

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging ResearchHSK31679 治疗代谢功能障碍相关脂肪性
肝炎靶点的研究Research on the therapeutic targets of HSK31679 for metabolic dysfunction related
steatohepatitis戴晨曙^{1,2}, 齐田田^{2,3},
张宇航², 崔一民^{1,2}

(1. 温州医科大学 药学院, 浙江 温州 325035; 2. 北京大学 第一医院, 临床药理研究所, 北京 100034; 3. 徐州医科大学 药学院, 江苏 徐州 221004)

DAI Chen - shu^{1,2}, QI Tian - tian^{2,3},
ZHANG Yu - hang², CUI Yi - min^{1,2}

(1. School of Pharmacy, Wenzhou Medical University, Wenzhou 221004, Zhejiang Province, China; 2. a. Institute of Clinical Pharmacology, b. Department of Pharmacy, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China; 3. School of Pharmacy, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004, Jiangsu Province, China)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82574496, W2523107), 中央高水平医院临床科研业务费资助 - 北京大学第一医院转化孵育专项基金资助项目 (2022RT04), 北京大学第一医院科研种子基金资助项目 (2022SF04)

作者简介: 戴晨曙 (2000 -), 女, 硕士研究生, 主要从事药理学的相关研究

通信作者: 崔一民, 教授, 博士生导师

Tel: (010) 82802440

E - mail: cui. pharm@pkuhf. com

摘要:目的 本文旨在探索创新药 HSK31679 治疗代谢功能障碍相关脂肪性肝炎 (MASH) 的作用靶点, 并以体内实验验证靶点敲除前后药物疗效变化。**方法** 借助药物与疾病数据库, 获得 HSK31679 和 MASH 相关靶点, 分别用 Cytoscape 和 Auto Dock 软件进一步确定治疗核心靶点并预测相应蛋白与 HSK31679 分子的结合能力。构建野生型和肝胱天蛋白酶 8 (CASP8) 敲除型 MASH 小鼠模型, 将小鼠分为空白组 (普通小鼠正常喂养 + 0.5 mL 生理盐水灌胃)、模型组 (普通小鼠造模 + 0.5 mL 生理盐水灌胃)、实验组 (普通小鼠造模 + 3 mg · kg⁻¹ HSK31679 灌胃)、ΔCASP8 模型组 (CASP8 敲除型小鼠正常喂养 + 0.5 mL 生理盐水灌胃) 和 ΔCASP8 实验组 (CASP8 敲除型小鼠正常喂养 + 3 mg · kg⁻¹ HSK31679 灌胃), 每组 8 只。分组治疗后, 用酶标仪测定血清生化指标, 对肝切片进行苏木精 - 伊红 (HE) 染色, 以验证核心靶点在 HSK31679 治疗 MASH 过程中的作用。**结果** HE 染色显示, 模型组小鼠肝细胞存在显著典型的与 MASH 相关的细胞损伤迹象, 提示造模成功。发现 5 个 HSK31679 - MASH 相关的主要核心靶点, HSK31679 分子与其中的 CASP8 蛋白具有良好结合活性。在动物实验中, 空白组、模型组、实验组、ΔCASP8 模型组和 ΔCASP8 实验组小鼠的血清甘油三酯 (TG) 水平分别为 (0.61 ± 0.05)、(1.01 ± 0.15)、(0.66 ± 0.13)、(0.62 ± 0.09) 和 (0.63 ± 0.12) mmol · L⁻¹; 总胆固醇 (TC) 水平分别为 (1.24 ± 0.13)、(2.88 ± 0.32)、(1.60 ± 0.29)、(1.30 ± 0.35) 和 (1.32 ± 0.10) mmol · L⁻¹; 谷丙转氨酶 (ALT) 水平分别为 (74.64 ± 9.31)、(140.20 ± 23.74)、(88.67 ± 13.67)、(78.18 ± 17.66) 和 (73.58 ± 16.15) IU · L⁻¹; 谷草转氨酶 (AST) 水平分别为 (106.33 ± 26.77)、(227.32 ± 20.51)、(124.58 ± 13.63)、(138.37 ± 18.08) 和 (115.54 ± 27.14) IU · L⁻¹, 实验组的上述指标与模型组比较, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.01$); HE 染色中, 肝细胞排列均较为有序、紧密, 胞浆空泡明显减少。ΔCASP8 实验组的上述指标与 ΔCASP8 模型组比较, 在统计学上差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$); 两组的肝细胞变性程度也无明显差异。**结论** CASP8 蛋白是 HSK31679 治疗 MASH 的关键靶点, HSK31679 通过结合 CASP8 蛋白、降低其活性, 从而达到缓解 MASH 肝脏炎症症状的效果, 为 HSK31679 治疗 MASH 的后续实验研究提供一定理论依据。

