

# 炎症相关靶点及非酒精性脂肪性肝炎治疗的研究进展

刘鑫<sup>1</sup>, 罗娅<sup>1</sup>, 徐敏轩<sup>2,3</sup>, 葛晨旭<sup>2,3</sup>, 刘建辉<sup>1\*</sup>, 谭君<sup>2,3\*</sup> (1. 重庆理工大学药学与生物工程学院, 重庆 400054; 2. 重庆第二师范学院生物与化学工程学院, 重庆 400067; 3. 三峡库区药用资源重庆市重点实验室, 重庆 400067)

**摘要:**非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)作为非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的重要亚型,逐渐严重威胁全球健康水平。但由于其发病机制复杂,目前尚无针对NASH的上市药物。该疾病不仅涉及脂肪堆积,还伴随着炎症和纤维化过程,其中炎症在NASH的恶化过程中扮演着重要角色,长期的炎症反应,会促进肝纤维化和脂质稳态失衡。因此,抑制炎症对改善NASH具有重要意义。笔者系统地综述丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK),核因子 $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B),非活性菱形蛋白(inactive rhomboid-like protein 2, iRhom2)和炎症小体等炎症信号通路在NASH发展过程中的作用机制,及Selonsertib, SHR0302和漆黄素等相关药物的研究现状,进一步探讨NASH治疗的新靶点研究进展,旨在为治疗NASH药物的研发提供基础。

**关键词:**非酒精性脂肪性肝炎;炎症信号通路;核因子 $\kappa$ B;非活性菱形蛋白2;炎症小体

doi:10.11669/cpj.2024.13.001 中图分类号:R96 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2024)13-1173-13

## Exploring Inflammation-Related Targets and Advances in the Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis

LIU Xin<sup>1</sup>, LUO Ya<sup>1</sup>, XU Minxuan<sup>2,3</sup>, GE Chenxu<sup>2,3</sup>, LIU Jianhui<sup>1\*</sup>, TAN Jun<sup>2,3\*</sup> (1. School of Pharmacy and Bioengineering, Chongqing University of Technology, Chongqing 400054, China; 2. School of Biological and Chemical Engineering, Chongqing University of Education, Chongqing 400067, China; 3. Chongqing Key Laboratory of Medicinal Resources in the Three Gorges Reservoir Region, Chongqing 400067, China)

**ABSTRACT:** Non-alcoholic steatohepatitis (NASH), a severe subtype of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), is emerging as a major health threat worldwide. However, due to its complex pathogenesis, there are currently no marketed drugs for NASH. The disease is not only involved in fat accumulation, but also accompanied by inflammation and fibrosis processes, in which inflammation plays an important role in the progression of NASH, long-term inflammatory response, can promote liver fibrosis and lipid homeostasis imbalance. Therefore, inhibiting inflammation is of great significance in improving NASH. This review systematically reviews the mechanism of action of inflammatory signaling pathways such as mitogen-activated protein kinase (MAPK), nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), inactive rhomboid-like protein 2 (iRhom2) and inflammasome in the development of NASH, and the current research status of related drugs such as Selonsertib, SHR0302 and fisetin, and further discusses the research progress of new targets for the treatment of NASH. It aims to provide new ideas for the research and development of drugs for NASH.

**KEY WORDS:** nonalcoholic steatohepatitis (NASH); inflammatory signaling pathway; nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B); inactive rhomboid like protein 2 (iRhom2); inflammasome

随着全球肥胖和代谢综合征患者日益增多,非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的患病率已攀升至25%,成为全球常见的慢性肝病<sup>[1]</sup>。NAFLD是指在排除酗酒和药物损伤等明确损肝因素的情况下,有超过5%肝细胞中出现脂质过度积累的临床病理综合征<sup>[2]</sup>。NAFLD具有多种分期,从非酒精性单纯性脂肪肝(non-alco-

holic fatty liver, NAFL)到非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH),甚至可能发展为晚期肝纤维化及肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)。NASH作为NAFLD中损伤较为严重的亚型,是NAFL发展到肝纤维化和肝癌的重要中间环节,约有20%的NAFL患者会进展到NASH<sup>[3-4]</sup>,普通人群中的NASH患病率也已上升到1.5%至6.45%之

**基金项目:**国家自然科学基金项目资助(82200652, 81703527);重庆市自然科学基金创新发展联合基金重点项目资助(CSTB2022NSCQ-LZX0053)

**作者简介:**刘鑫,女,硕士研究生 研究方向:药理学 \*通讯作者:刘建辉,男,博士,教授 研究方向:药理学 Tel: (023)62563190; 谭君,男,博士,教授 研究方向:药理学 Tel: (023)62653536

间<sup>[2]</sup>,更令人担忧的是,NASH患者中有很一部分(约20%)会发展为肝硬化<sup>[3,4]</sup>。NASH/NAFLD是过去20年增长最快的肝移植适应证<sup>[5]</sup>,对人类健康构成严重威胁。因此,深入研究NASH的发生和发展机制以及寻找有效的干预药物尤为重要。

NASH是一种与肝脏代谢失调和炎症相关的慢性肝病。其典型病例中,肝细胞呈现脂肪变性和气球样改变,伴有急性和慢性小叶炎症,可能进一步发展为肝纤维化<sup>[2,6]</sup>。尽管其发病机制相当复杂,尚未完全阐明,但目前广为接受的是“多重打击”理论。该理论认为,多种致病事件同时发生,包括胰岛素抵抗、脂肪毒性、氧化应激、线粒体功能障碍、内源性免疫失调、细胞因子分泌以及微生物群失调等,共同导致NASH的发生<sup>[7]</sup>。

目前的主要治疗手段是调整饮食和加强锻炼,以减轻体重来改善NASH<sup>[8]</sup>。然而,只有不到50%的患者能够通过这

种方式来改善NASH<sup>[4]</sup>,因此开发有效的NASH治疗药物对改善患者的健康状况至关重要。目前在研的抗NASH药物主要分为3大类<sup>[9]</sup>:①靶向代谢的药物,包括过氧化物酶体增殖物激活受体( peroxisome proliferators-activated receptor, PPAR)激动剂、乙酰辅酶A羧化酶( acetyl-CoA carboxylase, ACC)抑制剂、法尼醇X受体( farnesoid X receptor, FXR)激动剂,通过改善胰岛素敏感性、抑制脂肪合成酶和刺激脂肪酸分解代谢等途径缓解疾病;②靶向炎症的药物,通过抑制炎症细胞招募、阻断炎症信号传导、抗氧化和内质网应激以及抑制肝细胞凋亡等途径作用;③具有抗纤维化作用的药物,通过靶向肝星状细胞( hepatic stellate cells, HSC)、减少肝脏中胶原沉积和增强纤维分解等发挥作用。如今在研的药物众多,其中抗代谢类药物占比最大,超过总体的60%。部分在研药物已经进入了III期临床,但是更多的药品临床试验并未体现出理想的有效性和安全性。部分NASH药物的研发情况见表1。

表1 在研非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的候选药物信息表

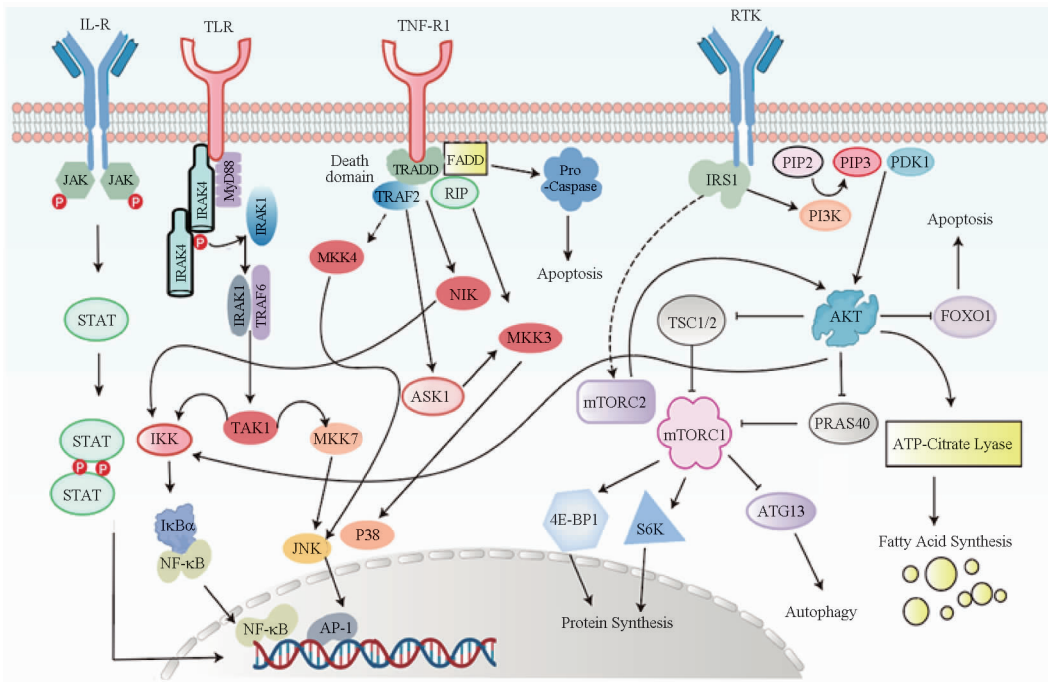
候选药物	研发公司	作用靶点	研发情况
Seladelpar	CymaBay	PPAR- $\delta$	服药增加了界面性肝炎,II期临床试验暂停 <sup>[10]</sup>
Pioglitazone	Takeda	PPAR- $\gamma$	药物增加了体重、外周水肿、心血管事件和膀胱癌风险 <sup>[11]</sup>
Elafibranor	Genfit	PPAR- $\alpha/\delta$	II期临床试验未能达到病理改善的关键终点 <sup>[12]</sup>
Firsocostat	Gilead	ACC	在部分接受ACC抑制剂治疗的患者中,观察到血清甘油三酯升高 <sup>[13]</sup>
Obeticholic acid	Intercept	FXR	服药后观察到瘙痒和胆固醇升高,还可能具有肝毒性 <sup>[14]</sup>
Cilofexor	Gilead	FXR	单一疗效不佳,瘙痒发生率为20%~29% <sup>[15]</sup>
Semaglutide	Novo Nordisk	GLP-1	肝纤维化改善不明显,并出现胃肠道副作用 <sup>[15]</sup>
Aldafermin(NGM282)	NGM Bio	FGF19	出现轻中度不良反应,临床试验尚未达到主要终点 <sup>[16]</sup>
MSDC-0602K	Cirius Therapeutics	MPC	II期临床试验未达到主要终点 <sup>[17]</sup>
Elobixibat	Albireo	IBAT	服药患者的ALT水平和肝脏脂肪含量无明显变化 <sup>[18]</sup>

注:PPAR- $\delta$ -过氧化物酶体增殖物激活受体 $\delta$ ;PPAR- $\gamma$ -过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ ;PPAR- $\alpha/\delta$ -过氧化物酶体增殖物激活受体 $\alpha/\delta$ ;ACC-乙酰辅酶A羧化酶;FXR-法尼醇X受体;GLP-1-胰高血糖素样肽-1;FGF19-成纤维细胞生长因子19;MPC-线粒体丙酮酸转运载体;IBAT-回肠胆汁酸转运蛋白;ALT-谷丙转氨酶。

由此可见,NASH药物的研发面临着诸多挑战,这与其复杂的发病机制——“多重打击”密切相关。在这些“多重打击”中,炎症在NASH的恶化过程中扮演着至关重要的角色<sup>[19]</sup>。这是因为肝脏拥有密集的吞噬细胞网络,能快速感知肝细胞应激和损伤信号,从而触发促炎级联反应。炎症介质能够激活HSC,导致细胞外基质过度沉积,进一步发展为进行性肝纤维化。同时,激活的HSC会产生促炎介质,使肝脏炎症持续存在,导致炎症的慢性循环,并形成瘢痕组织,最终可能导致器官衰竭<sup>[20-21]</sup>。此外,炎症的发生还会促进肝细胞CD36蛋白质表达,加重脂肪酸积聚,进一步促进NASH进展<sup>[22]</sup>。因此,抑制炎症对于NAFLD/NASH的预防和治疗具有重要意义。然而,值得注意的是,炎症在组织修复和防御病原体入侵方面也起着重要作用。因此,深入理解NASH相关的炎症信号通路如核因子 $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B,NF- $\kappa$ B)和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)等,并找到能够有效靶向特定炎症的靶点,将为治疗NASH提供更多的思路 and 新的策略。

