

网络出版时间:2026-05-22 08:26:40 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1086.R.20260608.1027.024

敲除 RASAL2 通过 NF- κ B 通路调控巨噬细胞极化 减轻代谢相关脂肪性肝炎

范文洁¹, 胡 翠^{2,3}, 王兵兵^{2,3}, 梅 俏^{2,3}, 张卫平^{2,3}, 丁 浩^{2,3}

(1. 安徽医科大学第一附属医院肿瘤放疗科, 2. 安徽医科大学第一附属医院消化内科,

3. 安徽省消化疾病重点实验室, 安徽 合肥 230022)

doi:10.12360/CPB202508068

文献标志码:A 文章编号:1001-1978(2026)05-0908-06

中图分类号:R-332; R322.47; R329.24; R364.5; R394.2; R575.5

摘要:目的 探讨类 RAS 激活物 2 (RAS-like activator 2, RASAL2) 在代谢相关脂肪性肝炎 (metabolic dysfunction-associated steatohepatitis, MASH) 中的作用及其机制。方法 通过高脂饲养 24 周制备 MASH 小鼠模型。qRT-PCR 检测肝脏组织炎症因子基因表达。流式细胞技术检测肝脏免疫细胞浸润情况。提取小鼠骨髓来源巨噬细胞 (bone marrow-derived macrophages, BMDM), 体外培养并以脂多糖诱导 M1 极化。qRT-PCR 检测 BMDM 极化标志基因 (*Nos2*、*Il1b*、*Il6*、*Tnf*、*Arg1*、*CD206*、*Il10*) 表达。Western blot 检测 p-I κ B α 、I κ B α 、p-IKK β 、IKK β 、p-P65、P65 表达。结果 与同窝野生型小鼠相比, RASAL2 敲除小鼠肝组织炎症细胞浸润减少, *Il1b*、*Il6*、*Tnf* 基因表达均减少, *Il10* 基因表达则增加。流式细胞术分析显示 RASAL2 敲除小鼠肝脏免疫细胞浸润减少, M1 型巨噬细胞比例减少。体外培养的小鼠 BMDM, RASAL2 敲除组 M1 型极化标志基因 (*Nos2*、*Il1b*、*Il6*、*Tnf*) 表达减低而 M2 型极化标志基因 (*Arg1*、*CD206*、*Il10*) 表达增加, NF- κ B 通路活化受抑。结论 RASAL2 敲除减轻 MASH 肝脏炎症损伤, 阻滞巨噬细胞向 M1 极化, 其机制可能与抑制 NF- κ B 通路有关。

关键词: MASH; RASAL2; 巨噬细胞; BMDM; M1 极化; NF- κ B

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



代谢相关脂肪性肝炎 (metabolic dysfunction-associated steatohepatitis, MASH), 旧称非酒精性脂

收稿日期:2025-12-29, 修回日期:2026-03-05

基金项目:国家自然科学基金资助项目 (No 81700521); 安徽医科大学科研基金项目 (No 2023xkj130)

作者简介:范文洁 (1988-), 女, 硕士, 主治医师, 研究方向:肝脏炎症与肿瘤免疫, E-mail: fanwenjie@fy.ahmu.edu.cn;

丁 浩 (1989-), 男, 博士, 主治医师, 研究方向:脂肪性肝病, 通信作者, E-mail: dinghao2633@fy.ahmu.edu.cn

肪性肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis, NASH), 是代谢相关脂肪性肝病 (metabolic dysfunction-associated fatty liver disease, MAFLD) 的进展阶段, 是疾病慢性化和复杂化的拐点, 由此可进展为肝硬化甚至肝细胞癌^[1]。研究显示 MAFLD 全球总体患病率为 32.4%, 其中约 20% 进展为 MASH^[1-2]。MASH 患者中约 11% 在 15 年内发生肝硬化, 近 7% 在 6.5 年内进展为肝癌^[3]。MASH 已经成为终末期肝病主要病因, 但对于 MASH 的治疗手段极为匮乏。截至目前, 仅有 Resmetirom 与司美格鲁肽获得美国 FDA 批准用于治疗 MASH。深入理解 MASH 发病机制、寻找潜在药物靶点、探索新型有效防治策略是目前亟待解决的研究问题。