关键词: HSK31679; 代谢功能障碍相关脂肪性肝炎; 肝损伤; CASP8

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.24.010

中图分类号: R975 **文献标志码:** A

文章编号: 1001-6821 (2025) 24-3512-06

Abstract: Objective This article aimed to explore the targets of the innovative drug HSK31679 in treating metabolic dysfunction - associated steatohepatitis (MASH), and to validate the changes in drug efficacy

before and after target knockout through *in vivo* experiments. **Methods** Using the drug and disease databases, HSK31679 and MASH related targets were identified. The core targets were further determined by Cytoscape software. Auto Dock predicted the binding affinity of corresponding proteins to HSK31679. MASH mouse models of wild - type and liver caspase 8 (CASP8) knockout were constructed. Mice were divided into control group (normal feeding of mice + 0.5 mL saline administration), model group (modeling of mice + 0.5 mL saline administration), experimental group (modeling of mice + 3 mg · kg⁻¹ HSK31679 administration), ΔCASP8 model group (modeling of CASP8 knockout mice + 0.5 mL saline administration) and ΔCASP8 experimental group (modeling of CASP8 knockout mice + 3 mg · kg⁻¹ HSK31679 administration), with 8 mice in each group. Serum biochemical indicators were measured using an enzyme - linked immunosorbent assay (ELISA) after treatment, and liver sections were stained with HE to validate the role of core targets of HSK31679's treatment of MASH. **Results** HE staining revealed significant and typical MASH - associated cellular damage in hepatocytes of the model group, indicating successful model establishment. Five major core targets associated with both HSK31679 and MASH were identified, and HSK31679 exhibited favorable binding activity with the CASP8 protein among them. In animal experiments, the serum triglyceride (TG) levels in the blank group, model group, experimental group, ΔCASP8 model group, and ΔCASP8 experimental group were (0.61 ± 0.05), (1.01 ± 0.15), (0.66 ± 0.13), (0.62 ± 0.09), and (0.63 ± 0.12) mmol · L⁻¹, respectively; the total cholesterol (TC) levels were (1.24 ± 0.13), (2.88 ± 0.32), (1.60 ± 0.29), (1.30 ± 0.35), and (1.32 ± 0.10) mmol · L⁻¹, respectively; the alanine aminotransferase (ALT) levels were (74.64 ± 9.31), (140.20 ± 23.74), (88.67 ± 13.67), (78.18 ± 17.66), and (73.58 ± 16.15) IU · L⁻¹, respectively; the aspartate aminotransferase (AST) levels were (106.33 ± 26.77), (227.32 ± 20.51), (124.58 ± 13.63), (138.37 ± 18.08), and (115.54 ± 27.14) IU · L⁻¹, respectively. Compared with the model group, the differences of above indicators in the experimental group were all statistically significant (all *P* < 0.01). In HE staining, hepatocytes were arranged in a relatively orderly and dense manner, with a significant reduction in cytoplasmic vacuoles. The aforementioned indicators in the ΔCASP8 experimental group showed no statistically significant differences compared to the ΔCASP8 model group (all *P* > 0.05). There was also no significant difference in the degree of hepatocyte degeneration between the two groups. **Conclusion** CASP8 protein is the key target of HSK31679 in the treatment of MASH. HSK31679 alleviated MASH - related hepatic inflammatory symptoms by binding to CASP8 protein and reducing its activity.