## 1 NASH涉及的炎症信号通路

炎症作为免疫系统对感染或创伤的正常生理反应,有助于引导免疫系统修复受伤组织并抵抗外界病原体入侵,然而,低慢性炎症会导致疾病进展。过量的毒性脂质主要是游离脂肪酸(free fatty acid,FFA)可引起细胞应激,并触发肝细胞凋亡的特定信号,多种类型的免疫细胞被招募到损伤部位,促进NASH的发生。此外,肝脏炎症又与纤维化程度密切相关。大量临床研究表明:坚持抗炎模式饮食能显著降低大多数肝脏炎症标志物的严重程度,对肝脏健康起到保护作用<sup>[23]</sup>。为了进一步降低与炎症反应失衡相关的风险,准确识别引发炎症的潜在治疗靶点至关重要<sup>[24]</sup>。目前比较经典的NASH相关炎症信号通路主要包括:蛋白酪氨酸激酶(janus kinase,JAK)/信号转导及转录激活蛋白(signal transducers and activators of transcription,STAT)通路、MAPK信号通路、NF- $\kappa$ B信号通路、Toll样受体(toll-like receptor,TLR)通路以及磷脂酰肌醇激酶(phosphatidylinositol 3-kinase,PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B,Akt)通路,见图1。



Death domain – 死亡结构域; Apoptosis – 凋亡; Fatty acid synthesis – 脂肪酸合成; Autophagy – 自噬; Protein synthesis – 蛋白质合成; Pro-caspase – 半胱天冬酶前体; ATP-citrate Lyase – ATP 柠檬酸裂合酶; IL-R – 白介素受体; JAK – 蛋白酪氨酸激酶; STAT – 信号转导及转录激活蛋白; TLR – Toll 样受体; IRAK1 – 白细胞介素 1 受体相关激酶 1; IRAK4 – 白细胞介素 1 受体相关激酶 4; MyD88 – 接头蛋白髓样分化因子 88; TRAF2 – TNF 受体相关因子 2; TRAF6 – TNF 受体相关因子 6; IκB – NF-κB 抑制蛋白; IKK – κB 抑制因子激酶; TAK1 – 转化生长因子激酶 1; MKK4 – MAPK 激酶 4; MKK7 – MAPK 激酶 7; JNK – c-Jun 氨基末端激酶; AP-1 – 活化蛋白 1; ASK1 – 信号调节激酶 1; TRADD – 肿瘤坏死因子受体相关死亡结构域蛋白; FADD – 死亡域蛋白; NIK – NF-κB 诱导激酶; RIP – 受体相互作用蛋白; NF-κB – 核因子 κB; IRS1 – 胰岛素受体底物 1; PI3K – 磷脂酰肌醇激酶; PIP2 – 磷脂酰肌醇二磷酸; PIP3 – 磷脂酰肌醇三磷酸; PDK1 – 3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1; AKT – 蛋白激酶 B; mTORC1 – 雷帕霉素靶蛋白复合物 1; mTORC2 – 雷帕霉素靶蛋白复合物 2; FOXO1 – 叉头框蛋白 O1; TSC1/2 – 结节性硬化症蛋白复合物 1/2; S6K – p70 核糖体 S6 激酶; PRAS40 – 40 kD 的富含脯氨酸 Akt 底物; ATG13 – 自噬相关蛋白 13; 4E-BP1 – 真核翻译起始因子 4E 结合蛋白 1。

图 1 NASH 的相关炎症信号通路

### 1.1 JAK-STAT 信号通路

细胞因子与活化的 JAK 相关受体结合后,引起受体分子的二聚化,使得与受体偶联的 JAK 相互接近,并通过交互的酪氨酸磷酸化而活化,活化的 JAK 催化受体本身的酪氨酸磷酸化,并形成相应的转录因子 STAT 停靠位点,使 STAT 通过 SH2 结构域即 Src 同源结构域(src homology domain)与受体结合,并被 JAKs 磷酸化激活。随后,活化的 STAT(同/异二聚体)转移入核,与相应的靶基因启动子结合,进而激活相应的基因转录和表达<sup>[15]</sup>。

### 1.2 MAPK 信号通路

接收到来自细胞外的信号或受到应激刺激时,MAPK 信号级联开始启动。这一过程涉及 3 种激酶的依次激活:MAPK 激酶的激酶(MEKK 或 MKKK)、MAPK 激酶(MEK 或 MKK)和 MAPK。这些激酶通过连续地激活传递信号至下游应答分子。最终,活化的 MAPK 进入细胞核内,参与调节转录过程<sup>[24]</sup>。

### 1.3 NF-κB 信号通路

在正常情况下,NF-κB 抑制蛋白(inhibitor of NF-κB, IκB)在胞质中与 NF-κB 结合,形成无活性的三聚体。当受到刺激时,典型的 NF-κB 信号级联通过肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor, TNFR)、Toll 样受体(toll-like

receptor, TLR)等在细胞膜上启动。受体近端招募衔接蛋白,通过肿瘤坏死因子受体相关因子(tumor necrosis factor receptor-associated factor, TRAF)/受体相互作用蛋白(receptor-interacting protein, RIP)复合物将信号传导给 κB 抑制因子激酶(inhibitor of κB kinase, IKK),引发经典的 NF-κB 二聚体信号传导:IκB 被 IKK 磷酸化并随后降解,释放出 NF-κB/Rel 复合体。最后,磷酸化的 NF-κB 二聚体转移至核内,诱导靶基因转录,进而促进炎症因子的转录和释放<sup>[25]</sup>。

### 1.4 TLR 信号通路

当配体如脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)与 TLRs 结合时,会引起构象变化,这使得受体的 Toll/IL-1 受体(Toll/IL-1 receptor, TIR)结构域与接头蛋白髓样分化因子 88(myeloid differentiation factor88, MYD88)相互作用。MyD88 通过死亡结构域相互作用招募白细胞介素 1 受体相关激酶 4(interleukin 1 receptor associated kinase 4, IRAK4)。IRAK4 进一步磷酸化 IRAK1 和 IRAK2,激活 TRAF6。TRAF6 的激活导致 NF-κB 信号通路和 MAPK 信号通路的激活,参与免疫炎症反应<sup>[26-27]</sup>。

### 1.5 PI3K/Akt 通路

受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK)被激活时,会募集并活化磷脂酰肌醇激酶(phosphatidylinositol-

3-kinase, PI3K)。PI3K 磷酸化磷脂酰肌醇二磷酸( phosphatidylinositol diphosphate, PIP2) 生成第二信使 PIP3。PIP3 与 3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1 (3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1, PDK1) 在细胞质膜上结合, 进而磷酸化 Akt, 使其部分激活。同时, RTK 信号还可激活哺乳动物雷帕霉素靶蛋白( mammalian target of rapamycin, mTOR), 使 Akt 完全激活。Akt 可抑制结节性硬化症蛋白复合物( tuberous sclerosis complex, TSC) 以及富含脯氨酸的 Akt 底物( PRAS40) 的功能, 从而激活 mTORC1。在营养丰富的条件下, mTORC1 通过磷酸化使自噬调节复合物失活, 从而抑制自噬<sup>[28]</sup>。

此外, Akt 还可以通过磷酸化 IKK 来激活 NF- $\kappa$ B 信号通路, 从而促进炎症因子的释放<sup>[29]</sup>。当 Akt 被激活时, 它会磷酸化叉头转录因子( forkhead transcription factor, FOXO), 磷酸化的 FOXO 与 14-3-3 蛋白结合后构象改变, 导致其从细胞核输出。这一过程导致 FOXO 失去对细胞周期及细胞凋亡的调控作用, 从而促进细胞增殖<sup>[30]</sup>。

## 2 与 NASH 治疗相关的炎症靶点

### 2.1 JAK-STAT 信号通路相关靶点

**2.1.1 JAK-STAT 信号通路在 NASH 中的作用机制** JAK-STAT 信号通路是由多种细胞因子刺激的信号转导通路, 参与细胞的增殖、分化、凋亡及免疫调节等重要生物学过程。其主要由 3 部分组成: 接收信号的酪氨酸激酶相关受体、传递信号的 JAK 和产生效应的转录因子 STAT。其中 JAK 具有 7 个保守的 JH 结构域即 JAK 同源结构域( JAK homology domain) 及 JAK 同源结构域( JAK homology domain), 无跨膜结构域。JAK 具有双激酶结构域: C 末端具有酪氨酸激酶活性的 JH1 结构域, 然后是假激酶结构域( JH2)。N-末端的 5 个 JH 域不具有酪氨酸激酶活性, 分别构成条带 4.1 同源物和 ERM( four-point-one, ezrin, radixin, moesin, FERM) 结构域( JH4, 5, 6, 7) 和 SH2 结构域, 参与 JAKs 与不同受体的结合<sup>[31]</sup>。JAK 激酶家族包括: JAK1、JAK2、JAK3 和 TYK2。而 STAT 家族则包括 7 个成员: STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5a、STAT5b 和 STAT6<sup>[32]</sup>。不同的受体组合, 形成不同的 JAK 二聚物, 可以激活不同的 STAT 蛋白, 进而激活不同的下游通路。STATs 具有 7 个保守特征: 氨基末段结构域、卷曲螺旋结构域、DNA 结合域、接头结构域、SH2 结构域, 紧跟着 1 个酪氨酸激活域, 以及 C 末端的转录激活域<sup>[31]</sup>。研究表明, STAT1 的激活能促进细胞凋亡和 M1 型巨噬细胞极化, 从而加剧 NASH 炎症的进展<sup>[25, 32]</sup>。STAT3 的激活不仅促进肿瘤生长和进展, 还在 HSC 的活化和肝纤维化中发挥重要作用<sup>[33-34]</sup>。此外, STAT5 能够诱导 M1 型巨噬细胞极化, 并且参与肿瘤的增殖、侵袭和存活。

**2.1.2 靶向 JAK-STAT 的药物研究** 溴结构域和额外末端结构域( bromodomain and extra-terminal domain, BET) 抑制剂 I-BET151, 在 LPS 诱导的人巨噬细胞和小鼠骨髓源性巨噬细胞中<sup>[35]</sup>, 以基因特异性方式抑制相关炎症基因表达, 如

STAT1 和 CXCL10。在 STAM-NASH 模型小鼠中测试 I-BET151, 实验发现 I-BET151 降低了模型小鼠的 NAFLD 活动评分( NAS), 减少了肝脏切片的小叶炎症和肝细胞肿胀。这表明 BET 抑制剂降低 STAT1 等炎症基因表达可能为 NASH 的治疗提供新策略<sup>[36]</sup>。

蛋白酪氨酸磷酸酶 1B( protein tyrosine phosphatase 1B, PTP1B) 是一种免疫调节剂, 通过控制 JAK-STAT 途径中的 JAK2 和 TYK2 去磷酸化来控制细胞因子介导的信号。研究表明, PTP1B 缺陷型小鼠对炎症刺激的反应加剧, 巨噬细胞 M1 极化标志物的表达增加, 更快地发展为 NASH<sup>[37]</sup>。此外, NASH 的演变过程导致肝脏 NK 细胞被激活, 活化的 NK 细胞具有直接的细胞毒性以及促炎细胞因子分泌能力, 这可以激活 JAK-STAT1/3 轴和 NF- $\kappa$ B 信号, 从而诱导肝细胞损伤, 促进 NASH 的发展。因此, 调节 NK 细胞可作为治疗 NASH 的一种潜在策略<sup>[38]</sup>。

