

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2025.07.008

文章编号: 1005-8982 (2025) 07-0048-06

实验研究·论著

葫芦茶苷调控NF- κ B/NLRP3/Caspase-1信号通路抑制肝星状细胞活化的作用机制*

卢秋玉¹, 韦璐莹², 李鑫³, 夏冰雨³, 唐爱存²

(1.广西壮族自治区人民医院 药学部, 广西 南宁 530021; 2.广西中医药大学
第一附属医院, 广西 南宁 530023; 3.广西中医药大学, 广西 南宁 530200)

摘要: **目的** 探讨葫芦茶苷调控NF- κ B/NLRP3/Caspase-1信号通路抑制肝星状细胞(HSCs)活化的作用机制。**方法** 制备人HSCs的体外细胞(LX-2细胞)模型,采用CCK-8法检测葫芦茶苷对LX-2增殖的影响。将对数生长期的LX-2细胞随机分成5组:空白组、TGF- β_1 活化组、TGF- β_1 +葫芦茶苷低剂量组、TGF- β_1 +葫芦茶苷中剂量组、TGF- β_1 +葫芦茶苷高剂量组,除空白组外,其余各组分别加入含终浓度为5 μ g/L的TGF- β_1 的培养液,使其增殖活化24 h,再对葫芦茶苷低、中、高剂量组加入终浓度分别为20、40和80 μ g/mL的葫芦茶苷进行干预。CCK-8法检测葫芦茶苷对LX-2细胞增殖的影响。酶联免疫吸附试验检测细胞上清液白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-18(IL-18)、白细胞介素-6(IL-6)、干扰素 α (INF- α)表达水平。实时荧光定量聚合酶链反应和Western blotting实验检测细胞中NF- κ B、NLRP3、Caspase-1基因和蛋白相对表达量。**结果** 葫芦茶苷能显著抑制LX-2细胞的增殖。与空白组比较, TGF- β_1 活化组细胞上清液IL-1 β 、IL-18、IL-6、INF- α 表达水平,以及细胞NF- κ B、NLRP3、Caspase-1基因和蛋白相对表达量明显上升($P < 0.05$)。葫芦茶苷干预后,与TGF- β_1 活化组比较,葫芦茶苷不同剂量组降低细胞上清液IL-1 β 、IL-18、IL-6、INF- α 表达水平,下调细胞NF- κ B、NLRP3、Caspase-1基因和蛋白表达($P < 0.05$)。**结论** 葫芦茶苷能显著抑制HSCs增殖活化,其机制可能与调控NF- κ B/NLRP3/Caspase-1信号通路有关。

关键词: 肝纤维化; 葫芦茶苷; 肝星状细胞; NF- κ B/NLRP3/Caspase-1通路

中图分类号: R575.2

文献标识码: A

Study on the mechanism of tadehaginoside inhibiting the activation of hepatic stellate cells based on the NF- κ B/NLRP3/Caspase-1 signal pathway*

Lu Qiu-yu¹, Wei Lu-ying², Li Xin³, Xia Bing-yu³, Tang Ai-cun²

(1. Department of Pharmacy, People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning, Guangxi 530021, China; 2. The First Affiliated Hospital of Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning, Guangxi 530023, China; 3. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi 530200, China)

Abstract: **Objective** To explore the mechanism of Tadehaginoside in regulating the NF- κ B/NLRP3/Caspase-1 signaling pathway and inhibiting hepatic stellate cell activation. **Methods** An in vitro cell model of human hepatic stellate cell LX-2 was developed, and using CCK-8 method to detect the effect of Tadehaginoside on

收稿日期: 2024-10-12

* 基金项目: 广西自然科学基金(No: 2023GXNSFAA026199); 广西中医药管理局科研课题(No: GXZYA20220180, GXZY20210209); 广西中医药大学校级科研项目(No: 2021MS015)