类 RAS 激活物 2 (RAS-like activator 2, RASAL2) 基因定位于人 1 号染色体长臂 1q24-25, 编码产物含 1 139 个氨基酸。作为原癌基因 RAS 的负调控因子, RASAL2 参与乳腺癌、肺癌、结直肠癌、胰腺癌等多种肿瘤的发生发展过程。近年来研究显示 RASAL2 还参与到炎症免疫与脂质代谢过程。2017 年 Zhu 等^[4]发现 RASAL2 敲除通过提高 RAS 蛋白活性减少脂肪形成, 进而抵抗肥胖的发生, 并且减轻高脂饲养诱导的脂肪组织炎症, 减少 M2 型巨噬细胞浸润。本课题组前期研究发现 RASAL2 敲除通过促进 MTTP 介导的脂质转运, 明显减轻肝脏脂肪变性, 减少肝细胞内脂质沉积^[5]。RASAL2 是否进一步参与 MASH 阶段的肝脏炎症损伤过程, 尚未见报道。本研究通过延长高脂饲养制备 MASH 小鼠模型, 结合流式细胞学等技术, 以探讨 RASAL2 在 MASH 肝脏炎症损伤中的作用及其机制。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 RASAL2 基因敲除 FVB 小鼠购自武汉贝赛模式生物科技有限公司, 生产许可证号: SCXK (鄂) 2022-0029。饲养于安徽医科大学 SPF 级实验动物中心, 温度 20 $^{\circ}$ C ~ 25 $^{\circ}$ C, 湿度 45% ~ 55%, 光照 12 h, 黑暗 12 h。选取 4 ~ 5 周龄雄

性、RASAL2 敲除及同窝野生型小鼠进行实验。本研究获得安徽医科大学实验动物伦理委员会批准(No LLSC20230268)。

1.2 试剂 高脂饲料(货号:D12492)、低脂对照饲料(货号:D12450B)购自美国 Research Diets 公司。M-CSF(货号:315-02)购自美国 Peprotech 公司。脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)(货号:S1732)、红细胞裂解液(货号:C3702)购自上海碧云天公司。Fixable Viability(货号:65-0865-14)以及抗体 CD11b(货号:25-0112-82)、CD8(货号:35-0081-82)购自美国 Thermo Scientific 公司。抗体 CD16/32(货号:156603)、CD45(货号:103138)、CD3(货号:100219)、CD4(货号:100437)、F4/80(货号:157308)、CD206(货号:141708)、CD11c(货号:117329)、Ly6G(货号:127618)、Ly6C(货号:128016)、B220(货号:103205)、NK1.1(货号:156505)购自美国 Biolegend 公司。抗体 p-P65(货号:3033)、P65(货号:6956)、p-I κ B α (货号:2859)购自美国 CST 公司。抗体 p-IKK β (货号:ab194519)购自英国 Abcam 公司。抗体 I κ B α (货号:10268-1-AP)、IKK β (货号:15649-1-AP)、GAPDH(货号:60004-1-Ig)购自武汉 Proteintech 公司。Percoll(货号:40501ES60)购自上海翌圣生物科技有限公司。胎牛血清、RPMI 1640 培养基、DMEM 培养基购自美国 Gibco 公司。

1.3 仪器 qRT-PCR 仪(型号:Mx3000P,美国安捷伦科技有限公司);EPS-300 电泳仪(上海天能科技有限公司);DM1L 型倒置显微镜(德国 Leica 公司);BD LSRFortessa HTS 流式分析仪(美国 Becton Dickinson 公司)。

2 方法

2.1 MASH 小鼠模型的建立 参照文献方法^[6],采用高脂饲养 24 周建立 MASH 小鼠模型,对照组以低脂对照饲料饲养。实验结束前小鼠禁食过夜,以 10 g·L⁻¹戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,颈椎脱臼法处死小鼠,收集肝脏组织用于流式细胞、HE 染色、qRT-

PCR、Western blot 检测。

2.2 流式细胞检测 取新鲜肝脏组织,制备单细胞悬液。吸取过滤后的悬液到离心管中,400 g 离心 5 min,去上清液。用 40% Percoll 重悬细胞,400 g 离心 25 min。小心吸去上清液,加入 1×红细胞裂解液重悬细胞沉淀,裂解 2 min。加入 PBS 溶液,400 g 离心 5 min。去上清液,加入 PBS 溶液,400 g 离心 5 min 洗涤 1 次。用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基重悬得到白细胞悬液。加入 CD16/32 抗体冰上封闭 10 min。加入免疫细胞特异性荧光抗体标记细胞冰上孵育 30 min。PBS 洗涤后加入适量 PBS 重悬细胞。上机行流式细胞检测,FlowJo 10.8.0 软件圈门分析。

