

# 当飞利肝宁胶囊调控炎性小体改善非酒精性脂肪肝病大鼠肝损伤敏感性

徐娇雅<sup>1</sup>, 肖铁刚<sup>1,2</sup>, 舒祥兵<sup>1</sup>, 李中平<sup>1</sup>, 宋海燕<sup>1</sup>, 张莉<sup>1</sup>, 季光<sup>1,3</sup>

(<sup>1</sup>上海中医药大学附属龙华医院脾胃病研究所, 上海 200032; <sup>2</sup>上海市第六人民医院中医科, 上海 200233; <sup>3</sup>上海市高校中医内科学E-研究院, 上海 201203)

**摘要:** 目的: 探索当飞利肝宁胶囊对非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 大鼠肝损伤敏感性的防治作用及潜在机制。方法: 雄性Wistar大鼠随机分为6组, 正常组 (NCD)、正常饮食加CCl<sub>4</sub>组 (NCD-CCl<sub>4</sub>)、高脂饮食组 (HFD)、高脂饮食加CCl<sub>4</sub>组 (HFD-CCl<sub>4</sub>)、当飞利肝宁胶囊组 (DF)、甘草酸二铵组 (G)。NCD、NCD-CCl<sub>4</sub>组大鼠喂食普通饲料, 余大鼠均喂食高脂饲料, 且DF、G组同时分别采用两药灌胃干预。8周后, 除NCD、HFD组外, 其余各组大鼠均腹腔注射CCl<sub>4</sub>造成大鼠急性肝损伤, 并于48h后处死大鼠, 收集血清和肝组织。检测各组大鼠血清白蛋白 (ALB)、谷氨酰转氨酶 (GGT)、碱性磷酸酶 (ALP) 水平; 实时荧光定量PCR法检测肝脏组织NLRP3、ASC、Caspase-1、Pannexin、IL-1 $\beta$ 、IL-18、IL-33 mRNA的表达, Western blot法检测肝组织核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 蛋白表达。结果: 对正常大鼠不构成肝损伤的小剂量CCl<sub>4</sub>可使高脂饮食诱导的NAFLD大鼠肝组织炎症损伤显著加剧, 血清GGT、ALP水平明显升高, NLRP3炎性小体相关基因的表达及NF- $\kappa$ B蛋白的表达显著升高 ( $P < 0.05$ ); 而当飞利肝宁胶囊组和甘草酸二铵组各指标均得到明显改善 ( $P < 0.05$ )。结论: NAFLD大鼠肝细胞损伤敏感性增加, 当飞利肝宁胶囊可有效改善NAFLD大鼠的肝细胞损伤敏感性, 降低NLRP3炎性小体相关基因的表达及NF- $\kappa$ B蛋白的表达, 从而减轻肝脏炎症性损伤、保护肝细胞可能是当飞利肝宁胶囊防治NAFLD大鼠肝细胞损伤敏感性的作用机制之一。

**关键词:** 非酒精性脂肪性肝病; 当飞利肝宁胶囊; 肝损伤; 炎性小体

**基金资助:** 国家自然科学基金项目 (No.81273727, No.81302927), 上海市教育委员会科研创新项目 (No.E03008, No.2012JW39, No.2012JW23), 上海市浦东新区卫生局项目 (No.PW2012A-40), 上海中医药大学研究生“创新能力培养”专项科研项目 (No.80022)

## Dangfei Liganning Capsule ameliorate susceptibility of liver injury in NAFLD rats through regulating inflammasome

XU Jiao-ya<sup>1</sup>, XIAO Tie-gang<sup>1,2</sup>, SHU Xiang-bing<sup>1</sup>, LI Zhong-ping<sup>1</sup>, SONG Hai-yan<sup>1</sup>, ZHANG Li<sup>1</sup>, JI Guang<sup>1,3</sup>

