666–671.
- 13 Yang D, He Y, Munoz-Planillo R, Liu Q, Nunez G. Caspase-11 requires the pannexin-1 channel and the purinergic P2X7 pore to mediate pyroptosis and endotoxic shock. *Immunity* 2015; 43(5): 923–932.
- 14 Aglietti RA, Dueber EC. Recent insights into the molecular mechanisms underlying pyroptosis and gasdermin family functions. *Trends Immunol* 2017; 38(4): 261–271.
- 15 Sborgi L, Ruhl S, Mulvihill E, Pipercevic J, Heilig R, Stahlberg H, Farady CJ, Muller DJ, Broz P, Hiller S. GSDMD membrane pore formation constitutes the mechanism of pyroptotic cell death. *EMBO J* 2016; 35(16): 1766–1778.
- 16 Wang Y, Gao W, Shi X, Ding J, Liu W, He H, Wang K, Shao F. Chemotherapy drugs induce pyroptosis through caspase-3 cleavage of a gasdermin. *Nature* 2017; 547(7661): 99–103.
- 17 Lossi L, Castagna C, Merighi A. Neuronal cell death: an overview of its different forms in central and peripheral neurons. *Methods Mol Biol* 2015; 1254: 1–18.

- 18 Yang JR, Yao FH, Zhang JG, Ji ZY, Li KL, Zhan J, Tong YN, Lin LR, He YN. Ischemia-reperfusion induces renal tubule pyroptosis via the CHOP-caspase-11 pathway. *Am J Physiol Renal Physiol* 2014; 306(1): F75–F84.
- 19 Wu H, Huang T, Ying L, Han C, Li D, Xu Y, Zhang M, Mou S, Dong Z. MiR-155 is involved in renal ischemia-reperfusion injury via direct targeting of FoxO3a and regulating renal tubular cell pyroptosis. *Cell Physiol Biochem* 2016; 40(6): 1692–1705.
- 20 Rabuffetti M, Sciorati C, Tarozzo G, Clementi E, Manfredi AA, Beltramo M. Inhibition of caspase-1-like activity by Ac-Tyr-Val-Ala-Asp-chloromethyl ketone induces long-lasting neuroprotection in cerebral ischemia through apoptosis reduction and decrease of proinflammatory cytokines. *J Neurosci* 2000; 20(12): 4398–4404.
- 21 Hara H, Friedlander RM, Gagliardini V, Ayata C, Fink K, Huang Z, Shimizu-Sasamata M, Yuan J, Moskowitz MA. Inhibition of interleukin 1beta converting enzyme family proteases reduces ischemic and excitotoxic neuronal damage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94(5): 2007–2012.
- 22 Fann DY, Lee SY, Manzanero S, Tang SC, Gelderblom M, Chunduri P, Bernreuther C, Glatzel M, Cheng YL, Thundyil J, Widiapradja A, Lok KZ, Foo SL, Wang YC, Li YI, Drummond GR, Basta M, Magnus T, Jo DG, Mattson MP, Sobey CG, Arumugam TV. Intravenous immunoglobulin suppresses NLRP1 and NLRP3 inflammasome-mediated neuronal death in ischemic stroke. *Cell Death Dis* 2013; 4: e790.
- 23 Ross J, Brough D, Gibson RM, Loddick SA, Rothwell NJ. A selective, non-peptide caspase-1 inhibitor, VRT-018858, markedly reduces brain damage induced by transient ischemia in the rat. *Neuropharmacology* 2007; 53(5): 638–642.
- 24 Abulafia DP, de Rivero Vaccari JP, Lozano JD, Lotocki G, Keane RW, Dietrich WD. Inhibition of the inflammasome complex reduces the inflammatory response after thromboembolic stroke in mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 2009; 29(3): 534–544.
- 25 Fann DY, Lim YA, Cheng YL, Lok KZ, Chunduri P, Baik SH, Drummond GR, Dheen ST, Sobey CG, Jo DG, Chen CL, Arumugam TV. Evidence that NF- $\kappa$ B and MAPK signaling promotes NLRP inflammasome activation in neurons following ischemic stroke. *Mol Neurobiol* 2017. doi: 10.1007/s12035-017-0394-9.
- 26 Fann DY, Santro T, Manzanero S, Widiapradja A, Cheng YL, Lee SY, Chunduri P, Jo DG, Stranahan AM, Mattson MP, Arumugam TV. Intermittent fasting attenuates inflammasome activity in ischemic stroke. *Exp Neurol* 2014; 257: 114–119.
- 27 Lee HI, Lee SW, Kim NG, Park KJ, Choi BT, Shin YI, Shin HK. Low-level light emitting diode (LED) therapy suppresses inflammasome-mediated brain damage in experimental ischemic stroke. *J Biophotonics* 2017; 10(11): 1502–1513.