Key words: HSK31679; metabolic dysfunction - associated steatohepatitis; liver injury; caspase 8

代谢功能障碍相关脂肪性肝炎 (metabolic dysfunction - associated steato hepatitis, MASH) 是代谢功能障碍相关脂肪性肝病的一个严重病理阶段, 由遗传因素、饮食因素和代谢功能紊乱等引起肝细胞内脂质代谢障碍, 导致脂肪过度沉积^[1], 存在肝细胞气球样变、炎症浸润甚至纤维化等病理变化^[2], 未经治疗的 MASH 可能发展为肝硬化并最终导致肝功能衰竭。由于目前仅有 1 款用于治疗 MASH 的药物瑞斯美替罗经美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 批准上市, 靶向作用于甲状腺激素受体 β (thyroid hormone receptor beta, THR - β)^[3], 因此, 研发 MASH 的治疗药物仍然迫在眉睫。HSK31679 是我国自主研发的 1 种 THR - β 激动剂, 通过选择性与肝脏甲状腺激素 β 受体结合, 影响脂质代谢过程中的关键步骤, 目前已进入临床 II 期试验阶段, 有望成为

MASH 的治疗药物。但当前, HSK31679 在治疗 MASH 方面的作用尚未被完全证实, 故本文将从多个角度探究 HSK31679 治疗 MASH 的潜在靶点, 为后续研究提供理论基础。

材料与方法

1 材料

动物 雄性 C57BL/6J 小鼠和敲除肝胱天蛋白酶 8 (caspase 8, CASP8) 基因的 C57BL/6J 小鼠 (ΔCASP8), 体质量 18 ~ 20 g, 均购自上海南方模式生物科技股份有限公司。动物生产许可证号: SCXK (沪) 2024 - 0007, 动物使用许可证号: SYXK (沪) 2023 - 0005。本研究经北京大学第一医院实验动物中心批准 (伦理批号: 2022 - 184257)。

药品与试剂 HSK31679, 临床试验阶段药物, 四川海思科医药集团股份有限公司生产; 甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)和谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)测定试剂盒, 均由江苏南京建成生物工程研究所生产; 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色试剂盒, 北京索莱宝科技有限公司生产。

仪器 EnVision Nexus 酶标仪, 上海瑞孚迪生物医学有限公司产品; KS-X5000A 显微镜, 江苏南京凯视迈科技有限公司产品。

2 实验方法

2.1 实验动物模型构建

将小鼠饲养在受控温度(20 ± 2)℃, 湿度(55 ± 5)% 和光照(12 h 光-暗循环)的环境下。MASH 造模: 用含有 60 kcal% 脂肪的 MASH 饲料和含有 $23.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ d}$ -果糖和 $18.9 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ d}$ -葡萄糖的高糖溶液作为饮用水饲喂小鼠 16 周^[4]。

2.2 动物分组与处理方法

将野生型小鼠分为 3 组, 分别为空白组(以普通饲料和饮用水饲喂 16 周, 后每日灌胃 0.5 mL 生理盐水持续 8 周)、模型组(以 MASH 饮食饲喂 16 周, 后每日灌胃 0.5 mL 生理盐水持续 8 周)和实验组(以 MASH 饮食饲喂 16 周, 后每日以 0.5 mL 生理盐水配置, 灌胃 $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ HSK31679^[5], 持续 8 周; 将 ΔCASP8 小鼠分为 2 组, 分别为 ΔCASP8 模型组(以 MASH 饮食饲喂 16 周, 后每日灌胃 0.5 mL 生理盐水持续 8 周)和 ΔCASP8 实验组(以 MASH 饮食饲喂 16 周, 后每日以 0.5 mL 生理盐水配置灌胃 $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ HSK31679, 持续 8 周)。

