

吴氏泻心汤加减方通过抑制 TLR4/NF- κ B 通路改善小鼠非酒精性脂肪性肝病的炎症反应

淡丽娟¹, 刘雨樵¹, 郝彦伟¹, 宋虹霏¹, 李岫滢¹, 游晓洁¹, 王东¹,
穆杰^{1*}, 李乔^{2*}

(1. 成都中医药大学, 四川 成都 611137;

2. 成都中医药大学附属第三医院(西区), 四川 成都 611730)

[摘要] 非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)是全球最常见的慢性肝病,以肝脏炎症和脂质代谢紊乱为主要特征。吴氏泻心汤加减方作为苦泄法经典代表方剂,临床疗效确切,但其治疗 NAFLD 的抗炎作用及机制尚未明确。该研究结合网络药理学与动物实验验证,评价吴氏泻心汤加减方对 NAFLD 的治疗效果并揭示其潜在作用机制。通过中药系统药理学平台(TCMSP)数据库收集药物作用靶点,从 TTD、GeneCards、OMIM、PharmGKB、CTD 数据库获取 NAFLD 疾病靶点,利用 R 软件筛选二者交集靶点;通过 STRING 数据库及 Cytoscape 3.8.2 软件进行核心靶点分析与网络可视化,采用 R 软件进行基因本体论(GO)富集分析与京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析;基于 GEO 数据库分析核心靶点,绘制受试者工作特征(ROC)曲线评估其诊断效能。动物实验验证采用 60%高脂饲料联合腹腔注射链脉佐菌素构建 NAFLD 小鼠模型;HE 染色及油红 O 染色评估病理改善;ELISA 检测肝组织肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素- 1β (IL- 1β)含量;免疫组化及蛋白免疫印迹法检测小鼠肝组织 Toll 样受体 4(TLR4)、核因子 κ B(NF- κ B)、NOD 样受体蛋白 3(NLRP3)蛋白表达。网络药理学筛选出吴氏泻心汤加减方活性成分 97 个,交集靶点 108 个及核心靶点 10 个;GO 富集分析显示其通过调节氧化应激、营养水平等生物学过程发挥抗 NAFLD 作用;KEGG 富集分析主要涉及 TLR、NF- κ B、TNF 等信号通路。GEO 数据库提示 TLR4 在健康者与 NAFLD 患者中存在差异($P < 0.05$),ROC 曲线下面积(AUC) > 0.810 ,诊断效能较高。动物实验显示,吴氏泻心汤加减方可减轻 NAFLD 小鼠肝组织病理损伤,降低血脂,改善肝功能,下调肝组织炎症因子表达;免疫组化及蛋白免疫印迹法检测证实其可下调 TLR4 表达,抑制 NF- κ B 活性及 NLRP3 炎性小体激活。综上,吴氏泻心汤加减方可能通过调控 TLR4/NF- κ B 信号通路、抑制 NLRP3 炎性小体活化,进而减轻 NAFLD 炎症反应,改善肝功能及血脂,发挥 NAFLD 治疗作用。

[关键词] 吴氏泻心汤加减方;非酒精性脂肪性肝病;网络药理学;Toll 样受体信号通路;炎症

Amelioration of inflammatory response in mice with non-alcoholic fatty liver disease via Modified Wushi Xiexin Decoction by inhibiting TLR4/NF- κ B pathway

DAN Li-juan¹, LIU Yu-qiao¹, HAO Yan-wei¹, SONG Hong-fei¹, LI Xiu-yan¹, YOU Xiao-jie¹, WANG Dong¹,
MU Jie^{1*}, LI Qiao^{2*}

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;

2. the Third Affiliated Hospital (West), Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611730, China)

[收稿日期] 2025-07-09

[基金项目] 四川省青年科学基金项目(2025ZNSFSC1795);四川省自然科学基金项目(2024NSFSC0692);成都中医药大学青基人才专项(QJRC2024002);成都市卫生健康委员会联合创新专项(WXLH202402052)

[通信作者] *穆杰,副教授,硕士生导师,主要从事《伤寒论》辨证论治体系的文献理论及现代应用研究,E-mail:1041415560@qq.com;

*李乔,副主任医师,主要从事中医针灸康复教学、科研及临床工作,E-mail:52350119@qq.com

[作者简介] 淡丽娟,博士研究生,E-mail:dljaniuan@163.com

[Abstract] Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most prevalent chronic liver disease worldwide, characterized primarily by hepatic inflammation and dysregulated lipid metabolism. As a classic representative formula of the "bitter-purging method", Modified Wushi Xiexin Decoction has demonstrated definite clinical efficacy; however, its anti-inflammatory effects and underlying mechanisms in the treatment of NAFLD remain unclear. This study combines network pharmacology with animal experimental validation to evaluate the therapeutic effect of Modified Wushi Xiexin Decoction on NAFLD and reveal its potential mechanisms of action. Drug targets were collected from the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP). NAFLD-related disease targets were retrieved from the Therapeutic Target Database (TTD), GeneCards, Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), Pharmacogenomics Knowledge Base (PharmGKB), and Comparative Toxicogenomics Database (CTD). R software was used to screen the intersection targets of the two sets. Core target analysis and network visualization were performed by using the Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins (STRING) database and Cytoscape 3.8.2 software. R software was applied for Gene Ontology (GO) enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis. Core targets were analyzed based on the Gene Expression Omnibus (GEO) database, and receiver operating characteristic (ROC) curves were plotted to evaluate the diagnostic efficacy of the core targets. For animal experimental validation, a NAFLD mouse model was established by feeding a 60% high-fat diet combined with intraperitoneal injection of streptozotocin. Pathological improvements were assessed by hematoxylin-eosin (HE) staining and oil red O staining. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the level of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), and interleukin-1 β (IL-1 β) in liver tissue. Immunohistochemistry (IHC) and Western blot (WB) were performed to measure the expression of Toll-like receptor 4 (TLR4), nuclear factor- κ B (NF- κ B), and NOD-like receptor protein 3 (NLRP3) proteins in mouse liver tissue. Network pharmacology identified 97 active components, 108 intersection targets, and 10 core targets of Modified Wushi Xiexin Decoction. GO enrichment analysis indicated that anti-NAFLD effects were exerted by regulating biological processes such as oxidative stress and nutritional levels. KEGG enrichment analysis mainly involved signaling pathways, including TLR, NF- κ B, and TNF. The GEO database indicates that there is a significant difference in TLR4 expression between healthy individuals and NAFLD patients ($P < 0.05$), with the area under the ROC curve (AUC) being greater than 0.810, suggesting a high diagnostic efficacy. Animal experiments showed that Modified Wushi Xiexin Decoction could alleviate pathological damage in the liver tissue of NAFLD mice, reduce blood lipids, improve liver function, and downregulate the expression of inflammatory factors in liver tissue. IHC and WB confirmed that Modified Wushi Xiexin Decoction could downregulate the TLR4 expression, inhibit NF- κ B activity, and suppress NLRP3 inflammasome activation. In conclusion, Modified Wushi Xiexin Decoction may alleviate inflammatory responses and improve liver function and blood lipids in NAFLD by regulating the TLR4/NF- κ B signaling pathway and inhibiting NLRP3 inflammasome activation, thereby exerting therapeutic effects on NAFLD.