(<sup>1</sup>Institute of Digestive Disease, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China; <sup>2</sup>Department of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Sixth People's Hospital, Shanghai 200233, China; <sup>3</sup>E-Institute of Chinese Traditional Internal Medicine, Shanghai 201203, China)

**Abstract:** Objective: To study the effects and potential mechanism of Dangfei Liganning Capsule (DF) in ameliorating liver susceptibility to injury in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) rats. Methods: Male Wistar rats were randomly divided into 6 groups: NCD group, NCD-CCl<sub>4</sub> group, HFD group, HFD-CCl<sub>4</sub> group, DF group, and Diammonium Glycyrrhizinate (G) group. The rats in NCD and NCD-CCl<sub>4</sub> groups were fed with a normal chow diet (NCD), and the rest rats were fed with a high fat diet (HFD) to induce NAFLD. In addition, the rats in DF group and G group were respectively administrated DF or G. Eight weeks later, rats were intraperitoneally injected with a nonlethal dose of CCl<sub>4</sub> 48 hours before being sacrificed. Serum and liver tissues were collected. Levels of ALB, GGT, ALP in serum were tested. The hepatic NLRP3, ASC, Caspase-1, Pannexin, IL-

$1\beta$ , IL-18, IL-33 mRNA expression and NF- $\kappa$ B protein expression were assessed. Results: There was almost no response to the nonlethal dose of  $CCl_4$  in the NCD group. However, high fat diet induced NAFLD rats emerged apparent liver injury after  $CCl_4$  injection, which demonstrated elevated levels of serum GGT and ALP, liver NLRP3 inflammasome-related mRNA expression and NF- $\kappa$ B protein expression were also dramatically increased ( $P<0.05$ ). DF and G treatment led to improvements in all of the above examined indexes ( $P<0.05$ ). Conclusion: NAFLD rats expressed increased liver susceptibility to injury, which could be effectively ameliorated by DF. The function of down-regulating NLRP3 inflammasome-related mRNA expression and NF- $\kappa$ B protein expression to alleviate liver injury and protect liver cells might be one of the action mechanisms of DF.

**Key words:** NAFLD; Dangfei Liganning Capsule; Liver injury; Inflammasome

**Fund assistance:** National Natural Science Foundation of China (No.81273727, No.81302927), Innovation Program of Shanghai Municipal Education Commission (No.E03008, No.2012JW39, No.2012JW23), Research Grant for Health Science and Technology of Pudong Health Bureau of Shanghai (No.PW2012A-40), Graduate Innovation Program of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine (No.80022)

近年来,随着生活方式的改变,非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发病率逐年增加,且呈现出低龄化趋势。NAFLD患者对毒性药物、化学物质的肝损伤敏感性增加。当飞利肝宁胶囊是当药和水飞蓟的提取物,具有清热解毒、化湿利胆的作用,临床用于治疗肝炎、药物性肝损伤等。本课题组前期研究<sup>[1-2]</sup>证实,NAFLD大鼠对 $CCl_4$ 诱导的急性肝损伤敏感性显著增加,血清肝酶升高,肝细胞脂肪变性、气球样变加重,并可见大量炎性细胞浸润,当飞利肝宁胶囊可通过逆向调节氧化应激反应显著改善NAFLD大鼠的肝损伤敏感性。炎性小体是一种多蛋白复合物,能被各种刺激激活从而诱发炎性反应。炎性小体在各种肝病所致肝损伤中都起到关键作用,是肝脏发生纤维化和癌变的决定因素之一<sup>[3]</sup>。本研究拟从相关的分子机制探讨当飞利肝宁胶囊是否通过影响炎性小体及其相关基因的表达从而改善NAFLD大鼠的肝损伤敏感性,为临床用药提供科学的依据和指导。

### 材料

1. 动物 SPF级雄性Wistar大鼠60只,4-6周龄,体质量150-180g,购自上海斯莱克实验动物有限公司,合格证号:SCXK(沪)2007-0005。饲养于SPF级动物房,自由进食、饮水。适应性饲养1周后,大鼠随机分组实验。

