

ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2018 年 3 月 18 日 第 26 卷 第 8 期 (Volume 26 Number 8)



8/2018

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘 (Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘 (EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志 (Abstract Journal, AJ)》数据库收录.



基础研究

- 479 白藜芦醇对HSC-T6细胞NLRP3炎性体活化的影响

朱毅, 阙任辉, 李勇

临床研究

- 488 参苓白术散辅助治疗伴幽门螺杆菌感染的慢性萎缩性胃炎的疗效及安全性分析

陈小云, 王维, 李杭

- 494 丙泊酚联合舒芬太尼静脉麻醉后无痛胃镜不同入镜时间点对麻醉效果的影响

袁佳, 姚海芳, 胡佳艳

- 500 微波消融与腹腔镜肝切除术对肝血管瘤患者VAS及肝功能的影响

肖莉

- 506 基于Logistic、ROC分析直肠癌放化疗导致急性骨髓抑制的物理因素分析

李方圆, 朱鲁程, 周丽

文献综述

- 512 小鼠结直肠癌肝转移原位瘤模型

欧阳国庆, 潘光栋, 吴永融, 徐洪来

临床实践

- 518 干扰素 α 联合苦参素注射液治疗慢性病毒性乙型肝炎的疗效及对肝纤维化及免疫功能的影响

骆民军, 俞永江

- 524 超声应变率成像评估急性胰腺炎患者左心收缩功能及其与CTSI的相关性

史涛, 王喻, 李闯, 郑惟

- 530 HR-MRI在直肠癌术前分期中应用价值

宋杨

- 537 脑梗死患者消化系统护理的质量持续改进

王芳

消 息

- 499 《世界华人消化杂志》参考文献要求
505 《世界华人消化杂志》外文字符标准
523 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事
529 《世界华人消化杂志》正文要求
536 《世界华人消化杂志》栏目设置

封面故事

夏时海, 博士, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 300162, 天津市东丽区成林道220号, 武警后勤学院附属医院肝胆胰脾中心消化内科. 擅长胰腺疾病的诊治和消化内镜技术, 主要从事急性胰腺炎发病机制的基础研究. 现任中华医学会消化分会全国青年委员, 中国医师学会胰腺病分会全国委员, 中关村(泛亚)消化内镜技术创新战略联盟全国理事, 国家消化病临床研究中心(上海)专家组成员, 国家自然科学基金委消化系疾病评审专家, 中国人民解放军科学技术委员会消化分会委员, 天津市医学会消化分会委员等. 担任《中华胰腺病杂志》等核心期刊编委, *Pancreas*等英文期刊特约审稿人. 先后主持3项国家自然科学基金和3项省部级等十余项科研课题, 国内外核心期刊学术论文80余篇.

本期责任人

编务 李香; 送审编辑 闫晋利; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 马亚娟; 形式规范审核编辑部主任 马亚娟; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2018-03-18

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: wjgd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2018 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Contents

Volume 26 Number 8 March 18, 2018

BASIC RESEARCH

- 479 Effects of resveratrol on activation of NLRP3 inflammasome in HSC-T6 cells
Zhu Y, Que RY, Li Y

CLINICAL RESEARCH

- 488 Clinical efficacy and safety of Shenling Baizhu powder as an adjunctive treatment for atrophic gastritis with *Helicobacter pylori* infection
Chen XY, Wang W, Li H
- 494 Impact of timing of gastroscope insertion on anesthetic effect of intravenous propofol and sufentanil for painless gastroscopy
Yuan J, Yao HF, Hu JY
- 500 Effect of microwave ablation and laparoscopic hepatectomy on visual analogue scale score and liver function in patients with hepatic hemangiomas
Xiao L
- 506 Factors affecting acute myelosuppression induced by radiotherapy and chemotherapy for rectal cancer
Li FY, Zhu LC, Zhou L

REVIEW

- 512 Orthotopic mouse models of colorectal cancer liver metastases
Ou-Yang GQ, Pan GD, Wu YR, Xu HL

CLINICAL PRACTICE

- 518 EInterferon α combined with oxymatrine injection for treatment of chronic viral hepatitis B: Efficacy and effect on hepatic fibrosis and immune function
Luo MJ, Yu YJ
- 524 Correlation of left ventricular systolic function evaluated by strain rate imaging with computed tomography severity index in patients with acute pancreatitis
Shi T, Wang Y, Li C, Zheng W
- 530 Value of high resolution magnetic resonance imaging in preoperative staging of rectal cancer
Song Y
- 537 Continuous improvement of nursing quality in patients with cerebral infarction and dyspepsia
Wang F

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 26 Number 8 March 18, 2018

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Shi-Hai Xia, Professor, Chief Physician, Department of Internal Medicine, Liver, Gallbladder, Pancreas and Spleen Center, Affiliated Hospital of Armed Police Logistics College, 220 Chenglin Avenue, Dongli District, Tianjin 300162, China

Indexed/Abstracted by

Chinese Journal Full-text Database, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, and Abstract Journals.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Jin-Li Yan* Electronic Editor: *Jin-Li Yan* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Ya-Juan Ma* Proof Editor: *Ya-Juan Ma* Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date March 18, 2018

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <http://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

World Chinese Journal of Digestology

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 90.67 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2018 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <http://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

白藜芦醇对HSC-T6细胞NLRP3炎性体活化的影响

朱毅, 阙任烨, 李勇

朱毅, 上海市嘉定区中医医院内一科 上海市 201800

阙任烨, 上海中医药大学附属上海市中西医结合医院脾胃病科
上海市 200082

李勇, 上海中医药大学附属上海市中医医院脾胃病科 上海市 200071

朱毅, 主治医师, 主要从事消化系统的临床与基础研究.

基金项目: 国家自然科学基金, No. 81573775; 上海市卫生系统百人计划基金, No. XBR2013120.

作者贡献分布: 朱毅负责论文写作、实验研究及数据分析; 阙任烨负责论文修改、实验研究及数据分析; 李勇负责论文审核.

通讯作者: 李勇, 主任医师, 博士生导师, 200071, 上海市闸北区芷江中路274号, 上海中医药大学附属上海市中医医院脾胃病科.
liyong8256@126.com
电话: 021-65415910

收稿日期: 2018-01-14

修回日期: 2018-02-05

接受日期: 2018-02-10

在线出版日期: 2018-03-18

Effects of resveratrol on activation of NLRP3 inflammasome in HSC-T6 cells

Yi Zhu, Ren-Ye Que, Yong Li

Yi Zhu, First Department of Internal Medicine, Jiading Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201800, China

Ren-Ye Que, Department of Gastroenterology, Shanghai Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200082, China

Yong Li, Department of Gastroenterology, Shanghai Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81573775; Shanghai Health System People Plan Fund, No. XBR2013120

Correspondence to: Yong Li, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Shanghai Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 274 Zhijiang Middle Road, Zhabei District, Shanghai 200071, China. liyong8256@126.com

Received: 2018-01-14

Revised: 2018-02-05

Accepted: 2018-02-10

Published online: 2018-03-18

Abstract

AIM

To investigate the effect of resveratrol (Res) on the activation of nod-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome in hepatic stellate cell (HSC)-T6 cells and to explore the anti-fibrotic mechanism of Res.

METHODS

Rat hepatic stellate cell (HSC) line HSC-T6 was used. HSC-T6 cells were seeded into cell culture plates with high glucose DMEM medium containing 10% fetal bovine serum for 24 h. Then, the cells were incubated with Res (4, 8, and 16 $\mu\text{mol/L}$) or acetylcysteine (NAC; 5 mmol/L) for 24 h. Oxidative stress (OS) was induced by exposure to hydrogen peroxide (H_2O_2 ; 0.2 mmol/L) for 4 h. MTT method was used to observe the effect of Res on HSC-T6 cell proliferation. ELISA was used to detect the contents of type I collagen (COL-I), transforming growth factor $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), interleukin (IL)-1 β , IL-18, malondialdehyde (MDA), and superoxide dismutase (SOD) in cell culture supernatant. Reactive oxygen species (ROS) production was measured with a fluorescence microplate reader following staining with DCFH-DA probe. Western blot analysis was used to detect the expression of alpha-smooth muscle actin (α -SMA), NLRP3, apoptosis-associated speck-like protein (ASC), and cysteinyl aspartate specific proteinase 1 (caspase 1) in HSC-T6 cells.