[通信作者] 唐爱存, E-mail: tacyxb@163.com

LX-2 proliferation. Randomly divide LX-2 cells in logarithmic growth phase into 5 groups: a blank control group, a TGF- β_1 activation group, a TGF- β_1 +Tadehaginocide low-dose group, a TGF- β_1 +Tadehaginocide medium-dose group, and a TGF- β_1 +Tadehaginocide high-dose group. All other groups except for the blank group were added to a culture medium containing TGF- β_1 (final concentration of 5 μ g/L) to promote proliferation and activation for 24 hours. Then, low, medium, and high-dose Tadehaginocide groups (final concentrations of 20 μ g/mL, 40 μ g/mL, and 80 μ g/mL) were added for intervention. The CCK-8 method was used to detect the effect of Tadehaginocide on LX-2 proliferation. ELISA method detected the expression levels of IL-1 β , IL-18, IL-6, and INF- α in the cell supernatant. qRT-PCR and Western blot were used to detect the mRNA and protein expression levels of NF- κ B, NLRP3, and Caspase-1 in cells. **Results** Tadehaginocide can significantly inhibit the proliferation of LX-2 cells. Compared with the blank group, the TGF- β_1 activation group significantly increased the expression levels of IL-1 β , IL-18, IL-6, and INF- α in the cell supernatant, as well as the mRNA and protein expression levels of NF- κ B, NLRP3, and Caspase-1 in the cells, with statistical differences ($P < 0.05$). After intervention with Tadehaginocide, compared with the TGF- β_1 activation group, various doses of Tadehaginocide could reduce the expression levels of IL-1 β , IL-18, IL-6, and INF- α in cell supernatant and downregulate the mRNA and protein expression of NF- κ B, NLRP3, and Caspase-1 in cells, with statistical differences ($P < 0.05$). **Conclusions** Tadehaginocide can significantly inhibit the proliferation and activation of hepatic stellate cells, and its mechanism may be related to the regulation of the NF- κ B/NLRP3/Caspase-1 signaling pathway.

Keywords: hepatic fibrosis; tadehaginocide; hepatic stellate cells; NF- κ B/NLRP3/Caspase-1 signaling pathway

肝纤维化是由多种原因引起的肝细胞变性坏死、肝脏纤维过度增生的病理过程,主要表现为肝脏中胶原蛋白等细胞外基质(extracellular matrix, ECM)增生与降解失去平衡,从而导致肝脏内纤维结缔组织结构异常改变^[1]。肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)是ECM的主要来源,HSCs激活并转化为肌成纤维细胞样细胞,各种致纤维化因素均把HSCs作为最终靶细胞^[2-3]。肝纤维化的持续存在,伴随着正常肝实质细胞的坏死和凋亡,而ECM的不断合成与沉积,导致肝组织结构的破坏与改建,肝实质逐步被ECM形成的瘢痕组织所取代,最终形成肝硬化,甚至门静脉高压、肝衰竭或肝癌,严重影响患者健康与生命^[4]。

目前肝纤维化防治依旧是困扰医学界的难题,因此肝纤维化的防治重点转移到如何控制或逆转肝纤维化的进程上。从传统中药民族药中分离提取的活性化合物已经成为现今的研究热点,对防治肝纤维化具有重要意义。前期研究发现,葫芦茶苷具有显著的保肝和抗肝纤维化作用,其保肝作用机制可能与其抗氧自由基、抑制脂质过氧化作用及下调半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(cysteine-aspartic acid protease, Caspase)-3和Caspase-8的活性有关^[5-7];其抗肝纤维化机制可能是通过清除自由基和炎症反应,抑制胶原合成与沉积,减轻HSCs的活化^[8-9]。最

近研究发现葫芦茶苷能通过调控Nrf2/HO-1信号通路抑制HSCs活化^[10]。但葫芦茶苷是否通过调控核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)/核苷酸结合结构域富含亮氨酸重复序列和含热蛋白结构域受体3(nucleotide-binding domain leucine-rich repeat and pyrin domain-containing receptor 3, NLRP3)/Caspase-1信号通路抑制HSCs活化的机制未见报道。基于此,本研究揭示葫芦茶苷通过调控NF- κ B/NLRP3/Caspase-1信号通路抑制HSCs增殖活化的分子机制。

