

DOI: 10.13376/j.cblls/2023073

文章编号: 1004-0374(2023)05-0618-11

# NLRP3炎症小体在慢性肝病及肝损伤中的研究进展

张议文, 张凯悦, 李盼盼, 刘 森, 王 涛, 刘梦扬\*

(天津中医药大学中医药研究院, 天津 301617)

**摘要:** NLRP3 炎症小体广泛存在于肝实质和非实质细胞中, 它可以感知和识别各种外源性和内源性危险信号, 进而促进炎症介质的释放, 触发免疫反应与细胞焦亡。近年来, 随着对 NLRP3 炎症小体认识的逐步深入, 其异常激活被认为与慢性肝病及肝损伤的发生、发展密切相关。因此, NLRP3 炎症小体被认为是相关肝脏疾病治疗的一个重要分子靶点。本文主要讨论了 NLRP3 炎症小体的调控机制及其在酒精性肝病、非酒精性肝病、肝纤维化、药物性肝损伤中的相关研究进展, 并总结了 NLRP3 炎症小体相关靶点抑制剂在慢性肝病及肝损伤中的应用, 从而为 NLRP3 炎症小体在慢性肝病及肝损伤中的相关研究和新药开发提供理论依据和参考。

**关键词:** NLRP3 炎症小体; 慢性肝病及肝损伤; 作用机制; 靶点抑制剂

**中图分类号:** R392.3; R575 **文献标志码:** A

## Research progress of NLRP3 inflammasome in chronic liver disease and liver injury

ZHANG Yi-Wen, ZHANG Kai-Yue, LI Pan-Pan, LIU Miao, WANG Tao, LIU Meng-Yang\*

(Institute of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China)

**Abstract:** The NLRP3 inflammasome is widely present in the hepatic parenchymal and non-parenchymal cells, which sense and recognize a variety of exogenous and endogenous danger signals, promoting the release of inflammatory cytokines, and thereby triggering immune responses and pyroptosis. In recent years, with the deepening of the understanding of NLRP3 inflammasome, its excessive activation has been thought to be closely related to the occurrence and development of chronic liver disease and liver injury. Therefore, the NLRP3 inflammasome is considered as an important molecular target for the treatment of liver diseases. In this review, we mainly focus on the recent advances on the regulation of NLRP3 inflammasome, as well as its role and underlying mechanism in alcoholic liver disease, non-alcoholic liver disease, liver fibrosis, and drug-induced liver injury. In addition, we also summarize the application of NLRP3 inflammasome related inhibitors in chronic liver disease and liver injury, so as to provide theoretical basis and reference for the research and new drug development of NLRP3 inflammasome in chronic liver disease and liver injury treatment.

**Key words:** NLRP3 inflammasome; chronic liver disease and liver injury; mechanism of action; inhibitor

肝脏疾病一直是被广泛关注的全球性健康问题。随着人们生活水平的提高, 包括非酒精性脂肪肝和酒精性肝炎在内的代谢性肝病的患病率逐年上升。如未获得及时治疗, 这些代谢性肝病最终可能会发展为肝衰竭、肝硬化, 甚至肝癌等终末期肝病<sup>[1]</sup>。由于肝脏在解剖学和生理学上与肠道相连, 因此肝脏容易暴露于肠道衍生的病原体相关分子模

式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), 如微生物和内毒素之中, 从而触发免疫反应<sup>[2]</sup>。除 PAMPs 外, 肝脏炎症还能够被受损或垂死细胞所释放的损

收稿日期: 2022-11-16; 修回日期: 2023-01-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(82004062)

\*通信作者: E-mail: liumengyang0212@tjutcm.edu.cn

伤相关分子模式 (damage-associated molecular patterns, DAMPs) 所激活<sup>[3]</sup>。先天免疫反应作为抵御病原体入侵的第一道防线, 能够通过模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 来识别 DAMPs 和 PAMPs<sup>[4]</sup>, 从而引发体内多种炎症性疾病<sup>[5]</sup>。肝脏是人体内最大的腺体, 肝脏中的免疫细胞和肝实质细胞等多种细胞也是通过先天免疫系统启动和调节肝脏内有菌或无菌炎症反应的核心组成部分, 因此, 先天免疫系统在炎症相关的急性和慢性肝病的发病机制中具有重要作用<sup>[6]</sup>。

2002年, Martinon等<sup>[7]</sup>发现了一种名为NLRP3炎症小体的新型PRR, 该炎症小体由核苷酸结合寡聚化结构域 (nucleotide-binding oligomerization domain, NOD) 样受体 (Nod-like receptor, NLR) 家族、含有半胱氨酸酶募集结构域的适配器蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC) 以及效应蛋白酶 pro-caspase-1 组成<sup>[8]</sup>。作为迄今为止研究最为广泛、典型的NLRs, 一方面, NLRP3炎症小体参与了机体抵抗细菌、病毒感染的免疫防御机制。NLRP3活化后产生的白介素 (interleukin, IL)-18可刺激自然杀伤细胞分泌干扰素 $\gamma$ , 从而有助于抑制丙型肝炎病毒<sup>[9]</sup>。IL-1 $\beta$ 作为一种多效性炎症因子, 可激活其他免疫基因的表达, 促进淋巴细胞募集至原发感染部位, 从而控制乙型、丙型肝炎病毒等入侵病原体<sup>[10]</sup>。但另一方面, NLRP3炎症小体的异常过度激活被认为是过度免疫的主要驱动力<sup>[11]</sup>, 并与多种无菌炎症造成的疾病密切相关。越来越多的证据表明, NLRP3炎症小体的激活参与了慢性肝病及肝损伤的发病机制。本文就NLRP3炎症小体的分子调控途径及其过度激活在慢性肝病及肝损伤发病机制研究中的最新进展予以综述。