RESULTS

Compared with control cells, Res at concentrations from 4 $\mu\text{mol/L}$ to 64 $\mu\text{mol/L}$ significantly suppressed the proliferation of HSC-T6 cells. Compared with control cells, OS induction significantly increased the proliferation of HSC-T6 cells, the contents of COL-1, TGF- β 1, MDA, IL-1 β , and IL-18 in cell culture supernatant, intracellular ROS production, and the protein expression of α -SMA, NLRP3, ASC, and caspase 1-p10 ($P < 0.01$), but decreased the content of SOD in cell culture supernatant ($P < 0.01$). Compared with the OS group, treatment with low-, medium-, or high-dose Res or positive control NAC significantly decreased the proliferation of HSC-T6 cells, the contents of COL-1, TGF- β 1, MDA, IL-1 β , and IL-18 in cell culture supernatant, intracellular ROS production, and the protein expression of α -SMA, NLRP3, ASC, and caspase 1-p10 ($P < 0.01$), but increased the content of SOD in cell culture supernatant ($P < 0.01$).

CONCLUSION

Res could suppress the proliferation and activation of HSC-T6 cells *via* down-regulation of ROS-NLRP3 inflammasome signaling.

© The Author(s) 2018. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Resveratrol; Hepatic fibrosis; Hepatic stellate cell; Nod-like receptor protein 3 inflammasome

Zhu Y, Que RY, Li Y. Effects of resveratrol on activation of NLRP3 inflammasome in HSC-T6 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2018; 26(8): 479-487 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v26/i8/479.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v26.i8.479>

摘要

目的

研究白藜芦醇(resveratrol, Res)对肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)-T6细胞内Nod样受体蛋白3(nod-like receptor protein 3, NLRP3)炎性体活化的影响, 探讨Res抗肝纤维化的作用机制, 为Res的临床应用提供理论依据。

方法

体外培养大鼠HSC系HSC-T6, 细胞用含10%胎牛血清的DMEM高糖培养基培养种板, 细胞贴壁后加入Res(4、8、16 $\mu\text{mol/L}$)或乙酰半胱氨酸(5 mmol/L)孵育24 h. 随后加入过氧化氢(0.2 mmol/L)孵育4 h制作氧化应激模型. 采用MTT法检测细胞增殖水平. ELISA法检测细胞培养上清液中的I型胶原(collagen type 1, COL-1)、转化生长因子(transforming growth factor β 1, TGF- β 1)、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-18、丙二醛(malondialdehyde, MDA)和超氧

化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的含量. 荧光酶标仪检测细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)含量. Western blot法检测细胞 α -平滑肌肌动蛋白(alpha smooth muscle actin, α -SMA)、NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein, ASC)、caspase1的表达。

结果

与对照组比较, Res在浓度范围4-64 $\mu\text{mol/L}$ 对HSC-T6细胞均有显著的抑制效应($P < 0.01$). 与对照组比较, 氧化应激模型组细胞增殖率, 细胞上清液中COL-1、TGF- β 1、MDA、IL-1 β 、IL-18含量, 细胞内ROS产量及 α -SMA、NLRP3、caspase1-p10蛋白表达均呈显著增高趋势($P < 0.01$); 细胞上清液中SOD含量呈明显下降趋势($P < 0.01$). 与模型组比较, Res低、中、高剂量及阳性对照药NAC均可显著抑制HSC-T6细胞增殖率, 减少细胞上清液中COL-1、TGF- β 1、MDA、IL-1 β 、IL-18含量, 细胞内ROS产量及 α -SMA、NLRP3、ASC、caspase1-p10蛋白表达($P < 0.01$); 显著提高细胞上清液中SOD的含量($P < 0.01$).

结论

Res能够通过调节ROS-NLRP3炎性体通路抑制HSC-T6细胞的增殖与活化。

© The Author(s) 2018. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 白藜芦醇; 肝纤维化; 肝星状细胞; NLRP3炎性体

核心提要: 本文在既往研究证实白藜芦醇(resveratrol, Res)抗氧化应激作用的基础上, 通过观察Res对活性氧(reactive oxygen species, ROS)下游Nod样受体蛋白3(nod-like receptor protein 3, NLRP3)炎性体激活的影响, 在细胞水平初步发现其抑制肝星状细胞的作用的机制与抑制ROS活化的NLRP3炎性体相关。

朱毅, 阙任桦, 李勇. 白藜芦醇对HSC-T6细胞NLRP3炎性体活化的影响. *世界华人消化杂志* 2018; 26(8): 479-487 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v26/i8/479.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v26.i8.479>

0 引言

肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)是因各种致病因素所致的慢性肝损伤经反复修复, 过度创伤愈合的应答过程, 导致细胞外基质(extracellular matrix, ECM)在肝脏内过度生成与异常沉积, 最终引起肝脏结构和功能异常改变的一种病理变化. 肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)是HF形成过程中起主要作用的细胞, 而氧化应激

是HSC激活的重要因素之一。目前认为HF仍是一个可逆的病理过程, 因此早期诊断, 早期药物干预, 可有效防止HF向肝硬化的发展。

Nod样受体蛋白3(nod-like receptor protein 3, NLRP3)炎性体是由NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein, ASC)和炎性半胱天冬酶-1(caspase-1)组成, 在细胞质内发挥外源性微生物或内源性危险信号感受器的作用。NLRP3炎性体通过激活caspase-1, 促进白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)和IL-18促炎因子的加工和成熟而发挥生物学效应^[1]。目前已有研究证实NLRP3炎性体参与了HF的发生发展过程^[2]。

白藜芦醇(resveratrol, Res)是提取自中药虎杖的一种主要有效成分, 目前研究表明, 其具有抗炎、抗氧化、抗纤维化、抗肿瘤、保肝利胆、保护心血管等多种药理作用^[3]。但目前对其抗纤维化的相关分子机制仍未能完全明确, 故本研究旨在深入研究Res对HSC-T6活化的影响及其作用机制与NLRP3炎性体的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 大鼠HSC株HSC-T6细胞由上海第二军医大学长征医院消化科惠赠, 其表型为活化的HSC。Res购于中国药品生物制品检定所, 批号111535-201703, 纯度 $\geq 99\%$; 乙酰半胱氨酸购自美国Sigma公司, 批号: D0005215; 大鼠I型胶原(collagen type 1, COL-1)、转化生长因子(transforming growth factor β 1, TGF- β 1)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、IL-1 β 、IL-18 ELISA试剂盒, 上海西唐生物有限公司产品, 批号: 201707; NLRP3一抗(兔抗大鼠IgG多克隆抗体), Santa Cruz公司, 批号: k1814; ASC一抗(兔抗大鼠IgG多克隆抗体), Santa Cruz公司, 批号: k0515; caspase1一抗(兔抗大鼠IgG多克隆抗体), Santa Cruz公司, 批号: b2615; ECL化学发光试剂盒, 批号: 1115702, 美国Millipore公司; DMEM高糖培养基, 批号: NZH1209, 美国Thermo Scientific公司; 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS), 批号: A10106-0455, 奥地利PAA公司; 牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA), 批号: 201705, 美国Amresco公司; 蛋白质分子量预染Marker, Pierce公司产品, 批号: 27681; 山羊抗兔HRP标记二抗, Cell Signaling公司产品, 批号: 8176; ROS检测试剂盒, 南京建成生物科技有限公司产品, 批号: E004。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: HSC-T6细胞用含有10%热灭活胎牛血清的DMEM完全培养基在37℃、体积分数为50 ml/L CO₂、完全饱和湿度条件下常规培养, 每48 h更换培养基, 细胞生长铺满培养瓶底80%后, 用0.25%胰蛋白酶联合0.02%