JAK 抑制剂 SHR0302 抑制了 JAK1-STAT3 的磷酸化, 对 HSC 细胞的活化、增殖和迁移具有抑制作用, 并诱导 HSC 细胞凋亡。此外, 用 SHR0302 处理后, I 型胶原的表达显著降低。这些发现表明 SHR0302 可能具有通过靶向 HSC 细胞功能, 减轻肝纤维化的潜力<sup>[39]</sup>。新型小分子 C188-9 作为 STAT3 抑制剂, 在细胞系和小鼠体内不仅显示了预防和抗肿瘤活性, 而且显著缓解了 NASH 和肝细胞损伤, 总体改善了肝功能<sup>[40]</sup>。

然而, STAT3 对肝细胞损伤的影响是复杂的: 一方面能够抑制促炎细胞因子, 如肿瘤坏死因子  $\alpha$ ( tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 和  $\gamma$ -干扰素( interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) 的表达; 另一方面又会抑制肝保护因子如白细胞介素-6( Interleukin-6, IL-6)、IL-22 的产生<sup>[28]</sup>。趋化素( chemerin) 作为脂肪因子, 通过其受体 CMKLR1 的介导在肥胖的发生发展中起重要作用。研究表明过量的 chemerin/CMKLR 可能通过调节 JAK2-STAT3 磷酸化, 降低 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  等炎症因子的表达, 促进自噬和减轻氧化应激, 改善 NASH 病理表型<sup>[41]</sup>。在高脂饮食( HFD) 喂养建立的 NASH 模型小鼠中研究发现, 过表达 miR-142-5p 可以抑制胸腺基质淋巴细胞生成素( TSLP)-JAK-STAT3/5 通路, 使血清中的谷丙转氨酶( alanine transaminase, ALT) 和天冬氨酸转氨酶( aspartate transaminase, AST) 水平降低, 促炎因子、肝脂肪变性和肝组织纤维化减少, 而抗炎因子增加, 从而减缓 NASH 的进展<sup>[42]</sup>。

### 2.2 MAPK 信号通路相关靶点

**2.2.1 MAPK 信号通路在 NASH 中的作用机制** MAPK 是因细胞在受到生长因子等丝裂原刺激时被激活而得名。MAPKs 都有丝氨酸/苏氨酸激酶结构域, 两侧是不同的氮末端和碳末端区域, 存在不同的附加结构域, 包括反式激活结构域( TAD)、核定位序列( NLS) 和 ERK3/4 中的保守区( C34) 结构域<sup>[43]</sup>。MAPK 可分为 4 个亚族 ERK1/2、JNK( c-Jun 氨基末端激酶)、p38 和 ERK5, 分别代表 4 条经典的 MAPK 通路。

其中 JNK 和 p38 两条通路与炎症反应紧密相关。当

MAPK 通路被激活时,可以磷酸化 c-Jun 和 ATF-2 家族,进而活化激活蛋白-1 (activator protein-1, AP-1),作为启动基因转录的分子开关。活化的 AP-1 可以调控多种炎症因子的表达,如:IL-6、IL-8、TNF- $\alpha$ 、趋化因子 MCP-1、黏附分子 ICAM-1 等,从而导致 NASH 的发生发展<sup>[44]</sup>。

**2.2.2 靶向 MAPK 的药物研究** 凋亡信号调节激酶 1 (apoptosis signal-regulating kinase 1, ASK1) 是 MAPKKK 家族的成员,能够激活下游的 JNK 和 p38 信号通路。Selonsertib 作为一种口服的 ASK1 抑制剂,由美国 Gilead 公司研发,II 期临床试验显示,selonsertib 可显著缓解 NASH 和 2~3 级肝纤维化患者的纤维化程度<sup>[45]</sup>。然而,在对 NASH 晚期纤维化患者进行的随机、双盲、安慰剂对照 III 期试验中,selonsertib 没有表现出减少纤维化的作用<sup>[46]</sup>。目前,selonsertib 针对 NASH 的临床试验已终止,转而进行以糖尿病肾病为适应证的临床试验。而硫普罗宁 (tiopronin) 不仅可通过维持 ASK1-p38-p53 信号通路的正常活性,抑制胱天蛋白酶的激活来预防肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 的发生,还具有抗氧化作用。目前,其相关药物主要参与病毒性肝炎、药物性肝炎、脂肪肝和肝硬化的早期治疗<sup>[47]</sup>。谷胱甘肽硫-转移酶 Mu-2 (glutathione S-transferase mu 2, GSTM2) 作为 ASK1 的内源性抑制剂,在 NASH 进展过程中显著下调。GSTM2 可直接与 ASK1 结合,并抑制 ASK1 的二聚化和磷酸化,从而抑制其下游 JNK/p38 信号通路的激活。因此提高 GSTM2 活性有望成为治疗 NASH 的新策略<sup>[48]</sup>。

类似地,转化生长因子激酶 (transforming growth factor kinase, TAK) 作为 MAPKKK 家族的成员,也能够激活下游的 JNK 和 p38,促进 NASH 进展。E3 泛素连接酶 TRIM16 可通过促进 p-TAK1 的泛素化蛋白酶降解,进而抑制 JNK1/2 和 p38 的激活,改善 NASH 进展过程中的脂质积累和炎症<sup>[49]</sup>。E3 泛素连接酶 Trim31 与 MAP3K7 相互作用,通过泛素化修饰 MAP3K7 以促进其降解,降低 MAP3K7 丰度,抑制其下游信号级联,从而缓解 NASH<sup>[50]</sup>。

咖啡因 (caffeine) 可以阻断 MAPK 和转化生长因子  $\beta$  (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 信号通路,减轻 NASH 模型大鼠的肝脏胶原水平和肝脏纤维化程度<sup>[51]</sup>,流行病学研究和 Meta 分析也表明,每天喝 3 杯咖啡可以降低 NAFLD 和肝纤维化的风险<sup>[52]</sup>。双环醇 (bicyclol) 是一种抗炎、保肝药物,能够显著抑制 MAPK 和 NF- $\kappa$ B 信号通路的激活,改善 NAFLD 小鼠和 HL-7702 细胞的炎症反应<sup>[53]</sup>。另外,天然产物来源的金花茶多酚 (CFP)<sup>[54]</sup> 和中成药参苓白术散<sup>[55]</sup> 也展现出良好的抗炎效果,通过抑制 NF- $\kappa$ B 和 MAPK 信号通路的激活,下调促炎细胞因子表达,抑制巨噬细胞炎症,降低 NASH 大鼠的炎症因子水平。随着对易感基因研究的深入,patatin 样磷脂酶结构域蛋白 3 (patatin-like phospholipase domain containing-3, PNPLA3) 的 I148M 突变,被认为是与 NASH 相关性最强的基因突变,不仅因为其编码的蛋白具有脂肪酰化水解酶活性,更是因为其炎症的调节作用。最新研究发现,在长期棕榈酸 (PA) 诱导的 HepG2 细胞中,

PNPLA3 基因被 NF- $\kappa$ B 转录上调。PNPL3 基因的 I148M 突变能激活内质网应激的肌醇需要激酶 1 $\alpha$  (inositol-requiring enzyme 1 $\alpha$ , IRE1 $\alpha$ ) 信号,磷酸化 JNK1/2 并上调 c-Jun 表达,最终上调炎症细胞因子 (如 TNF- $\alpha$ ) 的表达<sup>[56]</sup>。

### 2.3 NF- $\kappa$ B 信号通路相关靶点

**2.3.1 NF- $\kappa$ B 信号通路在 NASH 中的作用机制** NF- $\kappa$ B 是指一组核转录因子 (RelA、RelB、NF- $\kappa$ B1/p50 和 NF- $\kappa$ B2/p52) 彼此组成的同源或异源二聚体,每个转录因子都含有保守的 Rel 同源结构域,该结构域由 N 端 300 个氨基酸组成。在受到细胞因子等刺激后,NF- $\kappa$ B 被激活易位到细胞核中引导调控多种细胞因子表达,参与扩大炎症和免疫反应。研究已证实,NF- $\kappa$ B 信号通路在许多慢性炎症性疾病有关,而 NASH 的病损程度更是与 NF- $\kappa$ B 的过度表达关系密切<sup>[24]</sup>。NF- $\kappa$ B 信号级联可以在涉及受体、IKK、NF- $\kappa$ B 二聚体、基因转录、翻译的任何阶段进行调节。为了有效调控 NF- $\kappa$ B 信号通路,多种潜在药物和策略被深入研究。

**2.3.2 靶向 NF- $\kappa$ B 的药物研究** HPN-01 是一种有效的选择性 IKK 抑制剂,具有潜在的抗 NASH 效果。临床前研究显示,HPN-01 能有效抑制参与肝脏脂质代谢、炎症和纤维化的多种信号通路,从而缓解 NASH 进展。目前 HPN-01 已进入一项 I 期临床研究 (NCT04481594),进行安全性和耐受性评估<sup>[57]</sup>。此外还有研究发现,一种选择性地与 NF- $\kappa$ B 亚基 p65 相互作用的跨膜多肽—AIP6,通过阻止转录活性复合物 p65/p50 的形成,抑制 NF- $\kappa$ B 亚单位 p65 和 DNA 结合,抑制其转录活性,在体外和体内实验中均显示出抗炎活性<sup>[58]</sup>。类似的是,膜联蛋白 Annexin A1 也可与转录因子 NF- $\kappa$ B p65 亚单位结合,抑制该信号通路激活,从而调节炎症状态<sup>[59]</sup>。Annexin A1 作为免疫细胞分泌的促分解分子,与其受体 ALX/FPR2 相互作用,抑制促炎介质的分泌,减少中性粒细胞向炎症部位的迁移,还可触发白细胞的凋亡<sup>[60]</sup>。

一些天然产物也体现出对 NF- $\kappa$ B 信号通路的调控效果。例如,植物来源的多酚和黄酮类化合物 (白藜芦醇、槲皮素、山柰酚等),它们可以下调 NF- $\kappa$ B 介导的炎症反应,并上调自噬和核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor E2 related factor 2, Nrf2) 介导的抗氧化防御,抑制细胞色素 CYP2E1 介导的活性氧 (ROS) 的产生,以防止 NAFL 向 NASH 的进展<sup>[61-62]</sup>。此外,靶向视黄醇结合蛋白 4 (retinol-binding protein, RBP4) 也为治疗 NASH 提供了新视角。RBP4 通过激活 NF- $\kappa$ B/TNF- $\alpha$  途径促进肝 Kupffer 细胞的 M1 极化。在喂养高脂饮食的小鼠中,沉默 RBP4 可减轻肝脏脂肪变性,以及实现肝功能正常化<sup>[63]</sup>。

### 2.4 TLR4 信号通路相关靶点

**2.4.1 TLR4 信号通路在 NASH 中的作用机制** TLR4 为 I 型跨膜受体,其胞外区可识别配体,由富含亮氨酸重复序列的氨基酸残基组成,结构域高度保守,呈马蹄形;跨膜区富含半胱氨酸,作用是胞膜定位;胞内区包含序列保守的结构域:即 Toll 受体结构域,可招募下游衔接蛋白从而启动下游通路,大量释放炎症因子<sup>[64]</sup>。

TLR4 在巨噬细胞和肝细胞中扮演着关键角色,通过识别来自病原微生物的病原体相关分子模式(PAMPs)和来自宿主的内源性危险相关的分子模式(DAMPs),引发免疫应答并启动一系列炎症信号级联,如 MAPK 和 NF- $\kappa$ B 信号通路,导致 IL-6 和 TNF- $\alpha$  等炎症细胞因子的释放增加,破坏肝脏免疫稳态,最终导致 NASH 发生<sup>[26-27]</sup>,因此,抑制 TLR 通路很可能成为治疗 NASH 患者炎症性肝损伤的有效手段。

**2.4.2 靶向 TLR4 的药物研究** 在临床前研究中,TLR4 拮抗剂 JKB-122 被证明具有抗纤维化和抗炎活性,并能保护肝脏,改善肝损伤<sup>[65]</sup>。另一种由二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)转化而来的化合物 Resolvin D1,可通过抑制 TLR4-MyD88 介导的 NF- $\kappa$ B 通路和 MAPK 信号通路显著抑制炎症反应,还可通过激活 Nrf2 通路增强抗氧化能力,显著减轻小鼠脂肪性肝炎<sup>[66]</sup>。