## 1 NLRP3炎症小体及其分子调控机制

NLRP3炎症小体的激活通过两个信号 (阶段) 来完成, 分别为启动阶段或第一信号, 以及激活阶段或第二信号<sup>[12]</sup> (图1)。首先, 启动阶段能够上调炎症小体组分NLRP3、Caspase-1和前体IL-1 $\beta$ 的表达。这种转录上调是通过各种PAMPs或DAMPs与PRRs (如Toll样受体、NOD样受体等) 结合诱导核因子- $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 的激活来实现的<sup>[13]</sup>。有研究表明, 酒精可扰乱肠道微生物并能使肠道通透性增加, 导致肠道菌群产物脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 泄露, 并通过门静脉循环转移至肝脏。LPS与肝脏中枯否细胞 (Kupffer cells,

KCs) 表面的TLR4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 结合, 进而增加炎症小体组分的蛋白表达<sup>[14]</sup>。另一方面, 启动阶段能够调节NLRP3的翻译后修饰, 如磷酸化和泛素化, 从而促进其蛋白的稳定和活化<sup>[15-16]</sup>。

在激活阶段, 主要是完成NLRP3炎症小体激动剂的识别以及炎症小体的组装和激活。据报道, NLRP3可被多种PAMPs和DAMPs所激活。迄今为止,  $K^+$  外排、 $Ca^{2+}$  动员、溶酶体损伤、线粒体功能障碍等已被认为是炎症小体组装和激活的上游信号。其中,  $K^+$  外排是NLRP3激活中重要的上游信号。三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 与P2X7受体 (purinergic P2X7 receptor, P2X7R) 结合可介导 $K^+$  流出, 引发巨噬细胞中NLRP3炎症小体激活<sup>[17]</sup>。此外, 造孔毒素、明矾、二氧化硅和焦磷酸钙晶体等也能诱导 $K^+$  外排<sup>[12]</sup>。有研究发现, 细胞内 $Ca^{2+}$  通量增加也能够促进NLRP3炎症小体的组装, 并能减少细胞内抑制炎症小体激活的环磷酸腺苷的水平<sup>[18]</sup>。此外, 蓄积的脂质分子, 包括饱和脂肪酸 (如棕榈酸盐) 和胆固醇晶体、尿酸等自衍生颗粒, 或明矾、二氧化硅和石棉等外来颗粒的细胞内吞也被发现会引起溶酶体损伤, 导致多种组织蛋白酶释放以诱导NLRP3炎症小体活化<sup>[19]</sup>。但这些颗粒物刺激引起的溶酶体损伤同时也会激活 $K^+$  外排和 $Ca^{2+}$  的流入, 表明多种NLRP3的激活途径都可能与 $K^+$  和 $Ca^{2+}$  通量的改变有关<sup>[20]</sup>。另外, 氟西汀、对乙酰氨基酚等药物, 以及脂质代谢紊乱所引起的线粒体持续损伤或功能障碍, 也被认为与NLRP3炎症小体的激活有关, 这些因素通过产生过量线粒体活性氧 (mitochondrial reactive oxygen species, mtROS)、线粒体DNA的胞质易位或诱导 $\alpha$ 微管蛋白乙酰化, 将线粒体重新定位到NLRP3附近, 促进其活化。除了上述信号外, 代谢变化和跨高尔基体分解等最近也被认为是参与NLRP3炎症小体激活的上游信号<sup>[12, 21-23]</sup>。

NLRP3蛋白主要由三部分组成, 即富含亮氨酸的重复结构域、称为NACHT的中心核苷酸结合结构域和N末端吡啶结构域 (pyrin domain, PYD)<sup>[24]</sup>。在激活信号启动之后, NLRP3分子通过NACHT域同型相互作用而发生寡聚化。NLRP3寡聚体通过PYD-PYD相互作用招募ASC, 促进ASC斑点形成。之后, 通过ASC的C端Caspase招募域 (CARD) 间的相互作用募集前体Caspase-1, 并通过Caspase-1 p20和p10亚基之间的邻近诱导作用而发生自切割, 从而激活Caspase-1<sup>[12, 25]</sup>。活化后的Caspase-1进一

步切割前体 IL-1 $\beta$  和 IL-18 以产生成熟的 IL-1 $\beta$  和 IL-18。此外,活化的 Caspase-1 还能够切割并激活 gasdermin D (GSDMD),使其易位至质膜并形成孔,促进成熟的 IL-1 $\beta$  和 IL-18 释放到胞外。随着炎症因子的大量释放,细胞发生伴有炎症反应的程序性死亡——焦亡<sup>[26-28]</sup>。