2.3 样本采集方法

血液样本: 采用小鼠眼眶后血管丛取血法采集血液, 收集血液于 1.5 mL 抗凝 EP 管内, 4℃ 保存。肝切片: 脱颈处死小鼠后, 立即解剖分离小鼠肝脏, 于 10% 中性福尔马林液中固定 24 h 后制备石蜡切片。

2.4 网络药理学研究探索

通过 DisGeNET 数据库(<https://www.disgenet.org/>)^[6]和 GeneCards 数据库(<http://www.genecards.org/>)^[7], 以“metabolic dysfunction-related steatohepatitis”为名称, 检索疾病靶点。用 Swiss Target Prediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)^[8]使用 HSK31679 的化学结构式进行靶点预测, 检索出化合物 HSK31679 对应的人类靶点基因。将 HSK31679 相关靶点基因和 MASH 疾病靶点基因相交, 以获取

药物-疾病交集靶点基因。

将筛选出的药物-疾病共同靶点基因导入 STRING 平台(<https://string-db.org/>)^[9], 将搜索界面的分析条件设置为“Homo sapiens”, 设置 0.400 为符合要求的最低互动分数。将搜索结果下载并导入 Cytoscape 3.8 软件(<http://www.cytoscape.org/>), 根据度值(Degree)排列获取 HSK31679 作用于 MASH 疾病的核心靶点。

2.5 HSK31679 与核心靶点对接^[10-11]

为验证药物 HSK31679 与核心靶点的结合能力及发挥作用的可能性, 从 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)搜索 HSK31679 的分子结构保存为蛋白质数据银行(protein data bank, PDB)格式, 从 PDB 数据库(<https://www.rcsb.org/>)检索并下载核心靶点的 PDB 格式结构文件, 使用 Auto Dock Tools (v. 1.5.6) 软件进行去水、加氢等处理之后, 进行分子对接。用 PyMOL 软件将对接结果进行可视化。

2.6 血清生化指标检测

血液样本在 4℃ 下以 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 得到血清。取血清样本 100 μm 于生化分析仪专用样本杯, 根据不同的检测需求分别选择 TG、TC、ALT 以及 AST 对应芯片, 按仪器要求操作测定, 并记录检测结果。

2.7 肝组织 HE 染色

以 PBS 洗涤肝脏石蜡切片, 后按照标准方案用苏木素对细胞核染色 10 min, 清洗分化后再用伊红对细胞质染色 10 min。清洗多余染液后, 用中性树胶密封细胞并在显微镜下观察。

3 统计学处理

用 GraphPad Prism 9.0 软件对实验数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用非配对 *t* 检验。

结 果

1 疾病-药物交集靶点基因与 PPI 网络结果

为探索 HSK31679 治疗 MASH 的潜在作用靶点, 分别通过 DisGeNET 和 GeneCards 数据库检索到 MASH 的靶点基因分别为 434 和 779 个, 去除重复靶点后得到 MASH 相关靶点基因 1 058 个; 通过 Swiss Target Prediction 数据库获得化合物 HSK31679 的有效靶点基因 94 个。取疾病 MASH 靶点基因和药物 HSK31679 靶点基因的交集, 获得 25 个潜在的药物-

疾病靶点基因。将交集靶点基因于 STRING 平台得到的结果导入 Cytoscape 软件,根据 Degree 值由高到低排列,筛选出 5 个 HSK31679 治疗 MASH 的核心靶点基因对应的蛋白质,包括表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) (Degree = 10),磷酸肌醇 3 激酶 α 亚基 (phosphoinositide - 3 - kinase catalytic alpha polypeptide, p110 α) (Degree = 8),半胱天冬酶 8 (caspase - 8, CASP8) (Degree = 8),雷帕霉素靶蛋白 (mechanistic target of rapamycin, mTOR) (Degree = 8),丝裂原活化蛋白激酶 (p38 mitogen - activated protein kinase, p38 MAPK) (Degree = 7)。