[Key words] Modified Wushi Xiexin Decoction; non-alcoholic fatty liver disease; network pharmacology; Toll-like receptor signaling pathway; inflammation

DOI:10.19540/j.cnki.cjcm.20250813.401

非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 是全球最常见的慢性肝病,影响约 32% 的全球人口^[1]。该疾病常与代谢紊乱相关,包括肥胖、胰岛素抵抗、2 型糖尿病和代谢综合征,这些因素通过加剧肝脏脂肪堆积、炎症反应和肝细胞损伤,共同推动疾病进展并增加其复杂性^[2]。NAFLD 的发病机制复杂,从先前广为接受的“二次打击学说”,到目前的“多种平行打击学说”均涉及脂质代谢紊乱、氧化应激、炎症反应和胰岛素抵抗等核心环节^[3-4],其疾病进程可逐步发展至非酒精性脂肪性肝炎 (NASH)、肝硬化和肝细胞癌等严重结局^[5]。其中,肝脏炎症是连接 NAFLD 早期与严重阶段的关键环节,也是促进肝纤维化和

肝硬化发展的促发因素^[6]。尽管 NAFLD 患病率高且疾病负担沉重,但目前临床仍缺乏获批的特异性药物治疗方案,主要依赖饮食控制、增加体力活动等生活方式干预,辅以调血脂、保肝药物治疗。然而,长期生活方式干预的依从性不足,现有药物治疗存在潜在毒性且可能加重肝肾负担,因此临床上迫切需要探索针对 NAFLD 的有效防治策略。

多项研究表明,中医药在 NAFLD 治疗中具有独特优势^[7]。NAFLD 病理生理机制涉及多因素,单一靶点药物治疗疗效有限。相比之下,中药通过多成分、多靶点调节多条生物通路,为 NAFLD 治疗提供了新策略^[8]。中医将 NAFLD 归为“肝癖”范畴,认

为其发病与饮食不节、劳逸失度及禀赋不足相关。病位在肝,责于脾胃,以邪实为主;饮食不节致湿浊内生,日久化热,与肝内相火搏结,终致湿热壅滞于肝。因此,湿热被视为 NAFLD 发生发展的关键病理因素,苦泄法为针对该病理机制的重要治疗法则^[9]。吴氏泻心汤加减方源自吴鞠通《温病条辨·中焦篇》,为苦泄法经典代表方,原方载“阳明暑温,脉滑数,浊痰凝聚,心下痞者,半夏泻心汤去人参、干姜、大枣、甘草加枳实、杏仁主之”,吴氏继承张仲景辛开苦降法,发展叶天士“苦泄法”思想,于叶氏基础上加入枳实、杏仁,减去人参、大枣。与《伤寒论》半夏泻心汤相比,两者病位均在中焦,此方所治为纯实、纯热证,故本方保留清热化湿力量强劲的黄连、黄芩、半夏,减去甘温助热、壅滞中焦的人参、干姜、大枣。加入杏仁宣上焦肺气,肺为气机升降之帅,肺气恢复则湿气自除;加入枳实消积化痰除痞;同时取“麻子仁丸”之意,以枳实、杏仁通降腑气^[10]。课题组临床观察表明,该方可改善患者临床症状,调节血脂水平,提高生活质量,并降低血清甘油三酯(TG)和总胆固醇(TC)水平。然而,吴氏泻心汤加减方治疗 NAFLD 的具体作用机制仍缺乏可靠的科学依据。

近年来,网络药理学已广泛应用于中药药效物质基础及作用机制研究^[11]。该方法基于系统生物学理论,通过分析生物系统网络揭示药物-靶点-疾病的复杂关联,预测药物作用机制,为提升药物治疗效果提供新思路^[12-13]。整合网络药理学策略通过构建“化合物-蛋白/基因-疾病”网络,以高通量方式解析小分子调控规律及药物组合作用机制,推动研究范式从“单靶点单药”到“多靶点协同治疗”转变^[14]。借助其技术优势,可识别吴氏泻心汤加减方的活性成分并探索其治疗 NAFLD 的潜在通路与靶点。

本研究评估了吴氏泻心汤加减方对 NAFLD 发展的影响及其潜在机制,通过构建高脂饮食(HFD)联合链脲佐菌素(STZ)诱导的 NAFLD 小鼠模型,结合网络药理学与动物实验验证,探究吴氏泻心汤加减方对 NAFLD 的抗炎作用及分子机制。

1 材料

1.1 动物及饲料 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 76 只,6 周龄,体质量 16~20 g,由成都达硕生物科技有限公司提供,动物合格证号 SYXK(川)2020-030,饲养于成都中医药大学基础医学院实验中心动物房。

60%高脂饲料购自南通特洛菲饲料有限公司,由 19.4%蛋白质、20.6%碳水化合物、60%脂肪组成。本实验经成都中医药大学伦理委员会批准(批准号 2024145),实验过程中对动物严格遵守“3R”原则。

1.2 药物 吴氏泻心汤加减方按照《温病条辨》原书记载的药物剂量比例配伍:半夏 15 g、黄连 6 g、黄芩 9 g、枳实 6 g、杏仁 9 g,饮片均购自成都中医药大学附属医院中药房,由成都中医药大学实验师郭佳晨鉴定与评估,药材质量合格。上述 5 味药分别以 8.6 倍体积水煎煮 2 次,煎液经旋转蒸发仪浓缩至一定体积后制备为冻干粉,于 4℃ 冰箱保存备用。盐酸二甲双胍配制:0.20 g 粉末溶于 10 mL 蒸馏水,现用现配。

1.3 试剂及仪器 STZ(美国 Sigma 公司,货号 s0130);苏木素染液(武汉赛维尔生物科技有限公司,货号 G1004);丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、TC、TG 试剂盒(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司,货号分别为 105-000442-00、105-00044-00、105-000448-00、20201223);小鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素- 1β (IL- 1β) ELISA 试剂盒(美国 ThermoFisher Scientific 公司,货号分别为 88-7324-88、88-7013-88);小鼠白细胞介素-6(IL-6) ELISA 试剂盒(杭州联科生物技术股份有限公司,货号 EK206/3);Toll 样受体 4(TLR4)一抗(英国 Abcam 公司,货号 Ab217274);NOD 样受体蛋白 3(NLRP3)一抗(美国 Affinity 公司,货号 DF7438);核因子 κ B(NF- κ B)一抗(美国 CST 公司,货号 14358S)。石蜡病理切片机(上海徕卡仪器有限公司,型号 RM2016);石蜡包埋机(武汉俊杰电子有限公司,型号 JB-P5);多功能病理切片扫描仪(匈牙利 3DHISTECH 公司,型号 Panoramic midi);全功能酶标仪(美国 ThermoFisher Scientific 公司,型号 MK3)。