2.3 小鼠骨髓来源巨噬细胞(bone marrow-derived macrophages, BMDM)的提取、培养与诱导极化 处死小鼠后分离股骨和胫骨,剪开干骺端,用含 10⁵ IU·L⁻¹青霉素和 100 mg·L⁻¹链霉素的 DMEM 培养基冲洗髓腔,收集悬液,1 000 r·min⁻¹离心 5 min,弃上清液,加入 1×红细胞裂解液裂解 10 min,离心后弃上清液,PBS 洗涤 2 次,加入含 10% 胎牛血清、10⁵ IU·L⁻¹青霉素、100 mg·L⁻¹链霉素、10 μ g·L⁻¹巨噬细胞集落刺激因子的 DMEM 培养基,5% CO₂、37 °C 培养,隔日换液 1 次,一周后以 100 μ g·L⁻¹ LPS 刺激诱导 M1 分化,24 h 后收集 RNA 以及蛋白。

2.4 qRT-PCR TRIzol 法提取 RNA,逆转录为 cDNA。qRT-PCR 扩增,以 GAPDH 为内参基因,采用 2^{- $\Delta\Delta C_T$} 法计算待测基因相对表达差异。所用引物序列见 Tab 1。

2.5 Western blot 收集组织样品,加入 RIPA 蛋白裂解液,匀浆后冰上裂解 30 min,12 000 r·min⁻¹离心 15 min 后收集上清液,得到总蛋白样品。电转印法将电泳条带转移到 PVDF 膜上。5% 牛血清白蛋白封闭 PVDF 膜非特异抗原,TBST 洗涤,依次加一抗、孵育、洗涤、二抗、孵育、洗涤。ECL 试剂盒显影曝光。使用 ImageJ 软件对图像结果进行定量分析。

Tab 1 Primer sequences for qRT-PCR

Gene	Forward primer (5'→3')	Reverse primer (5'→3')
<i>Nos2</i>	ACATCGACCCGTCCACAGTAT	CAGAGGGGTAGGCTTGTCTC
<i>Il1b</i>	GCAACTGTTCTGAACTCAACT	ATCTTTTGGGCTCCGTCAACT
<i>Il6</i>	TCTATACCACTTCACAAGTCGGA	GAATTGCCATTGCACAACCTTTT
<i>Il10</i>	CTTACTGACTGGCATGAGGATCA	GCAGCTCTAGGAGCATGTGG
<i>Tnf</i>	CAGGCGGTGCTATGTCTC	CGATCACCCCGAAGTTCAGTAG
<i>Arg</i>	TGTCCCTAATGACAGCTCCTT	GCATCCACCCAAATGACACAT
<i>CD206</i>	CTCTGTTGAGCTATTGGACGC	CGGAATTTCTGGGATTACAGCTTC
<i>Gapdh</i>	AACTCCCACTCTTCCACCTTCC	TCCACCACCCTGTTGCTGTAG

2.6 HE染色 取部分肝脏组织固定于4%多聚甲醛中,石蜡包埋后切片,行HE染色,脱水、透明后以中性树脂封片。使用光学显微镜观察并拍照保存。

2.7 统计学方法 采用SPSS 16.0软件进行数据统计分析。结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示;两组间比较采用 t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 RASAL2敲除减轻MASH小鼠肝脏炎症 与正常饮食(normal control diet, NCD)组相比,高脂饮食(high-fat diet, HFD)组小鼠肝脏出现大量脂肪空泡样改变,细胞排列紊乱,可见较多炎症细胞浸润。与野生型(wild type, WT)小鼠相比,RASAL2敲除(knockout, KO)小鼠肝脏脂肪变性程度明显减轻,这与我们之前的研究一致^[5]。与WT-HFD小鼠相比,KO-HFD小鼠的肝脏炎症细胞浸润明显减少(Fig 1A)。qRT-PCR检测显示肝脏促炎基因 $Il6$ 、 Tnf 、 $Il1b$ 表达明显减低,抗炎基因 $Il10$ 表达明显增加(Fig 1B)。

3.2 RASAL2敲除小鼠肝脏免疫细胞浸润及巨噬细胞M1极化减少 如Fig 2所示,与WT-HFD小鼠相比,KO-HFD小鼠肝脏多种免疫细胞浸润(中性粒细胞、单核细胞、CD4⁺T细胞、巨噬细胞)均明显减少,其中以巨噬细胞减少最为明显,包括肝脏常驻库普弗细胞(Kupffer cell, KC)与单核细胞来源巨噬细胞(monocyte-derived macrophages, MoMF)均明显减少($P<0.01$)。进一步对巨噬细胞极化状态进行检测分析,结果显示KO-HFD小鼠M1型巨噬细胞比例较WT-HFD小鼠明显减少($P<0.05$)。以上结果表明RASAL2敲除可以明显减少肝脏免疫细胞浸润,并且能够抑制巨噬细胞M1极化。