2 HSK31679 与核心靶蛋白的分子对接验证

Auto Dock 软件对上述 5 个靶蛋白与 HSK31679 的分子对接结果显示,5 组结合能均 ≤ -6.0 kcal/mol。其中 CASP8 于 p38 MAPK 蛋白的结合能最低,证明 HSK31679 和这两个靶蛋白之间的结合能力最强,见表 1。将对接结果的 HSK31679 和蛋白晶体进行可视化,可见 HSK31679 分子与 EGFR 蛋白结构中 D135、E124 形成氢键,与 p110 α 蛋白结构中 OGL - 302 形成氢键,与 CASP8 蛋白结构中 LYS - 381D、ASN - 381E、TYR - 290、VAL - 4103 和 ASA - 4104 形成氢键,与 mTOR 蛋白结构中 ASP - 2103、ARG - 2110 形成氢键,与 p38 MAPK 蛋白结构中 TYR - 35 和 GLU - 71 形成氢键。这些靶蛋白,尤其是结合能最低的 CASP8 蛋白,可能为 HSK31679 治疗 MASH 的潜在靶点。

3 各组小鼠血清生化指标对比结果

为验证 CASP8 蛋白为 HSK31679 治疗 MASH 过程中的关键靶点,本研究分别采集并提取了空白组 (Blank)、模型组 (Model)、实验组 (Experimental)、 Δ CASP8 模型组 (Δ CASP8 model) 和 Δ CASP8 实验组 (Δ CASP8 experimental) 小鼠的血清并进行生化指标检测。结果显示,在 HSK31679 的处理下,与模型组小鼠相比,实验组小鼠的血清 TG、TC、ALT、

AST 水平均显著下降 (均 $P < 0.01$),标志肝损伤程度降低,与健康空白组小鼠的水平接近; Δ CASP8 小鼠的 4 项生化指标水平较模型组均显著下降 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),而 Δ CASP8 实验组与 Δ CASP8 模型组比较,在统计学上差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$),见表 2。

4 各组小鼠肝脏切片 HE 染色结果

通过显微镜分析比较各组小鼠的 HE 染色肝脏切片,结果显示实验组小鼠和 Δ CASP8 小鼠的肝损伤均在一定程度消退。在模型组中,小鼠肝细胞存在显著典型的与 MASH 相关的细胞损伤迹象,如气球样变、细胞核异常增大、嗜酸小体或点状坏死等,提示小鼠 MASH 造模成功;HSK31679 处理的野生型小鼠肝细胞排列均较为有序、紧密,胞浆空泡明显减少,表明脂肪变性得到明显缓解;而 Δ CASP8 小鼠中,经 HSK31679 治疗的肝细胞变性程度与未经治疗的变性程度无显著差异,见图 1。综上,CASP8 的敲除减弱了 HSK31679 对 MASH 的治疗效果,CASP8 蛋白可能为药物 HSK31679 治疗 MASH 的关键靶点。

表 1 HSK31679 与核心靶点分子对接结果
Table 1 Docking results of HSK31679 with core target molecules

Number	Gene	Protein	Binding energy (kcal · mol ⁻¹)
1	EGFR	EGFR	-6.1
2	PIK3CA	p110 α	-7.6
3	CASP8	CASP8	-8.8
4	MTOR	mTOR	-7.1
5	MAPK14	p38 MAPK	-8.7

EGFR: Epidermal growth factor receptor; p110 α : Phosphoinositide - 3 - kinase catalytic alpha polypeptide; CASP8: Caspase - 8; mTOR: Mechanistic target of rapamycin; p38 MAPK: p38 mitogen - activated protein kinase.