除此之外,从药用植物红景天中提取的苯丙烷苷类化合物红景天苷(salidroside),也是一种潜在的治疗 NASH 药物。它能通过下调肝细胞中 TLR4/MAPKs 通路保护肝细胞免受炎症性损伤<sup>[67]</sup>。另外,来源于天然海藻的岩藻黄质也具有抑制 TLR4 信号通路的潜力,在动物实验和临床随机双盲安慰剂对照试验中均观察到其改善 AST/ALT 水平、纤维化和肝脏脂肪变性的效果。因此,补充岩藻黄质对 NASH 治疗具有一定的积极作用<sup>[8]</sup>。中药复方祛痰活血方<sup>[68]</sup>通过上调细胞因子信号传导抑制蛋白(suppressor of cytokine signaling, SOCS),抑制 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路,可显著降低蛋氨酸及胆碱缺乏饮食(MCD)小鼠的血清中谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、总胆固醇(TC)和甘油三酯(TG)水平,减轻肝脏脂肪变性和炎症程度。

## 2.5 PI3K/AKT 信号通路相关靶点

**2.5.1 PI3K/AKT 信号通路在 NASH 中的作用机制** PI3K 是由催化亚基 p110 和调节亚基 p85 所组成的二聚体蛋白,其本身具有丝氨酸/苏氨酸(Ser/Thr)激酶活性,也具有磷脂酰肌醇激酶的活性。PI3K 二聚体构象改变而被激活,随后磷酸化 PIP2 产生 PIP3<sup>[69]</sup>。Akt 是丝/苏氨酸蛋白激酶, PDK1 和 Akt 的 PH 结构域结合 PIP3 并转移到细胞质膜上,紧接着 PDK1 磷酸化 Akt 的 Thr308 位点, mTORC2 磷酸化 Akt 的疏水基序 Ser473,使 Akt 活化<sup>[29]</sup>。

PI3K-Akt 途径是一个关键的信号转导途径,它响应细胞外信号刺激,激活 mTORC1,从而抑制自噬,促进细胞生长、分化相关基因的翻译<sup>[28]</sup>。此外,PI3K-Akt-FOXO 通路对细胞生长和凋亡起到重要调控作用。被 Akt 磷酸化的 FOXO 与 14-3-3 蛋白结合后其构象改变,失去调控细胞周期及细胞凋亡的作用,从而促进细胞增殖<sup>[20]</sup>。这些通路促进肌成纤维细胞的增殖和活化,促进胶原的分泌,进而导致肝脏纤维化和 NASH 的发展。此外, Akt 还能通过磷酸化 IKK 激活 NF- $\kappa$ B 信号通路,进一步促进炎症因子的释放<sup>[29]</sup>。

**2.5.2 靶向 PI3K/Akt 的药物研究** 针对这一重要通路,一些天然产物被发现具有潜在的治疗效果。例如,川芎嗪(tetramethylpyrazine, TMP),能够抑制 PI3K/Akt 和 ERK 途

径,从而抑制葡萄糖/胰岛素(glucose/insulin, Glu/Ins)诱导的 HSC 激活。TMP 还能上调基质金属蛋白酶 2(MMP-2),下调基质金属蛋白酶抑制剂(TIMP-1),影响 Glu/Ins 激活的 HSC 中的细胞外基质(ECM)稳态,从而抑制肝纤维化进程<sup>[70]</sup>。另外,金雀花碱的衍生物(cytisine derivatives)可靶向 PI3K/Akt/Smad 途径,下调 LX2 中的成纤维蛋白的表达,如: I 型胶原蛋白  $\alpha$ 1 (collagen type I alpha 1, COL1A1)、 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)、转化生长因子- $\beta$ 1 (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ 1)、结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)和 MMP-2,发挥抗纤维化作用,改善 NASH<sup>[71]</sup>。还有滨蒿内酯(scoparone),在 LPS 诱导的巨噬细胞中,通过抑制 ROS/P38/Nrf2 轴和 PI3K/Akt/mTOR 通路来调节自噬并抑制炎症,这为 NASH 的新型治疗提供了可能<sup>[72]</sup>。表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)可调节 TGF/SMAD、PI3K/Akt 的活性,改善 NAFLD 大鼠的肝脏组织学(脂肪评分、坏死和炎症减少),减少肝损伤和纤维化,降低促炎标志物(iNOS、COX-2 和 TNF- $\alpha$ )的表达。因此,绿茶多酚和 EGCG 是防治 NAFLD 的有力补充剂<sup>[73]</sup>。

## 3 通过调控炎症信号通路治疗 NASH 的新靶点与新思路

随着对 NAFLD/NASH 发病机制的深入研究,新的理解与发现不断涌现,揭示出更为复杂的网络和信号通路。这些新的认识不仅为治疗 NASH 的创新药物提供了新的靶点,同时也为新治疗方法的研发提供了全新的思路,这无疑将有助于打破 NASH 药物研发所面临的困境,为 NASH 患者带来更好的治疗选择。

**3.1 非活性菱形蛋白 2 (inactive rhomboid-like protein 2, iRhom2)——NASH 治疗的潜在靶点**

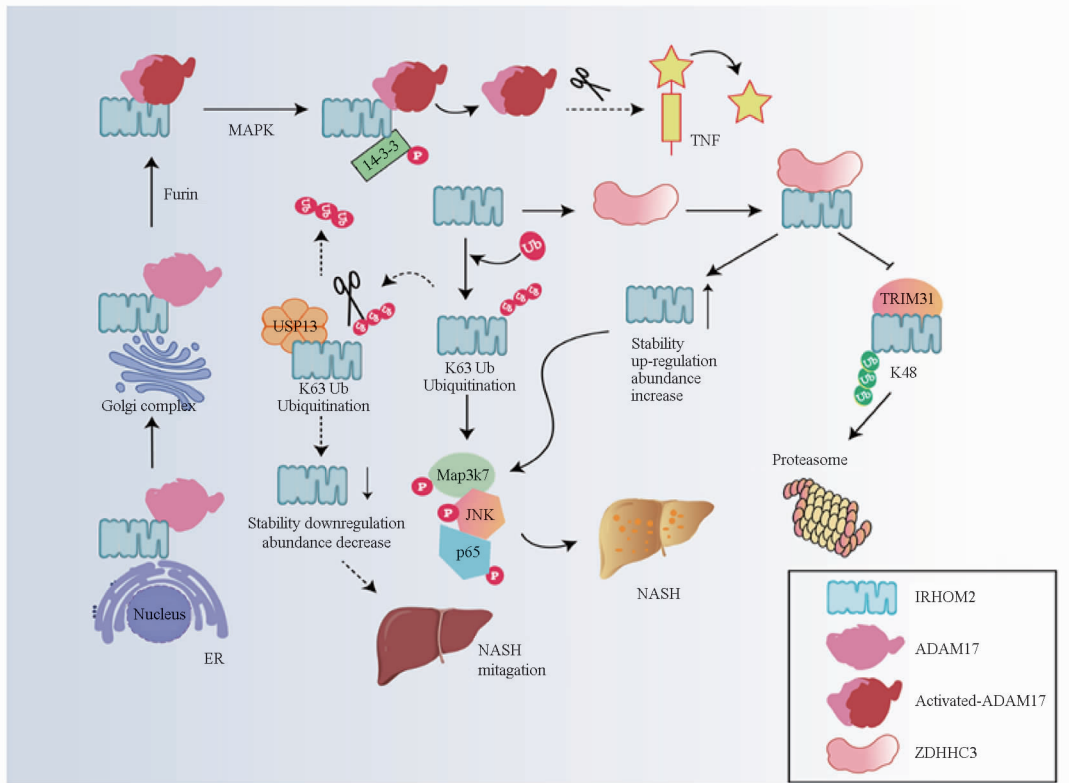
**3.1.1 iRhom2 蛋白在 NASH 中的作用机制** iRhom2 蛋白具有 7 个跨膜结构域,还拥有 1 个长的 N 端胞质结构域和 1 个高度保守的腔内富含半胱氨酸的 iRhom 同源结构域<sup>[74]</sup>。iRhom2 蛋白由 Rhbdf2 基因编码,作为 iRhoms 亚家族中的一员<sup>[75]</sup>,属于不活跃的菱形丝氨酸蛋白酶。虽然 iRhom2 本身不具有蛋白酶活性,但其能够结合内质网中的去整合素-金属蛋白酶 17 (desintegrin-metalloproteinase-17, ADAM17)并转运至高尔基体;高尔基体中的弗林蛋白酶可去除 ADAM17 的抑制性结构域<sup>[76]</sup>;紧接着,活化的 ADAM17 被释放并运输到细胞质膜<sup>[77]</sup>。最终 ADAM17 可切割细胞表面蛋白,包括多种细胞因子和受体如 TNF- $\alpha$  及其受体<sup>[78]</sup>,活化的 TNF- $\alpha$  导致凋亡和炎症信号传导,促进 NASH 进展。不仅如此, iRhom2 还在肥胖相关代谢紊乱中起到了关键的调控作用<sup>[79]</sup>。在脂肪组织中,巨噬细胞失去 iRhom2 的表达可能阻断巨噬细胞和脂肪细胞之间的交互作用,从而间接抑制炎症和胰岛素抵抗。此外, iRhom2 与 MAP3K7 的直接相互作用被发现可上调 MAP3K7-NF- $\kappa$ B 途径,在肝细胞和 Kupffer 细胞中发挥促炎作用。iRhom2 还可以激活 JNK/胰岛素受体底物 1 (insulin receptor substrate, IRS1) 信号,干扰 Akt/糖原合

成酶激酶-3 $\beta$  (glycogen synthase kinase 3 $\beta$ , GSK-3 $\beta$ ) 相关的胰岛素信号<sup>[80]</sup>。这意味着 iRhom2 不仅与 NASH 的发展进程紧密相关,还涉及到胰岛素抵抗和炎症等多个方面,已经成为治疗 NASH 的一个潜在药物靶点,见图 2。

**3.1.2 靶向 iRhom2 蛋白的药物研究** 含有 FERM 结构域的蛋白 iTAP/FRMD8 与 iRhom2 蛋白的结合对稳定细胞表面的脱落酶复合物(包含 ADAM17)至关重要,有助于避免其在溶酶体中的错误分选和降解。因此,通过调节 iTAP/FRMD8 水平进行药物干预可能有助于改善慢性炎症疾病,同时避免与 ADAM17 广泛抑制相关的副作用<sup>[81]</sup>。

黄酮类化合物—漆黄素 (fisetin) 具有靶向抑制 iRhom2 的能力。在单核细胞增生李斯特菌 (LM) 诱导的小鼠肝衰竭中, fisetin 纳米粒子通过调节 iRhom2/肿瘤坏死因子- $\alpha$  转化

酶(TNF- $\alpha$  converting enzyme, TACE)/TNF- $\alpha$  轴和核因子-E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 缓解了炎症、氧化应激和肝衰竭<sup>[82]</sup>。fisetin 可通过改善肝细胞的线粒体功能障碍和氧化应激,改善 HFD 小鼠 NAFLD 的发展<sup>[83]</sup>。fisetin 甚至可以通过调节 iRhom2/NF- $\kappa$ B 和 Nrf-2/血红素加氧酶 1 (heme oxygenase 1, HO1) 信号通路有效减轻 HFD 诱导的肾损伤<sup>[84]</sup>。这些研究表明能够靶向 iRhom2 的 fisetin 具有改善 NASH 的潜力。此外,葫芦巴 (fenugreek) 也展现出对 iRhom2 的调控能力。它不仅通过抑制 iRhom2/TACE 及其下游的 NF- $\kappa$ B 和 JNK 通路,减少促炎因子的表达,还能激活胰岛素受体信号通路,改善 HFD 喂养小鼠的脂肪积累和胰岛素抵抗<sup>[85]</sup>,对合并脂肪变性、胰岛素抵抗和炎症的 NASH 具有治疗潜力。