1 材料与方法

1.1 细胞株与药物

人HSCs的体外细胞(LX-2细胞)购自中国科学院细胞库,在本研究室自行培养传代。葫芦茶苷样品(纯度>98.0%)从葫芦茶中分离而得。首先采用水提正丁醇萃取,再分别采用硅胶柱色谱法、凝胶柱色谱法、反相高效液相半制备色谱法得到葫芦茶苷样品,采用无血清高糖DMEM培养基配制浓度500 μ g/mL的母液,4 $^{\circ}$ C保存备用。

1.2 主要试剂

高糖DMEM培养基(美国Gibco公司,批号:8118290),胎牛血清(北京海克隆公司,货号:Cat No 16000-036),胰蛋白酶(美国Amersco公司,批号:

0761), 磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS) (福州迈新生物技术开发有限公司, 货号: Lot No 40903060T), 转化生长因子 β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1) (美国 Sigma 公司, 批号: GF346), TRIzol 试剂(美国 Invitrogen 公司, 批号: 15596026), 白细胞介素-1 β (Interleukin-1, IL-1 β)、IL-18、IL-6、干扰素 α (Interferon- α , INF- α) 酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒 (杭州联科生物技术股份有限公司, 货号分别为: 70-EK202、70-EK206、70-EK282、EK382HS), Western blotting 电泳液(上海碧云天生物技术有限公司, 批号: P0015), SYBR 实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 试剂盒(日本 TaKaRa 公司, 批号: C-19864), 兔抗大鼠 NF- κ B 多克隆抗体、兔抗大鼠 NLRP3 多克隆抗体、TBST 缓冲液、ECL 化学发光试剂(上海碧云天生物技术有限公司, 货号分别为: 020617170522、060116179518、ST673-500、P0018AS-2)。其他试剂均为分析纯。

1.3 主要仪器

二氧化碳孵箱 (Model 311 型, 美国 Thermo Scientific Forma 公司), 细胞超净台 (ACB-4A1 型, 新加坡艺思高科技有限公司), 倒置显微镜 (XD-101 型, 南京江南光电集团股份有限公司), 自动酶标仪 (Model 450 型, 美国 Bio-Rad 公司), qRT-PCR 仪 (ABI 9700 型, 美国 Bio-Rad 公司), 全自动生化分析仪 (Selectra-E 型, 荷兰 VITALAB 公司), 电泳仪 (EM10-7-10 型, 美国 Major Science 公司)。

1.4 方法

1.4.1 细胞培养 采用高糖 DMEM 将冻存的 LX-2 细胞复苏, 并采用含 10% 胎牛血清的高糖 DMEM 作为培养液, 将 LX-2 细胞置于 37 °C、5% CO₂ 的恒温培养箱中培养, 待细胞贴壁并长满后, 采用 0.25 % 胰酶消化并传代, 取对数生长期的细胞进行后续试验。

1.4.2 采用 CCK-8 法检测葫芦茶苷对 LX-2 细胞增殖的影响 将对数生长期的 LX-2 细胞经 0.25% 胰蛋白酶消化后接种于 96 孔板中, 每孔 200 μ L, 每个浓度设 6 个复孔, 置二氧化碳孵箱 (37 °C, 5% CO₂) 中培养 24 h 后, 吸除全部培养液, 加入 5 个终浓度分别为 10、20、40、80 和 160 μ g/mL 的葫芦茶苷药液, 并设置空白组和 TGF- β_1 活化组, 连续培养 24 h 后, 丢

弃废液, 每孔加入 10 μ L CCK-8 溶液和 100 μ L 培养基, 在 37 °C 培养箱中继续培养 2 h, 在波长 450 nm 处检测各孔的吸光度 A 值。细胞增殖率 (%) = (实验组_{A450} - 空白组_{A450}) / (对照组_{A450} - 空白组_{A450}) $\times$ 100%。