2 方法

2.1 动物分组、造模及给药 76 只 SPF 级 C57BL/6J 小鼠随机分为正常组(12 只)和造模组(64 只)。正常组给予低脂饲料喂养,造模组给予 60%高脂饲料喂养。12 周后,造模组一次性腹腔注射 100 mg·kg⁻¹ STZ,正常组腹腔注射等剂量柠檬酸钠缓冲液。注射后小鼠按体质量再随机分为模型组(14 只)、吴氏泻心汤加减方高剂量组(2.6 g·kg⁻¹,12 只)、吴氏泻心汤加减方中剂量组(1.3 g·kg⁻¹,12 只)、吴氏泻心汤加减方低剂量组(0.65 g·kg⁻¹,12 只)、阳性药

二甲双胍组($0.2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 12只)。STZ注射后第7天开始灌胃给药,吴氏泻心汤加减方的人体常规剂量为每60 kg体质量给予45 g,根据《中药药理研究方法学》,按体表面积等效换算,小鼠剂量为成人剂量的12倍,得到小鼠等效剂量 $1.3\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (即中剂量),高、中、低剂量按2:1:0.5设置;二甲双胍剂量参照临床常用量。各组灌胃容积均为 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$,每天1次,连续7周。实验期间观察并记录各组小鼠情况。

2.2 标本采集与处理 末次给药后,小鼠禁食不禁水12 h,剪去胡须,摘取眼球取血,血液自然流出。剖开腹腔分离肝脏,肉眼观察其外观、色泽、包膜紧张度;经 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 生理盐水冲洗后,锡箔纸过滤称重,于冰浴培养皿中快速切取肝组织,部分置于4%多聚甲醛中固定,其余装入冻存管,液氮速冻保存。

2.3 血清生化指标检测 采集的血液常温放置2 h后 $3\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min,取上清液,采用全自动动物生化检测系统测定血清中AST、ALT、TC、TG含量;按试剂盒说明书操作,以ELISA法检测肝组织TNF- α 、IL-6、IL-1 β 表达。

2.4 苏木素-伊红(HE)染色观察肝脏组织病理 固定的肝组织经常规脱水、透明、浸蜡及石蜡包埋后切片,厚度约 $5\text{ }\mu\text{m}$ 。切片脱蜡后依次浸入不同梯度乙醇脱水,行HE染色,风干后中性树胶封片,全景扫描仪完整扫描,CaseViewer 2.4.0软件200倍视野下拍照。

2.5 油红O染色观察肝脏脂质蓄积 冰冻肝组织切片常温干燥后,浸入0.5%油红O染液,75%乙醇分化,流水冲洗,苏木素染液复染,封片剂封片,全景扫描仪完整扫描,CaseViewer 2.4.0软件200倍视野下拍照。

2.6 网络药理学分析 首先,基于吴氏泻心汤加减方的中药材,从中药系统药理学平台(TCMSP)数据库中获取中药成分^[15],该数据库依据口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 且类药性(DL) ≥ 0.18 的筛选标准,对吴氏泻心汤加减方中的活性成分及对应靶点进行筛选。其次,通过治疗靶点数据库(TTD, <http://db.idrblab.net/ttd/>)、比较毒理基因组学数据库(CTD, <https://ctdbase.org/>)、在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM, <https://omim.org/>)、GeneCards数据库(<https://www.genecards.org/>)、PharmGKB数据库(<https://www.pharmgkb.org/>),以“non-alcoholic fatty liver disease”为检索词筛选NAFLD疾病相关靶点。将NAFLD靶点与药物作用靶点进行映射,获取交集靶点并用韦恩图展示,随后利用Cytoscape 3.8.2软件构建“中药-成分-靶点”网络。最后,基于R 4.0.2软件,对交集靶点进行基因本体论(GO)富集分析与京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,明确靶点富集的疾病相关通路,并使用Cytoscape 3.8.2软件构建“中药-成分-靶点-通路”网络。

2.7 GEO数据库分析 下载GEO数据集GSE63067(注释平台为GPL570),选取数据集中7个正常对照样本和9个NAFLD样本,提取吴氏泻心汤加减方治疗NAFLD相关重要靶点的基因表达水平并绘制箱线图,利用ROC曲线评估差异表达靶点的临床诊断效能。

2.8 免疫组化检测小鼠肝组织TLR4、NF- κ B、NLRP3蛋白表达 将肝脏组织常规脱水、透明、浸蜡、石蜡包埋,连续切片。阻断内源性过氧化物酶,滴加TLR4、NF- κ B、NLRP3一抗, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。之后滴加HRP标记的二抗室温孵育,脱水封片,使用全景扫描仪完整扫描,之后用CaseViewer 2.4.0软件在400倍视野拍照。以细胞核或胞浆中出现棕黄色为阳性表达。

2.9 Western blot检测TLR4、NLRP3蛋白表达 取黄豆大小冰冻肝组织置于2 mL EP管,研磨后加RIPA裂解液, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min取上清液,BCA试剂盒测定蛋白浓度。蛋白上样后电泳分离,转膜封闭;加入TLR4(1:1 000)、NLRP3(1:1 000)一抗 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,次日二抗常温孵育1 h,洗膜3次后滴加显影液显影。ChemiScope Analysis软件测定TLR4、NLRP3灰度值,半定量分析条带灰度,以目的蛋白与 β -actin灰度值比值表示其表达水平。

2.10 统计学分析 所有统计分析均使用SPSS 25.0软件进行统计,以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示;多组间比较采用单因素方差分析;组间两两比较时,若方差齐时用LSD检验,若方差不齐时用Dunnett T3检验。 $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 吴氏泻心汤加减方对NAFLD小鼠肝脏外观、病理和脂质蓄积的影响 肝组织肉眼观察可见正常组肝脏体积适中,红褐色,包膜光滑有弹性;模型组肝脏体积增大,奶黄色,包膜油腻且难剥离;二甲双

胍组及吴氏泻心汤加减方各剂量组肝脏色泽、弹性及质地较模型组改善(见中国知网本文增强出版附加材料)。HE 染色结果显示,正常组肝组织排列整齐,细胞体积适中,核位正常;模型组细胞排列紊乱,肿胀呈椭圆形,核移位且胞浆空泡样显著;二甲双胍组及吴氏泻心汤加减方高、中剂量组细胞排列较规