ER - 内质网; Nucleus - 细胞核; Golgi complex - 高尔基复合体; Furin - 弗林蛋白酶; Ubiquitination (Ub) - 泛素化; Proteasome - 蛋白酶体; NASH mitigation - 缓解 NASH; TNF - 肿瘤坏死因子; TRIM31 - 含有三基序的蛋白质 31; ADAM17 - 去整合素-金属蛋白酶 17; ZDHHC3 - 棕榈酰基转移酶; USP13 - 泛素特异性蛋白酶 13; Phosphorylation (P) - 磷酸化。

**图 2** iRhom2 蛋白在 NASH 发展中的作用

最新研究揭示了 E3 泛素连接酶—TRIM31 在 iRhom2 调控中的关键作用。TRIM31 通过靶向催化 iRhom2 蛋白 K48 泛素化链,促进 iRhom2 被蛋白酶体降解,从而减少其下游炎症信号和脂质代谢信号通路的异常活化。这显著降低了肝脏中炎症因子的水平,肝细胞损伤,早期胶原纤维的生成和糖代谢的紊乱,为缓解 NAFLD/NASH 的病理表型提供了新的治疗策略<sup>[86]</sup>。这为开发针对 iRhom2 的靶向降解蛋白嵌合体 (PROTAC),治疗 NAFLD/NASH 提供了新思路。此外,去泛素化酶 USP13 协同 TRIM31 在 iRhom2 泛素化降解过程

中发挥了重要作用。USP13 能够移除 iRhom2 的 K63 泛素化修饰,降低 iRhom2 的蛋白稳定性和胞内丰度,从而抑制 iRhom2 及其下游信号活化水平,进一步抑制 NASH 病理表型的发展<sup>[87]</sup>。值得注意的是, iRhom2 棕榈酰化所必需的关键棕榈酰基转移酶—ZDHHC3 在长期 HFD 喂养等代谢应激条件下表达上调,通过阻断 iRhom2 的泛素化来维持其棕榈酰化的 iRhom2 稳定性和蛋白丰度积累,从而抑制 TRIM31 介导的泛素-蛋白酶体降解,促进 NASH 的发生<sup>[88]</sup>。所以,从促进 iRhom2 的泛素化、抑制 iRhom2 去泛素化、抑制 iRhom2 棕榈

酰化等多个方面的机制发现为开发治疗 NASH 药物提供了新思路和新策略。

### 3.2 GPR91 蛋白——NASH 炎症反应的关键调控者

**3.2.1 GPR91 蛋白在 NASH 中的作用机制** GPR91 是 G 蛋白偶联受体 (GPCR) 家族的一员,也是琥珀酸的特异性受体,与嘌呤受体 P2Y2 同源。琥珀酸不仅在三羧酸循环 (TCA) 中扮演着重要的角色,还在炎症反应发挥着关键作用。正常情况下,琥珀酸主要位于线粒体中<sup>[89]</sup>,然而脂肪毒性和氧化应激等因素会损害线粒体功能,导致琥珀酸氧化为延胡索酸的过程被阻断,导致琥珀酸积累<sup>[90]</sup>。肝细胞中升高的琥珀酸盐被释放到细胞外空间,与邻近的 HSC 细胞外表面上的 GPR91 结合,GPR91 会激活一系列下游信号通路,包括 MAPK、PI3K/Akt 和 NF- $\kappa$ B 途径<sup>[91]</sup>。GPR91 激活下游 ERK,促进 HSC 活化,TGF- $\beta$ /果蝇母本抗生存因子蛋白 (small mother against decapentaplegic, Smad) 信号通路也会介导 HSC 活化,活化的 HSC 又可持续地刺激自身分泌转化生长因子  $\beta$ 1 (transforming growth factor  $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1),进一步激活 HSC,这样的正反馈促进了 NASH 的恶化<sup>[92]</sup>。这些通路的激活会导致炎症反应增强,从而加快 NASH 的恶化。

**3.2.2 靶向 GPR91 蛋白的药物研究** 常用作营养补充剂的 DHA,被发现可抑制 GPR-91 信号通路,缓解高脂肪高卡路里-高果糖饮食和葡萄糖 (high fat/calorie diet-high fructose/glucose, HFCD-HF/G) 喂养小鼠出现的纤维化沉积,以及棕榈酸和油酸诱导的原代肝细胞出现的氧化应激和脂肪毒性,因此补充 DHA 是一种潜在的治疗 NASH 策略<sup>[93]</sup>。研究发现,GPR91 拮抗剂和 TGF- $\beta$ 1 受体抑制剂均能有效抑制 I 型胶原蛋白 (COL1) 的表达,这一发现为开发抑制肝炎和纤维化的药物提供了潜在策略<sup>[94]</sup>。成纤维细胞生长因子 21 (FGF21) 能通过抑制琥珀酸-GPR91 信号,降低  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白 ( $\alpha$ -SMA 是肝星状细胞活化的标志) 的产生,从而抑制肝纤维化<sup>[95]</sup>。此外,FGF21 是一种代谢调节剂,在肝脏高度表达,可刺激胰岛素敏感性,增加肝脏脂质氧化,抑制脂肪生成,有益于治疗 NASH。Efruxifermin 作为 FGF21 的长效类似物,旨在提高胰岛素敏感性、改善脂蛋白、缓解肝脏脂肪变性、炎症和逆转纤维化。2023 年 10 月的 II b 期临床试验结果正式公布:efruxifermin 具有缓解 NASH 并逆转肝纤维化的积极作用<sup>[96]</sup>。Nguyen 等<sup>[97]</sup> 研究发现,降血糖药物二甲双胍 (metformin) 可通过抑制琥珀酸-GPR91 和激活单磷酸腺苷活化的蛋白质激酶 [Adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK] 通路来降低琥珀酸诱导的 LX-2 细胞中 IL-6 的水平,抑制 HSC 增殖。还可有效降低蛋氨酸-胆碱缺乏 (methionine-choline deficiency, MCD) 喂养小鼠肝脏中  $\alpha$ -SMA 和 GPR91 的表达,改善脂肪性肝炎和肝纤维化,因此二甲双胍具有治疗 NASH 的潜力。

另外,一种植物来源的双酚类物质——和厚朴酚 (honokiol),能增强线粒体去乙酰化酶 SIRT3 表达,并通过 SIRT3-SDH-GPR91 途径改善棕榈酸盐或 MCD 培养基诱导的 HSC

活化<sup>[90]</sup>。线粒体棕色脂肪解偶联蛋白 1 (UCP1) 在棕色和米色脂肪细胞中特异性表达,因其能促进产热和减肥而被广泛研究,近来也有研究发现 UCP1 能够拮抗琥珀酸-GPR91 轴,从而抑制肝脏炎症发生<sup>[98]</sup>。这一发现为开发新的 NASH 治疗方法提供了思路。

### 3.3 炎症小体 NLRP3——驱动 NASH 进程的关键因素

**3.3.1 炎症小体 NLRP3 在 NASH 中的作用机制** NLRP3 炎症小体是一种多蛋白复合物,它在炎症反应中起着至关重要的作用。这种复合物能够促使 IL-1 $\beta$  和 IL-18 水解成熟,从而引发炎症反应。其作用过程主要分为两步:首先是 TLR4 或 TNFR 的激活会诱导 NF- $\kappa$ B 信号转导,导致核苷酸结合寡聚化结构域样受体 3 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3)、IL-1 $\beta$  前体 (pro-interleukin-1 $\beta$ , pro-IL-1 $\beta$ ) 和 pro-IL-18 表达升高<sup>[99]</sup>。接下来,大量信号 [如活性氧 (reactive oxygen species, ROS)、病原体相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMP)/损伤相关分子模式 (damage associated molecular patterns, DAMP)] 间接激活 NLRP3,随后招募凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC) 和半胱天冬酶-1 前体 (pro-cysteiny aspartate specific proteinase-1, pro-Caspase-1),促使自身寡聚化<sup>[100]</sup>,引起 pro-Caspase-1 被剪切活化。活化的 Caspase-1 促使 IL-1 $\beta$  和 IL-18 水解成熟,引起炎症<sup>[101]</sup>。此外,肝细胞可将炎症小体复合物 (如 NLRP3) 和细胞因子 (如 IL-1b) 释放到细胞外空间,从而激活 HSC 并诱导单核细胞渗透,以促进肝脏炎症和纤维化<sup>[102]</sup>。在人类和动物模型中,NLRP3 炎症小体的激活都显示出对 NASH 的促进作用<sup>[24]</sup>。

**3.3.2 靶向炎症小体 NLRP3 的药物研究** MCC950 作为一种 NLRP3 选择性抑制剂,展现出在 NASH 治疗中的巨大潜力。它通过降低肝脏 IL-1 $\beta$  和 Caspase-1 表达,显著改善了 MCD 诱导 NASH 模型小鼠的炎症和纤维化程度<sup>[103]</sup>,这一积极效果很可能是由于 MCC950 阻断了胆固醇介导的 NLRP3 激活。从甘草中分离得到的刺甘草查尔酮 (echinatin) 也是一种潜在的 NLRP3 炎症小体拮抗剂。它能直接与热休克蛋白 90 (HSP90) 结合,抑制其三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 酶活性,破坏 HSP90-SGT1 的结合,从而阻止 SGT1 和 HSP90-NLRP3 复合物之间的相互作用,有效抑制炎症小体的激活。在 MCD 饮食诱导的 NASH 模型小鼠中,echinatin 展现出良好的抗炎和抗纤维化效果<sup>[104]</sup>。G 蛋白偶联胆酸受体 (TGR5) 通过 TGR5-cAMP-PKA 轴抑制 NLRP3 炎症小体的激活,进一步抑制 NLRP3 炎症小体介导的 M1 型巨噬细胞极化,减轻 NASH 中的脂肪变性和炎症<sup>[105]</sup>。维生素 D3 (Vitamin D3) 能够抑制 NLRP3 炎症小体过度激活,临床和 NASH 模型小鼠实验都证明了其与 NASH 的相关性。此外,也有研究认为维生素 D3 可能通过诱导自噬来抑制 NASH 中脂质积聚和炎症<sup>[106]</sup>。

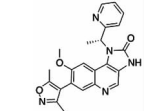
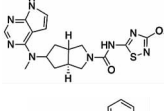
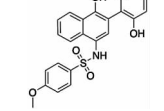
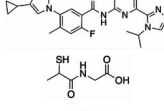
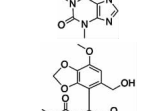
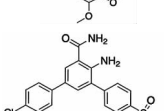
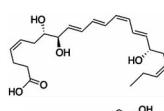
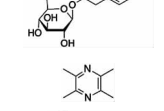
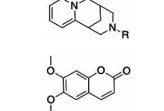
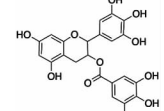
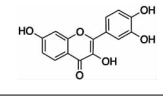
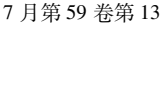

黄酮类化合物——黄芩苷 (baicalin) 通过抑制内质网应激和硫氧还蛋白互作蛋白 (TXNIP)/NLRP3 炎症小体激活,保护

AML-12 细胞免受脂肪毒性<sup>[107]</sup>。柚皮素 (naringenin) 通过下调 kupffer 细胞和肝细胞中的 NLRP3/NF- $\kappa$ B 信号通路来预防 NAFLD, 从而减轻 MCD 诱导小鼠的肝脏炎症。在体外试验中, 柚皮素还可减少 LPS 诱导 HepG2 细胞和原代肝细胞中的脂质积累<sup>[108]</sup>。姜黄素 (curcumin) 也是一种具有抗炎效果的天然药物成分, 它通过 TLR4/MYD88/NF- $\kappa$ B 和嘌呤能 2X7 受体 (purinergic 2X7 receptor, P2X7R) 信号通路抑制炎症小体的活性。此外, 姜黄素还可调节肠道微生物群, 减轻大鼠肝脏