EDTA消化传代, 实验选用对数生长期细胞^[4]。

1.2.2 MTT检测: 取对数生长期的大鼠HSC-T6, 常规消化、制备单细胞悬液, 接种于96孔培养板中, $1 \times 10^4/100 \mu\text{L}/\text{孔}$, 另设细胞空白对照组及单纯培养液本底组; 细胞铺板24 h后, 每孔加入完全培养基配制的药物, 每个浓度设6个复孔, 空白对照组加入等体积的三联液; 分别继续培养24 h; 加入5 mg/mL的MTT试剂, $10 \mu\text{L}/\text{孔}$, 37℃孵育4 h; 弃孔内上清, 加入DMSO溶剂, $150 \mu\text{L}/\text{孔}$; 37℃恒温摇床中震荡10 min, 使沉淀充分溶解后, 置于酶标仪上测定490 nm波长吸光度OD值, 按以下公式计算增殖率: 增殖率 = (实验组OD值-本底组OD值)/(对照组OD值-本底组OD值) $\times 100\%$ ^[5]。

1.2.3 ELISA检测: 取对数生长期的HSC-T6细胞, 接种于96孔培养板中, $1 \times 10^4/200 \mu\text{L}/\text{孔}$; 24 h后分别采用Res、乙酰半胱氨酸预处理, 24 h后加入过氧化氢(0.2 mmol/L)制作氧化应激模型^[6], 4 h后收获上清, 冻存于-20℃, 待测; 按照试剂盒说明检测^[4]。

1.2.4 ROS检测: 将按上述处理的细胞在氧化应激处理结束后, 加入DCFH-DA探针($10 \mu\text{mol}/\text{L}$)处理半小时后, 弃去培养液, PBS洗涤细胞3次后用胰酶消化细胞, 离心1000 r/min, 5 min, 取沉淀, 用PBS重悬细胞后使用荧光酶标仪检测, 激发波长500 nm, 发射波长525 nm。

1.2.5 Western blot检测: 将药物处理后的细胞弃去培养液, PBS洗涤细胞3次后, 将6孔板置于冰上。向培养板中加入150 μL 细胞裂解液(含蛋白酶抑制剂1:100), 置于摇床上30 min(冰上), 用细胞刮刀将细胞刮下后, 将细胞悬液移入EP管内, 超声, 离心12000 r/min, 20 min, 取上清。按照1:4体积比加入5 \times loading buffer, 100℃水浴10 min, 使蛋白变性。分装, -20℃保存备用。配制PAGE胶, 分离胶的浓度为8%, 积层胶为5%。上样10 μL 预染的SDS-GAGE蛋白分子量marker, 以确定所检测蛋白带的位置。初始电压为80 V, 溴酚蓝电泳至积层胶和分离胶分界面后加大至120 V, 至凝胶底部时停止电泳。将蛋白从SDS-PAGE胶上转移至相同大小的NC膜(Millipore公司)上, 转膜条件为电压100 V, 90 min。使用5%的脱脂奶粉封闭1-2 h后, 加入按比例稀释的一抗, 4℃过夜, 使用TBST洗膜以后, 加入二抗, 即1:1000稀释的山羊抗小鼠或兔抗体(Cell Signaling, 室温慢摇1 h, TBST洗膜后, 在条带上滴加100 μL 的荧光液, 使用ChemiDocTMXRS+凝胶成像分析系统进行半定量分析, 以积分光密度值(integral optical density, IOD)表示, 以目的蛋白/内参蛋白表示蛋白表达的相对水平^[4]。

统计学处理 数据均用mean \pm SD表示, 采用SPSS23.0软件用one way-ANOVA进行处理, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

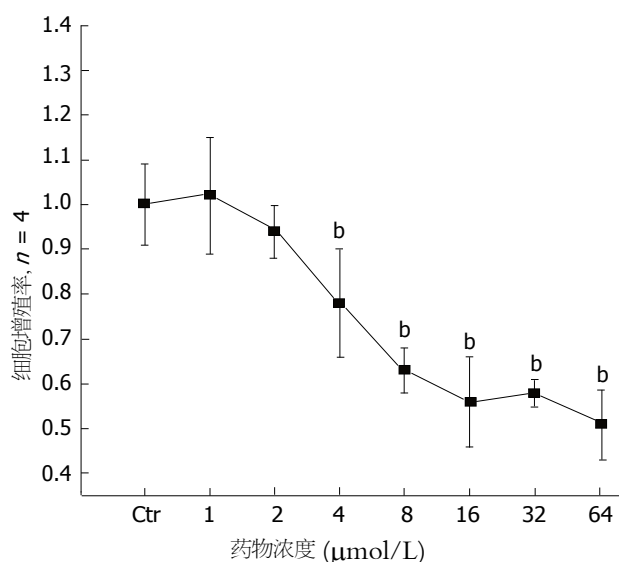


图1 白藜芦醇对HSC-T6细胞增殖的影响。^b $P < 0.01$ 与对照组相比。

2 结果

2.1 Res对HSC-T6细胞增殖的影响 本次实验中, 我们首先采用MTT法观察Res从浓度1-64 $\mu\text{mol/L}$ 范围内, 药物对HSC-T6细胞增殖的抑制效应, 以筛选合适的药物浓度进行下一步实验。结果表明, Res在浓度范围4-64 $\mu\text{mol/L}$ (4 $\mu\text{mol/L}$ Res 0.78 ± 0.12 , 8 $\mu\text{mol/L}$ Res 0.63 ± 0.05 , 16 $\mu\text{mol/L}$ Res 0.56 ± 0.10 , 32 $\mu\text{mol/L}$ Res 0.58 ± 0.03 , 64 $\mu\text{mol/L}$ Res 0.51 ± 0.08 vs Ctr 1.00 ± 0.09)对HSC-T6细胞均有显著的抑制效应, 与对照组比较具有统计学差异($P < 0.01$, 图1)。且Res浓度从16 $\mu\text{mol/L}$ 起, 药物对细胞增殖的抑制效果并不随浓度的增加而提高。因此, 在后续实验中, 我们选取4、8、16 $\mu\text{mol/L}$ 三个浓度观察Res对HSC-T6抑制作用的机制。

2.2 Res对氧化应激诱导HSC-T6增殖与活化的影响 结果显示, 经氧化应激诱导后, HSC-T6细胞增殖率明显提高(OS 1.78 ± 0.23 vs Ctr 1.00 ± 0.07)(图2A), 细胞活化相关指标COL-1(OS 212.45 ± 20.09 vs Ctr 130.78 ± 8.76)(图2B)、TGF- $\beta 1$ (OS 1012.49 ± 67.16 vs Ctr 296.38 ± 22.07)(图2C)及 α -SMA蛋白(OS 2.53 ± 0.23 vs Ctr 1.00 ± 0.05)(图2D, E)表达明显增多, 与对照组比较具有统计学差异($P < 0.01$)。Res呈剂量依赖性抑制氧化应激诱导的HSC-T6细胞增殖与活化(增殖率: Res 4 $\mu\text{mol/L}$ 1.49 ± 0.13 , Res 8 $\mu\text{mol/L}$ 1.22 ± 0.14 , Res 16 $\mu\text{mol/L}$ 1.09 ± 0.18 vs OS 1.78 ± 0.23)(COL-1: Res 4 $\mu\text{mol/L}$ 177.37 ± 20.84 , Res 8 $\mu\text{mol/L}$ 161.93 ± 25.71 , Res 16 $\mu\text{mol/L}$ 129.28 ± 12.04 vs OS 212.45 ± 20.09)(TGF- $\beta 1$: Res 4 $\mu\text{mol/L}$ 749.82 ± 59.95 , Res 8 $\mu\text{mol/L}$ 575.93 ± 48.34 , Res 16 $\mu\text{mol/L}$ 306.74 ± 21.18 vs OS 1012.49 ± 67.16)(α -SMA: Res 4 $\mu\text{mol/L}$ 1.86 ± 0.18 , Res 8 $\mu\text{mol/L}$ 1.47 ± 0.16 , Res 16 $\mu\text{mol/L}$ 1.08 ± 0.13 vs OS 2.53 ± 0.23),