除了依赖 Caspase-1 的经典 NLRP3 炎症小体激活途径之外,近年的研究表明,还存在一种 Caspase-11 (人类同源物 Caspase-4 和 Caspase-5) 依赖性的非经典 NLRP3 炎症小体信号通路<sup>[13]</sup>(图 1)。Caspase-11 由三个主要结构域组成: N 端半胱天冬酶募集结构域、p20 结构域和 C 端 p10 结构域<sup>[29]</sup>。在此类途径中,内化到细胞中的 LPS 是与 Caspase-11 直接相互作用的外源性配体,通过 Caspase-11 CARD 和 LPS 脂质 A 部分的相互作用促进 Caspase-11 寡聚化和活化<sup>[30]</sup>。一旦非经典 Caspase-11 炎症小体被激活,它就会在第 276 位的天冬氨酸残基 (Asp276) 处诱导 GSDMD 的水解,促使 GSDMD N 端碎片转移到细胞表面并形成穿孔,最终导致细胞死亡。非经典 Caspase-11 炎症小体的激活也能够同时诱导经典通路中 Caspase-1 的蛋白水解激活及其下游 IL-1 $\beta$

和 IL-18 蛋白的剪切成熟,进而促进这些炎症因子分泌和释放。此外,与大多数 NLRP3 激活的经典触发因素相似,非经典 Caspase-11 介导的 NLRP3 激活也在一定程度上依赖于 K<sup>+</sup> 的流出<sup>[31-33]</sup>。

## 2 NLRP3 在不同肝脏疾病中的作用机制

### 2.1 酒精性肝病

过量饮酒会导致酒精性肝病 (alcoholic liver disease, ALD) 的发生,包括酒精性脂肪肝、酒精性脂肪性肝炎、肝纤维化和肝硬化,甚至肝细胞癌。目前,对于酒精性相关肝病仍然没有有效的治疗方法和靶向药物<sup>[34]</sup>。有研究发现,在 ALD 患者中肝损伤相关的 IL-1 $\beta$ 、IL-18、Caspase-1 等炎症小体成分在肝脏中的表达明显升高<sup>[35]</sup>,且单次暴饮 0.8 mg/kg 乙醇会导致受试者血清中尿酸和 ATP 的水平显著升高。而血清中升高的尿酸和 ATP 被证实可导致肝免疫细胞中 NLRP3 炎症小体的活化,促进炎症性细胞因子 IL-1 $\beta$  释放。而肝内增多的 IL-1 $\beta$  可进一步诱导肝脏脂肪变性,增加肝脏中单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemotaxis protein-1, MCP-1) 的表达,并激活肝内巨噬细胞中 TLR4 依赖性炎症信