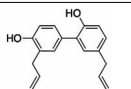
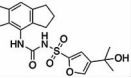
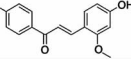
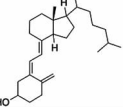
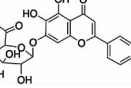
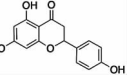
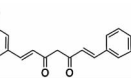
脂肪变性<sup>[109]</sup>。天然黄酮木脂素类化合物—水飞蓟素在临床上常用于肝炎和肝硬化治疗, 具有抗氧化和保肝等作用, 通过影响多个靶点如 NLRP3 炎症小体、FXR、NRF2、SIRT1、SIRT2 和 AMPK 等, 发挥缓解 NASH 的作用<sup>[110]</sup>。

综上所述, 靶向炎症信号通路的药物研究涉及了致病基因探索、蛋白质功能调控和小分子化合物开发, 其中部分化合物研究取得较大进展, 在此汇总了在研化合物的结构式和研究模型, 见表 2。

表 2 靶向 NASH 炎症的在研药物信息表

化合物名称	分子结构	作用机制	研究模型
I-BET151		抑制 STAT1	STZ + HFD 小鼠 <sup>[36]</sup>
SHR0302		抑制 JAK1-STAT3	HSC 细胞 <sup>[39]</sup>
C188-9 (TTI-101)		抑制 STAT3, STAT1 和 TLR	肝细胞特异性 Pten 缺失小鼠 <sup>[40]</sup>
Selonsertib		抑制 ASK1	III 期临床试验 <sup>[46]</sup>
Tiopronin		抑制 ASK1-p38-p53	HFD 大鼠 <sup>[47]</sup>
Caffeine		抑制 MAPK 信号通路	HFSCD 大鼠 <sup>[51]</sup>
Bicyclol		抑制 MAPKs 和 NF- $\kappa$ B	HFD 小鼠, PA 诱导 HL-7702 细胞 <sup>[53]</sup>
HPN-01		抑制 IKK 和 NF- $\kappa$ B	I 期临床试验 <sup>[57]</sup>
Resolvin D1		抑制 TLR4-MyD88 介导的 NF- $\kappa$ B 和 MAPK	MCD 小鼠, LPS 诱导 RAW264.7 细胞 <sup>[66]</sup>
Salidroside		抑制 TLR4/MAPKs	PA 诱导 AML-12 细胞 <sup>[67]</sup>
Tetramethylpyrazine		抑制 PI3K/Akt 和 ERK	Glu/Ins 诱导 HSC <sup>[70]</sup>
Cytisine derivatives		抑制 PI3K/Akt/Smad	LX2 细胞 <sup>[71]</sup>
Scoparone		抑制 PI3K/Akt/mTOR	LPS 诱导巨噬细胞 <sup>[72]</sup>
Epigallocatechin gallate		调控 TGF/SMAD, PI3 K/Akt/FoxO1, 和 NF- $\kappa$ B 信号通路	HFD 大鼠 <sup>[73]</sup>
Fisetin		调控 iRhom2/NF- $\kappa$ B 和 Nrf-2/HO-1 信号通路	HFD 小鼠, PAL-诱导巨噬细胞 <sup>[83-84]</sup>

续表 1

化合物名称	分子结构	作用机制	研究模型
Honokiol		抑制 SIRT3-SDH-GPR91	PAL 或 MCD 诱导 LX2 细胞 <sup>[90]</sup>
MCC950( CP-456773; CRID3)		抑制 NLRP3	MCD 小鼠 <sup>[103]</sup>
Echinatin		抑制 NLRP3	MCD 小鼠 <sup>[104]</sup>
Vitamin D3		抑制 NLRP3	HFD 小鼠 <sup>[106]</sup>
Baicalin		抑制 TXNIP/NLRP3	PA 诱导 AML-12 细胞 <sup>[107]</sup>
Naringenin		抑制 NLRP3/NF-κB	LPS 诱导 HepG2 和 Kupffer 细胞, MCD 小鼠 <sup>[108]</sup>
Curcumin		抑制 TLR4/MyD88/NF-κB 及 P2X7R/NLRP3	PMA 诱导巨噬细胞 <sup>[109]</sup>

注: STZ - 链脲佐菌素; HFD - 高脂饮食; HFSCD - 高脂高糖高胆固醇饮食; PA - 棕榈酸; MCD - 蛋氨酸胆碱缺乏饲料; LPS - 脂多糖; Glu/Ins - 果糖/胰岛素; PAL - 棕榈酸酯; PMA - 佛波酯; TMP - 川芎嗪; EGCG - 表没食子儿茶素没食子酸酯; STAT1 - 信号转导及转录激活蛋白 1; JAK1-STAT3 - 蛋白酪氨酸激酶 1-信号转导及转录激活蛋白 3; TLR - Toll 样受体; ASK1 - 凋亡信号调节激酶 1; HSC - 肝星状细胞; Pten - 第 10 号染色体缺失的磷酸酶张力蛋白同源物基因; NF-κB - 核因子 κB; MAPK - 丝裂原活化蛋白激酶; TLR-MyD88 - Toll 样受体-接头蛋白髓样分化因子 88; IKK - κB 抑制因子激酶; PI3K/Akt - 磷脂酰肌醇激酶/蛋白激酶 B; P2X7R - 嘌呤能 2X7 受体; TXNIP - 硫氧还蛋白互作蛋白; mTOR - 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; SIRT3-SDH-GPR91 - 去乙酰化酶 Sirtuin3-琥珀酸脱氢酶-G 蛋白偶联受体 91; Nr2-HO1 - 核因子-E2 相关因子 2-血红素加氧酶 1; iRhom2 - 非活性菱形蛋白 2; FoxO1 - 叉头框 O 蛋白 1; TGF - 转化生长因子。

#### 4 结论与展望

NASH 作为当代社会中威胁人类健康的复杂代谢性肝病,其错综复杂的发病机制使单一靶点的干预药物在临床试验中遭遇重重挫折。许多进入临床 II 期或 III 期的在研药物,难以达到预期的治疗效果。虽然在研药物众多,但焦点主要聚集在抗代谢药物研发,其所占比例超过了 60%。尽管 NASH 是在代谢改变的背景下发展起来的,但它表现出很强的免疫炎症性,长期的炎症直接影响疾病的严重程度<sup>[111]</sup>。然而,目前研究人员对导致 NASH 的炎症线索的理解是支离破碎的。

本文对与 NASH 相关的炎症信号通路进行了综述,包括 JAK-STAT、NF-κB、MAPK、TLR4 等。同时,也对新的发病机制、治疗靶点及相关药物研发进行了概述,有利于更好地理解相关炎症信号通路在该疾病中的作用,以期 NASH 新药的开发与临床应用提供有价值的参考。在 NAFLD 的发展过程中,糖脂代谢紊乱和应激反应促进炎症,炎症的发生又会加重脂肪堆积。并且长期的慢性炎症浸润会激活 HSC 细胞,诱导纤维化,激活的 HSC 产生促炎介质,使肝脏炎症持续存在,这三者相互影响循环促进。因此针对多靶点,不同发病机制的联合用药可能产生更为显著的疗效。例如: AXA1125 作为一种内源性代谢调节剂(EMM)组合,可以靶向 NASH 的 3 个核心驱动因素:代谢、炎症和纤维化。在临床研究中,AXA1125 是安全且耐受性良好的,能够观察到肝

脏脂肪、炎症和纤维化标志物的降低,因此 AXA1125 有可能成为 NASH 患者的一线治疗药物<sup>[112]</sup>,也为针对 NASH 多靶点的联合用药提供了思路。

然而,如何平衡 NASH 涉及的多个靶点与信号通路,是 NASH 药物研发的关键难题<sup>[113]</sup>。随着对 NASH 疾病发病机制的深入认识及新靶点的发现,相信针对这一疾病的治疗药物研发将会取得更多的创新与突破。

#### REFERENCES

- [ 1 ] YOUNOSSI Z, TACKE F, ARRESE M, *et al.* Global perspectives on nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Hepatology*, 2019, 69(6): 2672-2682.
- [ 2 ] CHALASANI N, YOUNOSSI Z, LAVINE J E, *et al.* The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: practice guidance from the American association for the study of liver diseases [J]. *Hepatology*, 2018, 67(1): 328-357.
- [ 3 ] POVSIC M, WONG O Y, PERRY R, *et al.* A structured literature review of the epidemiology and disease burden of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) [J]. *Adv Ther*, 2019, 36(7): 1574-1594.
- [ 4 ] SHEKA A C, ADEYI O, THOMPSON J, *et al.* Nonalcoholic steatohepatitis: a review [J]. *JAMA*, 2020, 323(12): 1175-1183.
- [ 5 ] BURRA P, BECCHETTI C, GERMANI G. NAFLD and liver transplantation: disease burden, current management and future challenges [J]. *JHEP Rep*, 2020, 2(6): 100192. DOI: 10.1016/j.jhepr.2020.100192.
- [ 6 ] LEOW W Q, CHAN A W, MENDOZA P G L, *et al.* Non-alco-