- 28 Lu Y, Xiao G, Luo W. Minocycline suppresses NLRP3 inflammasome activation in experimental ischemic stroke. *Neuroimmunomodulation* 2016; 23(4): 230–238.
- 29 Qiu J, Wang M, Zhang J, Cai Q, Lu D, Li Y, Dong Y, Zhao T, Chen H. The neuroprotection of Sinomenine against ischemic stroke in mice by suppressing NLRP3 inflammasome via AMPK signaling. *Int Immunopharmacol* 2016; 40: 492–500.
- 30 Ji J, Xiang P, Li T, Lan L, Xu X, Lu G, Ji H, Zhang Y, Li Y. NOSH-NBP, a Novel nitric oxide and hydrogen sulfide-releasing hybrid, attenuates ischemic stroke-induced neuroinflammatory injury by modulating microglia polarization. *Front Cell Neurosci* 2017; 11: 154.
- 31 Cao G, Jiang N, Hu Y, Zhang Y, Wang G, Yin M, Ma X, Zhou K, Qi J, Yu B, Kou J. Ruscogenin attenuates cerebral ischemia-induced blood-brain barrier dysfunction by suppressing TXNIP/NLRP3 inflammasome activation and the MAPK pathway. *Int J Mol Sci* 2016; 17(9): pii: E1418. doi: 10.3390/ijms17091418.
- 32 Qin YY, Li M, Feng X, Wang J, Cao L, Shen XK, Chen J, Sun M, Sheng R, Han F, Qin ZH. Combined NADPH and the NOX inhibitor apocynin provides greater anti-inflammatory and neuroprotective effects in a mouse model of stroke. *Free Radic Biol Med* 2017; 104: 333–345.
- 33 Hou Y, Wang Y, He Q, Li L, Xie H, Zhao Y, Zhao J. Nrf2 inhibits NLRP3 inflammasome activation through regulating Trx1/TXNIP complex in cerebral ischemia reperfusion injury. *Behav Brain Res* 2018; 336: 32–39.
- 34 Minutoli L, Puzzolo D, Rinaldi M, Irrera N, Marini H, Arcoraci V, Bitto A, Crea G, Pisani A, Squadrito F, Trichilo V, Bruschetta D, Micali A, Altavilla D. ROS-mediated NLRP3 inflammasome activation in brain, heart, kidney, and testis ischemia/reperfusion injury. *Oxid Med Cell Longev* 2016; 2016: 2183026.
- 35 Ishrat T, Mohamed IN, Pillai B, Soliman S, Fouda AY, Ergul A, El-Remessy AB, Fagan SC. Thioredoxin-interacting protein: a novel target for neuroprotection in experimental thromboembolic stroke in mice. *Mol Neurobiol* 2015; 51(2): 766–778.
- 36 Wang X, Li R, Wang X, Fu Q, Ma S. Umbelliferone ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury via upregulating the PPAR gamma expression and suppressing TXNIP/NLRP3 inflammasome. *Neurosci Lett* 2015; 600: 182–187.
- 37 He Q, Li Z, Wang Y, Hou Y, Li L, Zhao J. Resveratrol alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury in rats by inhibiting NLRP3 inflammasome activation through Sirt1-dependent autophagy induction. *Int Immunopharmacol* 2017; 50: 208–

- 215.
- 38 Shao A, Wu H, Hong Y, Tu S, Sun X, Wu Q, Zhao Q, Zhang J, Sheng J. Hydrogen-rich saline attenuated subarachnoid hemorrhage-induced early brain injury in rats by suppressing inflammatory response: possible involvement of NF-kappaB pathway and NLRP3 inflammasome. *Mol Neurobiol* 2016; 53(5): 3462–3476.
- 39 Yang Z, Zhong L, Xian R, Yuan B. MicroRNA-223 regulates inflammation and brain injury via feedback to NLRP3 inflammasome after intracerebral hemorrhage. *Mol Immunol* 2015; 65(2): 267–276.
- 40 Yuan B, Shen H, Lin L, Su T, Zhong S, Yang Z. Recombinant adenovirus encoding NLRP3 RNAi attenuate inflammation and brain injury after intracerebral hemorrhage. *J Neuroimmunol* 2015; 287: 71–75.
- 41 Denes A, Coutts G, Lenart N, Cruickshank SM, Pelegrin P, Skinner J, Rothwell N, Allan SM, Brough D. AIM2 and NLRC4 inflammasomes contribute with ASC to acute brain injury independently of NLRP3. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015; 112(13): 4050–4055.
- 42 Fradejas N, Pastor MD, Burgos M, Beyaert R, Tranque P, Calvo S. Caspase-11 mediates ischemia-induced astrocyte death: involvement of endoplasmic reticulum stress and C/EBP homologous protein. *J Neurosci Res* 2010; 88(5): 1094–1105.