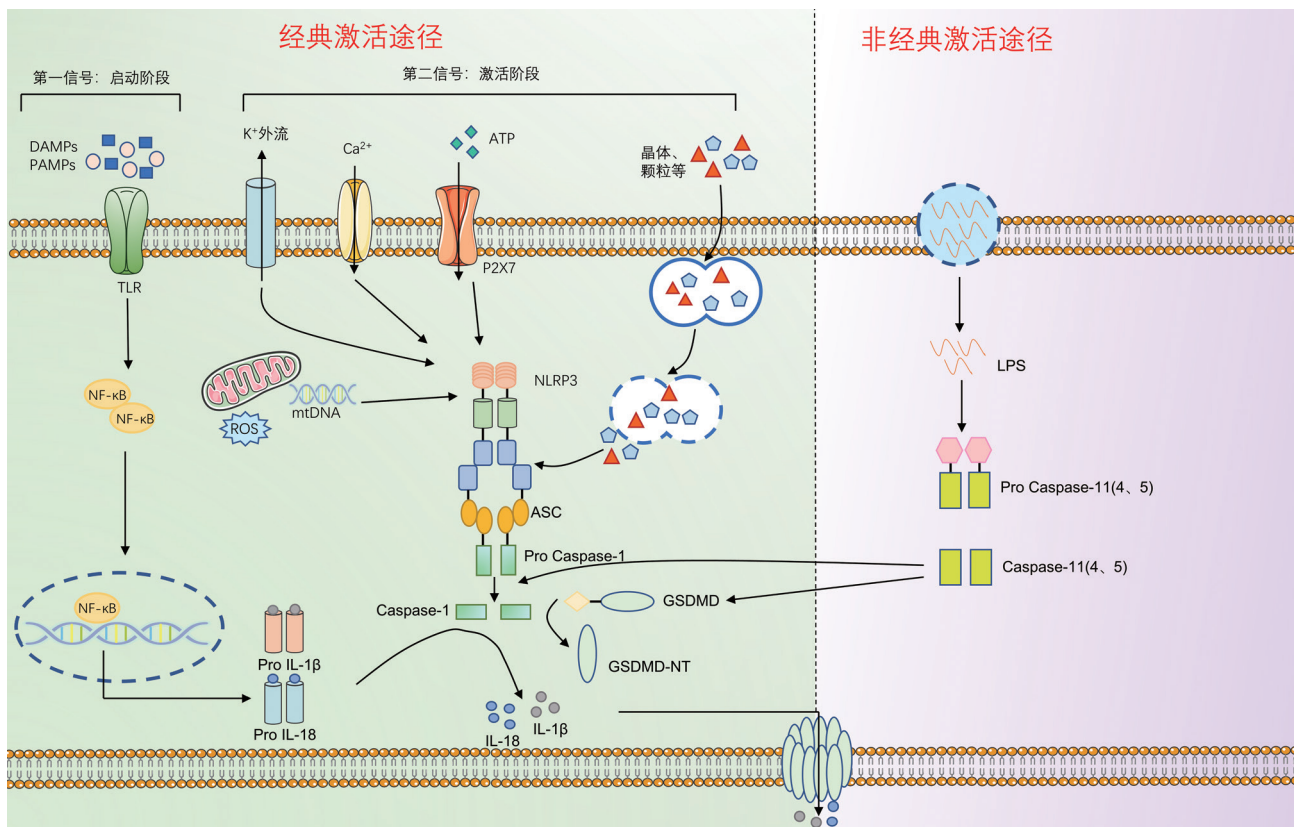


图1 NLRP3炎症小体激活相关通路(改编自参考文献13)



号<sup>[36]</sup>。此外, IL-1 $\beta$  还能募集和激活恒定自然杀伤 T 细胞, 进一步促进中性粒细胞的浸润, 加剧肝脏炎症反应, 导致酒精性肝损伤。而在 NLRP3 敲除小鼠中, 酒精诱导的肝脏脂肪变性和炎症损伤都得到了明显改善<sup>[37-38]</sup>。相似地, 用重组 IL-1 $\beta$  受体拮抗剂进行体内干预, 阻断 IL-1 $\beta$  信号转导, 也能够显著减轻酒精诱导的脂肪变性、肝脏炎症及细胞损伤。研究发现, 在酒精性肝炎患者和酒精肝小鼠中 miRNA-148a 的表达显著降低。作用机制研究发现, 酒精饮食能够通过抑制叉头盒蛋白 O1 (forkhead box protein A1, FOXA1) 减少 miR-148a 的转录, 进而导致其下游靶基因硫氧还蛋白互作蛋白 (thiore-doxin interacting protein, TXNIP) 过表达和 NLRP3 炎症小体激活, 最终引发肝细胞焦亡<sup>[39]</sup>。这些结果表明 NLRP3 炎症小体相关的先天免疫系统在 ALD 发病机制中具有重要的作用。

## 2.2 非酒精性脂肪性肝病

非酒精性脂肪性肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是全球最常见的慢性肝病之一。近年来 NAFLD 的发病率呈上升趋势, 世界范围内的发病率约为 20%~30%, 其中肥胖人群的患病率高达 75%~100%<sup>[40-41]</sup>。10%~20% 的 NAFLD 患者会发展为非酒精性脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis, NASH), 甚至肝硬化和肝细胞癌<sup>[42]</sup>。至今, NAFLD 的发病机制尚不完全清楚。目前提出的“多重打击”学说是关于 NAFLD 发病机制最被人们所接受的观点。此学说提出, 最首要的打击是脂质代谢紊乱引起的肝脏脂质过度蓄积。此外在肝细胞中, 伴随代谢紊乱产生的脂质过氧化、线粒体功能障碍和氧化应激也会进一步加剧细胞死亡和进行性肝损伤<sup>[40]</sup>, 并激活炎症级联反应, 诱导炎症因子的产生, 促进 NAFLD 病程进展和肝纤维化的发生<sup>[43]</sup>。近年来研究发现, NLRP3 炎症小体是 NAFLD 肝脏炎症损伤的一个重要触发因素。髓样细胞特异性敲除 NLRP3 可明显降低小鼠血清和肝脏中 IL-1 $\beta$  的水平, 并抑制高脂肪胆碱缺乏饮食引发的肝脏炎症反应和肝细胞死亡<sup>[44]</sup>。Alms1 基因突变小鼠采用高脂高胆固醇饮食喂养 16 周后, 可发展为 NASH 并伴随高胆固醇血症、糖尿病等病症。在此模型中, 肝脏胆固醇晶体能够激活 NLRP3 炎症小体。而给予小鼠 NLRP3 选择性抑制剂 MCC950 则可明显改善肝脏中 Caspase-1 和 IL-1 $\beta$ , 以及血浆中 IL-1 $\beta$ 、MCP-1 和 IL-6 的过表达情况, 降低肝脏炎症和纤维化的程度。在体外实验中, 胆固醇晶体可刺激骨髓来源的巨噬细胞和