整,胞浆大泡样改变减轻,吴氏泻心汤加减方低剂量组仍可见细胞排列紊乱及核移位,见图 1。油红 O 染色显示,正常组无明显脂滴;模型组脂滴广泛弥散分布;二甲双胍组及吴氏泻心汤加减方高、中剂量组脂滴数量减少,体积减小且分布稀疏,吴氏泻心汤加减方低剂量组改善不显著,见图 1。

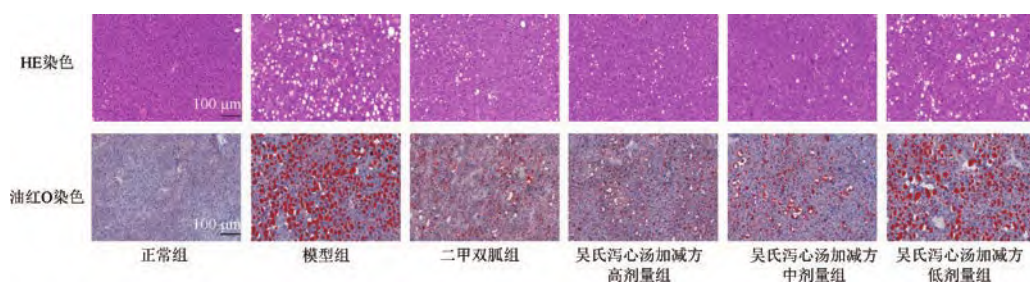


图 1 各组小鼠肝组织 HE、油红 O 染色($\times 200$)

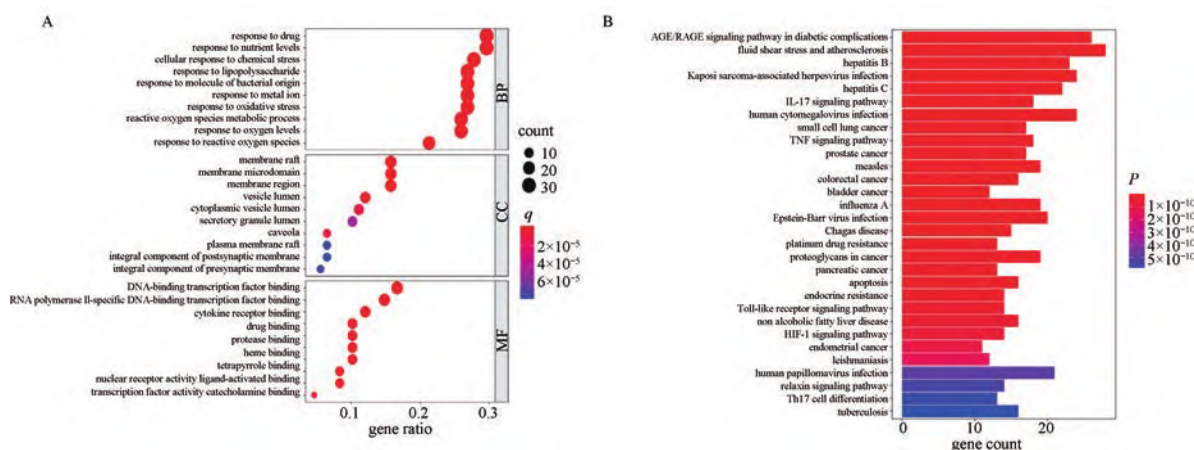
Fig. 1 HE and oil red O staining of liver tissue of mice in each group($\times 200$)

3.2 网络药理学预测吴氏泻心汤加减方抗 NAFLD 的潜在靶点及保护机制 为探究吴氏泻心汤加减方治疗 NAFLD 的分子机制,本研究首先从相关数据库获取吴氏泻心汤加减方相关靶点 212 个及 NAFLD 相关靶点 1 830 个,合并取交集后,获得 108 个吴氏泻心汤加减方抗 NAFLD 的潜在靶点。借助 Cytoscape 3.8.2 软件构建吴氏泻心汤加减方“药物-成分-靶点”网络;随后,利用 STRING 数据库对 108 个交集靶点开展蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)分析,获得 PPI 网络;通过 Cytoscape 3.8.2 软件的 CytoNCA 插件进行网络拓扑分析,依据 degree 筛选出排名前 10 的靶点,以建立核心靶点的 PPI 网络(见中国知网本文增强出版附加材料)。PPI 分析结果发现 IL-6、前列腺素内过氧化物合酶 2(PTGS2)、C-X-C 基序趋化因子配体 8(CXCL8)等核心靶点均为典型促炎细胞因子。利用 R 4.0.2 软件对 108 个共有靶点进行 GO 与 KEGG 富集分析,结果见图 2。GO 富集分析显示,这些靶点参与对药物、营养水平、化学应激、脂多糖、活性氧代谢过程、细菌起源分子、氧化应激等多种生物学过程的反应。KEGG 富集分析表明,这些靶点与 TNF 信号通路、Toll 样受体信号通路、缺氧诱导因子-1(HIF-1)信号通路、磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)信号通路、NF- κ B 信号通路及 NAFLD 等密切相关。为探究吴氏泻心汤加减方与其关键靶点的相互作用,选取基因富集

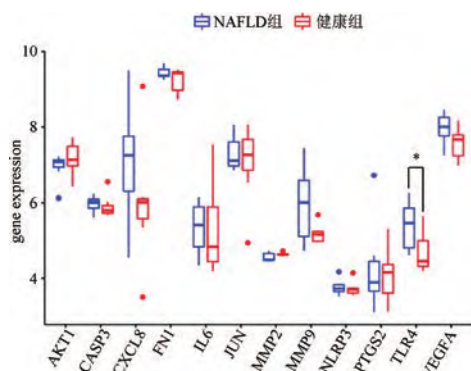
程度最高的前 20 条信号通路开展研究,并借助 Cytoscape 3.8.2 软件构建“吴氏泻心汤加减方-NAFLD-靶点-通路”网络。结合 KEGG 与 PPI 分析的结果表明,吴氏泻心汤加减方可能通过调控 TLR、NF- κ B 及 TNF 等炎症相关通路改善 NAFLD 病理进程。鉴于 NAFLD 中 TLR、NF- κ B 通路激活在肝损伤诱导炎症级联反应中的核心作用^[16-17]。本研究选择 TLR、NF- κ B 通路作为后续机制验证的关键靶点。