1.4.3 分组给药 将对数生长期的 LX-2 细胞经 0.25% 胰蛋白酶消化后, 离心收集细胞, 用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液制备混悬液, 将细胞浓度调为 1×10^5 / mL 的细胞悬液, 加入 96 孔培养板中, 每孔 200 μ L, 每组设 6 个复孔, 分成 5 组: 空白组、TGF- β_1 活化组、TGF- β_1 + 葫芦茶苷低剂量组、TGF- β_1 + 葫芦茶苷中剂量组、TGF- β_1 + 葫芦茶苷高剂量组, 除空白组外, 其余各组加入含 TGF- β_1 (终浓度为 5 μ g/L, 溶剂为 10 mmol 柠檬酸) 的培养液使其增殖活化 24 h, 葫芦茶苷低、中、高剂量组再加入终浓度为 20、40 和 80 μ g/mL 的葫芦茶苷进行干预, 继续孵育 24 h 后检测相关指标。

1.4.4 ELISA 法检测细胞上清液中 IL-1 β 、IL-18、IL-6、INF- α 表达水平 将对数生长期的 LX-2 细胞接种于 96 孔培养板中, 每孔 200 μ L, 置二氧化碳孵箱 (37 °C, 5% CO₂) 中培养, 分别设置空白组、TGF- β_1 活化组、TGF- β_1 + 葫芦茶苷低剂量组、TGF- β_1 + 葫芦茶苷中剂量组、TGF- β_1 + 葫芦茶苷高剂量组。24 h 后细胞贴壁且生长良好, 吸除全部培养液, 除空白组外, 其余各组加入含 TGF- β_1 , 继续培养 24 h 后, 给予葫芦茶苷干预 24 h, 收集各组细胞上清液, 离心后收集上清液, 分别按照 ELISA 试剂盒说明书测定细胞上清液中 IL-1 β 、IL-18、IL-6、INF- α 表达水平。

1.4.5 qRT-PCR 检测细胞中 NF- κ B、NLRP3、Caspase-1 基因表达 给予葫芦茶苷干预 24 h 后, 弃去细胞上清液, 收集各组细胞, 严格按照 TRIzol 试剂盒说明书提取细胞总 RNA, 并采用微量核酸检测仪测定 RNA 纯度及浓度, 再将 RNA 逆转录成 cDNA 后进行 qRT-PCR 检测。反应体系: cDNA 模板 1 μ L, SYBR Premix Ex Taq 10 μ L, 正反向引物各 1 μ L, ddH₂O 补足至 20 μ L。反应条件: 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 15 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 共 40 个循环。反应结束后, β -actin 为内参基因。NF- κ B、NLRP3、Caspase-1 基因的引物设计、合成及验证均由大连 TaKaRa 宝生物工程有限公司完成。PCR 扩增实验操作严格按照 TaKaRa 公司试剂盒说明书进行, 采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算目的基因相对表

达量。引物序列见表1。

表1 引物序列

基因	引物序列	长度/ bp
NF- κ B	正向: 5'-TGCGATTCCGCTATAAATGCG-3'	125
	反向: 5'-ACAAGTTCATGTGGATGAGGC-3'	
NLRP3	正向: 5'-CCTGGATTCTCTGCTAACGCC-3'	85
	反向: 5'-TTCATCAGCACCTCTTGCGA-3'	
Caspase-1	正向: 5'-TGCCTGGTCTGTGACTTGGAG-3'	217
	反向: 5'-TGTCTGGGAAGAGGTAGAAACG-3'	
β -actin	正向: 5'-CGTAAAGACCTCTATGCCAACA-3'	115
	反向: 5'-TAGGAGCCAGGGCAGTAATC-3'	