与模型组比较, 均具有统计学差异($P < 0.01$)。阳性对照组(NAC)与模型组比较亦具有显著的抑制作用($P < 0.01$)(增殖率: NAC 1.06 ± 0.09 vs OS 1.78 ± 0.23)(COL-1: NAC 134.49 ± 9.67 vs OS 212.45 ± 20.09)(TGF- $\beta 1$: NAC 287.88 ± 24.58 vs OS 1012.49 ± 67.16)(α -SMA: NAC 1.19 ± 0.06 vs OS 2.53 ± 0.23)。

2.3 Res对活化的HSC-T6细胞中ROS、MDA及SOD的影响 结果显示, 经氧化应激诱导后, HSC-T6细胞内ROS含量明显提高(OS 44.98 ± 4.21 vs Ctr 16.86 ± 2.17)(图3A), 细胞上清液中脂质过氧化终产物MDA含量(OS 0.272 ± 0.014 vs Ctr 0.141 ± 0.021)(图3B)明显提高, 抗氧化指标SOD活性(OS 0.042 ± 0.006 vs Ctr 0.123 ± 0.015)(图3C)明显下降, 与对照组比较具有统计学差异($P < 0.01$)。Res呈剂量依赖性抑制过氧化氢诱导的HSC-T6细胞氧化应激状态(ROS: Res 4 $\mu\text{mol/L}$ 35.56 ± 2.05 , Res 8 $\mu\text{mol/L}$ 23.82 ± 2.66 , Res 16 $\mu\text{mol/L}$ 18.74 ± 1.46 vs OS 44.98 ± 4.21)(MDA: Res 4 $\mu\text{mol/L}$ 0.228 ± 0.016 , Res 8 $\mu\text{mol/L}$ 0.174 ± 0.012 , Res 16 $\mu\text{mol/L}$ 0.146 ± 0.008 vs OS 0.272 ± 0.014)(SOD: Res 4 $\mu\text{mol/L}$ 0.068 ± 0.006 , Res 8 $\mu\text{mol/L}$ 0.095 ± 0.004 , Res 16 $\mu\text{mol/L}$ 0.122 ± 0.010 vs OS 0.042 ± 0.006), 与模型组比较, 均具有统计学差异($P < 0.01$)。NAC与模型组比较亦具有显著的抑制作用($P < 0.01$)(ROS: NAC 16.90 ± 1.22 vs OS 44.98 ± 4.21)(MDA: NAC 0.150 ± 0.010 vs OS 0.272 ± 0.014)(SOD: 0.117 ± 0.008 vs OS 0.042 ± 0.006)。

2.4 Res对活化的HSC-T6细胞中NLRP3炎性体的影响 结果(图4A)显示, 经氧化应激诱导后, HSC-T6细胞内NLRP3(OS 1.97 ± 0.25 vs Ctr 1.00 ± 0.14)(图4B)、ASC(OS 2.36 ± 0.19 vs Ctr 1.00 ± 0.06)(图4C)、caspase-p10(OS 3.62 ± 0.28 vs Ctr 1.00 ± 0.09)(图4D)蛋白表达明显提高, 细胞上清液中IL-1 β (OS 126.77 ± 9.75 vs Ctr 48.69 ± 3.16)(图4E)和IL-18(OS 299.84 ± 34.18 vs Ctr 164.32 ± 10.66)(图4F)含量明显增多, 与对照组比较具有统计学差异($P < 0.01$)。Res呈剂量依赖性抑制活化HSC-T6细胞内NLRP3炎性体及其下游效应因子的表达(NLRP3: Res 4 $\mu\text{mol/L}$ 1.74 ± 0.16 , Res 8 $\mu\text{mol/L}$ 1.42 ± 0.08 , Res 16 $\mu\text{mol/L}$ 1.21 ± 0.17 vs OS 1.97 ± 0.25)(ASC: Res 4 $\mu\text{mol/L}$ 1.88 ± 0.22 , Res 8 $\mu\text{mol/L}$ 1.60 ± 0.06 , Res 16 $\mu\text{mol/L}$ 1.25 ± 0.08 vs OS 2.36 ± 0.19)(caspase-p10: Res 4 $\mu\text{mol/L}$ 2.77 ± 0.32 , Res 8 $\mu\text{mol/L}$ 2.29 ± 0.24 , Res 16 $\mu\text{mol/L}$ 1.64 ± 0.12 vs OS 3.62 ± 0.28)(IL-1 β : Res 4 $\mu\text{mol/L}$ 97.45 ± 6.38 , Res 8 $\mu\text{mol/L}$ 76.63 ± 7.52 , Res 16 $\mu\text{mol/L}$ 46.31 ± 3.19 vs OS 126.77 ± 9.75)(IL-18: Res 4 $\mu\text{mol/L}$ 253.59 ± 24.47 , Res 8 $\mu\text{mol/L}$ 219.73 ± 23.81 , Res 16 $\mu\text{mol/L}$ 178.25 ± 12.39 vs OS 299.84 ± 34.18), 与模型组比较, 均具有统计学差异($P < 0.01$)。NAC与模型组比较亦具有显著的抑制作用($P < 0.01$)(NLRP3: NAC 1.29 ± 0.11 vs OS 1.97 ± 0.25)(ASC: NAC 1.21 ± 0.14 vs OS $2.36 \pm$

