

NLRP3 参与的细胞焦亡在眼科疾病的研究进展

宋兆威,李志坚,王晓慧,李华章

引用:宋兆威,李志坚,王晓慧,等. NLRP3 参与的细胞焦亡在眼科疾病的研究进展. 国际眼科杂志 2020;20(8):1347-1350

基金项目:国家自然科学基金面上项目(No.81870643)
作者单位:(150001)中国黑龙江省哈尔滨市,哈尔滨医科大学附属第一医院眼科医院

作者简介:宋兆威,在读硕士研究生,住院医师,研究方向:白内障、青光眼。

通讯作者:李志坚,男,医学博士,博士后,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:白内障、青光眼.lzj6515@sina.com

收稿日期:2019-10-14 修回日期:2020-06-28

摘要

核苷酸结合寡聚化结构域(NOD)样受体家族含 P_{ry}in 结构域蛋白 3(NLRP3)炎性体是位于细胞内的一种蛋白质复合体,大量的活性氧(ROS)释放后可激活细胞内 NLRP3 炎性小体的产生,这个炎性小体由 NLRP3、半胱氨酸蛋白酶募集结构域(ASC)及半胱氨酸蛋白酶-1 前体(pro-caspase-1)组成,NLRP3 炎性小体在组装成型的同时活化 caspase-1。随后 caspase-1 对细胞因子白介素 1 和白介素 18(pro-IL-1/18)进行切割,使其成为成熟形式行使其促炎功能。细胞焦亡是炎症小体介导的依赖于 caspase-1 的细胞程序性死亡。本文就 NLRP3 炎性小体的结构、功能及其与细胞焦亡之间的关系以及在眼科疾病中的研究进展做以综述。

关键词:NLRP3;细胞焦亡;年龄相关性黄斑变性;白内障;翼状胬肉;糖尿病视网膜病变;干眼症

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2020.8.10

Advances in research on NLRP3 pyroptosis in ophthalmology

Zhao-Wei Song, Zhi-Jian Li, Xiao-Hui Wang, Hua-Zhang Li

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No.81870643)

Eye Hospital, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Zhi-Jian Li. Eye Hospital, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China. lzj6515@sina.com

Received:2019-10-14 Accepted:2020-06-28

Abstract

• Nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptor family contains P_{ry}in domain protein 3 (NLRP3) inflammasome, which is an intracellular protein complex.

Large release of ROS can activate the production of intracellular NLRP3 inflammasome. It consists of NLRP3, a cysteine protease recruitment domain (ASC), and a pro-caspase-1 precursor, can activate caspase-1 while being assembled. Then, the cytokines interleukin-1 and interleukin-18 (pro-IL-1/18) are cleaved into mature forms by caspase-1 to perform their pro-inflammatory functions. pyroptosis refers to the programmed cell death of Caspase-1-dependent cells mediated by inflammasome. This article reviews the structure and function of NLRP3 inflammasome, its relationship with pyroptosis, and the research progress in ophthalmic diseases.

• **KEYWORDS:** NLRP3; pyroptosis; age-related macular degeneration; cataract; pterygium; diabetic retinopathy; dry eye syndrome

Citation: Song ZW, Li ZJ, Wang XH, et al. Advances in research on NLRP3 pyroptosis in ophthalmology. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2020;20(8):1347-1350

0 引言

炎性体是位于细胞质内的多蛋白复合物,它负责促进炎症细胞因子如白细胞介素-1 β (IL-1 β)和白细胞介素-18(IL-18)的成熟,以及激活高度炎症形式的细胞死亡和焦亡。在感染或细胞应激后,炎性体被组装、激活并参与疾病的宿主防御和疾病的病理生理过程^[1]。