1.4.6 Western blotting检测细胞中NF- κ B、NLRP3、Caspase-1蛋白相对表达量 给予葫芦茶苷干预24 h后,弃去细胞上清液,收集各组细胞,用RIPA裂解细胞获得总蛋白,采用双缩脲法(bicinchoninic acid assay, BCA)检测蛋白浓度后,加适量Buffer缓冲液并于100℃下变性10 min。取变性蛋白进行10% SDS-PAGE进行蛋白质的电泳分离,并转移至聚偏二氟乙烯膜上,用5%脱脂奶粉封闭液封闭1 h, TBST洗膜3次后,加入NF- κ B、NLRP3、Caspase-1一抗(稀释比均为1:1 000),于4℃下孵育过夜;用TBST缓冲液洗膜3次,加入相应二抗(稀释比为1:4 000),于37℃下孵育2 h后,再用TBST缓冲液清洗,以ECL化学发光底物显色后,置于凝胶成像系统下曝光成像后,使用Image J 2×软件检测蛋白条带的灰度值,以目标蛋白与内参蛋白灰度值的比值表示目标蛋白的相对表达量。

1.5 统计学方法

数据分析采用SPSS 22.0统计软件。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较采用单因素方差分析,进一步两两比较用LSD- t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 葫芦茶苷对LX-2细胞增殖的影响

空白组、TGF- β_1 活化组、TGF- β_1 +葫芦茶苷

10 μ g/mL组、TGF- β_1 +葫芦茶苷20 μ g/mL组、TGF- β_1 +葫芦茶苷40 μ g/mL组、TGF- β_1 +葫芦茶苷80 μ g/mL组、TGF- β_1 +葫芦茶苷160 μ g/mL组细胞活力增殖率分别为(100.00 $\pm$ 0.05)%、(135.30 $\pm$ 8.53)%、(83.27 $\pm$ 7.02)%、(63.43 $\pm$ 4.37)%、(55.74 $\pm$ 5.11)%、(48.11 $\pm$ 3.90)%、(36.06 $\pm$ 2.99)%,各组LX-2细胞活力增殖率的比较,经方差分析,差异有统计学意义($F=35.280$, $P=0.001$)。与空白组比较,TGF- β_1 活化组增殖率升高($P < 0.05$);与TGF- β_1 活化组比较,葫芦茶苷各剂量组LX-2细胞活力增殖率均降低($P < 0.05$);TGF- β_1 +葫芦茶苷各剂量组LX-2细胞活力随着给药剂量的增加,细胞活力增殖率逐渐下降($P < 0.05$)。后续实验分组依据:用10 μ g/mL葫芦茶苷处理LX-2细胞后,细胞活力下降不太显著;用20 μ g/mL、40 μ g/mL、80 μ g/mL葫芦茶苷处理LX-2细胞后,细胞活力显著下降;160 μ g/mL葫芦茶苷处理LX-2细胞后,细胞毒性作用过于显著。因此,后续实验选择20 μ g/mL、40 μ g/mL和80 μ g/mL分别作为葫芦茶苷低剂量、葫芦茶苷中剂量、葫芦茶苷高剂量组。

2.2 葫芦茶苷对LX-2细胞上清液IL-1 β 、IL-18、IL-6、INF- α 表达的影响

空白组、TGF- β_1 活化组和TGF- β_1 +葫芦茶苷各剂量组IL-1 β 、IL-18、IL-6、INF- α 水平比较,经方差分析,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与空白组比较,TGF- β_1 活化组细胞上清液中IL-1 β 、IL-18、IL-6、INF- α 表达水平均升高($P < 0.05$);与TGF- β_1 活化组比较,TGF- β_1 +葫芦茶苷各剂量组IL-1 β 、IL-18、IL-6、INF- α 的表达均下降($P < 0.05$)。TGF- β_1 +葫芦茶苷各剂量组组间两两比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 葫芦茶苷对LX-2细胞NF- κ B、NLRP3、Caspase-1表达的影响

各组NF- κ B、NLRP3、Caspase-1基因相对表达量比较,经方差分析,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与空白组比较,TGF- β_1 活化组细胞NF- κ B、NLRP3、Caspase-1基因相对表达量均升高($P < 0.05$);与TGF- β_1 活化组比较,TGF- β_1 +葫芦茶苷各剂量组细胞NF- κ B、NLRP3、Caspase-1基因相对表