2. 药物 当飞利肝宁胶囊,四川美大康药业有限公司生产,批号:130920;甘草酸二铵胶囊,江苏正大天晴药业股份有限公司生产,批号:131218。

3. 主要试剂和设备  $CCl_4$ (批号:20121018,国药集团化学试剂有限公司);总RNA抽提试剂盒Trizol(批号:1259673,美国Invitrogen公司);GoScript<sup>TM</sup>逆转录酶系统(批号:0000123564,美国Promega公司);SYBR Green(批号:1306408,美国Applied Biosystems公司);蛋白酶抑制剂(批

号:17325200,购自Roche公司);磷酸酶抑制剂(批号:10689000,购自Roche公司);微量BCA蛋白定量试剂盒(批号:26912D,康为世纪公司);磷酸化核因子- $\kappa$ B(P-NF- $\kappa$ B)抗体(批号:#3033,美国Cell Signal Technology公司); $\beta$ -actin抗体(批号:R1207-1,杭州华安生物技术有限公司)。Eppendorf 5417R小型台式高速冷冻离心机(德国Eppendorf公司);BioTek SynergyH4型酶标仪(美国BioTek公司);StepOnePlus<sup>TM</sup>实时荧光定量PCR系统(美国Applied Biosystems公司产品);Fast Prep-24型均质器(美国MP Biomedicals公司);Powerpac Basic型电泳仪(美国BIO-RAD公司);G:BOX Chemi XT4型化学发光成像系统(英国Syngene公司)。

### 方法

1. 造模和分组 按随机数字表法将60只Wistar大鼠随机分为6组,正常组(NCD)、正常饮食加 $CCl_4$ 组(NCD- $CCl_4$ )、高脂饮食组(HFD)、高脂饮食加 $CCl_4$ 组(HFD- $CCl_4$ )、当飞利肝宁胶囊组(DF)和甘草酸二铵组(G),每组10只。NCD组和NCD- $CCl_4$ 组大鼠喂食普通饲料,余大鼠均喂食高脂饲料(含88%普通饲料,10%猪油+2%胆固醇)。DF组同时每天予当飞利肝宁胶囊(0.225g/kg)灌胃,G组同时每天予甘草酸二铵(0.3g/kg)灌胃,其余组予相应体积的0.9%氯化钠溶液灌胃,持续8周。8周后,除NCD组、HFD组外,其余各组均按0.5mL/kg腹腔注射33% $CCl_4$ ( $CCl_4$ :玉米油=1:2),造成大鼠急性肝损伤。48h后2.5%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉大鼠,打开腹腔,腹主动脉取血,3000r/min离心15min,收集血清,-80℃冰箱保存备用。摘取肝脏,用0.9%氯化钠溶液漂洗数次后,滤纸拭干,置于-80℃冻存或甲醛固定备用。

2. 血清学指标检测 采用Roche Modular DP全自动生化分析仪及Roche配套试剂,检测各组大鼠血清白蛋白(albumin, ALB)、谷氨酰转肽酶(glutamyl