KCs 释放 IL-1 $\beta$ , 而 MCC950 处理能够显著抑制胆固醇晶体诱导的 IL-1 $\beta$  释放和中性粒细胞的迁移<sup>[45]</sup>。相似地, 用 NLRP3 抑制剂 IFM-514 也可以在体内和体外减少 LPS 诱导的炎症细胞中 IL-1 $\beta$  的表达, 以及胆碱缺乏饮食诱导的 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠中肝脏的脂肪变性<sup>[46]</sup>。Hohenester 等<sup>[47]</sup> 通过给小鼠喂食 45% 热量的高脂饮食, 以及含有高果糖糖浆的饮用水来构建类似人类的 NAFLD 模型。结果显示在该模型中, NLRP3 信号通路被显著激活, 同时促炎相关基因 *Cxcl2*、*Mcp-1* 和 *F4/80* 明显上调; 而敲除 IL-18 受体则能够抑制小鼠脂肪肝中上述促炎基因的表达。这表明炎症小体介导的 IL-18 受体依赖信号通路在早期肝脏脂肪性炎症损伤中具有重要功能。*Pr2x7* 基因缺失小鼠也能够通过抑制 NLRP3 炎症小体的激活及其相关通路蛋白的表达, 减轻小鼠高脂饮食所导致的肝脏炎症性损伤<sup>[48]</sup>。Hong 等<sup>[49]</sup> 研究发现, 肝巨噬细胞中鞘氨醇 1-磷酸受体 4 (sphingosine 1-phosphate receptor 4, S1pr4) 的基因敲除抑制了 LPS 介导的 Ca<sup>2+</sup> 释放, 并导致 NLRP3 炎症小体的 Nod 样受体 PYD 结构域失活。因此, *S1pr4* 杂合缺失可明显减轻高脂高胆固醇饮食诱导的小鼠 NASH 和肝纤维化。在 NASH 患者肝脏中, X-盒结合蛋白 1 (X-box binding protein-1, XBP1) 呈高表达, 而肝脏中上调的 sXBP1 (剪接型 XBP1) 能够通过激活 NLRP3 炎症小体来调节肝脏炎症和免疫反应; 作用机制上, 骨髓来源巨噬细胞中的 XBP1 能够通过激活 NLRP3 信号转导, 诱导巨噬细胞 M1 极化, 进而增加肝细胞中促炎因子的产生和脂质的积累; 此外, 肝细胞特异性 XBP1 缺乏也能显著减轻高脂或蛋氨酸/胆碱缺乏饮食 (methionine and choline deficient L-amino acid diet, MCD) 引发的小鼠脂肪性肝炎<sup>[50]</sup>。这表明在肝脏实质细胞中, XBP1 对于调节 NLRP3 信号介导的脂肪性炎症反应也具有重要作用。

## 2.3 肝纤维化

慢性肝脏炎症与纤维化的发病机理密切相关。肝纤维化是由肝脏损伤后发生的持续的、过度的伤口愈合过程所引起的<sup>[51]</sup>。在早期, 肝纤维化是一个可逆的过程, 没有明显的症状。但是, 如果不及时控制, 肝纤维化就会进一步发展成肝硬化、肝功能衰竭, 甚至引发肝细胞癌<sup>[52]</sup>。肝纤维化的特点是细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的过度产生和积累以及肝星状细胞 (hepatic stellate cells, HSCs) 的活化, 后者在这一进程中起关键作用。通常, 储存

大量维生素 A 的 HSCs 处于静止状态, 当受到纤维化因子刺激时, 静止状态的 HSCs 会被激活并失去含有维生素 A 的脂滴, 进而转化成表型为  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白 ( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA) 阳性的肌成纤维细胞, 并产生大量胶原蛋白和其他细胞外基质<sup>[53-54]</sup>。在衰老过程中, 活性氧的积累会导致组织和部分机体功能的逐渐丧失, 同时也可能会出现与衰老相关的肝功能恶化。在 20 月龄的老年小鼠肝脏中, 肝脏纤维化相关蛋白 I 型胶原 (collagen type I alpha 1, COL1A1) 和原肌球蛋白 2 $\beta$  的表达明显增加, 且具有抑制 HSCs 活化功能的锌指转录因子 GATA 结合蛋白 4 (GATA-binding protein 4, GATA4) 的表达也明显减少; 而 NLRP3 炎症小体缺失则能够抑制老年小鼠肝脏纤维化相关基因的表达, 促进 GATA4 的表达, 进而抑制 HSCs 的活化, 减轻 COL1A1 在肝脏的过度积累, 表明阻断 NLRP3 炎症小体可显著改善与衰老相关的慢性炎症性肝病<sup>[55]</sup>。Wree 等<sup>[56]</sup>研究发现, 骨髓来源细胞表达持续性活化的 NLRP3 (*Nlrp3*<sup>A350V</sup>) 的小鼠肝脏中含有大量的炎症巨噬细胞和中性粒细胞浸润; 此外, 肝脏中的肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, *Tnf*) 和 *Il-17* 的 mRNA 表达水平也明显增加; 进一步分析发现, TNF 在 NLRP3 炎症小体过度激活诱导的肝纤维化中具有重要功能, 在 *Nlrp3*<sup>A350V</sup> 小鼠中敲除 *Tnf* 能够明显降低肝脏的胶原沉积。肝细胞特异性 NLRP3 过表达 (*Nlrp3*<sup>K1</sup>CreA) 的小鼠在正常饮食下即能表现出自发性肝纤维化, 并在注射低剂量 LPS 后对肝损伤和炎症的敏感性进一步增加; 机制上, 相比野生型小鼠, *Nlrp3*<sup>K1</sup>CreA 小鼠原代肝细胞中的 Caspase-1/PI 双阳性细胞数量多 5 倍, 表明 NLRP3 过表达导致肝细胞发生焦亡, 而这些焦亡的肝细胞会释放 NLRP3 炎症小体颗粒 (如 NLRP3、ASC、IL-1 $\beta$ 、Caspase-1) 到肝细胞外, 进而被 HSCs 所吞噬, 导致 HSCs 中 IL-1 $\beta$  的分泌和  $\alpha$ -SMA 的表达增加; 用内吞作用抑制剂 Cytochalasin B 预处理星状细胞, 能够显著消除这种激活效应<sup>[57]</sup>。布鲁氏菌感染对肝脏也会产生影响。布鲁氏菌能够通过促进 HSCs 分泌转化生长因子- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), 抑制基质金属蛋白酶-9 的表达来促进胶原沉积, 从而引发肝脏纤维化。细菌可通过 IV 型分泌系统将效应物传递到真核细胞, 布鲁氏菌依赖于 IV 型分泌系统触发黑色素瘤缺乏因子炎症小体和 NLRP3 炎症小体的激活并促进 IL-1 $\beta$  的分泌; 用 Caspase-1 特异性抑制剂 Ac-YVAD-cmk、NLRP3 炎症小体抑制剂格列