表 2 各组 IL-1β、IL-18、IL-6、INF-α 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	IL-1β/(ng/L)	IL-18/(pg/mL)	IL-6/(pg/mL)	INF-α/(ng/L)
空白组	32.17 ± 2.74	127.32 ± 10.02	25.53 ± 2.66	89.33 ± 0.05
TGF-β ₁ 活化组	95.34 ± 8.01	344.56 ± 21.06	88.47 ± 9.27	275.04 ± 15.33
TGF-β ₁ +葫芦茶苷低剂量组	78.80 ± 6.37	258.51 ± 17.99	72.26 ± 8.10	201.46 ± 14.02
TGF-β ₁ +葫芦茶苷中剂量组	61.77 ± 5.73	200.89 ± 16.37	59.96 ± 4.67	157.84 ± 11.86
TGF-β ₁ +葫芦茶苷高剂量组	47.25 ± 4.05	152.72 ± 9.93	41.22 ± 3.26	136.42 ± 9.07
F 值	135.265	218.410	118.525	95.168
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

达量均下降($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 各组 NF-κB、NLRP3、Caspase-1 基因
相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	NF-κB 基因	NLRP3 基因	Caspase-1 基因
空白组	1.00 ± 0.04	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.06
TGF-β ₁ 活化组	2.34 ± 0.18	2.56 ± 0.12	3.07 ± 0.17
TGF-β ₁ +葫芦茶苷低剂量组	1.80 ± 0.07	1.89 ± 0.17	2.06 ± 0.10
TGF-β ₁ +葫芦茶苷中剂量组	1.77 ± 0.13	1.52 ± 0.09	1.96 ± 0.07
TGF-β ₁ +葫芦茶苷高剂量组	1.25 ± 0.05	1.33 ± 0.03	1.22 ± 0.06
F 值	75.822	106.410	89.033
P 值	0.000	0.001	0.000

表 4 各组 NF-κB、NLRP3、Caspase-1 蛋白
相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	NF-κB 蛋白	NLRP3 蛋白	Caspase-1 蛋白
空白组	1.00 ± 0.04	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.06
TGF-β ₁ 活化组	1.84 ± 0.04	3.06 ± 0.16	2.47 ± 0.17
TGF-β ₁ +葫芦茶苷低剂量组	1.40 ± 0.07	2.11 ± 0.09	2.02 ± 0.10
TGF-β ₁ +葫芦茶苷中剂量组	1.17 ± 0.05	2.01 ± 0.07	1.75 ± 0.07
TGF-β ₁ +葫芦茶苷高剂量组	0.95 ± 0.09	1.72 ± 0.08	1.13 ± 0.06
F 值	115.007	76.556	84.977
P 值	0.001	0.000	0.000

2.4 葫芦茶苷对 LX-2 细胞中 NF-κB、NLRP3、Caspase-1 蛋白表达的影响

各组 NF-κB、NLRP3、Caspase-1 蛋白相对表达量比较,经方差分析,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与空白组比较,TGF-β₁ 活化组细胞 NF-κB、NLRP3、Caspase-1 蛋白相对表达量均上升($P < 0.05$);与 TGF-β₁ 活化组比较,葫芦茶苷各剂量组细胞内 NF-κB、NLRP3、Caspase-1 蛋白相对表达量均下降($P < 0.05$);葫芦茶苷各剂量组组间两两比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见图 1 和表 4。