3.3 GEO 数据库验证关键基因靶点 本研究通过检索 GEO 数据库获取健康者和 NAFLD 患者肝组织的表达谱芯片 GSE63067,运用生物信息学方法提取吴氏泻心汤加减方治疗 NAFLD 关键靶点的表达量,比较健康组与 NAFLD 组的差异并绘制箱线图,见图 3。箱线图结果显示,TLR4 在健康者和 NAFLD 患者中存在显著差异($P < 0.05$)。进一步对 TLR4 做 ROC 曲线预后分析,曲线下面积(AUC) > 0.810 ,提示 TLR4 为健康者与 NAFLD 患者的差异表达蛋白,其作为 NAFLD 差异表达基因具有较高的诊断效能(见中国知网本文增强出版附加材料)。

3.4 吴氏泻心汤加减方对 NAFLD 小鼠肝功能 ALT、AST、TC、TG 的影响 与正常组相比,模型组小鼠血清中 ALT、AST、TC、TG 水平显著升高($P < 0.01$);与模型组相比,吴氏泻心汤加减方高剂量组小鼠血清中 AST、TG 水平显著降低($P < 0.01$),吴氏



BP. 生物过程;CC. 细胞组分;MF. 分子功能。
图 2 核心靶点的 GO(A)和 KEGG(B) 富集分析
Fig. 2 GO (A) and KEGG (B) enrichment analysis of core targets



2 组相比 * $P<0.05$ 。
图 3 健康者与 NAFLD 患者重要靶点的箱线图
Fig. 3 Box plot of key targets in healthy individuals and NAFLD patients

泻心汤加减方中剂量组小鼠血清中 ALT、AST、TC、TG 水平显著降低 ($P<0.05, P<0.01$), 吴氏泻心汤加减方低剂量组小鼠血清中 TC 含量显著降低 ($P<0.05$), 二甲双胍组小鼠血清中 ALT、AST、TC、TG 水平显著降低 ($P<0.05, P<0.01$), 见表 1。

3.5 吴氏泻心汤加减方对 NAFLD 小鼠肝组织 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平的影响 与正常组相比, 模型组小鼠肝组织中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 含量显著升高 ($P<0.01$); 与模型组相比, 吴氏泻心汤加减方高剂量组小鼠肝组织中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 含量显著降低 ($P<0.01$), 吴氏泻心汤加减方中剂量组小鼠肝组织中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 含量显著降低 ($P<0.05$,

表 1 吴氏泻心汤加减方对 NAFLD 小鼠 ALT、AST、TC、TG 水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)
Table 1 Effect of Modified Wushi Xiexin Decoction on levels of ALT, AST, TC, and TG of NAFLD mice ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	ALT/ $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$	AST/ $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$	TC/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	TG/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$
正常	—	31.20 $\pm$ 1.95	165.05 $\pm$ 13.68	4.00 $\pm$ 0.30	0.96 $\pm$ 0.17
模型	—	171.05 $\pm$ 32.53 ²⁾	330.13 $\pm$ 47.92 ²⁾	5.38 $\pm$ 0.31 ²⁾	2.34 $\pm$ 0.25 ²⁾
二甲双胍	0.2	111.00 $\pm$ 15.87 ³⁾	225.40 $\pm$ 31.66 ⁴⁾	4.16 $\pm$ 0.49 ⁴⁾	1.40 $\pm$ 0.30 ⁴⁾
吴氏泻心汤加减方	2.6	131.60 $\pm$ 55.62	253.57 $\pm$ 43.70 ⁴⁾	5.05 $\pm$ 0.85	1.53 $\pm$ 0.18 ⁴⁾
	1.3	109.65 $\pm$ 17.65 ³⁾	273.55 $\pm$ 33.67 ³⁾	4.12 $\pm$ 0.55 ⁴⁾	1.73 $\pm$ 0.27 ⁴⁾
	0.65	164.42 $\pm$ 27.84	297.31 $\pm$ 51.80	4.63 $\pm$ 0.15 ³⁾	2.16 $\pm$ 0.28

注: 与正常组相比¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; 与模型组相比³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$ (表 2~4 同)。

$P<0.01$), 吴氏泻心汤加减方低剂量组小鼠肝组织中 TNF- α 含量显著下降 ($P<0.05$), 二甲双胍组小鼠肝组织中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 含量显著降低 ($P<0.01$), 见表 2。

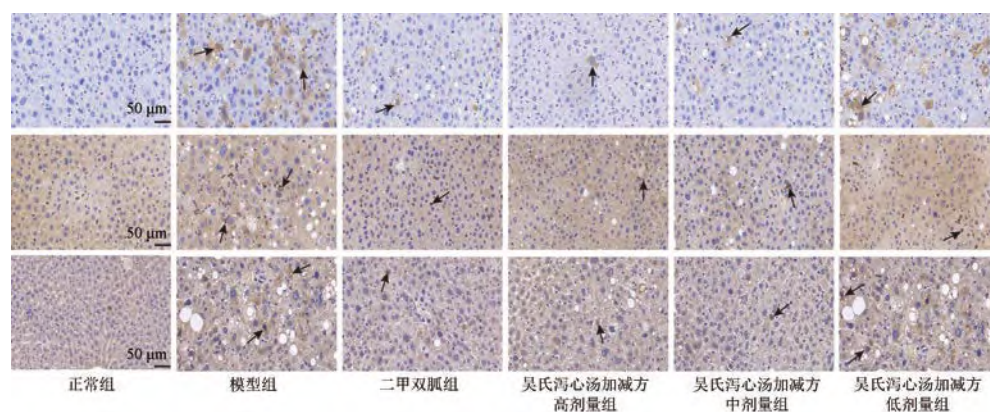
3.6 吴氏泻心汤加减方对 NAFLD 小鼠肝组织 TLR4、NF- κ B、NLRP3 蛋白表达的影响 与正常组相比, 模型组小鼠肝组织中 TLR4、NF- κ B、NLRP3 蛋白表达显著升高 ($P<0.01$); 与模型组相比, 吴氏泻

表 2 吴氏泻心汤加减方对 NAFLD 小鼠炎症指标 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的影响($\bar{x}\pm s$, $n=6$)Table 2 Effect of Modified Wushi Xiexin Decoction on inflammatory indexes TNF- α , IL-6 and IL-1 β of NAFLD mice($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	TNF- α / $\text{pg}\cdot\text{mg}^{-1}$	IL-6/ $\text{pg}\cdot\text{mg}^{-1}$	IL-1 β / $\text{pg}\cdot\text{mg}^{-1}$
正常	—	122.32 $\pm$ 32.93	372.26 $\pm$ 52.97	80.02 $\pm$ 32.61
模型	—	276.69 $\pm$ 35.30 ²⁾	561.87 $\pm$ 54.06 ²⁾	190.60 $\pm$ 21.87 ²⁾
二甲双胍	0.2	155.52 $\pm$ 20.02 ⁴⁾	440.03 $\pm$ 74.23 ⁴⁾	128.09 $\pm$ 20.66 ⁴⁾
吴氏泻心汤加减方	2.6	186.46 $\pm$ 49.11 ⁴⁾	449.78 $\pm$ 72.89 ⁴⁾	124.72 $\pm$ 29.19 ⁴⁾
	1.3	175.10 $\pm$ 35.55 ⁴⁾	458.23 $\pm$ 43.23 ³⁾	127.77 $\pm$ 19.00 ⁴⁾
	0.65	221.51 $\pm$ 40.26 ³⁾	491.87 $\pm$ 84.57	169.16 $\pm$ 39.55