3.3 RASAL2敲除抑制BMDM向M1极化 进一步提取小鼠骨髓细胞,巨噬细胞集落刺激因子诱导

分化7 d,显微镜下观察BMDM呈贴壁生长,细胞呈不规则或梭形(Fig 3A)。以LPS刺激24 h诱导M1极化,qRT-PCR检测M1极化标志 $Nos2$ 、 $Il1b$ 、 $Il6$ 、 Tnf 以及M2极化标志 $Arg1$ 、 $CD206$ 、 $Il10$ 基因表达情况,结果发现RASAL2敲除组BMDM M1极化标志基因表达明显降低而M2极化标志基因表达明显增加(Fig 3B)。以上结果表明RASAL2敲除可以抑制LPS诱导的BMDM向M1极化。

3.4 RASAL2敲除抑制NF- κ B信号通路活化 NF- κ B信号通路是调控巨噬细胞极化的关键机制,我们进一步对LPS刺激的BMDM细胞中的NF- κ B信号通路活化状态进行检测。如Fig 4所示,与WT对照组相比,RASAL2敲除组p-IKK β /IKK β 、p-I κ B α /I κ B α 、p-P65/P65比值均明显降低,以上结果表明RASAL2敲除可以阻滞NF- κ B信号通路的活化。

4 讨论

RASAL2蛋白隶属于RasGAP家族,含有PH、C2、GAP 3个结构域,其中PH结构域和C2结构域的功能尚未完全明确,而GAP结构域可以催化GTP水解从而发挥对RAS活性的负性调节作用^[7-8]。既往关于RasGAP的研究多数与肿瘤相关,近年来的研究显示RasGAP与免疫调控密切相关。研究发现RASAL3敲除小鼠NKT细胞数量明显减少,并且NKT细胞IL-4和IFN- γ 的产生减少;此外,RASAL3被发现高表达于中性粒细胞,敲除RASAL3导致中性粒细胞过度炎症反应^[9-10]。Ying等^[11]发现RASA1作为miR-223的靶基因参与PPAR γ 调控的巨噬细胞M2极化过程。Carnevale等^[12]发现RASA2是T细胞的信号检查点,RASA2敲除能够增强嵌合抗原受体T细胞的细胞毒性活性。作为同一蛋白家族成员,RASAL2也被发现可以影响脂肪组织M2型巨噬细胞浸润^[4]。本研究发现RASAL2敲除小鼠肝脏炎症

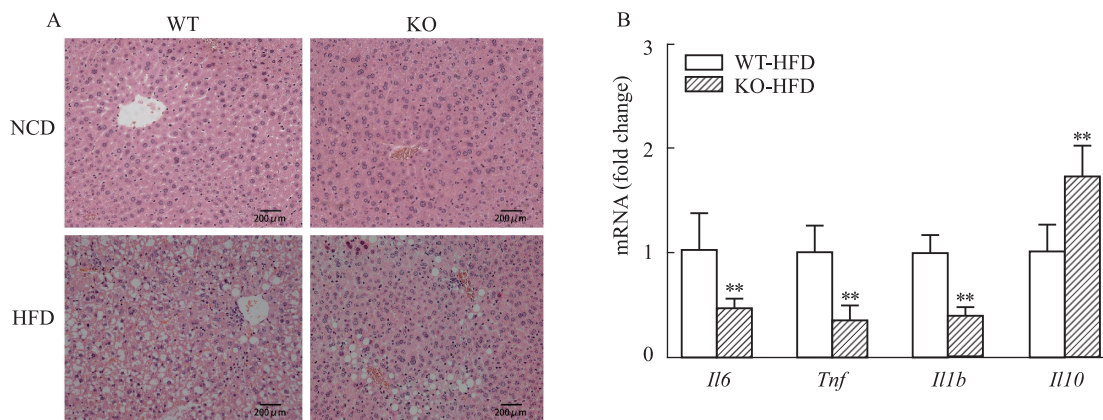


Fig 1 RASAL2 knockout ameliorated liver inflammation in HFD-induced MASH mice ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

A: Representative images of liver sections stained by HE staining ($\times 200$); B: Expressions of inflammatory genes in the livers of each group.