本脉或 IL-1 受体抑制剂阿那白滞素处理都能够显著逆转布鲁氏菌感染引发的 NLRP3 炎症小体相关的 HSCs 纤维化表型<sup>[58]</sup>。除了 TNF 和 IL-1 $\beta$ , 炎症因子 IL-18 在 HSCs 活化和肝纤维化发展中也具有重要作用。与健康患者相比, 肝硬化患者血清 IL-18 和 IL-18 结合蛋白水平显著增加; 单细胞 RNA 测序数据显示, 小鼠 HSCs 的免疫调节子集高表达 IL-18 和 IL-18 受体; 在体内, IL-18 或 IL-18 受体缺失能够明显减少高脂肪胆碱缺乏饮食诱导的小鼠肝脏  $\alpha$ -SMA 的表达和胶原蛋白的沉积, 从而抑制 HSCs 中 NLRP3 通路过度激活所造成的肝纤维化<sup>[59]</sup>。近年来, 越来越多的证据表明炎症细胞和 HSCs 之间的串扰在调节 HSCs 表型和激活中具有关键作用。在高脂肪胆碱缺乏饮食和西方饮食诱导的 NASH 小鼠中, NLRP3 骨髓特异性缺失可以显著抑制 HSCs 的活化, 改善肝脏纤维化。事实上, 在体外共培养研究中, 离体单核细胞中的 NLRP3 激活也能够促进 HSCs 向肌成纤维细胞的转化。这些结果说明骨髓来源的免疫细胞是触发饮食诱导的、NLRP3 炎症小体依赖性纤维化发生的关键细胞类型<sup>[44]</sup>。

#### 2.4 药物性肝损伤

药物性肝损伤 (drug-induced liver injury, DILI) 被认为是目前临床用药安全性的重要问题, 也是药物开发过程中停止研究和退出市场的主要原因之一<sup>[60-61]</sup>。越来越多的证据表明精神类药物具有肝脏毒性作用。常见的抗抑郁药氟西汀能够被 NLRP3 炎症小体特异性识别, 并引发 NLRP3 炎症小体激活, 这与氟西汀给药后造成的线粒体损伤和 mtROS 的积累密切相关。在小鼠肝毒性模型中, 氟西汀以 NLRP3 通路依赖的方式引发血清转氨酶水平升高、肝脏炎症损伤和肝脏细胞死亡, MCC950 预处理可以有效逆转氟西汀造成的肝脏损伤。值得注意的是, 多种抗抑郁药 (例如阿米替林、帕罗西汀和丙咪嗪) 以及抗精神病药 (例如阿塞那平) 也具有类似的作用, 即这些药物也能够特异性导致 NLRP3 炎症小体激活, 引发肝脏炎症损伤<sup>[62]</sup>。对乙酰氨基酚 (acetaminophen, APAP) 是最常用的镇痛和解热药物之一, 但过量服用也会导致肝毒性和急性肝衰竭<sup>[63]</sup>。研究发现 APAP 诱导的肝损伤 (acetaminophen induced-liver injury, AILI) 能够通过两个病理阶段的发展导致肝脏损伤。首先, APAP 可直接诱导细胞损伤和无菌炎症。APAP 经过 P450 细胞色素 (主要是 CYP2E1) 的催化降解, 形成反应性代谢物 N-乙酰基-苯并醌亚胺 (N-acetyl-p-benzo-quinone imine, NAPQI),