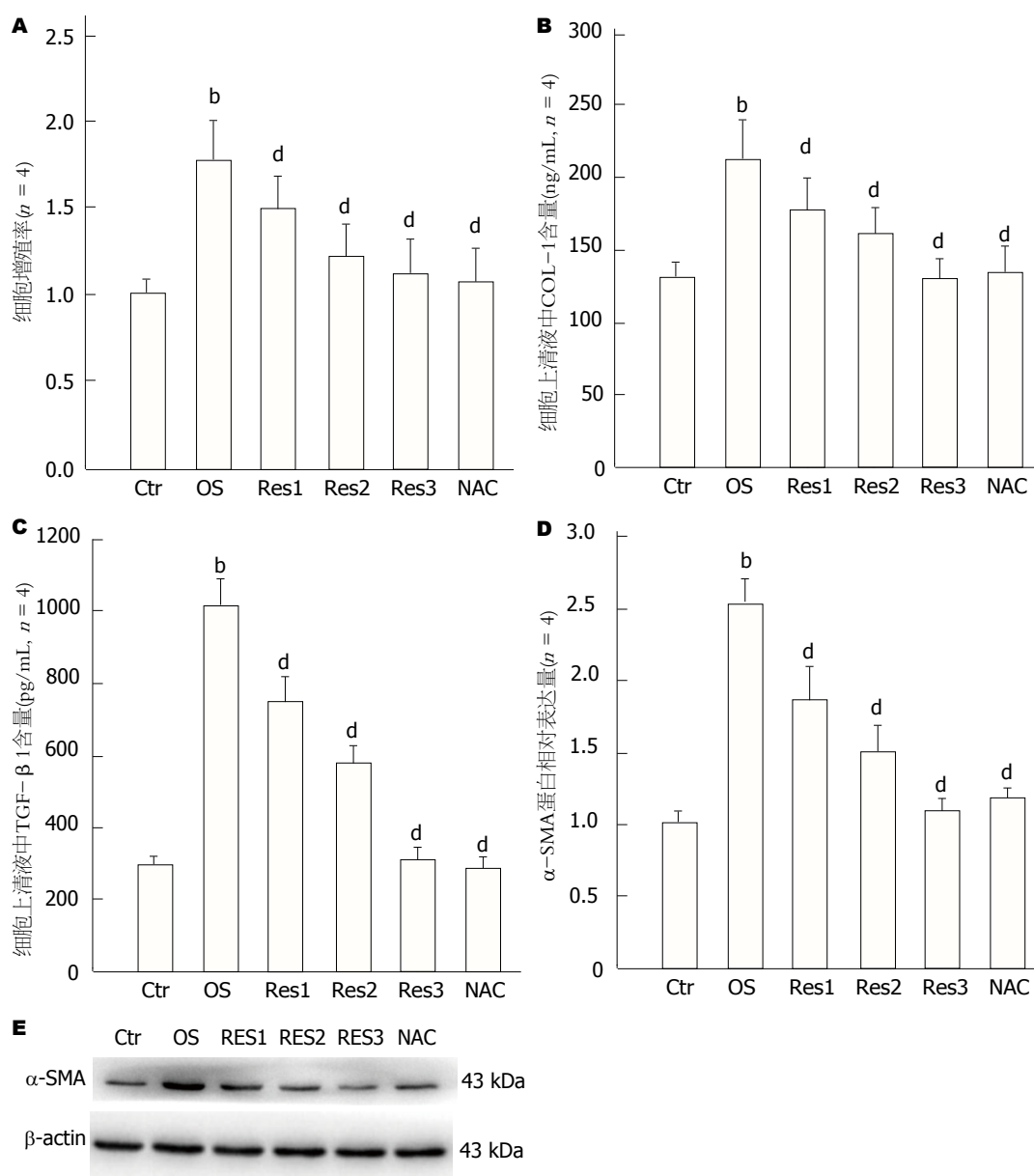


图 2 白藜芦醇对氧化应激诱导HSC-T6增殖与活化的影响. A: 细胞增殖率; B: 细胞上清液中COL-1蛋白含量; C: 细胞上清液中TGF-β1蛋白含量; D: HSC-T6细胞中α-SMA蛋白表达水平; E: Western blot结果. ^b*P*<0.01与对照组相比; ^d*P*<0.01与模型组相比. Ctr: 对照组; OS: 模型组; Res1: 白藜芦醇(4 μmol/L); Res2: 白藜芦醇(8 μmol/L); Res3: 白藜芦醇(16 μmol/L); NAC: 乙酰半胱氨酸(5 mmol/L).

0.19)(caspase-1 p10: NAC 1.48 ± 0.08 vs OS 3.62 ± 0.28)(IL-1β: NAC 55.14 ± 4.46 vs OS 126.77 ± 9.75)(IL-18: NAC 173.98 ± 15.92 vs OS 299.84 ± 34.18). Pro-caspase-1蛋白表达各组间均无显著差异(*P*>0.05).

3 讨论

HF是严重威胁人类健康疾病之一肝硬化的发病重要环节. 多种致病因素诸如病毒、细菌、寄生虫、化学毒物、药物、酒精、自身免疫等都能引起肝脏炎症的发生致肝细胞的受损, 在多因素参与下导致HF的发生, 甚至进展为肝硬化. HF是一个动态的病理过程, 及早干预炎症-肝细胞损伤-HF-肝硬化的进程, 打破肝硬化发生发展

的这条“死亡链”成为肝病研究领域的难点与热点.

NLRP3炎性体是一类相对分子量约为700000的大分子蛋白复合体, 由NLRP3、ASC和caspase-1组成, 在细胞质内发挥外源性微生物或内源性危险信号感受器的作用. NLRP3炎性体通过激活caspase-1, 促进IL-1β和IL-18促炎因子的加工和成熟而发挥生物学效应, 参与机体的固有免疫反应, 并且介导宿主细胞形成细胞膜微孔导致细胞肿胀和渗透性溶解, 形成一种介于坏死和凋亡(apoptosis)之间的细胞死亡形式, 称为“pyroptosis”^[1]. 与凋亡不同, pyroptosis依赖于caspase-1的激活, 其特征为细胞膜上形成微孔和囊泡, 细胞肿胀、破裂, 分泌促炎症反应细胞因子和释放细胞质成分至细胞外而引起炎症

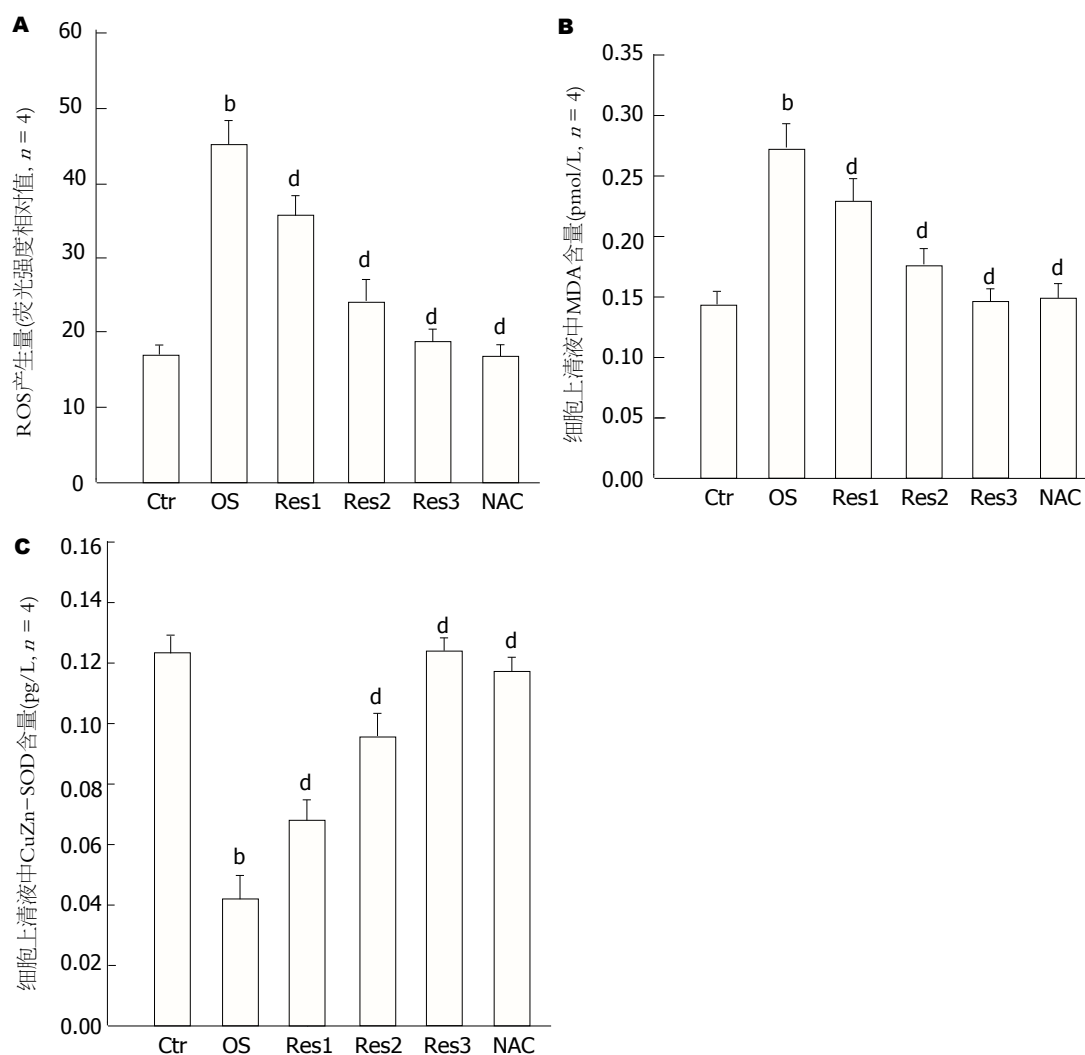


图3 白藜芦醇对活化的HSC-T6细胞中ROS、MDA及SOD的影响。A: 细胞内ROS荧光强度; B: 细胞上清液中MDA含量; C: 细胞上清液中CuZn-SOD含量。^b $P < 0.01$ 与对照组相比; ^d $P < 0.01$ 与模型组相比。Ctrl: 对照组; OS: 模型组; Res1: 白藜芦醇(4 $\mu\text{mol/L}$); Res2: 白藜芦醇(8 $\mu\text{mol/L}$); Res3: 白藜芦醇(16 $\mu\text{mol/L}$); NAC: 乙酰半胱氨酸(5 mmol/L)。