** $P<0.01$ vs WT-HFD group.

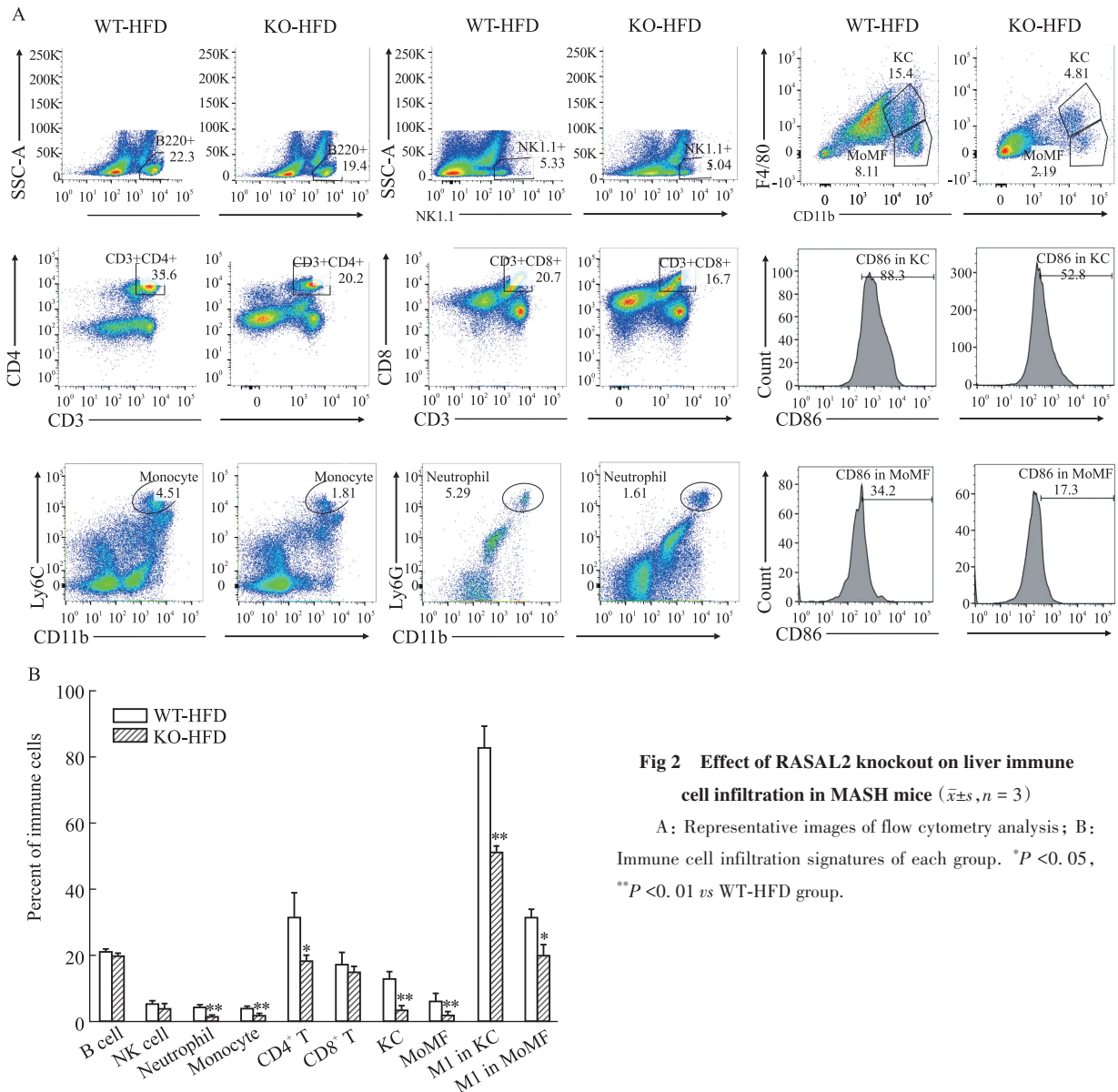


Fig 2 Effect of RASAL2 knockout on liver immune cell infiltration in MASH mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

A: Representative images of flow cytometry analysis; **B:** Immune cell infiltration signatures of each group. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs WT-HFD group.