- holic fatty liver disease: the pathologist's perspective [J]. *Clin Mol Hepatol*, 2023, 29(Suppl. 1): S302-S318.
- [ 7 ] LOOMBA R, FRIEDMAN S L, SHULMAN G I. Mechanisms and disease consequences of nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Cell*, 2021, 184(10): 2537-2564.
- [ 8 ] SAYUTI N H, MUHAMMAD NAWAWI K N, GOON J A, et al. A review of the effects of fucoxanthin on NAFLD [J]. *Nutrients*, 2023, 15(8): 1954-1966.
- [ 9 ] XU X, POULSEN K L, WU L, et al. Targeted therapeutics and novel signaling pathways in non-alcohol-associated fatty liver/steatohepatitis (NAFL/NASH) [J]. *Signal Transduct Tar*, 2022, 7(1): 287-326.
- [ 10 ] BOECKMANS J, NATALE A, ROMBAUT M, et al. Anti-NASH drug development hitches a lift on PPAR agonism [J]. *Cells*, 2019, 9(1): 37-57.
- [ 11 ] GAWRIEH S, NOUREDDIN M, LOO N, et al. Saroglitazar, a PPAR-alpha/gamma agonist, for treatment of NAFLD: a randomized controlled double-blind phase 2 trial [J]. *Hepatology*, 2021, 74(4): 1809-1824.
- [ 12 ] FRAILE J M, PALLIYIL S, BARELLE C, et al. Non-alcoholic steatohepatitis (NASH)-a review of a crowded clinical landscape, driven by a complex disease [J]. *Drug Des Dev Ther*, 2021, 15: 3997-4009.
- [ 13 ] LAWITZ E J, BHANDARI B R, RUANE P J, et al. Fenofibrate mitigates hypertriglyceridemia in nonalcoholic steatohepatitis patients treated with cilofexor/firsocostat [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2022, 21(1): 143-152.
- [ 14 ] YOUNOSSI Z M, RATZIU V, LOOMBA R, et al. Obeticholic acid for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis; interim analysis from a multicentre, randomised, placebo-controlled phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2019, 394(10215): 2184-2196.
- [ 15 ] LOOMBA R, NOUREDDIN M, KOWDLEY K V, et al. Combination therapies including cilofexor and firsocostat for bridging fibrosis and cirrhosis attributable to NASH [J]. *Hepatology*, 2021, 73(2): 625-643.
- [ 16 ] HARRISON S A, ABDELMALEK M F, NEFF G, et al. Alderferin in patients with non-alcoholic steatohepatitis (ALPINE 2/3): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2b trial [J]. *Lancet Gastroenterol*, 2022, 7(7): 603-616.
- [ 17 ] HARRISON S A, ALKHOURI N, DAVISON B A, et al. Insulin sensitizer MSDC-0602K in non-alcoholic steatohepatitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase IIb study [J]. *J Hepatol*, 2020, 72(4): 613-626.
- [ 18 ] RAU M, GEIER A. An update on drug development for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease-from ongoing clinical trials to future therapy [J]. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 2021, 14(3): 333-340.
- [ 19 ] SUTTI S, ALBANO E. Adaptive immunity: an emerging player in the progression of NAFLD [J]. *Nat Rev Gastro Hepat*, 2020, 17(2): 81-92.
- [ 20 ] HAMMERICH L, TACKE F. Hepatic inflammatory responses in liver fibrosis [J]. *Nat Rev Gastro Hepat*, 2023, 20(10): 633-646.
- [ 21 ] ICHIMURA-SHIMIZU M, OMAGARI K, YAMASHITA M, et al. Development of a novel mouse model of diet-induced nonalcoholic steatohepatitis-related progressive bridging fibrosis [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2021, 85(4): 941-947.
- [ 22 ] ZHONG S, ZHAO L, WANG Y, et al. Cluster of differentiation 36 deficiency aggravates macrophage infiltration and hepatic inflammation by upregulating monocyte chemoattractant protein-1 expression of hepatocytes through histone deacetylase 2-dependent pathway [J]. *Antioxid Redox Sign*, 2017, 27(4): 201-214.
- [ 23 ] ABDALLAH J, ASSAF S, DAS A, et al. Effects of anti-inflammatory dietary patterns on non-alcoholic fatty liver disease: a systematic literature review [J]. *Eur J Nutr*, 2023, 62(4): 1563-1578.
- [ 24 ] CALIGIURI A, GENTILINI A, MARRA F. Molecular pathogenesis of NASH [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(9): 1575-1609.
- [ 25 ] THIBAUT R, GAGE M C, PINEDA-TORRA I, et al. Liver macrophages and inflammation in physiology and pathophysiology of non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Febs J*, 2022, 289(11): 3024-3057.
- [ 26 ] ROY A, SRIVASTAVA M, SAQIB U, et al. Potential therapeutic targets for inflammation in toll-like receptor 4 (TLR4)-mediated signaling pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 40: 79-89.
- [ 27 ] BLASIUS A L, BEUTLER B. Intracellular toll-like receptors [J]. *Immunity*, 2010, 32(3): 305-315.
- [ 28 ] SAXTON R A, SABATINI D M. mTOR signaling in growth, metabolism, and disease [J]. *Cell*, 2017, 168(6): 960-976.
- [ 29 ] MANNING B D, CANTLEY L C. AKT/PKB signaling: navigating downstream [J]. *Cell*, 2007, 129(7): 1261-1274.
- [ 30 ] ZHANG X, TANG N, HADDEN T J, et al. Akt, FoxO and regulation of apoptosis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1813(11): 1978-1986.
- [ 31 ] PHILIPS R L, WANG Y, CHEON H, et al. The JAK-STAT pathway at 30: much learned, much more to do [J]. *Cell*, 2022, 185(21): 3857-3876.
- [ 32 ] HU X, LI J, FU M, et al. The JAK/STAT signaling pathway: from bench to clinic [J]. *Signal Transduct Tar*, 2021, 6(1): 402-435.
- [ 33 ] BHARADWAJ U, KASEMBELI M M, ROBINSON P, et al. Targeting janus kinases and signal transducer and activator of transcription 3 to treat inflammation, fibrosis, and cancer: rationale, progress, and caution [J]. *Pharmacol Rev*, 2020, 72(2): 486-526.
- [ 34 ] XU X, POULSEN K L, WU L, et al. Targeted therapeutics and novel signaling pathways in non-alcohol-associated fatty liver/steatohepatitis (NAFL/NASH) [J]. *Signal Transduct Tar*, 2022, 7(1): 287-306.
- [ 35 ] CHAN C H, FANG C, YARILINA A, et al. BET bromodomain inhibition suppresses transcriptional responses to cytokine-JAK-STAT signaling in a gene-specific manner in human monocytes [J]. *Eur J Immunol*, 2015, 45(1): 287-297.
- [ 36 ] MIDDLETON S A, RAJPAL N, CUTLER L, et al. BET inhibition improves NASH and liver fibrosis [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 17257-17270.
- [ 37 ] RUBIO C, PUERTO M, GARCIA-RODRIGUEZ J J, et al. Impact of global PTP1B deficiency on the gut barrier permeability during NASH in mice [J]. *Mol Metab*, 2020, 35: 100954. DOI: 10.1016/j.molmet.2020.01.018.
- [ 38 ] WANG F, ZHANG X, LIU W, et al. Activated natural killer cell promotes nonalcoholic steatohepatitis through mediating JAK/STAT pathway [J]. *Cell Mol Gastroenterol*, 2022, 13(1): 257-274.
- [ 39 ] GU Y J, SUN W Y, ZHANG S, et al. Targeted blockade of JAK/STAT3 signaling inhibits proliferation, migration and collagen production as well as inducing the apoptosis of hepatic stellate cells [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(3): 903-911.
- [ 40 ] JUNG K H, YOO W, STEVENSON H L, et al. Multifunctional effects of a small-molecule STAT3 inhibitor on NASH and hepatocellular carcinoma in mice [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(18): 5537-5546.
- [ 41 ] AN X, LIU J, LI Y, et al. Chemerin/CMKLR1 ameliorates non-alcoholic steatohepatitis by promoting autophagy and alleviating oxidative stress through the JAK2-STAT3 pathway [J]. *Peptides*, 2021, 135: 170422. DOI: 10.1016/j.peptides.2020.170422.
- [ 42 ] ZHOU C, WANG P, LEI L, et al. Overexpression of miR-142-5p inhibits the progression of nonalcoholic steatohepatitis by targeting TSLP and inhibiting JAK-STAT signaling pathway [J]. *Aging*, 2020, 12(10): 9066-9084.
- [ 43 ] CARGNELLO M, ROUX P P. Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2011, 75(1): 50-83.

- [ 44 ] HUANG G, SHI L Z, CHI H. Regulation of JNK and p38 MAPK in the immune system: signal integration, propagation and termination [J]. *Cytokine*, 2009, 48(3): 161-169.
- [ 45 ] LOOMBA R, LAWITZ E, MANTRY P S, *et al.* The ASK1 inhibitor selonsertib in patients with nonalcoholic steatohepatitis: a randomized, phase 2 trial [J]. *Hepatology*, 2018, 67(2): 549-559.
- [ 46 ] HARRISON S A, WONG V W, OKANOUE T, *et al.* Selonsertib for patients with bridging fibrosis or compensated cirrhosis due to NASH: results from randomized phase III STELLAR trials [J]. *J Hepatol*, 2020, 73(1): 26-39.
- [ 47 ] CHEN Q, GUO J, QIU T, *et al.* Mechanism of ASK1 involvement in liver diseases and related potential therapeutic targets: a critical pathway molecule worth investigating [J]. *J Gastroen Hepatol*, 2023, 38(3): 378-385.
- [ 48 ] LAN T, HU Y, HU F, *et al.* Hepatocyte glutathione S-transferase mu 2 prevents non-alcoholic steatohepatitis by suppressing ASK1 signaling [J]. *J Hepatol*, 2022, 76(2): 407-419.
- [ 49 ] WANG L, ZHANG X, LIN Z B, *et al.* Tripartite motif 16 ameliorates nonalcoholic steatohepatitis by promoting the degradation of phospho-TAK1 [J]. *Cell Metab*, 2021, 33(7): 1372-1388.
- [ 50 ] XU M X, TAN J, GE C X, *et al.* Tripartite motif-containing protein 31 confers protection against nonalcoholic steatohepatitis by deactivating mitogen-activated protein kinase kinase kinase 7 [J]. *Hepatology*, 2023, 77(1): 124-143.
- [ 51 ] VARGAS-POZADA E E, RAMOS-TOVAR E, ACERO-HERNANDEZ C, *et al.* Caffeine mitigates experimental nonalcoholic steatohepatitis and the progression of thioacetamide-induced liver fibrosis by blocking the MAPK and TGF- $\beta$ /Smad3 signaling pathways [J]. *Ann Hepatol*, 2022, 27(2): 100671. DOI: 10.1016/j.aohep.2022.100671.
- [ 52 ] NOUREDDIN M, ABDELMALEK M F. Current treatment options, including diet, exercise, and medications: the impact on histology [J]. *Clin Liver Dis*, 2023, 27(2): 397-412.
- [ 53 ] ZHAO W, YAN Y, XIAO Z, *et al.* Bicyclol ameliorates non-alcoholic fatty liver disease in mice via inhibiting MAPKs and NF- $\kappa$ B signaling pathways [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 141: 111874. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111874.
- [ 54 ] GAO M, PENG X, TANG J, *et al.* Anti-inflammatory effects of camellia fascicularis polyphenols via attenuation of NF- $\kappa$ B and MAPK pathways in LPS-induced THP-1 macrophages [J]. *J Inflamm Res*, 2022, 15: 851-864.
- [ 55 ] YANG Q H, XU Y J, LIU Y Z, *et al.* Effects of chaihu-shugansan and shen-ling-bai-zhu-san on p38 MAPK pathway in kupffer cells of nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Evid Based Compl Alt*, 2014, 2014: 671013. DOI: 10.1155/2014/671013.
- [ 56 ] YUAN S, LIU H, YUAN D, *et al.* PNPLA3 I148M mediates the regulatory effect of NF- $\kappa$ B on inflammation in PA-treated HepG2 cells [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(2): 1541-1552.
- [ 57 ] YANG L, HAO Y, BOECKMANS J, *et al.* Immune cells and their derived microRNA-enriched extracellular vesicles in non-alcoholic fatty liver diseases: novel therapeutic targets [J]. *Pharmacol Ther*, 2023, 243: 108353. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2023.108353.
- [ 58 ] WANG Y F, XU X, FAN X, *et al.* A cell-penetrating peptide suppresses inflammation by inhibiting NF- $\kappa$ B signaling [J]. *Mol Ther*, 2011, 19(10): 1849-1857.
- [ 59 ] WU L, LIU C, CHANG D Y, *et al.* Amnixin A1 alleviates kidney injury by promoting the resolution of inflammation in diabetic nephropathy [J]. *Kidney Int*, 2021, 100(1): 107-121.
- [ 60 ] MUSSO G, CASSADER M, GAMBINO R. Non-alcoholic steatohepatitis: emerging molecular targets and therapeutic strategies [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, 15(4): 249-274.
- [ 61 ] LIU P, WU P, YANG B, *et al.* Kaempferol prevents the progression from simple steatosis to non-alcoholic steatohepatitis by inhibiting the NF- $\kappa$ B pathway in oleic acid-induced HepG2 cells and high-fat diet-induced rats [J]. *J Funct Foods*, 2021, 85: 104655. DOI: 10.1016/j.jff.2021.104655.
- [ 62 ] LENG Y R, ZHANG M H, LUO J G, *et al.* Pathogenesis of NASH and promising natural products [J]. *Chin J Nat Med(中国天然药物)*, 2021, 19(1): 12-27.
- [ 63 ] WANG Y, YU H, CEN Z, *et al.* Drug targets regulate systemic metabolism and provide new horizons to treat nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Metab Open*, 2024, 21: 100267. DOI: 10.1016/j.metop.2023.100267.
- [ 64 ] KANG J Y, LEE J O. Structural biology of the toll-like receptor family [J]. *Annu Rev Biochem*, 2011, 80: 917-941.
- [ 65 ] RAMADASS V, VAIYAPURI T, TERGAONKAR V. Small molecule NF- $\kappa$ B pathway inhibitors in clinic [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(14): 5164. DOI: 10.3390/ijms21145164.
- [ 66 ] LI J, DENG X, BAI T, *et al.* Resolvin D1 mitigates non-alcoholic steatohepatitis by suppressing the TLR4-MyD88-mediated NF- $\kappa$ B and MAPK pathways and activating the Nrf2 pathway in mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 88: 106961. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.106961.
- [ 67 ] DOU X, DING Q, LAI S, *et al.* Salidroside alleviates lipotoxicity-induced cell death through inhibition of TLR4/MAPKs pathway, and independently of AMPK and autophagy in AML-12 mouse hepatocytes [J]. *J Funct Foods*, 2020, 65: 103691. DOI: 10.1016/j.jff.2019.103691.
- [ 68 ] ZHANG Y, ZHU X, ZHENG D, *et al.* Effects of qutan huoxue formula on the SOCS1/TLR4 signaling pathway in NASH model mice [J]. *Evid Based Compl Alt*, 2020, 2020: 1570918. DOI: 10.1155/2020/1570918.
- [ 69 ] WARD S G, FINAN P. Isoform-specific phosphoinositide 3-kinase inhibitors as therapeutic agents [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2003, 3(4): 426-434.
- [ 70 ] ZHANG F, ZHANG Z, KONG D, *et al.* Tetramethylpyrazine reduces glucose and insulin-induced activation of hepatic stellate cells by inhibiting insulin receptor-mediated PI3K/AKT and ERK pathways [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2014, 382(1): 197-204.
- [ 71 ] TANG S, LI Y, BAO Y, *et al.* Novel cytosine derivatives exert anti-liver fibrosis effect via PI3K/Akt/Smad pathway [J]. *Bioorg Chem*, 2019, 90: 103032. DOI: 10.1016/j.bioorg.2019.103032.
- [ 72 ] LIU B, DENG X, JIANG Q, *et al.* Scoparone improves hepatic inflammation and autophagy in mice with nonalcoholic steatohepatitis by regulating the ROS/P38/Nrf2 axis and PI3K/AKT/mTOR pathway in macrophages [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 125: 109895. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.109895.
- [ 73 ] XIAO J, HO C T, LIONG E C, *et al.* Epigallocatechin gallate attenuates fibrosis, oxidative stress, and inflammation in non-alcoholic fatty liver disease rat model through TGF/SMAD, PI3K/Akt/FoxO1, and NF- $\kappa$ B pathways [J]. *Eur J Nutr*, 2014, 53(1): 187-199.
- [ 74 ] DULLOO I, MULIYIL S, FREEMAN M. The molecular, cellular and pathophysiological roles of iRhom pseudoproteases [J]. *Open Biol*, 2019, 9(3): 190003. DOI: 10.1098/rsob.190003.
- [ 75 ] BERGOLD N, LEMBERG M K. Emerging role of rhomboid family proteins in mammalian biology and disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1828(12): 2840-2848.
- [ 76 ] ADRAIN C, ZETTL M, CHRISTOVA Y, *et al.* Tumor necrosis factor signaling requires iRhom2 to promote trafficking and activation of TACE [J]. *Science*, 2012, 335(6065): 225-228.
- [ 77 ] CAVADAS M, OIKONOMIDI I, GASPARI C J, *et al.* Phosphorylation of iRhom2 controls stimulated proteolytic shedding by the metalloprotease ADAM17/TACE [J]. *Cell Rep*, 2017, 21(3): 745-757.
- [ 78 ] SCHELLER J, CHALARIS A, GARBERS C, *et al.* ADAM17: a molecular switch to control inflammation and tissue regeneration [J]. *Trends Immunol*, 2011, 32(8): 380-387.
- [ 79 ] XU M X, GE C X, QIN Y T, *et al.* Functional loss of inactive