表 2 各组小鼠治疗后的各项血清生化指标对比

Table 2 Comparison of serum biochemical indicators among groups after treatment in mice

Group	Dose	TG (mmol · L ⁻¹)	TC (mmol · L ⁻¹)	ALT (IU · L ⁻¹)	AST (IU · L ⁻¹)
Blank	/	0.61 ± 0.05	1.24 ± 0.13	74.64 ± 9.31	106.33 ± 26.77
Model	/	1.01 ± 0.15 ^{**}	2.88 ± 0.32 ^{**}	140.20 ± 23.74 ^{**}	227.32 ± 20.51 ^{**}
Experimental	3 mg · kg ⁻¹	0.66 ± 0.13 ^{##}	1.60 ± 0.29 ^{##}	88.67 ± 13.67 ^{##}	124.58 ± 13.63 ^{##}
Δ CASP8 model	/	0.62 ± 0.09 [#]	1.30 ± 0.35 ^{##}	78.18 ± 17.66 ^{##}	138.37 ± 18.08 ^{##}
Δ CASP8 experimental	3 mg · kg ⁻¹	0.63 ± 0.12 [#]	1.32 ± 0.10 ^{##}	73.58 ± 16.15 ^{##}	115.54 ± 27.14 ^{##}

TG: Triglyceride; TC: Total cholesterol; ALT: Alanine aminotransferase; AST: Aspartate aminotransferase; Compared with blank group, ^{**} $P < 0.01$; Compared with model group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$.

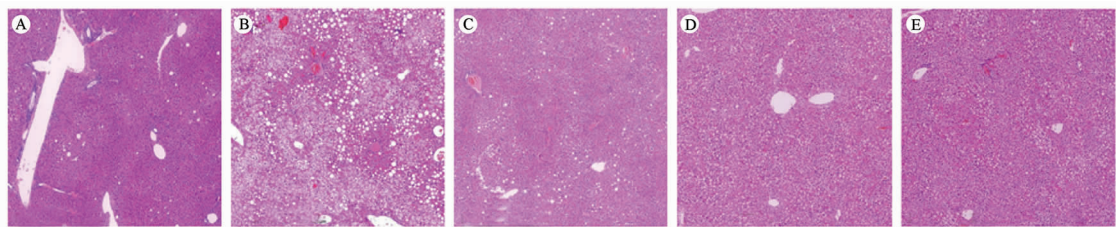


图1 各组小鼠肝脏切片的苏木精-伊红(HE)染色结果($\times 80$)

Figure 1 Hematoxylin-eosin (HE) staining results of liver sections from mice in each group ($\times 80$)

A: Blank group; B: Model group; C: Experimental group; D: Δ CASP8 model group; E: Δ CASP8 experimental group.

讨论

随着全球肥胖症与代谢综合征的流行,MASH已然成为全球范围内发病率持续攀升的慢性肝病,其进展至肝硬化、肝功能衰竭甚至肝癌的风险高于普通人群,给公共卫生系统带来沉重负担^[12]。由于MASH的发病机制较为复杂、尚未完全阐明,普遍认为与脂质代谢紊乱、炎症反应失控、氧化应激及肝细胞凋亡异常等多种病理过程密切相关^[13];又因MASH患者之间的异质性较强,且动物模型无法完全模拟人类MASH特征,针对MASH的药物研发存在巨大挑战。HSK31679是我国自主研发的一种高选择性甲状腺激素 β 受体激动剂,通过与受体的结合影响脂代谢过程中的关键步骤,已在前期研究中显示出显著的调脂与肝脏脂肪减少作用,目前进入临床II期试验阶段,有望成为MASH治疗的潜在新药。