经典炎性体是响应病原相关分子模式(PAMP)或损伤相关分子模式(DAMP)而在细胞质中激活 caspase-1 的媒介。典型炎症小体由辅助蛋白和自身寡聚化支架蛋白组成,通常属于核苷酸结合寡聚化结构域样受体(NLR)家族。NLR 蛋白含有三个共同结构域:C 末端富含亮氨酸的重复序列(LRR),中心核苷酸结合寡聚化(NOD/NACHT)结构域和 N 末端半胱天冬酶募集(CARD)或 pyrin(PYD)结构域。黑色素瘤-2(AIM2)蛋白中不存在的非 NLR 含有 PYD 信号传导结构域和结合 HIN-200 结构域的 DNA。LRR 负责配体识别和自身抑制,NACHT 结构域使用 ATP 激活信号复合物,CARD/PYD 结构域介导同型蛋白质-蛋白质相互作用。迄今已鉴定出四种经典炎性体——NLRP1,NLRP3,NLRC4 和 AIM2^[2]。含 P_{ry}in 结构域蛋白 3(nod-like receptor protein 3,NLRP3)炎性体是目前研究较多的炎性小体,大量活性氧(ROS)产生后能够激活 NLRP3,而 NLRP3 激活后可以活化 caspase-1,引起细胞焦亡。细胞焦亡是近年来的研究热点,NLRP3 在焦亡通路中扮演着重要角色,目前在眼部疾病中对其的相关研究较少,对 NLRP3 的进一步研究对眼科疾病的诊疗有着重要意义。

1 含 Prrin 结构域蛋白炎性体

核苷酸结合寡聚化结构域(NOD)样受体家族 NLRP3 炎性体是针对广泛的微生物病原体和医学相关物质(例如结晶)而组装的。组装后,炎性体可作为 pro-caspase-1 的活化平台。然后,活化的 caspase-1 将 IL-1 β /18 的前体加工成成熟形式^[3]。NLRP3 炎性体的形成和活化可能是许多退行性疾病的关键致病机制,如动脉粥样硬化、阿尔茨海默病、肾小球硬化、肺纤维化和肝硬化^[4-7]等。

NLRP3 炎性体的激活需要两个信号:信号 1 是来自 TLR 或细胞因子受体的引发信号;信号 2 是来自危险信号或微生物产物的激活信号,通常导致细胞钾外流和线粒体 ROS 产生^[8]。引起 NLRP3 炎性体激活的形式包括:ATP 和 K⁺外排、溶酶体不稳定和无效的吞噬作用、ROS、ER 应激和未折叠蛋白反应(UPR)、Ca²⁺信号传导、去泛素化、微小 RNA(miRNA),其中最重要的是 ROS^[1]。

2 细胞焦亡

焦亡(pyroptosis)是细胞死亡的促炎形式,并且依赖于 IL-1 β 、IL-18 和警报 HMGB-1。Caspase-1 是炎症性半胱天冬酶的前体,以 pro-caspase-1(一种无活性的酶原)的形式存在于细胞胞质中。pro-IL-1 β 和 pro-IL-18 切割成成熟的促炎细胞因子 IL-1 β 和 IL-18 需要 caspase-1 的激活。活化的 caspase-1 可引起细胞焦亡,其特征是细胞裂解和细胞质内容物释放到细胞外空间。

形态学上,细胞焦亡似乎是细胞凋亡和细胞坏死的组合,涉及质膜完整性的破坏和细胞质内容物向细胞外空间释放。焦亡细胞的质膜出现破裂,随后迅速重新密封和肿胀,并在细胞核周围形成一个球状的囊泡。在细胞焦亡期间,垂死细胞的大小会出现显著的增加。随着焦亡细胞的膨胀,细胞核变圆、皱缩。与凋亡细胞相反,焦亡细胞保持了核的完整性;与凋亡细胞相同,焦亡细胞的 DNA 片段化,在 TUNEL 染色下表达阳性^[2]。

3 NLRP3 炎症小体与细胞焦亡的关系

除了 IL-1 β 和 IL-18 的成熟之外,焦亡还与炎性体的激活有关^[9]。焦亡的特点包括 caspase-1 依赖,DNA 片段化,细胞膜完整性的快速丧失和炎性细胞因子释放^[10]。炎性体的生化功能是激活 caspase-1 使 IL-1 β 和 IL-18 成熟以及诱导细胞焦亡。细胞被外界刺激诱导 caspase-1 活化的过程离不开炎症小体的调节与控制,所以炎症小体的激活与活化是细胞焦亡的关键步骤。

4 眼部相关疾病的研究

4.1 NLRP3 与年龄相关性黄斑变性

年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, ARMD)是一种神经退行性疾病,可侵袭黄斑,造成不可逆转的失明。对于干性 ARMD,目前没有有效的方法可以缓解和治疗,视网膜色素上皮细胞(retinal pigment epithelium, RPE)死亡和继发性光感受器变性这两种特征性变化导致干性 ARMD 晚期的中心视力丧失。因此,了解对视网膜造成破坏性影响的基本机制及因素至关重要^[11]。