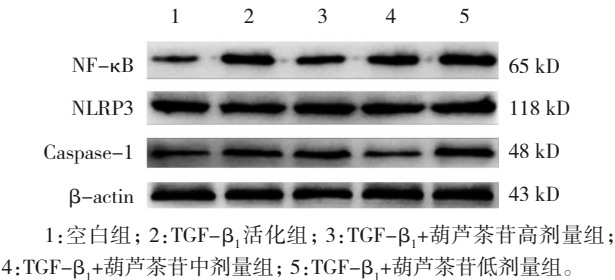


图 1 各组 NF-κB、NLRP3 和 Caspase-1 蛋白条带图

3 讨论

研究表明,肝脏中炎症细胞分泌炎症因子引起炎症因子风暴,诱导 HSCs 持续活化是导致肝纤维化发生、发展的重要机制^[11],炎症小体的形成引起 Caspase-1 的活化,IL-1β、IL-6、IL-18 等炎症细胞因子的分泌,继而募集、激活其他免疫细胞,诱导趋化因子、炎症因子和黏附分子等合成,最终形成“级联效应”,放大炎症反应,导致剧烈的炎症因子风暴^[12-13]。

研究表明,NF-κB/NLRP3 炎症体通路能调控炎症因子表达与分泌,是肝纤维化形成的重要信号通路之一^[14]。NF-κB 是一种核促炎转录因子,可调节多种基因的表达,而这些基因表达对于炎症信号通路的转导起着至关重要的作用^[15-16]。NF-κB 依赖的 NLRP3 炎症小体作为宿主免疫防御系统的重要组成部分,NF-κB/NLRP3 炎症体通路的激活可导致炎症水平升高,是调控炎症因子表达与分泌的重要通路,同时也是肝纤维化形成的重要信号通路^[17]。研究表明,当机体处于静息状态下时,NF-κB 抑制蛋

白 α 与NF- κ B结合形成三聚体并以无活性的形式存在于细胞质中,当被NLRP3炎症小体刺激后,则会诱导IL-1 β 、IL-6、IL-18等炎症因子的分泌,诱发一系列炎症反应^[18]。这些炎症因子一方面可以直接促进HSCs的激活,另一方面又可以通过激活NF- κ B促进HSCs细胞的生存^[19]。NLRP3炎症小体也是机体免疫系统的重要组成部分,主要由NLRP3、Caspase-1和ASC等3种蛋白组成,能够识别多种诱导炎症的刺激并激活Caspase-1,而Caspase-1能将无活性IL-1 β 前体剪切为IL-1 β ,导致IL-1 β 表达水平升高并释放到细胞外,而IL-1 β 是NLRP3下游炎症通路中的重要因子。

综上所述,本实验采用TGF- β 诱导LX-2细胞制备肝纤维化细胞模型,探讨了葫芦茶苷对LX-2细胞增殖活化、炎症因子及调控NF- κ B/NLRP3/Caspase-1信号通路的作用机制。本研究结果表明,葫芦茶苷能显著抑制TGF- β 诱导的LX-2细胞增殖,抑制IL-1 β 、IL-18、IL-6、INF- α 等炎症因子生成释放,靶向阻断NLRP3炎症小体活化,抑制细胞中NF- κ B、NLRP3、Caspase-1基因和蛋白表达,继而通过抑制HSCs活化发挥抗肝纤维化效应。

参考文献:

- [1] SHAO L F, SHEN X M, YU W. Fat necrosis of liver in a patient with mixed type liver cirrhosis[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2024, 23(5): 535-537.
- [2] AKKIZ H, GIESELER R K, CANBAY A. Liver fibrosis: from basic science towards clinical progress, focusing on the central role of hepatic stellate cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(14): 7873.
- [3] 张建, 赵红伟, 胡义亭, 等. 盐酸小檗碱对肝星状细胞自噬和凋亡的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(5): 19-26.
- [4] 郝礼森, 苗笑佳, 宋洁, 等. SHP2过表达抑制人肝星状细胞LX-2凋亡[J]. *中国现代医学杂志*, 2024, 34(5): 32-36.
- [5] TANG A C, CHEN X Y, LU Q Y, et al. Antihepatotoxic effect of tadehaginoside, extracted from *Tadehagi triquetrum* (L.), against CCl₄-lesioned rats through activating the Nrf2 signaling pathway and attenuating the inflammatory response[J]. *Inflammation*, 2014, 37(4): 1006-1014.
- [6] 唐爱存, 陈兆霓, 卢秋玉, 等. 葫芦茶苷对肝损伤大鼠肝组织Caspase-3与Caspase-8活性的影响及保肝作用研究[J]. *中华中医药学刊*, 2017, 35(3): 689-692.
- [7] 唐爱存, 陈兆霓, 梁韬, 等. 葫芦茶乙醇提取物对肝损伤小鼠的保护作用[J]. *医药导报*, 2016, 35(3): 242-245.