肝内积累的 NAPQI 会导致肝细胞谷胱甘肽耗竭和线粒体功能障碍, 线粒体功能失调进而引发细胞 ATP 耗竭、DNA 断裂和细胞坏死<sup>[64-65]</sup>; 同时, 坏死肝细胞可释放 DAMPs, 导致先天免疫系统异常激活, 进一步促进 AILI 的发展<sup>[66-67]</sup>。小鼠口服过量 APAP 后, 血清乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 含量增加了 6.5 倍, GSDMD-N 等焦亡相关蛋白表达水平也明显增多, 这表明 APAP 能够破坏肝脏细胞膜完整性, 导致细胞内容物流出, APAP 介导的肝脏损伤与细胞焦亡密切相关。用 APAP 处理 KCs 和肝细胞均会导致细胞上清液中 LDH 释放量的增加, 并促进焦亡相关蛋白的表达。与 APAP 单独处理的肝细胞相比, 在 KCs 共培养的肝细胞中 Caspase-1 剪切体和 GSDMD-N 水平均被显著上调, IL-1 $\beta$  和 IL-18 表达水平也明显增加。这些结果表明, 在 APAP 处理条件下, KCs 能够进一步促进肝细胞的焦亡<sup>[68]</sup>。N,N-二甲基甲酰胺 (N,N-dimethylformamide, DMF) 被称为“通用溶剂”, 广泛用于生产树脂、油墨、黏合剂、皮革和飞机维修行业<sup>[69]</sup>。然而, DMF 暴露可能会导致多器官损伤, 特别是引发 DMF 敏感的肝脏损伤<sup>[70]</sup>。在 DMF 诱导的急性肝损伤小鼠模型中, 肝脏丙二醛和 4-氢化二醛加合物水平升高以及还原型谷胱甘肽水平降低, 造成显著的氧化应激。且两种公认的抗氧化剂 N-乙酰半胱氨酸 (N-acetylcysteine, NAC) 和萝卜硫素均不能有效抑制 DMF 诱导的小鼠肝毒性。DMF 还可导致小鼠肝脏巨噬细胞浸润和 M1 型巨噬细胞极化, 造成 NLRP3 炎症小体的激活和肝细胞局灶性坏死。三氯化钐可使肝巨噬细胞失活, DMF 模型组小鼠尾静脉注射三氯化钐后, 其肝脏中血清转氨酶活性的异常升高、中性粒细胞浸润和 NLRP3 炎症小体的激活等状况均能得到改善。因此, DMF 诱导的急性肝毒性可能主要与肝巨噬细胞中 NLRP3 炎症小体的激活相关, 而不是氧化应激<sup>[71]</sup>。但也有研究表明, 在其他药源性肝损伤中, 氧化应激参与了 NLRP3 炎症小体的激活, 如在伊马替尼 (Imatinib, IM) 诱导的肝损伤中, IM 能够通过调节 ROS/NF- $\kappa$ B 途径诱导 NLRP3 炎症小体的激活; 抗氧化剂 NAC 或 NF- $\kappa$ B 抑制剂 PDTC 处理则可显著消除 IM 对 HepG2 细胞中 NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$  和磷酸化 p-65 蛋白表达的影响<sup>[72]</sup>。同样地, 雄黄诱导的小鼠肝脏 NLRP3 炎症小体激活也与 ROS 积累密切相关; 利用自噬诱导剂雷帕霉素清除过量的 ROS, 能够显著抑制 NF- $\kappa$ B 的核转位, 并下调 TXNIP/NLRP3 通路, 进而有效抑制

ROS 介导的 NLRP3 炎症小体激活<sup>[73]</sup>。

### 3 NLRP3炎症小体相关靶点抑制剂

随着对 NLRP3 炎症小体在慢性肝病及肝损伤中的作用机制研究的深入, 以 NLRP3 炎症小体信号通路作为主要调控靶点逐渐成为此类无菌炎症相关肝病治疗的新方向和药物开发策略。当前, 针对 NLRP3 炎症小体激活通路相关靶点的抑制剂开发主要包括阻断上游信号、抑制炎症小体组装、抑制 Caspase-1 激活和抑制炎症因子等方面。

#### 3.1 NLRP3抑制剂

MCC950 是第一个被鉴定为 NLRP3 抑制剂的小分子化合物<sup>[74]</sup>。众多研究表明 MCC950 具有抑制炎症、肝纤维化等作用, 可明显改善小鼠 NAFLD、DILI 引发的肝脏损伤<sup>[45, 62]</sup>。最近发现, CY-09 能够直接靶向 NLRP3, 通过阻断 ATP 与 NLRP3 结合来抑制 NLRP3 的活化。CY-09 可剂量依赖性抑制尿酸钠、ATP 和尼日利亚菌素诱导的骨髓来源巨噬细胞中 Caspase-1 的活化和 IL-1 $\beta$  的释放。在高脂饮食诱导的小鼠模型中, CY-09 能显著降低 NAFLD 小鼠的肝脏脂肪变性<sup>[75]</sup>。此外, 有报道称格列本脲也可以通过抑制 K<sup>+</sup> 通道, 进而有效抑制 NLRP3 炎症小体激活。在 NAFLD 的大鼠模型中, 格列本脲能明显抑制肝脏中 NLRP3 炎症小体的表达, 同时有效降低血清中甘油三酯、葡萄糖和胆固醇的水平, 减少肝脏 DNA 损伤和炎性细胞浸润, 进一步抑制肝脏细胞凋亡损伤<sup>[76]</sup>。BAY11-7082 不仅能够直接抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路, 还能通过对 NLRP3 的 ATP 酶活性结构域半胱氨酸进行烷基化来抑制 NLRP3 炎症小体的组装和激活<sup>[77]</sup>。在体内研究中, BAY11-7082 可有效减少高脂饮食诱导的小鼠肝细胞中 mtDNA 的释放, 并明显降低 KCs 细胞中 TNF- $\alpha$  和 IL-6 的表达<sup>[78]</sup>。