ARMD 中 RPE 细胞死亡的机制尚未完全阐明。几项临床和实验证据表明,氧化和脂褐素介导的光氧化损伤具有重要的病理生理作用^[12]。NLRP3 炎性体也有助于继发于 ARMD 的 RPE 细胞死亡^[13-14]。实际上,已经在受

ARMD 影响的 RPE 细胞中证实了 NLRP3 炎性体的激活^[13,15],并且有报道发现 ARMD 患者的玻璃体内和全身的 IL-1 β 和 IL-18 的水平增加^[16-17]。Carolina 等^[10]发现未接触炎性小体的细胞表现出延迟的细胞裂解、质膜起泡和细胞收缩,TUNEL 阳性 DNA 片段化,膜联蛋白 V 阳性/PI 阴性细胞染色,以及缺乏 IL-1 β 和 IL-18 释放。相反,接触炎性小体的细胞表现出细胞肿胀和早期细胞裂解,TUNEL 阳性 DNA 降解,PI 阳性细胞染色,caspase-1 活化和 IL-1 β 和 IL-18 的释放^[18]。研究结果表明,接触炎性小体可以将 RPE 细胞中光氧化损伤诱导细胞的死亡机制从细胞凋亡转变为细胞焦亡。Wang 等^[19]观察到 ARMD 患者中 NLRP3、pro-IL-1 β 和 pro-IL-18 的 mRNA 水平增加。在体外,成体视网膜色素上皮细胞(ARPE-19)细胞系中的氧化应激或脂多糖(LPS)刺激引起类似的增加,并且 siRNA 转染的敲除 NLRP3 的细胞中这种增加受到抑制。表明外源性炎症刺激和氧化应激都可以通过 caspase-1 激活触发 RPE 细胞中的 NLRP3 炎性体激活。以上数据表明,NLRP3 及细胞焦亡在 ARMD 的发生机制中起到了关键的作用,让我们对未来 ARMD 的治疗有了新的想法和思路,NLRP3 可以作为以后 ARMD 研究与治疗的新的靶点。

4.2 NLRP3 与年龄相关性白内障

年龄相关性白内障多见于 50 岁以上的中老年人,是目前全球主要的致盲原因,但其发病机制至今尚未阐明,了解白内障的发病机制及其通路中的相关因子,可以为今后预防及治疗白内障提供新的有效方式。

Alexander^[20]的研究显示 VEGF-A 的增加足以引起眼部的多种老化疾病,包括白内障以及 ARMD。在晶状体中,VEGF-A 的增加诱导了与 ERK 过度活化相关的年龄相关性混浊,氧化损伤和 IL-1 β 的更高表达。靶向 NLRP3 炎性体组分或 Il1r1 不仅强烈抑制 VEGF-A 诱导的白内障形成,而且强烈抑制 ARMD 的形成。这些发现表明 VEGF-A 诱导的和 NLRP3 炎性体介导的 IL-1 β 激活对多种不同的眼部老化疾病具有共同的致病作用,靶向 NLRP3 或 Il1r1 可以抑制 VEGF-A 诱导的年龄相关的白内障发生。据报道 NLRP3 炎性体的特定化学抑制剂可用于治疗这些老化疾病^[21]。IL-1 β 阻断剂在预防或抑制 ARMD 或与年龄相关性白内障形成方面也具有临床益处^[22]。在年龄相关性白内障的形成机制中,NLRP3 占有重要的中心地位,NLRP3 抑制剂可以有效抑制这个过程的发生,所以 NLRP3 抑制剂可以作为年龄相关性白内障的一种新型治疗与缓解方式给我们新的启发与探索的方向。

4.3 NLRP3 与翼状胬肉

翼状胬肉是一种眼表疾病,特征在于鼻侧结膜上的翼状增殖组织,能阻碍视力,引起炎症并影响外观^[23]。现在手术仍然是翼状胬肉的主要治疗方法,但会引起复发,移植物坏死和形成肉芽肿等并发症^[24]。尽管已经用了很多方法来避免复发,但效果并不明显^[25]。因此,了解翼状胬肉的形成机制对于治疗和降低其发病率至关重要。