- [8] 唐爱存, 俞渊, 罗远, 等. 葫芦茶苷对大鼠肝星状细胞增殖和细胞外基质的影响及机制研究[J]. *现代中药研究与实践*, 2021, 35(2): 26-29.
- [9] 唐爱存, 韦燕飞, 刘喜华, 等. 葫芦茶苷对四氯化碳致肝纤维化模型小鼠的保护作用及机制研究[J]. *中国药房*, 2020, 31(2): 190-195.
- [10] 韦璐莹, 卢清华, 甘昌鑫, 等. 葫芦茶苷通过调控Nrf2/HO-1信号通路抑制肝星状细胞增殖活化的作用[J]. *广西医学*, 2022, 44(10): 1125-1130.
- [11] 万义鹏, 张望, 朱萱. 细胞焦亡在肝纤维化发生、发展中的作用研究进展[J]. *中国现代医学杂志*, 2021, 31(24): 69-74.
- [12] 王梓睿, 田飞鸿, 饶木艳, 等. 小鼠肝纤维化模型复制方法的研究进展[J]. *中国现代医学杂志*, 2021, 31(12): 46-50.
- [13] MOHAMMED S, NICKLAS E H, THADATHIL N, et al. Role of necroptosis in chronic hepatic inflammation and fibrosis in a mouse model of increased oxidative stress[J]. *Free Radic Biol Med*, 2021, 164: 315-328.
- [14] ZHAO J, HAN M, ZHOU L, et al. TAF and TDF attenuate liver fibrosis through NS5A/P9, TGF β 1/Smad3, and NF- κ B/NLRP3 inflammasome signaling pathways[J]. *Hepatol Int*, 2020, 14(1): 145-160.
- [15] 蒲加伟, 杨雄, 吴余, 等. 决明子总蒽醌对脂多糖诱导大鼠急性肝损伤的作用及其机制探讨[J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(20): 6-11.
- [16] 张一杨, 李莹淑, 李金凤, 等. SIRT1通过降低NF- κ B p65表达减轻异烟肼致人肝细胞损伤的研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2018, 28(22): 7-12.
- [17] 王思为, 蓝天, 郑芳, 等. 衢枳壳提取物对CCl₄诱导的肝纤维化小鼠肝脏炎症及NF- κ B/NLRP3炎症体通路的影响[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(6): 1474-1479.
- [18] WU X F, ZHANG F, XIONG X, et al. Tetramethylpyrazine reduces inflammation in liver fibrosis and inhibits inflammatory cytokine expression in hepatic stellate cells by modulating NLRP3 inflammasome pathway[J]. *IUBMB Life*, 2015, 67(4): 312-321.
- [19] 黄桂东, 周至品, 庞智, 等. 基于TLR4/NF- κ B/NLRP3信号通路研究三叶香茶菜含药血清对肝星状细胞的影响[J]. *中国中药杂志*, 2023, 48(14): 3913-3921.

(张西倩 编辑)

本文引用格式: 卢秋玉, 韦璐莹, 李鑫, 等. 葫芦茶苷调控NF- κ B/NLRP3/Caspase-1 信号通路抑制肝星状细胞活化的作用机制[J]. *中国现代医学杂志*, 2025, 35(7): 48-53.

Cite this article as: LU Q Y, WEI L Y, LI X, et al. Study on the mechanism of tadehaginoside inhibiting the activation of hepatic stellate cells based on the NF- κ B/NLRP3/Caspase-1 signal pathway[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2025, 35(7): 48-53.