transpeptidase, GGT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)水平。

3. RT-PCR法检测各组大鼠肝组织NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD-like receptor pyrin domain-containing protein 3, NLRP3)炎性小体相关基因的表达 NLRP3、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 l aspartate specific proteinase, Caspase-1)、泛连接蛋白(Pannexin)、白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、IL-18、IL-33的引物由上海闪晶分子生物科技有限公司设计并合成,引物序列及扩增产物长度见表1。①总RNA的提取:按照Trizol说明书操作,将提取的总RNA溶解于DEPC处理的水中,采用酶标仪测定260nm和280nm的吸光度值(A),检测RNA纯度,并计算RNA含量。②逆转录合成cDNA:按Promega逆转录试剂盒说明书进行操作,反应条件:第一步70 $^{\circ}$ C 5min,冰上5min;第二步,25 $^{\circ}$ C 5min,42 $^{\circ}$ C 60min,70 $^{\circ}$ C 15min。③PCR扩增:取cDNA 1 $\mu$ L加SYBR Green 10 $\mu$ L,上引物1 $\mu$ L,下引物1 $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 7 $\mu$ L,制成20 $\mu$ L反应体系,在StepOnePlus™实时荧光定量PCR系统中进行扩增反应。PCR扩增条件:95 $^{\circ}$ C 10min预变性;95 $^{\circ}$ C 15s变性,60 $^{\circ}$ C 1min退火和延伸,重复40个循环。溶解曲线程序:95 $^{\circ}$ C 15s,60 $^{\circ}$ C

表1 引物序列及扩增产物长度

基因	引物序列	扩增产物长度(bp)
NLRP3	上游: 5' -CCC TCG TCT GCT GGA TTG TG-3'	177
	下游: 5' -AAC AGA GCC CTG GCA GGT AG-3'	
ASC	上游: 5' -TGG ACG CTC TTG AAA ACT TGA-3'	176
	下游: 5' -CTC CAA GCC ATA CCC CTC C-3'	
Caspase-1	上游: 5' -TCT GGA GCT TCA GTC AGG TCC-3'	131
	下游: 5' -CAC TCG GTC CAG GAA ATG C-3'	
Pannexin	上游: 5' -CTT CCC CTA CAT CCT GCT ACT G-3'	119
	下游: 5' -TGT CAA GCT CCT CCA TGA TAA AC-3'	
IL-1 $\beta$	上游: 5' -ATG ACC TGT TCT TTG AGG CTG AC-3'	114
	下游: 5' -CGA GAT GCT GCT GTG AGA TTT G-3'	
IL-18	上游: 5' -AAC CGC AGT AAT ACG GAG CA-3'	114
	下游: 5' -CTG GTC TGG GAT TCG TTG G-3'	
IL-33	上游: 5' -CGA CAG CAC ATC AGG CAG AG-3'	157
	下游: 5' -TCT TTT GGC GGG TTC TTT TC-3'	
$\beta$ -actin	上游: 5' -CCC ATC TAT GAG GGT TAC GC-3'	150
	下游: 5' -TTT AAT GTC ACG CAC GAT TTC-3'	

1min。PCR结束后,采用2<sup>- $\Delta\Delta$ CT</sup>法分析结果,计算目的基因在各组的相对表达量。

4. Western blotting法检测各组大鼠NF- $\kappa$ B蛋白表达每100mg肝组织中加入RIPA裂解液1mL,用MP-Fast均质器匀浆,12 000r/min离心15min取上清液,BCA法测定蛋白浓度。变性后每个蛋白样品上样100 $\mu$ g,以10%聚丙烯酰胺凝胶进行SDS-PAGE电泳分离蛋白,转移至PVDF膜,5%脱脂奶粉封闭1h后加入NF- $\kappa$ B、 $\beta$ -actin一抗(1:1 000),4 $^{\circ}$ C孵育过夜。次日,TBST洗膜3次后,加入二抗(1:1 000),室温孵育1h,TBST洗膜3次后,加ECL发光剂,用Syngene G: BOX Chemi XT4化学发光成像系统采集条带,用Gene Tools软件分析条带灰度值,计算NF- $\kappa$ B相对于 $\beta$ -actin的表达值。

5. 统计学方法 所有数据均采用SPSS 17.0软件进行统计学分析。计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多个样本均数比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1. 各组大鼠血清ALB、GGT、ALP水平的变化 见表2。各组间ALB水平比较无明显差异;与NCD组相比,NCD-CCl<sub>4</sub>组血清GGT、ALP水平无明显变化;而HFD-CCl<sub>4</sub>组血清GGT、ALP水平较NCD-CCl<sub>4</sub>组、HFD组均明显升高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );与HFD-CCl<sub>4</sub>组及HFD组相比,DF组和G组的血清GGT、ALP水平得到明显降低( $P < 0.01$ )。