Sun 等^[23]通过原代培养人结膜上皮细胞(HConECs)和人翼状胬肉成纤维细胞(HPF),检测出与结膜细胞相关

的因子水平。抑制 caspase-1 以限制 caspase-1 依赖性的细胞凋亡后,测量下游因子 IL-18 和 IL-1 β 。发现翼状胬肉中的炎症因子表达显著增加,并且在 H₂O₂ 处理的 HPF 和 HConECs 中存在 caspase-1 依赖性的上皮细胞焦亡,炎症因子的表达显著升高并且下游因子 IL-18 和 IL-1 β 也升高。在 caspase-1 抑制后,IL-18 和 IL-1 β 的增加受到抑制。焦亡在翼状胬肉形成和进展的病理过程中发挥作用。

翼状胬肉的常见原因如紫外线辐射和其他类型的氧化应激,可以作为 DAMPs 引发细胞焦亡。在发生焦亡后,IL-18 和 IL-1 β 被激活并大量释放。激活的 IL-18 和 IL-1 β 引起各种变化,例如纤维化、EMT、细胞凋亡和异常细胞增殖,所有这些都包括在翼状胬肉发生的机制中。因此,HPFs 中这些焦亡因子的升高,是翼状胬肉的主要组成部分,可能在翼状胬肉的进展中起相当大的作用。NLRP3 参与的细胞焦亡在翼状胬肉形成和进展中的重要作用使我们更好地了解翼状胬肉,并发现了翼状胬肉治疗的新的可能性,这将为今后翼状胬肉的治疗提供新的方法和思路。

4.4 NLRP3 与糖尿病视网膜病变 糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 是一种多因素疾病,具有微血管、神经变性、遗传/表观遗传,免疫和炎症相关因子的复杂相互作用。根据微血管变性和缺血性损伤的程度,DR 可分为非增殖期 (NPDR) 和增殖期 (PDR)^[26]。

Sirpa 等^[27] 研究结果支持 NLRP3 炎性体在 PDR 中是激活状态。抗 VEGF 治疗降低了 NPDR 患者玻璃体中 caspase-1 的水平,提示炎症小体激活也参与 NPDR,并且也支持炎性体和 VEGF 之间存在联系。在患有牵拉性视网膜脱离 (TRD) 和新生血管形成等严重形式的 PDR 患者眼中观察到高水平的 NLRP3。与 NPDR 玻璃体样本相比,在 PDR 眼中检测到更高水平的 IL-18。Mcc950 是 NLRP3 炎性体的有效特异性抑制剂,Zhang 等^[28] 评估了 Mcc950 对高葡萄糖诱导的人视网膜内皮细胞 (HRECs) 的抗炎作用以及潜在的相关机制。在来自 DR 患者的手术切除的增殖膜中,观察到 NLRP3、caspase-1 和 IL-1 β 的高表达。在高葡萄糖刺激的 HRECs 中,Mcc950 抑制了 NLRP3 炎性体的激活和细胞凋亡。Chen 等^[29] 发现从 DR 患者获得的外周血单核细胞 (PBMC) 中 NLRP3 炎性体的表达升高;在 PBMC 和玻璃体液中也观察到包括 IL-1 β 和 IL-18 的促炎细胞因子水平升高。这些数据表明 NLRP3 炎性体的激活可能促进 DR 的进展。这些发现使我们对 DR 的发病机制和发生发展有了进一步了解,其中 NLRP3 作为 DR 治疗的潜在因子,需要我们进一步阐明及探索 NLRP3 炎性体在 DR 形成过程中的分子机制。

4.5 NLRP3 与干眼症 干眼症 (dry eye, DE) 是最常见的眼表疾病之一,严重影响人的生活质量。尽管尚未明确干眼症的发病机制,但越来越多的证据表明,眼表面的免疫炎症可能在干眼症的病理损害中起着重要作用^[30-31]。但干眼症炎症发生发展的确切机制现在仍不清楚。

活性氧物质可激活 NLRP3 炎症小体并导致干眼小鼠模型中 caspase-1 自身激活和促炎细胞因子 IL-1 β 的成熟^[32]。Niu 等^[33] 的研究显示干燥综合征干眼症 (SSDE)