反应, 是促炎症反应的细胞程序性死亡方式。目前有研究发现, 在非酒精性脂肪性肝炎、酒精性脂肪性肝炎、肝脏缺血再灌注损伤、药物性肝损伤及HF^[7-12]等慢性肝脏疾病的发生发展过程中都存在有NLRP3炎性体的激活。这是否意味着在肝炎-肝细胞损伤-HF的演变过程中, NLRP3炎性体活化持续存在? 近期发表在*Hepatology*上的文献[2]报道, NLRP3转基因小鼠肝脏中存在着炎症-损伤-纤维化的演变过程。NLRP3炎性体活化似乎是肝脏炎症、损伤、纤维化的共同致病机制。

HF的进展过程是肝脏中多种细胞综合作用的结果。传统的观点认为, HSC的激活是纤维化发生、发展的中心环节。正常情况下HSC处于静止状态, 他在肝脏中的生理功能主要有参与维生素A的代谢, 储存脂肪的功能, HSC的胞浆中含有类视黄醇物质的脂滴, 是维生素A的主要储存处, HSC还有调节血管和肝窦血流的作用。在病理条件下如肝脏受到物理、化学及病毒感染生物因素的

刺激时, HSC增殖并激活, 转变为“肌成纤维细胞”, 表达 α -SMA、合成ECM, 导致纤维化的发生发展。而肝细胞的受损及库普弗细胞的激活所释放的生长因子、炎症因子、活性氧自由基等是激活HSC的关键因素^[13,14]。研究发现^[2,13], NLRP3炎性体在肝脏多种细胞中都有表达, 在库普弗细胞和窦内皮细胞中表达最多, 其次是门脉周围的肌成纤维细胞和HSC, 而在原代肝细胞中几乎不表达。然而从胆总管结扎诱导的HF大鼠肝细胞中, 却发现NLRP3的表达明显增加; 另外, 使用LPS及H₂O₂激活HSC后NLRP3的表达亦会显著增加。这也充分说明在炎症加重肝损伤和HF的同时, 在细胞水平不仅仅有巨噬细胞NLRP3的活化, 肝细胞及HSC中NLRP3的活化也参与了这一过程。然而, NLRP3的活化是如何加重HF进程的, 是否与促进HSC的活化相关, 至今并未有相关文献报道。

众所周知, ROS的产生是机体或细胞内氧自由基的产生与清除失衡所导致的, 他在肝炎-肝损伤-HF过程中

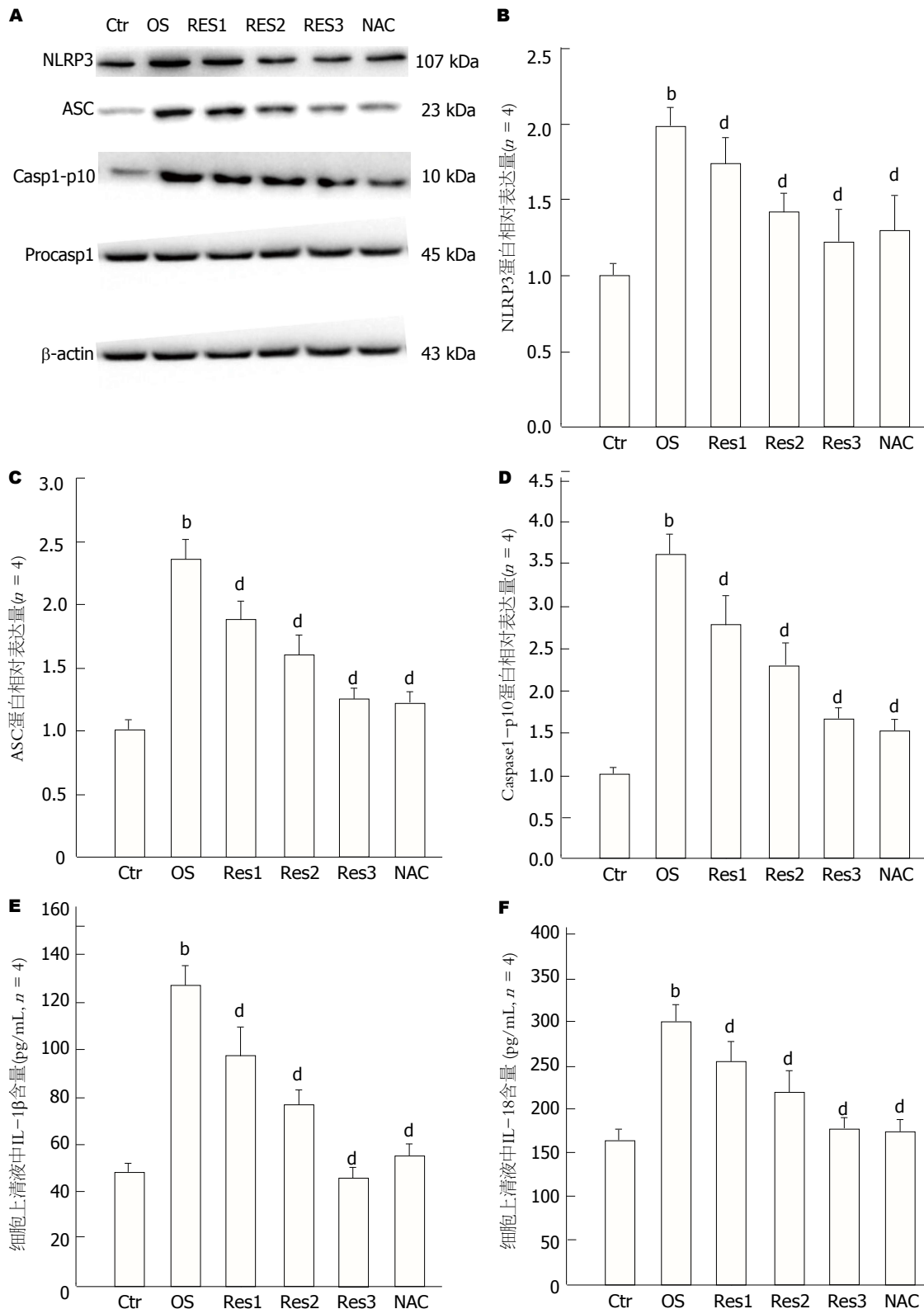


图 4 白藜芦醇对活化的HSC-T6细胞中NLRP3炎性体通路的影响. A: Western blot结果; B: NLRP3蛋白表达; C: ASC蛋白表达; D: Casp1-p10蛋白表达; E: 细胞上清液中IL-1 β 含量; F: 细胞上清液中IL-18含量. ^b $P < 0.01$ 与对照组相比; ^d $P < 0.01$ 与模型组相比. Ctrl: 对照组; OS: 模型组; Res1: 白藜芦醇(4 μ mol/L); Res2: 白藜芦醇(8 μ mol/L); Res3: 白藜芦醇(16 μ mol/L); NAC: 乙酰半胱氨酸(5 mmol/L).