表2 各组大鼠血清ALB、GGT、ALP水平( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ , U/L)

组别	ALB (g/L)	GGT	ALP
NCD组	37.67 $\pm$ 2.90	0.88 $\pm$ 0.56 <sup>**<math>\Delta\Delta</math></sup>	88.98 $\pm$ 10.39 <sup>**<math>\Delta\Delta</math></sup>
NCD-CCl <sub>4</sub> 组	36.45 $\pm$ 5.06	0.97 $\pm$ 0.50 <sup>*<math>\Delta\Delta</math></sup>	98.80 $\pm$ 7.37 <sup>*<math>\Delta\Delta</math></sup>
HFD组	40.83 $\pm$ 1.38	1.95 $\pm$ 0.91	112.60 $\pm$ 10.70
HFD-CCl <sub>4</sub> 组	36.33 $\pm$ 2.13	2.71 $\pm$ 0.71 <sup>*</sup>	136.00 $\pm$ 14.18 <sup>**</sup>
DF组	37.18 $\pm$ 2.57	1.13 $\pm$ 0.57 <sup>*<math>\Delta\Delta</math></sup>	100.57 $\pm$ 5.82 <sup>*<math>\Delta\Delta</math></sup>
G组	36.10 $\pm$ 0.78	1.17 $\pm$ 0.54 <sup>*<math>\Delta\Delta</math></sup>	98.75 $\pm$ 8.11 <sup>*<math>\Delta\Delta</math></sup>

注:与HFD组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与HFD-CCl<sub>4</sub>组比较, <sup>$\Delta\Delta$</sup>  $P < 0.01$ 。

2. 各组大鼠肝组织NLRP3炎性小体相关基因的表达 见图1。与NCD组相比,NCD-CCl<sub>4</sub>组肝脏NLRP3炎性小体相关mRNA的表达无明显变化,而HFD组,除Pannexin外,均有不同程度的升高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );HFD-CCl<sub>4</sub>组NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 $\beta$ 、IL-33 mRNA的表达较NCD-CCl<sub>4</sub>组、HFD组均明显升高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),HFD-CCl<sub>4</sub>组肝脏Pannexin、IL-18 mRNA的表达较NCD-CCl<sub>4</sub>组也明显升高( $P < 0.05$ );当飞利肝宁胶囊和甘