本研究系统探索 HSK31679 治疗 MASH 的作用靶点,为其临床应用提供理论支撑。首先数据库筛选结果显示,HSK31679 与 MASH 存在 25 个交集靶点,进一步通过蛋白质相互作用网络筛选出 *EGFR*, *PIK3CA*, *CASP8*, *MTOR* 和 *MAPK14* 为 HSK31679 治疗 MASH 的 5 个核心靶点,这些靶点均参与脂质代谢、炎症调控及细胞存活等关键病理过程,提示 HSK31679 可能通过多靶点协同作用发挥治疗效果。LI 等^[14]发现在 MASH 小鼠模型中,肝细胞 *EGFR* 的表达显著降低,*EGFR* 的异位表达能够减轻肝内脂质积累并降低血清甘油三酯和胆固醇,而 *EGFR* 的敲除则加重了肝脂肪变性。HSK31679 可能通过激活 *EGFR* 的表达,从而降低血清甘油三酯和胆固醇,起到改善脂质堆积的作用。*PIK3CA* 可能参与慢性肝病的炎症至癌转化过程,通过抑制代谢功能障碍相关脂肪性肝炎小鼠的 PI3K/AKT/mTOR 通路能够改善肝脏

炎症和自噬^[15]。*CASP8* 是 MASH 代谢紊乱的关键抑制因子^[16]。分子对接结果显示,核心靶蛋白 *EGFR*, *p110 α* , *CASP8*, *mTOR* 和 *p38 MAPK* 与 HSK31679 均具有良好的结合活性,主要依靠氢键结合,其中 *CASP8* 与 HSK31679 的结合能最低,提示 *CASP8* 可能是 HSK31679 发挥作用的关键靶点。随后,体内验证实验进一步验证了上述预测结论。野生型 MASH 模型组小鼠表现出典型的肝细胞气球样变、胞浆空泡增多及炎症细胞浸润,血清脂质与肝酶指标显著升高,而 HSK31679 治疗后上述病理改变明显逆转,提示药物具有良好的体内疗效。肝 *CASP8* 敲除小鼠的肝损伤程度本身显著低于野生型模型鼠,且 HSK31679 治疗无额外获益,明确了 *CASP8* 在 HSK31679 作用机制中的核心地位。ZHANG 等人发现抑制 *CASP8* 有助于减少炎症基因转录,包括关键炎症分子如 *NLRP3* 和 *IL-1* 等,从而缓解炎症^[17]。肝细胞中 *CASP8* 表达的缺失会减少 MASH 饮食依赖的肝细胞凋亡增加,减少促炎细胞因子的表达以及肝脏浸润^[18]。肝细胞 *CASP8* 敲除的 MASH 小鼠也可通过基因修复神经胶质细胞分化调节因子,恢复肝星状细胞的活化和并改善肝纤维化^[19]。而 Δ CASP8 小鼠在未经 HSK31679 治疗的情况下依然表达出较低的肝损伤指标水平与肝组织变性程度,说明 HSK31679 可能是通过结合 *CASP8* 蛋白使其失活来发挥疗效的,即肝脏 *CASP8* 基因的敲除间接起到了等同于 HSK31679 抑制作用的效果。

然而,本研究仍存在一定局限性。首先,小鼠模型虽能模拟 MASH 的主要病理特征,但与人类疾病的异质性仍存在差异,需在临床样本中进一步验证 *CASP8* 与 HSK31679 的相互作用。其次,本研究仅探索了 *CASP8* 在 HSK31679 治疗中的作用,其他核心靶点的协同机制仍需深入研究。

本研究提示: *CASP8* 蛋白是 HSK31679 治疗 MASH 的关键靶点,HSK31679 通过结合 *CASP8* 蛋白、抑制其活性,从而达到缓解 MASH 肝炎症的效果,为

日后开展相关实验提供一定理论基础,也为 MASH 的靶向治疗提供了新的实验依据。

参考文献:

- [1] LOOMBA R, FRIEDMAN S L, SHULMAN G I. Mechanisms and disease consequences of nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Cell*, 2021, 184(10): 2537—2564.
- [2] TACKE F, PUENGEL T, LOOMBA R, *et al.* An integrated view of anti-inflammatory and antifibrotic targets for the treatment of NASH [J]. *J Hepatol*, 2023, 79(2): 552—566.
- [3] KINGWELL K. NASH field celebrates hurrah moment with a first FDA drug approval for the liver disease [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2024, 23(4): 235—237.
- [4] TSUCHIDA T, LEE Y A, FUJIWARA N, *et al.* A simple diet- and chemical-induced murine NASH model with rapid progression of steatohepatitis, fibrosis and liver cancer [J]. *J Hepatol*, 2018, 69(2): 385—395.
- [5] ZHANG Y H, XIE R, DAI C S, *et al.* Thyroid hormone receptor-beta agonist HSK31679 alleviates MASLD by modulating gut microbial sphingolipids [J]. *J Hepatol*, 2025, 82(2): 189—202.
- [6] PIÑERO J, BRAVO À, QUERALT-ROSINACH N, *et al.* DisGeNET: A comprehensive platform integrating information on human disease-associated genes and variants. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(D1): D833—D839.
- [7] BEN-ARI F S, LIEDER I, STELZER G, *et al.* GeneAnalytics: An integrative gene set analysis tool for next generation sequencing, RNAseq and microarray data [J]. *OMICS*, 2016, 20(3): 139—151.
- [8] DAINA A, MICHIELIN O, ZOETE V. SwissTargetPrediction: Updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1): W357—W364.
- [9] SZKLARCZYK D, KIRSCH R, KOUTROULI M, *et al.* The STRING database in 2023: Protein-protein association networks and functional enrichment analyses for any sequenced genome of interest. *Nucleic Acids Res*, 2023, 51(D1): D638—D646.
- [10] KIM S, CHEN J, CHENG T, *et al.* PubChem 2025 update [J]. *Nucleic Acids Res*, 2025, 53(D1): D1516—D1525.
- [11] ZARDECKI C, DUTTA S, GOODSELL D S, *et al.* PDB-101: Educational resources supporting molecular explorations through biology and medicine [J]. *Protein Sci*, 2022, 31(1): 129—140.
- [12] 范建高, 徐小元, 南月敏, 等. 代谢相关(非酒精性)脂肪性肝病防治指南(2024年版)[J]. *实用肝脏病杂志*, 2024, 27(4): 494—510.
- [13] STEINBERG G R, VALVANO C M, DE NARDO W, *et al.* Integrative metabolism in MASLD and MASH: Pathophysiology and emerging mechanisms [J]. *J Hepatol*, 2025, 83(2): 584—595.
- [14] LI B, XIAO Q, ZHANG J, *et al.* Exploring the active compounds and potential mechanism of the anti-nonalcoholic fatty liver disease activity of the fraction from Schisandra chinensis fruit extract based on multi-technology integrated network pharmacology [J/OL]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 301: 115769. 2023-01-30 [2025-05-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36183952/>.
- [15] LI M, ZENG A, TANG X, *et al.* circ_0004535/miR-1827/CASP8 network involved in type 2 diabetes mellitus with nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 19807.
- [16] CHENG X, HAN Z X, SU Z J, *et al.* Network pharmacology-based exploration on the intervention of Qinghao Biejia Decoction on the inflammation-carcinoma transformation process of chronic liver disease via MAPK and PI3k/AKT pathway [J]. *Biomed Res Int*, 2022, 2022: 9202128. 2022-10-14 [2025-05-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36277879/>.
- [17] ZHANG W, ZHU C, LIAO Y, *et al.* Caspase-8 in inflammatory diseases: A potential therapeutic target [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2024, 29(1): 130.
- [18] HATTING M, ZHAO G, SCHUMACHER F, *et al.* Hepatocyte caspase-8 is an essential modulator of steatohepatitis in rodents [J]. *Hepatology*, 2013, 57(6): 2189—2201.
- [19] WANG X, MOORE M P, SHI H, *et al.* A non-apoptotic caspase-8-meteorin pathway in hepatocytes promotes MASH fibrosis [J]. *Nat Metab*, 2025, 7(10): 2067—2082.

(收稿日期 2025-11-17)