始终存在并且扮演了十分重要的角色. 目前实验证实^[15], ROS作为细胞的第二信使参与了对NLRP3炎性体活化过程的调节, 并且抑制ROS的产生能够有效的减少活化

的NLRP3. 因此, ROS被认为是NLRP3炎性体活化的关键上游效应因子. 然而, 机体内ROS的来源途径很多, 主要有线粒体途径与NADPH氧化酶途径. 研究证实线粒体

来源的ROS对NLRP3的激活具有诱导作用, 而非NADPH氧化酶途径来源^[16]。目前线粒体ROS激活NLRP3炎性体的过程已被许多动物模型(结肠炎、间质性肾炎)^[17,18]及细胞模型(巨噬细胞、支气管上皮细胞)^[19,20]等所证实。然而, 在HF模型中是否也能够复制出相同的线粒体ROS-NLRP3通路, 肝细胞、HSC中是否也存在同样的线粒体ROS-NLRP3途径, 目前未见报道。本次研究采用过氧化氢诱导HSC-T6细胞氧化应激模型, 再次证实ROS能够活化HSC-T6细胞中NLRP3炎性体及其下游效应分子, 初步证实HSC-T6细胞中NLRP3炎性体活化对HF进展具有促进作用。但肝脏中激活NLRP3的ROS是否为线粒体来源仍需实验进一步证实。

中医药在抗HF方面具有独特优势。大量的临床实践和实验研究表明, 一些中药复方、单味中药及中药单体已经被证实抗HF疗效肯定, 不良反应少。Res是提取自中药虎杖的主要活性成分, 具有显著的抗氧化应激作用^[21]。现代研究表明, 在整体水平, Res对四氯化碳、DMN、TAA等药物诱导的大鼠慢性HF均具有显著的改善作用, 可以明显降低血清中ALT、AST活性, 以及肝组织中羟脯氨酸及胶原化程度, 在一定程度上阻止或逆转HF的进程^[22-25]。在细胞水平, Res可以显著抑制HSC的增殖与活化, 阻止HSC转化为活化的肌成纤维细胞, 抑制其分泌胶原, 减少细胞外基质的生成, 从而改善纤维化^[26]。有研究认为, 其抗HSC的机制与其抗氧化应激的作用相关^[27]。亦有学者认为, Res是通过抑制Notch信号通路来调节HSC的活化^[28]。另外, 通过调节细胞内NF- κ B及PI3K/Akt信号通路亦已被初步证实与Res的抗HF药理作用有关^[29]。本此研究中我们发现Res能够通过其抗氧化应激作用抑制其下游NLRP3炎性体活化, 从而达到抑制HSC-T6细胞增殖及活化的作用, 推测该作用可能是Res抗HF的机制之一, 但尚需动物实验证实。白藜芦醇具有多途径对靶点防治HF的药理作用, 但仍需要进一步深入研究, 从而为其在临床上的应用推广提供可靠的实验依据。

文章亮点

实验背景

白藜芦醇(resveratrol, Res)是提取自中药虎杖的主要活性成分, 其在体内外均具有显著的抗肝纤维化作用。有研究表明, 活性氧(reactive oxygen species, ROS)所致的Nod样受体蛋白3(nod-like receptor protein 3, NLRP3)炎性体活化可能参与肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)的整个形成过程。然而, 目前有关Res是否能通过抑制NLRP3炎性体调节肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)-T6细胞的增殖与活化暂未见相关报道。故本研究旨在深入研究Res对HSC-T6活化的影响及其作用机制与NLRP3炎性体的关系。

实验动机

目前对Res抗HF的机制研究较少, 而Res已被证实为疗效明确的抗HF药物, 故而, 本次是实验通过研究Res对HSC-T6增殖与活化的影响及其作用机制与NLRP3炎性体的关系。初步探讨其分子机制及药物靶点, 为其在临床上的应用推广提供可靠的实验依据。

实验目标

本次实验拟初步证实Res对HSC-T6细胞的增殖与活化的抑制作用与其调节ROS-NLRP3炎性体活化有关。本研究初步明确了Res抗HSC的分子机制, 为进一步深化研究Res的药理学机制, 为中医药现代化研究作出了一定的贡献。

实验方法

本次实验通过体外培养大鼠HSC系HSC-T6, 采用过氧化氢制作氧化应激模型, Res低、中、高浓度进行药物干预, 乙酰半胱氨酸作为阳性对照药物。实验中涉及MTT、ELISA、荧光酶标仪、Western blot等检测技术, 实现对HSC-T6细胞增殖活化、氧化应激及NLRP3炎性体等相关指标的检测。

实验结果

本次实验基本完成预期目标。结果发现, Res能够呈剂量依赖性抑制过氧化氢诱导的HSC-T6细胞增殖及活化过程, 并且能够抑制细胞氧化应激及其下游NLRP3炎性体活化。研究结果完善了Res抗HSC的药理学作用机制。

实验结论

本次研究发现Res对HSC-T6细胞的增殖活化的抑制作用可能与其抑制ROS活化的NLRP3炎性体有关。通过总结既往Res抗氧化应激作用的研究, 进一步对其下游NLRP3炎性体展开研究, 不仅对ROS活化NLRP3炎性体这一理论重新在HSC中得以证实, 而且发现抑制ROS-NLRP3可能是Res的重要分子机制, 为Res作为临床抗HF药物的应用推广提供可靠的实验依据。

展望前景

本次研究由于受经费及实验条件限制, 仅初步完成细胞水平有关实验, 对于动物水平的相关研究仍需进一步完善。目前已有研究表明, 细胞自噬能够负调控ROS-NLRP3炎性体活化, 因此, 采用自噬检测相关技术, 进一步研究自噬在HSC中是否可以调节ROS-NLRP3炎性体将会是未来本课题组的重点研究方向。