草酸二铵均可明显改善各炎性小体相关基因的表达 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

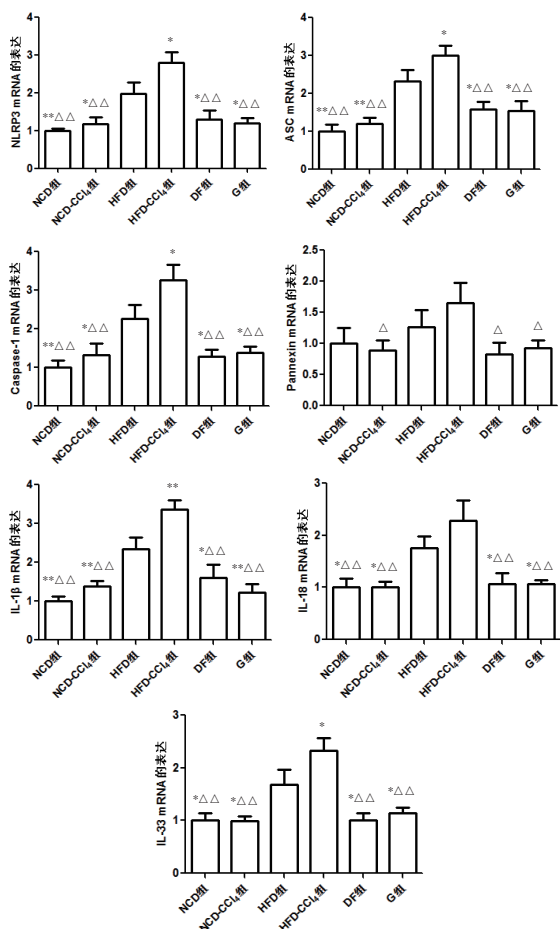


图1 各组大鼠NLRP3炎性小体相关mRNA的相对表达量  
注:与HFD组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ;与HFD-CCL<sub>4</sub>组比较,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ 。下表同。

3. 各组大鼠肝组织NF- $\kappa$ B蛋白的表达 见图2。  
NCD-CCL<sub>4</sub>组肝脏NF- $\kappa$ B蛋白的表达较NCD组升高,但差异无统计学意义;HFD-CCL<sub>4</sub>组NF- $\kappa$ B蛋白的

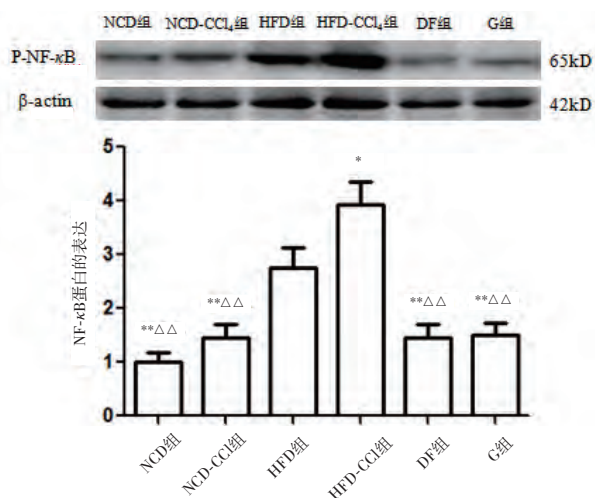


图2 各组大鼠肝脏NF- $\kappa$ B蛋白的表达

表达较NCD-CCL<sub>4</sub>组、HFD组均明显升高 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );经当飞利肝宁胶囊和甘草酸二铵干预后,与HFD-CCL<sub>4</sub>组及HFD组相比,DF组和G组的NF- $\kappa$ B蛋白表达则明显降低 ( $P < 0.01$ )。

### 讨论

NAFLD已成为全球重要的公共健康问题之一,全球范围内>20%的人群受其影响,在西方国家其患病率已占到普通人群的20%–30%,肥胖或糖尿病人群中达到70%–90%<sup>[4–5]</sup>;我国发达地区15%左右的成人患有NAFLD<sup>[6]</sup>。肝脏是人体的代谢中心,而NAFLD患者肝脏解毒功能降低,临床用药更容易导致肝毒性,诱发或加剧肝损伤。线粒体功能障碍、游离脂肪酸、氧应激、炎性因子、肝细胞钙超载等在NAFLD肝细胞损伤敏感性的机制中起重要作用<sup>[7]</sup>。