受试者中 NLRP3 mRNA 和蛋白质表达与对照组相比显著增加。非干燥综合征干眼症 (NSSDE) 的受试者也显示出高水平的 NLRP3 mRNA 表达。这些发现表明 NLRP3 炎性体可能与干眼症眼表炎症的发展有关。SSDE 组的基线泪膜破裂时间 (tear break-up time, TBUT), 荧光素染色 (fluorescein, FL) 和 Schirmer 测试值均显著低于 NSSDE 组中的数据。SSDE 和 NSSDE 中 NLRP3 的表达水平可能与干眼症的严重程度有关。Zheng 等^[32] 用智能控制环境系统 (intelligent controlled environmental system, ICES) 诱导雌性 4~6 周龄 C57BL/6 小鼠的蒸发过强型 DE。在 ICES 暴露 1wk 后发生 ROS 的升高,其在三种 NLRP3 炎性体组分 (即 NLRP3、ASC 和 caspase-1) 的基因表达增加之前导致 IL-1 β 释放的增加。ICES 暴露 2wk 后发生 caspase-1 活性增加。将含有 0.3% N-乙酰基-L-半胱氨酸 (NAC) 的滴眼液用于在 ICES 中饲养 2wk 的小鼠。NAC 减少角膜荧光素染色并减少 ROS 产生,还下调 NLRP3、ASC、caspase-1 和 IL-1 β mRNA 以及它们免疫染色的水平。它明显减弱炎性体介导的 caspase-1 的催化活性。干眼症小鼠模型显示,ROS 生成的增加引发 NLRP3 炎性体的复合和活化,导致生物活性 IL-1 β 分泌增加。NLRP3 表达的增加也与环境诱导的 DE 疾病的严重性相关。以上这些研究结果为发现干眼症患者的治疗提供了新的策略,开发抑制 NLRP3 复合物形成和活化的药物可能为治疗环境诱导的 DE 疾病提供新的治疗选择。

5 小结

NLRP3 炎症小体在许多眼部疾病中起着至关重要的作用,是危险信号诱导疾病发生发展的中心环节。而炎性体的激活与活化是细胞焦亡发生的关键步骤,NLRP3 炎性小体是炎症反应的核心,故而 NLRP3 炎性体与细胞焦亡的发生具有密切关系。目前,对其通路的确切机制以及分子间相互作用的研究较少。因此,进一步研究 NLRP3 介导的细胞焦亡通路在眼科疾病中的作用及机制,应用相关生物制剂或生物学方法阻断 NLRP3 的信号通路等研究,能够对眼科疾病的深入了解及治疗提供新的思路及新的治疗靶点。

参考文献

- 1 Abais JM, Xia M, Zhang Y, et al. Redox Regulation of NLRP3 Inflammasomes: ROS as Trigger or Effector? *Antioxid Redox Signal* 2015; 22(13):1111-1129
- 2 Xu YJ, Zheng L, Hu YW, et al. Pyroptosis and its relationship to atherosclerosis. *Clin Chim Acta* 2018; 476(1):28-37
- 3 Dinarello CA. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annu Rev Immunol* 2009;27(1):519-550
- 4 De Nardo D, De Nardo CM, Latz E. New insights into mechanisms controlling the NLRP3 inflammasome and its role in lung disease. *Am J Pathol* 2014; 184(1):42-54
- 5 Heneka MT, Kummer MP, Stutz A, et al. NLRP3 is activated in Alzheimer's disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice. *Nature* 2013; 493(7434):674-678
- 6 Li X, Zhang Y, Xia M, et al. Activation of Nlrp3 inflammasomes enhances macrophage lipid-deposition and migration; implication of a novel role of inflammasome in atherogenesis. *PLoS One* 2014; 9(1):e87552
- 7 Zhang C, Boini KM, Xia M, et al. Activation of Nod-like receptor

protein 3 inflammasomes turns on podocyte injury and glomerular sclerosis in hyperhomocysteinemia. *Hypertension* 2012; 60(1):154-162

8 Lamkanfi M, Dixit VM. Mechanisms and functions of inflammasomes. *Cell* 2014; 157(5):1013-1022

9 Mariathasan S, Weiss DS, Newton K, et al. Cryopyrin activates the inflammasome in response to toxins and ATP. *Nature* 2006; 440(7081):228-232

10 Carolina B, Patt J, Holz FG, et al. Inflammasome priming increases retinal pigment epithelial cell susceptibility to lipofuscin phototoxicity by changing the cell death mechanism from apoptosis to pyroptosis. *J Photochem Photobiol B* 2016; 8(161):177-183

11 Gao J, Cui JZ, To E, et al. Evidence for the activation of pyroptotic and apoptotic pathways in RPE cells associated with NLRP3 inflammasome in the rodent eye. *J Neuroinflammation* 2018; 15(1):28-37