4 参考文献

- 1 Fink SL, Cookson BT. Caspase-1-dependent pore formation

- during pyroptosis leads to osmotic lysis of infected host macrophages. *Cell Microbiol* 2006; 8: 1812-1825 [PMID: 16824040 DOI: 10.1111/j.1462-5822.2006.00751.x]
- 2 Wree A, Eguchi A, McGeough MD, Pena CA, Johnson CD, Canbay A, Hoffman HM, Feldstein AE. NLRP3 inflammasome activation results in hepatocyte pyroptosis, liver inflammation, and fibrosis in mice. *Hepatology* 2014; 59: 898-910 [PMID: 23813842 DOI: 10.1002/hep.26592]
 - 3 林家禾. 白藜芦醇对大鼠肝纤维化的防治及相关机制的研究. 广州: 广州中医药大学, 2009
 - 4 林柳兵, 阙任焯, 刘进锴, 沈艳婷, 陶智会, 李勇. 柴胡皂苷d对活化的HSC-T6细胞MMP-1、TIMP-1表达的影响及其分子机制. *世界华人消化杂志* 2016; 24: 1159-1165
 - 5 林柳兵, 刘进锴, 阙任焯, 沈艳婷, 陶智会, 李勇. 柴胡皂苷d对肝星状细胞ER α 和ER β mRNA水平的调节. *中药药理与临床* 2016; 34: 35-39 [DOI: 10.13412/j.cnki.zyy.2016.01.010]
 - 6 Que R, Shen Y, Ren J, Tao F, Zhu X, Li Y. Estrogen receptor- β -dependent effects of saikosaponin-d on the suppression of oxidative stress-induced rat hepatic stellate cell activation. *Int J Mol Med* 2018; 41: 1357-1364 [PMID: 29286085 DOI: 10.3892/ijmm.2017.3349]
 - 7 Vandannagsar B, Youm YH, Ravussin A, Galgani JE, Stadler K, Mynatt RL, Ravussin E, Stephens JM, Dixit VD. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nat Med* 2011; 17: 179-188 [PMID: 21217695 DOI: 10.1038/nm.2279]
 - 8 Csak T, Ganz M, Pespisa J, Kodys K, Dolganiuc A, Szabo G. Fatty acid and endotoxin activate inflammasomes in mouse hepatocytes that release danger signals to stimulate immune cells. *Hepatology* 2011; 54: 133-144 [PMID: 21488066 DOI: 10.1002/hep.24341]
 - 9 Petrasek J, Bala S, Csak T, Lippai D, Kodys K, Menashy V, Barrieau M, Min SY, Kurt-Jones EA, Szabo G. IL-1 receptor antagonist ameliorates inflammasome-dependent alcoholic steatohepatitis in mice. *J Clin Invest* 2012; 122: 3476-3489 [PMID: 22945633 DOI: 10.1172/JCI60777]
 - 10 Zhu P, Duan L, Chen J, Xiong A, Xu Q, Zhang H, Zheng F, Tan Z, Gong F, Fang M. Gene silencing of NALP3 protects against liver ischemia-reperfusion injury in mice. *Hum Gene Ther* 2011; 22: 853-864 [PMID: 21128730 DOI: 10.1089/hum.2010.145]
 - 11 Williams CD, Antoine DJ, Shaw PJ, Benson C, Farhood A, Williams DP, Kanneganti TD, Park BK, Jaeschke H. Role of the Nalp3 inflammasome in acetaminophen-induced sterile inflammation and liver injury. *Toxicol Appl Pharmacol* 2011; 252: 289-297 [PMID: 21396389 DOI: 10.1016/j.taap.2011.03.001]
 - 12 Girardin SE. Knocking in the NLRP3 inflammasome. *Immunity* 2009; 30: 761-763 [PMID: 19538926 DOI: 10.1016/j.immuni.2009.06.001]
 - 13 Kusano KF, Pola R, Murayama T, Curry C, Kawamoto A, Iwakura A, Shintani S, Ii M, Asai J, Tkebuchava T, Thorne T, Takenaka H, Aikawa R, Goukassian D, von Samson P, Hamada H, Yoon YS, Silver M, Eaton E, Ma H, Heyd L, Kearney M, Munger W, Porter JA, Kishore R, Losordo DW. Sonic hedgehog myocardial gene therapy: tissue repair through transient reconstitution of embryonic signaling. *Nat Med* 2005; 11: 1197-1204 [PMID: 16244652 DOI: 10.1038/nm1313]
 - 14 Williams JA. Hedgehog and spinal cord injury. *Expert Opin Ther Targets* 2005; 9: 1137-1145 [PMID: 16300466 DOI: 10.1517/14728222.9.6.1137]
 - 15 Martinon F, Mayor A, Tschopp J. The inflammasomes: guardians of the body. *Annu Rev Immunol* 2009; 27: 229-265 [PMID: 19302040 DOI: 10.1146/annurev.immunol.021908.132715]
 - 16 Zhou R, Yazdi AS, Menu P, Tschopp J. A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Nature* 2011; 469: 221-225 [PMID: 21124315 DOI: 10.1038/nature09663]
 - 17 Guo W, Liu W, Jin B, Geng J, Li J, Ding H, Wu X, Xu Q, Sun Y, Gao J. Asiatic acid ameliorates dextran sulfate sodium-induced murine experimental colitis via suppressing mitochondria-mediated NLRP3 inflammasome activation. *Int Immunopharmacol* 2015; 24: 232-238 [PMID: 25523461 DOI: 10.1016/j.intimp.2014.12.009]
 - 18 Liu D, Xu M, Ding LH, Lv LL, Liu H, Ma KL, Zhang AH, Crowley SD, Liu BC. Activation of the Nlrp3 inflammasome by mitochondrial reactive oxygen species: a novel mechanism of albumin-induced tubulointerstitial inflammation. *Int J Biochem Cell Biol* 2014; 57: 7-19 [PMID: 25281528 DOI: 10.1016/j.biocel.2014.09.018]
 - 19 Ding Z, Liu S, Wang X, Dai Y, Khaidakov M, Deng X, Fan Y, Xiang D, Mehta JL. LOX-1, mtDNA damage, and NLRP3 inflammasome activation in macrophages: implications in atherogenesis. *Cardiovasc Res* 2014; 103: 619-628 [PMID: 24776598 DOI: 10.1093/cvr/cvu114]
 - 20 Kim SR, Kim DI, Kim SH, Lee H, Lee KS, Cho SH, Lee YC. NLRP3 inflammasome activation by mitochondrial ROS in bronchial epithelial cells is required for allergic inflammation. *Cell Death Dis* 2014; 5: e1498 [PMID: 25356867 DOI: 10.1038/cddis.2014.460]
 - 21 任亚浩, 李翠, 赵越, 杨军. 白藜芦醇对衰老小鼠氧化应激和血清同型半胱氨酸的影响. *实用预防医学* 2017; 24: 1172-1174 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2017.10.006]
 - 22 吕秋军, 谢洁琼, 温利青, 陈媛媛, 张敏, 叶棋浓. 白藜芦醇对大鼠慢性肝纤维化的影响. *中国新药杂志* 2005; 14: 855-858 [DOI: 10.3321/j.issn.1003-3734.2005.07.014]
 - 23 刘永忠, 刘永刚, 叶飞强. 白藜芦醇对DMN诱导大鼠肝纤维化形成的影响. *中药材* 2009; 32: 1429-1431 [DOI: 10.3321/j.issn:1001-4454.2009.09.032]
 - 24 Lee ES, Shin MO, Yoon S, Moon JO. Resveratrol inhibits dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis in rats. *Arch Pharm Res* 2010; 33: 925-932 [PMID: 20607498 DOI: 10.1007/s12272-010-0616-4]
 - 25 Hessin AF, Hegazy RR, Hassan AA, Yassin NZ, Kenawy SA. Resveratrol prevents liver fibrosis via two possible pathways: Modulation of alpha fetoprotein transcriptional levels and normalization of protein kinase C responses. *Indian J Pharmacol* 2017; 49: 282-289 [PMID: 29326488 DOI: 10.4103/ijp.IJP_299_16]
 - 26 Souza IC, Martins LA, Coelho BP, Grivicich I, Guaragna RM, Gottfried C, Borojevic R, Guma FC. Resveratrol inhibits cell growth by inducing cell cycle arrest in activated hepatic stellate cells. *Mol Cell Biochem* 2008; 315: 1-7 [PMID: 18454344 DOI: 10.1007/s11010-008-9781-x]
 - 27 俞富祥, 李扬扬, 朱千东, 符均惠, 张启瑜. 白藜芦醇抗肝星状细胞活性和抗肝纤维化的实验研究. *中华普通外科杂志* 2013; 28: 448-451 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-631X.2013.06.014]
 - 28 Tanriverdi G, Kaya-Dagistanli F, Ayla S, Demirci S, Eser M, Unal ZS, Cengiz M, Oktar H. Resveratrol can prevent CCL₄-induced liver injury by inhibiting Notch signaling pathway. *Histol Histopathol* 2016; 31: 769-784 [PMID: 26742567 DOI: 10.14670/HH-11-720]
 - 29 Zhang DQ, Sun P, Jin Q, Li X, Zhang Y, Zhang YJ, Wu YL, Nan JX, Lian LH. Resveratrol Regulates Activated Hepatic Stellate Cells by Modulating NF- κ B and the PI3K/Akt Signaling Pathway. *J Food Sci* 2016; 81: H240-H245 [PMID: 26613251 DOI: 10.1111/1750-3841.13157]

编辑: 马亚娟 电编: 闫晋利





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