CCl<sub>4</sub>腹腔注射是造成肝损伤模型的常用方法,CCl<sub>4</sub>进入机体后经肝脏细胞色素P450代谢形成CCl<sub>3</sub>·和Cl·,攻击肝细胞内质网膜上的磷脂双分子层和膜蛋白,引起脂质过氧化从而导致细胞膜、细胞器损伤<sup>[8]</sup>。CCl<sub>4</sub>致肝损伤主要表现为血清中AST、ALT含量增加,肝组织病理学改变等。本课题组前期研究也表明<sup>[1–2,9]</sup>,小剂量的CCl<sub>4</sub>对正常大鼠肝细胞无明显毒性作用,而在高脂饮食诱导的NAFLD大鼠中,则出现明显的肝细胞损伤,表现为血清肝酶明显升高,肝组织病理学出现肝细胞脂肪变性、气球样变、炎性细胞浸润和窦周纤维化等,当飞利肝宁胶囊可通过改善机体的氧化应激水平从而减轻CCl<sub>4</sub>介导的NAFLD肝损伤。在肝损伤发生时,伴随着肝酶的升高,肝细胞合成白蛋白的能力也下降,随病变的持续存在,白蛋白减少。本研究发现,NCD-CCL<sub>4</sub>组血清学指标与NCD组相比无明显变化,而HFD组大鼠血清GGT、ALP等酶学指标明显升高,提示了肝损伤的存在,且在HFD-CCL<sub>4</sub>组GGT、ALP升高进一步加剧,当飞利肝宁胶囊则可有效降低血清肝酶水平。表明NAFLD大鼠的肝损伤敏感性显著增加,当飞利肝宁胶囊可显著改善CCl<sub>4</sub>介导的NAFLD大鼠肝损伤。各组间ALB水平无明显变化,表明CCl<sub>4</sub>诱导NAFLD大鼠急性肝损伤的过程,对白蛋白的合成尚无明显影响。

炎性小体是一种由核苷酸结合寡聚化结构域样受体家族(NOD-like receptors, NLRs)形成的蛋白复合物<sup>[10]</sup>。目前,国内外报道的炎性小体包括NLRP1、NLRP3、NLRC4和AIM2及RIG-Ia炎性小体等。在众多的相关研究中,对于NLRP3炎性小体的研究相对广泛和清楚。NLRP3炎性小体是一类相对分子质量约为70万的大分子蛋白复合体,

其组成元件包括NLRP3、ASC和Caspase-1 3部分, Pannexin也是NLRP3炎性小体元件的组分之一。炎性小体的激活是通过胞浆内模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)识别外源性病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)或内源性损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMPs)来实现的<sup>[11]</sup>。激活的炎性小体能够促进促炎细胞因子,如IL-1 $\beta$ 、IL-18、IL-33等成熟和分泌,从而启动机体固有免疫应答<sup>[12]</sup>。增多的IL-1 $\beta$ 等细胞因子又可进一步激活下游的NF- $\kappa$ B信号转导通路,并通过NF- $\kappa$ B途径上调NLRP3炎性小体的组分及炎性因子前体的表达<sup>[3,13-14]</sup>,形成恶性循环,加重炎性损伤。

NLRP3炎性小体介导的炎性损伤参与了多种肝脏疾病的病变过程,如酒精性肝病、NAFLD、肝纤维化、肝癌等。在NAFLD尤其是非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)中,由于肝细胞中脂肪的过度蓄积,使得肝细胞功能障碍直至坏死,从而产生DAMPs,激活炎性小体<sup>[15-16]</sup>。动物实验表明<sup>[17]</sup>,NLRP3炎性小体的激活在NAFLD发生肝纤维化的过程中也起着至关重要的作用。在本研究中发现,HFD组大鼠肝脏NLRP3炎性小体相关mRNA的表达及NF- $\kappa$ B蛋白的表达升高,隋永恒等<sup>[18]</sup>的研究也得到了相同的结论,肝内脂质沉积可能作DAMPs从而启动了NLRP3炎性小体的表达。Watanabe A等<sup>[19]</sup>研究发现,CCl<sub>4</sub>诱导的肝纤维化模型中,鼠原代肝星状细胞中出现了炎性小体的激活,而NLRP3的缺失可有效阻止CCl<sub>4</sub>诱导的肝纤维化进程。本研究应用小剂量CCl<sub>4</sub>诱导NAFLD大鼠急性肝损伤,发现HFD-CCl<sub>4</sub>组大鼠肝脏炎性小体相关mRNA的表达及NF- $\kappa$ B蛋白的表达较其他组均明显升高,而治疗组各指标得到明显改善。表明NLRP3炎性小体的激活也参与了CCl<sub>4</sub>诱导的NAFLD肝细胞损伤进程,降低NLRP3炎性小体相关基因的表达及NF- $\kappa$ B蛋白的表达,从而减轻肝脏炎性损伤、保护肝细胞可能是当飞利肝宁胶囊防治NAFLD大鼠肝细胞损伤敏感性的作用机制之一。