心汤加减方中、高剂量组小鼠肝组织中 TLR4、NF- κ B、NLRP3 蛋白表达显著降低($P<0.05$, $P<0.01$), 吴氏泻心汤加减方低剂量组小鼠肝组织中 TLR4、

NF- κ B、NLRP3 蛋白表达有轻微下降趋势, 二甲双胍组小鼠肝组织中 TLR4、NF- κ B、NLRP3 蛋白表达显著降低($P<0.01$), 见图 4、表 3。



箭头指示 TLR4、NF- κ B、NLRP3 蛋白阳性表达(棕褐色染色)。

图 4 各组小鼠肝组织 TLR4、NF- κ B 和 NLRP3 表达(免疫组化, $\times 400$)Fig. 4 TLR4, NF- κ B, and NLRP3 expression in liver tissues of mice in each group (immunohistochemistry, $\times 400$)表 3 吴氏泻心汤加减方对 TLR4、NF- κ B、NLRP3 蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s$, $n=6$)Table 3 Effect of Modified Wushi Xiexin Decoction on protein expression of TLR4, NF- κ B, and NLRP3($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	TLR4	NF- κ B	NLRP3
正常	—	3.20 $\pm$ 0.68	5.13 $\pm$ 0.60	3.05 $\pm$ 0.33
模型	—	10.69 $\pm$ 0.71 ²⁾	9.51 $\pm$ 1.05 ²⁾	5.29 $\pm$ 0.72 ²⁾
二甲双胍	0.2	4.69 $\pm$ 1.33 ⁴⁾	6.11 $\pm$ 1.21 ⁴⁾	3.10 $\pm$ 0.65 ⁴⁾
吴氏泻心汤加减方	2.6	5.62 $\pm$ 1.97 ⁴⁾	7.02 $\pm$ 0.52 ³⁾	3.23 $\pm$ 0.38 ⁴⁾
	1.3	4.54 $\pm$ 3.73 ⁴⁾	7.19 $\pm$ 0.78 ³⁾	2.70 $\pm$ 0.59 ⁴⁾
	0.65	10.15 $\pm$ 1.09	9.13 $\pm$ 1.95	4.50 $\pm$ 1.45

3.7 吴氏泻心汤加减方对 NAFLD 小鼠肝组织 TLR4、NLRP3 蛋白表达的影响 与正常组相比, 模型组小鼠肝组织中 TLR4、NLRP3 蛋白表达显著增加($P<0.05$); 与模型组相比, 吴氏泻心汤加减方各剂量组小鼠肝组织中 TLR4、NLRP3 蛋白表达显著

降低($P<0.05$, $P<0.01$), 二甲双胍组小鼠肝组织中 TLR4、NLRP3 蛋白表达显著降低($P<0.05$, $P<0.01$), 见图 5、表 4。

4 讨论

随着饮食结构和生活方式的改变, NAFLD 近年

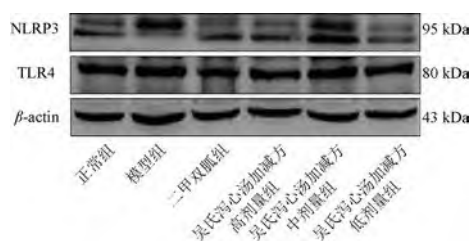


图 5 各组小鼠肝组织 NLRP3、TLR4 蛋白条带

Fig. 5 Bands of NLRP3 and TLR4 proteins in liver tissues of mice in each group

表 4 吴氏泻心汤加減方对小鼠肝组织 NF- κ B、NLRP3 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 4 Effect of Modified Wushi Xiexin Decoction on protein expression of NF- κ B and NLRP3 in liver tissues of mice ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	TLR4/ β -actin	NLRP3/ β -actin
正常	—	0.17 $\pm$ 0.02	0.31 $\pm$ 0.11
模型	—	0.28 $\pm$ 0.03 ¹⁾	0.45 $\pm$ 0.04 ¹⁾
二甲双胍	0.2	0.18 $\pm$ 0.03 ³⁾	0.24 $\pm$ 0.06 ⁴⁾
吴氏泻心汤	2.6	0.17 $\pm$ 0.01 ³⁾	0.25 $\pm$ 0.07 ⁴⁾
加減方	1.3	0.20 $\pm$ 0.03 ³⁾	0.21 $\pm$ 0.05 ⁴⁾
	0.65	0.18 $\pm$ 0.02 ³⁾	0.21 $\pm$ 0.07 ⁴⁾

来已成为肝病研究的热点^[18]。在中国,NAFLD 已超越其他慢性肝病成为最常见类型,对公众健康构成显著危害。NAFLD 以肝脏炎症和脂质代谢紊乱为特征,常伴随小叶及门静脉炎症^[19]。因此,减轻肝脏炎症可能是延缓 NAFLD 进展的关键干预手段。现代医学目前缺乏直接干预 NAFLD 炎症且阻断疾病进展的特异性药物和治疗方法,而中药治疗因其疗效显著且不良反应发生率低逐渐获得认可^[20]。研究证实,吴氏泻心汤加減方中中药活性单体或单味中药配伍具有改善 NAFLD 潜力,包括减轻肝脏脂肪变性、改善胰岛素抵抗、缓解肝脏炎症及调节脂质代谢^[21-25],但其具体作用机制尚未阐明。构建高质量动物模型是探究疾病发病机制及评估药物疗效的关键。目前 NAFLD 诱导建模方法多样,以 HFD 诱导法最常用,但单纯 HFD 诱导肝脏病变较轻,且耗时较长,难以长期维持并促进其进展。研究表明^[26],HFD 联合低剂量 STZ 腹腔注射可加速单纯性脂肪肝向 NASH 甚至肝纤维化的病理转变。本研究采用 60%HFD 联合腹腔注射 100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ STZ 建立 NAFLD 模型,STZ 腹腔注射剂量通过预实验优化