12 Holz FG, Strauss EC, Schmitz-Valckenberg S, et al. Geographic atrophy: clinical features and potential therapeutic approaches. *Ophthalmology* 2014; 121(5):1079-1091

13 Tarallo V, Hirano Y, Gelfand BD, et al. DICER1 loss and Alu RNA induce age-related macular degeneration via the NLRP3 inflammasome and MyD88. *Cell* 2012; 149(4):847-859

14 Gelfand BD, Wright CB, Kim Y, et al. Iron toxicity in the retina requires Alu RNA and the NLRP3 inflammasome. *Cell Rep* 2015; 11(11):1686-1693

15 Tseng WA, Thein T, Kinnunen K, et al. NLRP3 inflammasome activation in retinal pigment epithelial cells by lysosomal destabilization; implications for age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54(1):110-120

16 Zhao M, Bai Y, Xie W, et al. Interleukin-1 β level is increased in vitreous of patients with neovascular age-related macular degeneration (nAMD) and polypoidal choroidal vasculopathy (PCV). *PLoS One* 2015; 10(5):e0125150

17 Ijima R, Kaneko H, Ye F, et al. Interleukin-18 induces retinal pigment epithelium degeneration in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55(10):6673-6678

18 Miao EA, Rajan JV, Aderem A. Caspase-1-induced pyroptotic cell death. *Immunol Rev* 2011; 243(1):206-214

19 Wang Y, Hanus JW, Abu-Asab MS, et al. NLRP3 Upregulation in Retinal Pigment Epithelium in Age-Related Macular Degeneration. *Int J Mol Sci* 2016; 17(1):73-88

20 Alexander MG. Increased VEGF-A promotes multiple distinct aging diseases of the eye through shared pathomechanisms. *EMBO Mol Med* 2016; 8(3):208-231

21 Coll RC, Robertson AA, Chae JJ, et al. A small-molecule inhibitor of the NLRP3 inflammasome for the treatment of inflammatory diseases. *Nat Med* 2015; 21(3):248-255

22 Dhimolea E. Interleukin-1 β inhibitors for the treatment of cryopyrin-associated periodic syndrome. *Appl Clin Genet* 2011; 26(1):4:21-27

23 Sun N, Zhang H. Pyroptosis in pterygium pathogenesis. *Biosci Rep* 2018; 38(3):BSR20180282

24 Akbari M, Soltani-Moghadam R, Elmi R, et al. Comparison of free conjunctival autograft versus amniotic membrane transplantation for pterygium surgery. *J Curr Ophthalmol* 2017; 29(4):282-286

25 Lee JS, Ha SW, Yu S, et al. Efficacy and safety of a large conjunctival autograft for recurrent pterygium. *Korean J Ophthalmol* 2017; 31(6):469-478

26 Stitt AW, Curtis TM, Chen M, et al. The progress in understanding and treatment of diabetic retinopathy. *Prog Retin Eye Res* 2016; 51(5):156-186

27 Sirpa L, Piippo N, Kinnunen K, et al. NLRP3 inflammasome activation is associated with proliferative diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol* 2017; 95(8):803-808

28 Zhang Y, Lv X, Hu Z, et al. Protection of Mcc950 against high-glucose-induced human retinal endothelial cell dysfunction. *Cell Death Dis* 2017; 8(7):e2941

29 Chen H, Zhang X, Liao N, et al. Enhanced Expression of NLRP3 Inflammasome-Related Inflammation in Diabetic Retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018; 59(2):978-985

30 Stevenson W, Chauhan SK, Dana R. Dry eye disease: an immune-mediated ocular surface disorder. *Arch Ophthalmol* 2012; 130(1):90-100

31 Stern ME, Schaumburg CS, Pflugfelder SC. Dry eye as a mucosal autoimmune disease. *Int Rev Immunol* 2013; 32(1):19-41

32 Zheng Q, Ren Y, Reinach PS, et al. Reactive oxygen species activated NLRP3 inflammasomes prime environment-induced murine dry eye. *Exp Eye Res* 2014; 125(8):1-8

33 Niu L, Zhang S, Wu J, et al. Upregulation of NLRP3 Inflammasome in the Tears and Ocular Surface of Dry Eye Patients. *PLoS One* 2015; 10(5):e0126277