#### 参 考 文 献

- [1] Song H Y, Mao Z M, Yang L L, et al. Dangfei Liganning Capsules (当飞利肝宁胶囊) attenuate the susceptibility of rat nonalcoholic fatty liver to carbon tetrachloride toxicity. *J Tradit Chin Med*, 2011, 31(4):327-33
- [2] 宋海燕,毛志敏,杨丽丽,等.当飞利肝宁胶囊改善高脂饮食联合四氯化碳诱导的大鼠非酒精性脂肪性肝炎的作用机制. *临床肝胆病杂志*, 2012, 28(3):196-200
- [3] 刘姝,王炳元.炎症小体与慢性肝脏疾病. *传染病信息*, 2013, 26(5):319-322
- [4] Targher G, Day C P, Bonomo E. Risk of cardiovascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*, 2010, 363(14):1341-1350
- [5] Sattar N, Forrest E, Preiss D. Non-alcoholic fatty liver disease. *BMJ*, 2014, 349:g4596
- [6] Fan J G, Saibara T, Chitturi S, et al. What are the risk factors and settings of non-alcoholic fatty liver disease in Asia-Pacific?. *J Gastroenterol Hepatol*, 2007, 22(6):794-800
- [7] 沈红,柳涛,张莉,等.非酒精性脂肪肝细胞损伤敏感性的机制. *世界华人消化杂志*, 2010, 18(7):685-688
- [8] 吴国清,曹岗,夏云华,等.酒制山茱萸水煎液对四氯化碳诱导的小鼠急性肝损伤的保护作用研究. *中华中医药学刊*, 2014, 32(10):2391-2392
- [9] 宋海燕,刘洋,毛志敏,等.当飞利肝宁胶囊预防非酒精性脂肪性肝病大鼠肝纤维化. *中西医结合肝病杂志*, 2013, 23(3):154-187
- [10] Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-1 $\beta$ . *Mol Cell*, 2002, 10(2):417-426
- [11] Pétrilli V, Dostert C, Muruve D A, et al. The inflammasomes: a danger sensing complex triggering innate immunity. *Curr Opin Immunol*, 2007, 19(6):615-622
- [12] Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes. *Cell*, 2010, 140(6):821-832
- [13] Yohe H C, O'Hara K A, Hunt J A, et al. Involvement of Toll-like receptor 4 in acetaminophen hepatotoxicity. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2006, 290(6):G1269-G1279
- [14] Heno-Mejia J, Elinav E, Jin C, et al. Inflammasome-mediated dysbiosis regulates progression of NAFLD and obesity. *Nature*, 2012, 482(7384):179-185
- [15] Vandanmagsar B, Youm Y H, Ravussin A, et al. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nat Med*, 2011, 17(2):179-188
- [16] Divoux A, Tordjman J, Lacasa D, et al. Fibrosis in human adipose tissue: composition, distribution, and link with lipid metabolism and fat mass loss. *Diabetes*, 2010, 59(11):2817-2825
- [17] Wree A, McGeough M D, Peña C A, et al. NLRP3 inflammasome activation is required for fibrosis development in NAFLD. *J Mol Med*, 2014, 92:1069-1082
- [18] 隋永恒,连敏,华静.体内外高脂对肝脏NLRP3炎性小体相关基因表达的影响. *胃肠病学*, 2014, 19(1):12-15
- [19] Watanabe A, Sohail M A, Gomes D A, et al. Inflammasome-mediated regulation of hepatic stellate cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2009, 296(6):G1248-G1257

(收稿日期: 2014年11月28日)