确定,兼具低致死率与高成模率。HE 染色和油红 O 染色结果显示,模型组小鼠存在明显的肝脂肪变性和脂滴广泛弥散分布,表明 NAFLD 小鼠模型构建成功。

本研究首次整合网络药理学与动物实验验证,系统评估其治疗 NAFLD 的疗效并阐明潜在作用机制。动物实验显示,吴氏泻心汤加減方可降低 NAFLD 小鼠 ALT、AST、TC、TG 水平,改善肝组织 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 等炎症指标。网络药理学分析构建“吴氏泻心汤加減方-NAFLD-靶点-通路”网络,揭示其通过 97 个活性成分作用于 108 个靶点,发挥防治 NAFLD 的多成分、多靶点特性;KEGG 富集分析显示这些靶点显著富集于 TNF、TLR、NF- κ B 等信号通路及 NAFLD 相关通路。基于 GEO 数据库表达谱芯片 GSE63067 的生物信息学分析进一步证实,TLR4 在 NAFLD 患者肝组织中差异表达,提示其潜在诊断价值。

TLR 信号通路是近年来 NAFLD 研究的重要通路。TLRs 参与调控 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等炎症因子,且在激活先天免疫与炎症中起关键作用^[27]。作为一组跨膜蛋白,TLRs 可识别病原体相关的炎症及分子过程,参与宿主防御^[28];其作为肝脏免疫系统主要成分,已证实与肝脏脂肪变性和炎症发生有关,广泛表达于各类肝细胞,在多种肝病的发生、发展及恢复过程中起重要调节作用^[29]。其中,TLR4 为细胞膜受体,可激活 NF- κ B,进而上调 IL-1 β 、TNF- α 等促炎细胞因子的产生^[30]。TLR4 信号通过髓样分化因子 88 (MyD88) 依赖及非依赖途径启动,MyD88 通路激活最终导致 NF- κ B p65 的核移位及炎症级联反应激活,产生 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等促炎因子^[31],诱导肝细胞炎症损伤,加剧纤维化进程,导致损伤级联放大^[26]。此外,TLR4 缺失可减轻肝损伤、肝脏炎症及纤维化^[32];TLR4 激活 NF- κ B 后产生的 TNF- α 、IL-1 β 等促炎因子,会加剧炎症反应,导致肝脏脂肪生成和脂质堆积^[33]。NF- κ B 是慢性肝病炎症和细胞死亡的主要转录调节因子,在 NAFLD 中常因炎症反应激活,通过诱导炎症相关基因表达调控肝细胞、Kuffer 细胞和肝星状细胞功能,是 NAFLD 进展中肝脏炎症的重要成因。经典 NF- κ B 信号通路通过调控 IL-6 等细胞因子及生长因子表达,在肝脏炎症反应中起关键作用^[34],其异常激活会加剧 NAFLD 肝脏炎症^[35]。NLRP3 是炎症小体家族关键成员,其

激活可介导炎症,而 NF- κ B 信号通路是激活前提。多项研究表明,NLRP3 与 NASH 和肝纤维化密切相关^[36]。肝脏过度脂质积累会促进炎症小体激活,诱导肝脏处于促炎状态,并引发外周血巨噬细胞浸润^[37]。NLRP3 炎症体为细胞质多蛋白复合体,由病原体微生物提取或损伤细胞释放的分子构成,负责激活炎症反应^[38],在其经典通路中,NF- κ B 是激活先决条件^[39]。肝细胞中 NLRP3 炎症体激活与肝病发病机制相关,可介导 IL-1 β 和 IL-18 裂解和成熟,引发局部和全身炎症反应^[40-42];随着体内 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 等促炎因子增加,NF- κ B 进一步激活并启动 NLRP3 炎症体,形成炎症级联增强的恶性循环,导致 NAFLD 损害不断加重。本实验通过免疫组化、Western blot 检测小鼠肝组织 TLR4、NF- κ B、NLRP3 蛋白表达,结果显示三者 NAFLD 小鼠模型中高表达,而吴氏泻心汤加减方各剂量可不同程度降低其表达,提示吴氏泻心汤加减方可能通过下调 TLR4 表达,抑制 NF- κ B 活性及 NLRP3 炎症小体激活,减少炎症因子的表达,发挥抗炎作用。

综上,本研究通过网络药理学初步筛选出吴氏泻心汤加减方治疗 NAFLD 的主要活性成分、作用靶点及关键信号通路,结合 NAFLD 小鼠模型验证了其药效及潜在机制。结果显示,该方剂可能调控 TLR4/NF- κ B 信号通路,抑制 NLRP3 炎症小体活化,降低肝组织炎症因子表达,减轻 NAFLD 炎症反应,提示其作为 NAFLD 防治中药复方的应用前景。然而,本研究存在局限性:仅通过网络药理学和初步实验揭示作用机制,而该方剂含有多种活性成分,可能不仅作用于 TLR4、NF- κ B 等分子,探寻更多靶点和通路对临床应用意义重大;此外,探究 TLR4/NF- κ B 通路调控机制时,需设计相应抑制剂/激活剂以提供更全面证据;未来还需研究其最佳治疗剂量、长期疗效及安全性,以确认临床应用潜力。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] TENG M L, NG C H, HUANG D Q, et al. Global incidence and prevalence of nonalcoholic fatty liver disease [J]. Clin Mol Hepatol, 2023, 29(Suppl): S32.
- [2] ABDELMALEK M F. Nonalcoholic fatty liver disease: another leap forward [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2021, 18(2): 85.
- [3] CARDOSO A C, DE FIGUEIREDO-MENDES C, A VILLELA-NOGUEIRA C, et al. New drugs for non-alcoholic steatohepatitis

[J]. Liver Int, 2020, 40 Suppl 1: 96.