- rhomboid-like protein 2 mitigates obesity by suppressing pro-inflammatory macrophage activation-triggered adipose inflammation [J]. *Mol Metab*, 2020, 34: 112-123.
- [ 80 ] XU M X, GE C X, ZHU L C, *et al.* iRhom2 promotes hepatic steatosis by activating MAP3K7-dependent pathway [J]. *Hepatology*, 2021, 73(4): 1346-1364.
- [ 81 ] BADENES M, BURBRIDGE E, OIKONOMIDI I, *et al.* The ADAM17 sheddase complex regulator iTAP/Frmd8 modulates inflammation and tumor growth [J]. *Life Sci Alliance*, 2023, 6(4): e202201644. DOI: 10. 26508/lisa. 202201644 .
- [ 82 ] XU M X, GE C X, QIN Y T, *et al.* Multicombination approach suppresses listeria monocytogenes-induced septicemia-associated acute hepatic failure; the role of iRhom2 signaling [J]. *Adv Healthc Mater*, 2018, 7(17): 1800427. DOI: 10. 1002/adhm. 201800427.
- [ 83 ] DAI X L, KUANG Q, SUN Y, *et al.* Fisetin represses oxidative stress and mitochondrial dysfunction in NAFLD through suppressing GRP78-mediated endoplasmic reticulum (ER) stress [J]. *J Funct Foods*, 2022, 90: 104954. DOI: 10. 1016/j.jff. 2022. 104954.
- [ 84 ] GE C X, DAI X L, KUANG Q, *et al.* Fisetin protects against high fat diet-induced nephropathy by inhibiting inflammation and oxidative stress via the blockage of iRhom2/NF- $\kappa$ B signaling [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 92: 107353. DOI: 10. 1016/j.intimp. 2020. 107353.
- [ 85 ] ZHOU C, QIN Y, CHEN R, *et al.* Fenugreek attenuates obesity-induced inflammation and improves insulin resistance through downregulation of iRhom2/TACE [J]. *Life Sci*, 2020, 258: 118222. DOI: 10. 1016/j.lfs. 2020. 118222.
- [ 86 ] XU M X, TAN J, DONG W, *et al.* The E3 ubiquitin-protein ligase Trim31 alleviates non-alcoholic fatty liver disease by targeting Rhd12 in mouse hepatocytes [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 1052-1072.
- [ 87 ] XU M X, TAN J, ZHU L C, *et al.* The deubiquitinating enzyme 13 retards non-alcoholic steatohepatitis via blocking inactive rhomboid protein 2-dependent pathway [J]. *Acta Pharm Sin B (药理学报英文版)*, 2023, 13(3): 1071-1092.
- [ 88 ] XU M X, TAN J, ZHU L C, *et al.* Palmitoyltransferase ZDHHC3 aggravates nonalcoholic steatohepatitis by targeting S-palmitoylated IRHOM2 [J]. *Adv Sci*, 2023, 10(28): e2302130. DOI: 10. 1002/adv. 202302130.
- [ 89 ] GILISSEN J, JOURET F, PIROTTE B, *et al.* Insight into SUCNRI (GPR91) structure and function [J]. *Pharmacol Ther*, 2016, 159: 56-65.
- [ 90 ] LI Y H, CHOI D H, LEE E H, *et al.* SIRT3 regulates  $\alpha$ -SMA production through the succinate dehydrogenase-GPR91 pathway in hepatic stellate cells [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(19): 10277-10292.
- [ 91 ] LIANG C, LI J, TIAN B, *et al.* Foresight regarding drug candidates acting on the succinate-GPR91 signalling pathway for non-alcoholic steatohepatitis (NASH) treatment [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 144: 112298. DOI: 10. 1016/j.biopha. 2021. 112298.
- [ 92 ] CAJA L, DITURI F, MANCARELLA S, *et al.* TGF- $\beta$  and the tissue microenvironment: relevance in fibrosis and cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(5): 1294-1318.
- [ 93 ] LIU X J, XIE L, DU K, *et al.* Succinate-GPR-91 receptor signalling is responsible for nonalcoholic steatohepatitis-associated fibrosis; effects of DHA supplementation [J]. *Liver Int*, 2020, 40(4): 830-843.
- [ 94 ] SAKAI M, SUMIYOSHI T, AOYAMA T, *et al.* GPR91 antagonist and TGF- $\beta$  inhibitor suppressed collagen production of high glucose and succinate induced HSC activation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 530(2): 362-366.
- [ 95 ] LE C T, NGUYEN G, PARK S Y, *et al.* LY2405319, an analog of fibroblast growth factor 21 ameliorates alpha-smooth muscle actin production through inhibition of the succinate-G-protein couple receptor 91 (GPR91) pathway in mice [J]. *PLoS One*, 2018, 13(2): e0192146. DOI: 10. 1371/journal.pone. 0192146.
- [ 96 ] MAHGOUB S, NEWSOME P N. Efruxifermin in non-alcoholic steatohepatitis [J]. *Lancet Gastroenterol*, 2023, 8(12): 1058-1059.
- [ 97 ] NGUYEN G, PARK S Y, LE C T, *et al.* Metformin ameliorates activation of hepatic stellate cells and hepatic fibrosis by succinate and GPR91 inhibition [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495(4): 2649-2656.
- [ 98 ] MILLS E L, HARMON C, JEDRYCHOWSKI M P, *et al.* UCPI governs liver extracellular succinate and inflammatory pathogenesis [J]. *Nat Metab*, 2021, 3(5): 604-617.
- [ 99 ] RAMOS-TOVAR E, MUREL P. NLRP3 inflammasome in hepatic diseases: a pharmacological target [J]. *Biochem Pharmacol*, 2023, 217: 115861. DOI: 10. 1016/j.bcp. 2023. 115861.
- [ 100 ] HAMARSHEH S, ZEISER R. NLRP3 inflammasome activation in cancer: a double-edged sword [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1444-1455.
- [ 101 ] GUO H, CALLAWAY J B, TING J P. Inflammasomes; mechanism of action, role in disease, and therapeutics [J]. *Nat Med*, 2015, 21(7): 677-687.
- [ 102 ] GAUL S, LESZCZYNSKA A, ALEGRE F, *et al.* Hepatocyte pyroptosis and release of inflammasome particles induce stellate cell activation and liver fibrosis [J]. *J Hepatol*, 2021, 74(1): 156-167.
- [ 103 ] MRIDHA A R, WREE A, ROBERTSON A A B, *et al.* NLRP3 inflammasome blockade reduces liver inflammation and fibrosis in experimental NASH in mice [J]. *J Hepatol*, 2017, 66(5): 1037-1046.
- [ 104 ] XU G, FU S, ZHAN X, *et al.* Echinatin effectively protects against NLRP3 inflammasome-driven diseases by targeting HSP90 [J]. *JCI Insight*, 2021, 6(2): e134601. DOI: 10. 1172/jci.insight. 134601.
- [ 105 ] SHI Y, SU W, ZHANG L, *et al.* TGR5 regulates macrophage inflammation in nonalcoholic steatohepatitis by modulating NLRP3 inflammasome activation [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 609060. DOI: 10. 3389/fimmu. 2020. 609060.
- [ 106 ] ABDELRAHMAN B A, HAMMAM O A, EL-KHATIB A S, *et al.* The role of vitamin D3 in modulating the interplay between NLRP3 inflammasome and autophagy in NASH [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2023, 688: 149122. DOI: 10. 1016/j.bbrc. 2023. 149122 .
- [ 107 ] ZHANG J, ZHANG H, DENG X, *et al.* Baicalin protects AML-12 cells from lipotoxicity via the suppression of ER stress and TXNIP/NLRP3 inflammasome activation [J]. *Chem Biol Interact*, 2017, 278: 189-196.
- [ 108 ] WANG Q, OU Y, HU G, *et al.* Naringenin attenuates non-alcoholic fatty liver disease by down-regulating the NLRP3/NF- $\kappa$ B pathway in mice [J]. *Br J Pharmacol*, 2020, 177(8): 1806-1821.
- [ 109 ] KONG F, YE B, CAO J, *et al.* Curcumin represses NLRP3 inflammasome activation via TLR4/MyD88/NF-kappaB and P2X7R signaling in PMA-induced macrophages [J]. *Front Pharmacol*, 2016, 7: 369-378.
- [ 110 ] YAN T, YAN N, WANG P, *et al.* Herbal drug discovery for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Acta Pharm Sin B (药理学报英文版)*, 2020, 10(1): 3-18.
- [ 111 ] HUBY T, GAUTIER E L. Immune cell-mediated features of non-alcoholic steatohepatitis [J]. *Nat Rev Immunol*, 2022, 22(7): 429-443.
- [ 112 ] KOSMALSKI M, FRANKOWSKI R, ZIÓŁKOWSKA S, *et al.* What's new in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) [J]. *J Clin Med*, 2023, 12(5): 1852-1879.
- [ 113 ] DAVID D, EAPEN C E. What are the current pharmacological therapies for nonalcoholic fatty liver disease? [J]. *J Clin Exp Hepatol*, 2021, 11(2): 232-238.

(收稿日期:2024-02-21)