细胞浸润减少,促炎基因 *Il6*、*Tnf*、*Il1b* 表达减低,抗炎基因 *Il10* 表达增加;流式细胞分析显示中性粒细胞、单核细胞、CD4⁺T 细胞、巨噬细胞浸润均明显减少;表明 RASAL2 可以减轻肝脏免疫炎症损伤。

免疫细胞浸润是 MASH 的关键特征。巨噬细胞是肝脏最主要的免疫细胞,约占肝脏所有细胞数量的 10%~20%,人体全身巨噬细胞总量的 80%~90%。巨噬细胞浸润是 MASH 发展的早期事件,并且与疾病进展相关。根据不同微环境巨噬细胞可极化为不同亚型,在 LPS 或干扰素等刺激下分化为 M1 型巨噬细胞,高表达诱导型一氧化氮合酶,释放 IL-1、IL-6、TNF- α 等促炎因子,促进炎症发展;在 IL-4、IL-13 等刺激下分化为 M2 型巨噬细胞,高表达精氨酸酶-1、CD206、YM-1,分泌 IL-10 等抗炎因子,具有抗炎、促进组织修复的作用^[13]。巨噬细胞还可以

通过招募 B 细胞、T 细胞、中性粒细胞等其他炎症细胞以及产生过氧亚硝酸盐、超氧化物等活性氧参与 MASH 炎症损伤过程;此外,巨噬细胞分泌的 IL-6、TGF- β 作为肝星状细胞与肌成纤维细胞的激活因子促进 MASH 肝纤维化的发生发展^[14]。本研究发现 RASAL2 敲除小鼠肝脏巨噬细胞浸润减少,M1 型巨噬细胞比例降低,提取 BMDM 并以 LPS 刺激后发现敲除 RASAL2 明显抑制 M1 极化;表明 RASAL2 可以调控巨噬细胞极化,敲除 RASAL2 通过抑制巨噬细胞向促炎 M1 型极化减轻 MASH 肝脏炎症。

巨噬细胞极化调控机制复杂,涉及多个信号通路、转录因子及表观遗传调控;如 miR-125、miR-155 等与 M1 极化相关,而 miR-147、miR-187 等与 M2 极化相关^[15];涉及的调控通路包括 NF- κ B 通路、JAK-STAT 通路、TGF- β /Smads 通路、PPAR γ 通路、Notch

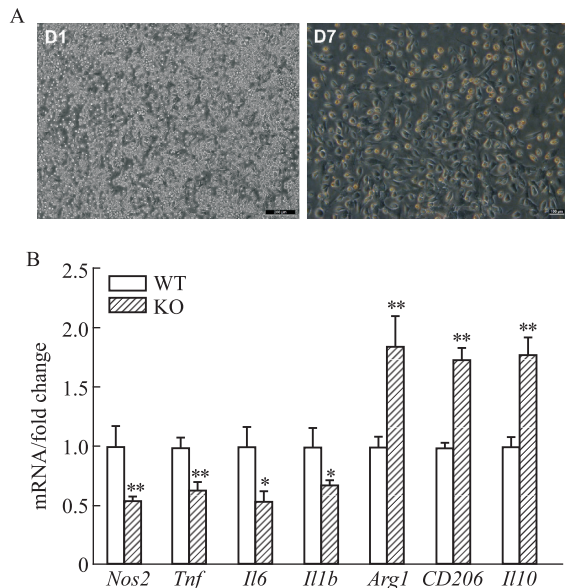


Fig 3 Effect of RASAL2 knockout on

BMDM polarization ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

A: Representative microscopic images of BMDM differentiation at 100 × magnification; B: The gene expression of M1 and M2 macrophage markers in LPS-stimulated BMDM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs WT group.

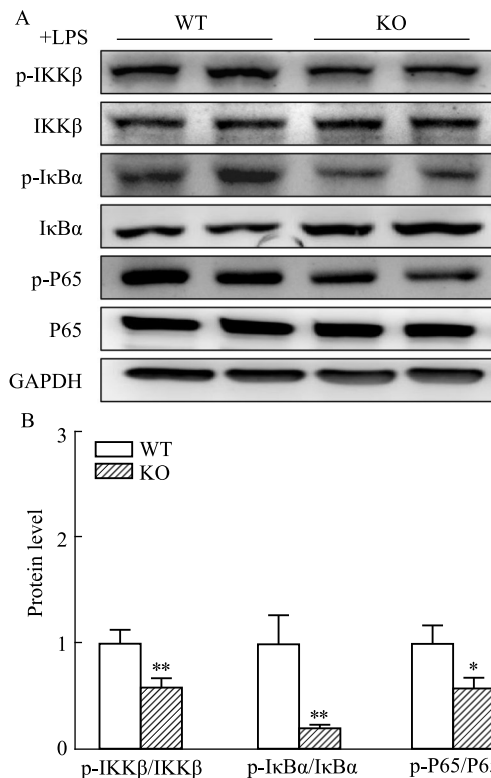


Fig 4 RASAL2 knockout inhibited NF-κB pathway

activation in LPS-stimulated BMDM ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

A: Western blot detection of NF-κB pathway-related proteins; B: Quantification analysis of Western blot results. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs WT group.