- [4] 邵美婷, 张陈芳, 范超文, 等. 二陈汤对蛋氨酸-胆碱缺乏饲料诱导的非酒精性脂肪性肝炎小鼠的干预作用研究 [J]. 中国中药杂志, 2024, 49(5): 1310.
- [5] KARLSEN T H, SHERON N, ZELBER-SAGI S, et al. The EASL-Lancet Liver Commission: protecting the next generation of Europeans against liver disease complications and premature mortality [J]. Lancet, 2022, 399(10319): 61.
- [6] SCHUSTER S, CABRERA D, ARRESE M, et al. Triggering and resolution of inflammation in NASH [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2018, 15(6): 349.
- [7] LAN T, JIANG S, ZHANG J, et al. Breviscapine alleviates NASH by inhibiting TGF- β -activated kinase 1-dependent signaling [J]. Hepatology, 2022, 76(1): 155.
- [8] HU Q, ZHANG W, WEI F, et al. Human diet-derived polyphenolic compounds and hepatic diseases: from therapeutic mechanisms to clinical utilization [J]. Phytother Res, 2024, 38(1): 280.
- [9] 张炳立. 浅析《温热论》之湿热证治 [J]. 中医杂志, 2004, 45(11): 803.
- [10] 李鑫辉, 朱琳. 从《温病条辨》看吴鞠通对《伤寒论》半夏泻心汤的继承与发展 [J]. 中国中医药信息杂志, 2018, 25(9): 5.
- [11] ZHAO L, ZHANG H, LI N, et al. Network pharmacology, a promising approach to reveal the pharmacology mechanism of Chinese medicine formula [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 309: 116306.
- [12] YUAN Z, PAN Y, LENG T, et al. Progress and prospects of research ideas and methods in the network pharmacology of traditional Chinese medicine [J]. J Pharm Pharm Sci, 2022, 25: 218.
- [13] YE Q, ZHANG Y, YAN D, et al. Integrating pharmacokinetics and network analysis to investigate the mechanism of Moutan Cortex in blood-heat and blood stasis syndrome [J]. Chin Med, 2022, 17(1): 107.
- [14] NOOR F, ASIF M, ASHFAQ U A, et al. Machine learning for synergistic network pharmacology: a comprehensive overview [J]. Brief Bioinform, 2023, 24(3): bbad120.
- [15] RU J, LI P, WANG J, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. J Cheminform, 2014, 6: 13.
- [16] DELA PENA A, LECLERCQ I, FIELD J, et al. NF- κ B activation, rather than TNF, mediates hepatic inflammation in a murine dietary model of steatohepatitis [J]. Gastroenterology, 2005, 129(5): 1663.
- [17] MU H N, ZHOU Q, YANG R Y, et al. Caffeic acid prevents non-alcoholic fatty liver disease induced by a high-fat diet through gut microbiota modulation in mice [J]. Food Res Int, 2021, 143: 110240.
- [18] YOUNOSSI Z, ANSTEE Q M, MARIETTI M, et al. Global

- burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018, 15(1): 11.
- [19] TIAN L, CHEN J, YANG M, et al. Xiezhuo Tiaozhi formula inhibits macrophage pyroptosis in the non-alcoholic fatty liver disease by targeting the SIRT1 pathway [J]. *Phytomedicine*, 2024, 131: 155776.
- [20] CAO Y, FANG X, SUN M, et al. Preventive and therapeutic effects of natural products and herbal extracts on nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Phytother Res*, 2023, 37(9): 3867.
- [21] ZHANG X, ZHANG J, ZHOU Z, et al. Integrated network pharmacology, metabolomics, and transcriptomics of Huanglian-Hongqu herb pair in non-alcoholic fatty liver disease [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 325: 117828.
- [22] YAN B F, WANG Y, WANG W B, et al. Huangqin decoction mitigates hepatic inflammation in high-fat diet-challenged rats by inhibiting TLR4/NF-kappaB/NLRP3 pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 303: 115999.
- [23] LIN X, ZHANG J, CHU Y, et al. Berberine prevents NAFLD and HCC by modulating metabolic disorders [J]. *Pharmacol Ther*, 2024, 254: 108593.
- [24] HU Q, ZHANG W, WU Z, et al. Baicalin and the liver-gut system: pharmacological bases explaining its therapeutic effects [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 165: 105444.
- [25] 刘王振祖, 钱晓婧, 张家祺, 等. 基于脂质组学研究黄芩-黄连药对的降脂作用 [J]. *中国中药杂志*, 2023, 48(24): 6711.
- [26] CHEN G, WANG R, CHEN H, et al. Gossypol ameliorates liver fibrosis in diabetic rats induced by high-fat diet and streptozocin [J]. *Life Sci*, 2016, 149: 58.
- [27] TAO X, SUN X, YIN L, et al. Dioscin ameliorates cerebral ischemia/reperfusion injury through the downregulation of TLR4 signaling via HMGB-1 inhibition [J]. *Free Radic Biol Med*, 2015, 84: 103.
- [28] LIN Q, LI M, FANG D, et al. The essential roles of Toll-like receptor signaling pathways in sterile inflammatory diseases [J]. *Int Immunopharmacol*, 2011, 11(10): 1422.
- [29] BROERING R, LU M, SCHLAACK J F. Role of Toll-like receptors in liver health and disease [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2011, 121(10): 415.
- [30] ZHAO G N, ZHANG P, GONG J, et al. Tmbim1 is a multivesicular body regulator that protects against non-alcoholic fatty liver disease in mice and monkeys by targeting the lysosomal degradation of Tlr4 [J]. *Nat Med*, 2017, 23(6): 742.
- [31] LUO M C, ZHOU S Y, FENG D Y, et al. Runt-related transcription factor 1 (RUNX1) binds to p50 in macrophages and enhances TLR4-triggered inflammation and septic shock [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(42): 22011.
- [32] YANG L, MIURA K, ZHANG B, et al. TRIF differentially regulates hepatic steatosis and inflammation/fibrosis in mice [J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2017, 3(3): 469.
- [33] MIURA K, OHNISHI H. Role of gut microbiota and Toll-like receptors in nonalcoholic fatty liver disease [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(23): 7381.
- [34] HE G, KARIN M. NF-kappaB and STAT3: key players in liver inflammation and cancer [J]. *Cell Res*, 2011, 21(1): 159.
- [35] HERS I, VINCENT E E, TAVARE J M. Akt signalling in health and disease [J]. *Cell Signal*, 2011, 23(10): 1515.
- [36] SZABO G, PETRASEK J. Inflammasome activation and function in liver disease [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2015, 12(7): 387.
- [37] CUI Y, GUO C, XIA Z, et al. Exploring the therapeutic potential of a nano micelle containing a carbon monoxide-releasing molecule for metabolic-associated fatty liver disease by modulating hypoxia-inducible factor-1alpha [J]. *Acta Biomater*, 2023, 169: 500.
- [38] SHAO B Z, XU Z Q, HAN B Z, et al. NLRP3 inflammasome and its inhibitors: a review [J]. *Front Pharmacol*, 2015, 6: 262.
- [39] HUANG Y, WAN T, PANG N, et al. Cannabidiol protects livers against nonalcoholic steatohepatitis induced by high-fat high cholesterol diet via regulating NF-kappaB and NLRP3 inflammasome pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(11): 21224.
- [40] 邵益丹, 史婷婷, 席建军, 等. 基于 NLRP3 基因研究其调节非酒精性脂肪性肝病小鼠炎症反应的作用机制 [J]. *中国现代应用药学*, 2023, 40(21): 2945.
- [41] 赵芮竹, 滑正阳, 王宇航, 等. 黄连解毒汤抑制 NLRP3 炎症小体活化改善脓毒症小鼠急性肝损伤的机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(22): 27.
- [42] 俞建顺, 陈芝芸. 炎症小体与非酒精性脂肪性肝炎 [J]. *医学研究杂志*, 2019, 48(12): 152.

[责任编辑 马超一]