信号,其中NF-κB通路是巨噬细胞极化调控的关键信号通路^[16]。NF-κB由RelA(P65)、RelB、c-Rel、

P100/P52和P105/P50五个家族成员中的两个同源或异源二聚体构成,其中P50/P65异源二聚体是经典NF-κB信号通路的核心转录因子^[17-18]。NF-κB受到上游分子IKK与IκB的严格调控。IKK由两种激酶(IKKα、IKKβ)以及一种调节亚基(IKKγ)组成,激活的上游受体首先磷酸化激活IKKβ,进而磷酸化IκB,解除IκB对NF-κB的抑制,使P50/P65异源二聚体释放并易位至细胞核中,导致巨噬细胞向M1极化以及大量炎症基因表达^[17]。本研究发现在LPS刺激的BMDM细胞中,RASAL2敲除明显抑制IKK与IκB磷酸化,P65磷酸化明显减少,表明RASAL2敲除能够抑制NF-κB通路活化,提示RASAL2可能通过NF-κB信号通路调控巨噬细胞极化。

综上所述,RASAL2敲除能够减轻高脂饲养诱导的MASH小鼠肝脏炎症损伤,减少中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞等多种炎症细胞浸润,阻滞巨噬细胞M1极化,其机制可能与抑制NF-κB信号通路有关。本研究首次阐明RASAL2对MASH肝脏炎症的影响并初步探讨了其可能机制,研究结果有助于深化对MASH发病机制的认识,也为RASAL2作为MASH潜在干预靶点提供了理论依据。需要注意的是我们的研究对象仅限于小鼠以及小鼠来源的BMDM,研究结论是否可以推广到人类尚不确定。此外,RASAL2调控NF-κB信号通路的具体分子机制尚未明确。NF-κB信号通路是否是RASAL2调控巨噬细胞极化的唯一机制?巨噬细胞是否是RASAL2减轻MASH的唯一效应细胞?这些问题尚需后续研究进一步探讨。

参考文献:

- [1] Zhang X, Lau H C, Yu J. Pharmacological treatment for metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease and related disorders: Current and emerging therapeutic options [J]. *Pharmacol Rev*, 2025, **77**(2):100018.
- [2] 中国医药生物技术协会慢病管理分会,中国研究型医院学会肝病中西医结合专业委员会,中华医学会全科医学分会,等.代谢相关脂肪性肝病基层诊疗与管理指南(2025年)[J]. *中华肝脏病杂志*, 2025, **33**(5):422-33.
- [2] Chronic Disease Management Branch of China Medical Biotechnology Association, Chinese Research Hospital Society (Integrative Chinese and Western Medicine), Chinese Society of General Practice of Chinese Medical Association, et al. Guideline for diagnosis and management of metabolic dysfunction-associated fatty liver disease in primary care (2025) [J]. *Chin J Hepatol*, 2025, **33**(5):422-33.
- [3] Golob-Schwarzl N, Bettermann K, Mehta A K, et al. High keratin 8/18 ratio predicts aggressive hepatocellular cancer phenotype [J]. *Transl Oncol*, 2019, **12**(2):256-68.
- [4] Zhu X, Xie S, Xu T, et al. Rasal2 deficiency reduces adipogen-

- esis and occurrence of obesity-related disorders[J]. *Mol Metab*, 2017, **6**(6):494-502.
- [5] Ding H, Yu J H, Ge G, et al. RASAL2 deficiency attenuates hepatic steatosis by promoting hepatic VLDL secretion via the AKT/TET1/MTTP axis [J]. *J Clin Transl Hepatol*, 2023, **11** (2) : 261-72.
- [6] Wang P X, Ji Y X, Zhang X J, et al. Targeting CASP8 and FADD-like apoptosis regulator ameliorates nonalcoholic steatohepatitis in mice and nonhuman primates[J]. *Nat Med*, 2017, **23** (4):439-49.
- [7] Harrell Stewart D R, Clark G J. Pumping the brakes on RAS - negative regulators and death effectors of RAS [J]. *J Cell Sci*, 2020, **133**(3):jcs238865.
- [8] Raza Q, Choi J Y, Li Y, et al. Evolutionary rate covariation analysis of E-cadherin identifies Raskoll as a regulator of cell adhesion and actin dynamics in *Drosophila*[J]. *PLoS Genet*, 2019, **15**(2):e1007720.
- [9] Saito S, Kawamura T, Higuchi M, et al. RASAL3, a novel hematopoietic RasGAP protein, regulates the number and functions of NKT cells[J]. *Eur J Immunol*, 2015, **45**(5):1512-23.
- [10] Saito S, Cao D Y, Victor A R, et al. RASAL3 is a putative Ras-GAP modulating inflammatory response by neutrophils[J]. *Front Immunol*, 2021, **12**:744300.
- [11] Ying W, Tseng A, Chang R C, et al. microRNA-223 is a crucial mediator of PPAR γ -regulated alternative macrophage activation [J]. *J Clin Invest*, 2015, **125**(11):4149-59.
- [12] Carnevale J, Shifrut E, Kale N, et al. RASA2 ablation in T cells boosts antigen sensitivity and long-term function [J]. *Nature*, 2022, **609**(7925):174-82.
- [13] 王艳红, 田继华, 杨 佳, 等. 中介素通过激活 AMPK 信号通路对脂多糖诱导巨噬细胞极化的影响[J]. 中国药理学通报, 2022, **38**(2):196-201.
- [13] Wang Y H, Tian J H, Yang J, et al. Intermedin inhibits lipopolysaccharide-induced polarization of macrophages by activating AMPK signaling pathway [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2022, **38** (2):196-201.
- [14] Kazankov K, Jørgensen SMD, Thomsen K L, et al. The role of macrophages in nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, **16**(3): 145-59.
- [15] 周 琦, 孙慧娟, 于栋华, 等. 巨噬细胞 M1/M2 型极化在不同疾病中的作用机制[J]. 中国药理学通报, 2020, **36**(11): 1502-6.
- [15] Zhou Q, Sun H J, Yu D H, et al. Mechanisms of M1/M2 macrophage polarization in different diseases [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2020, **36**(11):1502-6.
- [16] Wang C, Ma C, Gong L, et al. Macrophage polarization and its role in liver disease[J]. *Front Immunol*, 2021, **12**:803037.
- [17] Peng M, Li N, Wang H, et al. Macrophages: subtypes, distribution, polarization, immunomodulatory functions, and therapeutics[J]. *MedComm* (2020), 2025, **6**(8):e70304.
- [18] Bai X, Guo Y R, Zhao Z M, et al. Macrophage polarization in cancer and beyond: from inflammatory signaling pathways to potential therapeutic strategies [J]. *Cancer Lett*, 2025, **625**: 217772.

RASAL2 knockout alleviates metabolic dysfunction-associated steatohepatitis by modulating macrophage polarization via NF- κ B signaling pathway

FAN Wen-jie¹, HU Cui^{2,3}, WANG Bing-bing^{2,3}, MEI Qiao^{2,3}, ZHANG Wei-ping^{2,3}, DING Hao^{2,3}

(1. Dept of Radiation Oncology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, 2. Dept of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, 3. Key Laboratory of Digestive Diseases of Anhui Province, Hefei 230022, China)

Abstract: Aim To investigate the role of RAS-like activator 2 (RASAL2) in metabolic dysfunction-associated steatohepatitis (MASH) and its underlying mechanism. **Methods** A murine MASH model was established by feeding a high-fat diet for 24 weeks. Hepatic inflammatory gene expression levels were quantified by qRT-PCR. Hepatic immune cell infiltration was assessed by flow cytometry. Bone marrow-derived macrophages (BMDMs) were isolated and cultured *in vitro*, followed by stimulation with lipopolysaccharide to induce M1 polarization. The expression levels of M1 polarization markers (*Nos2*, *Il1b*, *Il6*, *Tnf*, *Arg1*, *CD206*, *Il10*) were measured by qRT-PCR. The protein expressions of p-I κ B α , I κ B α , p-IKK β , IKK β , p-P65, and P65 were determined by Western blot. **Results** Compared with wild-type littermates, RASAL2-knockout mice exhibited markedly decreased

hepatic inflammatory cell infiltration, reduced hepatic mRNA levels of *Il1b*, *Il6*, and *Tnf*, and increased *Il10* expression. Flow cytometry revealed a reduction in hepatic immune cells infiltration and a decrease in M1 macrophages in RASAL2-knockout mice. *In vitro* experiments showed that RASAL2 knockout reduced the expression of M1 polarization marker genes (*Nos2*, *Il1b*, *Il6*, *Tnf*), increased the expression of M2 polarization marker genes (*Arg1*, *CD206*, *Il10*), and inhibited the activation of NF- κ B pathway. **Conclusions** RASAL2 knockout attenuates hepatic inflammatory injury in MASH and inhibits M1 macrophage polarization. Its mechanism may be related to the suppression of the NF- κ B signaling pathway.

Key words: MASH; RASAL2; macrophage; BMDM; M1 polarization; NF- κ B