#### 3.2 Caspase抑制剂

泛 Caspase 抑制剂 IDN-6556 能够明显改善高脂饮食诱导的小鼠炎症反应和肝损伤, 可以有效抑制肝细胞凋亡和肝纤维化<sup>[79]</sup>。Morrison 等<sup>[80]</sup> 研究显示, Caspase-1 专一性抑制剂 Ac-YVAD-cmk 治疗能够减轻 NASH 小鼠的胰岛素抵抗, 同时显著降低肝脏中纤维化相关基因的表达水平。另一种泛 Caspase 抑制剂 VX-166 可降低 MCD 喂食小鼠的肝脏氧化应激、炎症反应和血清 ALT 水平<sup>[81]</sup>。一项 II 期双盲临床试验发现, 选择性 Caspase 抑制剂 GS-9450 能够明显改善 NASH 相关临床指标, NASH

患者在接受 GS-9450 治疗后, ALT 水平呈剂量依赖性降低, 同时细胞角蛋白 -18 片段水平和 AST 水平也有一定程度的改善<sup>[82]</sup>。

### 3.3 IL-1抑制剂

除直接抑制 NLRP3 和 Caspase-1 外, 阻断 NLRP3 活化通路下游效应分子 IL-1 $\beta$  的信号转导也可明显减缓相关肝病的发展进程。Petrasek 等<sup>[36]</sup>发现, 在体内使用 IL-1 受体抑制剂阿那白滞素可显著改善乙醇诱导的肝脏脂肪变性、炎症反应和肝损伤的发生。卡纳单抗作为一种靶向 IL-1 $\beta$  的人单克隆抗体, 它可以有效抑制 TGF- $\beta$  或 IL-1 $\beta$  诱导的 LX-2 细胞中纤维化相关蛋白 ( $\alpha$ -SMA、纤连蛋白、波形蛋白) 的表达<sup>[83]</sup>。

### 3.4 DAMPs相关抑制剂

DAMPs 作为 NLRP3 活化起始阶段的重要诱导物, 抑制相关 DAMPs 的产生在一定程度上也能有效阻断 NLRP3 炎症小体通路的早期活化。别嘌呤醇作为降尿酸药物可有效抑制尿酸的体内合成, 明显改善乙醇和高果糖诱导的尿酸代谢紊乱相关的小鼠肝脏脂肪变性和炎性损伤<sup>[84-85]</sup>。此外, 丙磺舒也可通过促进尿酸排出并抑制 ATP 介导的 P2X7 信号通路来抑制 NLRP3 的激活<sup>[84]</sup>。而艾塞那肽则可通过调节肝脏细胞有丝分裂和自噬通路, 减少氧化应

激相关 ROS 的产生, 从而抑制 NLRP3 炎症小体的活化, 有效减轻 NAFLD 合并糖尿病小鼠的肝脏损伤<sup>[86]</sup>。维拉帕米是一种钙通道阻滞剂, 它也能够通过阻断 TXNIP/NLRP3 通路的激活, 进而减轻高脂饮食诱导的 NAFLD<sup>[87]</sup>。

## 4 小结与展望

炎症小体是天然免疫系统的重要组成部分, 在很大程度上可以保护肝脏免受致病性感染、代谢失衡、细胞应激, 甚至肿瘤细胞的侵害。然而, 在病理状态下, 炎症小体的过度活化反而会造成炎症反应失控, 进而促进肝脏相关疾病的发生和发展。过度激活的 NLRP3 炎症小体与无菌炎症相关的酒精性肝病、非酒精性脂肪性肝病、肝纤维化、药物性肝损伤等肝脏疾病的发展密切相关 (图 2)。机体代谢紊乱时所产生的危险信号, 如 ATP、尿酸、胆固醇晶体、线粒体损伤等均能够激活肝实质和非实质细胞中的 NLRP3 炎症小体, 并可进一步引发严重的肝脏炎症, 甚至是肝脏细胞死亡。而受损或死亡的肝细胞、骨髓来源的巨噬细胞、KCs 等分泌的炎症介质持续刺激 HSCs, 也会进一步诱导肝纤维化的发生。因此, 靶向 NLRP3 炎症小体对于无菌炎症相关肝脏疾病的治疗具有重要作用, 且针对

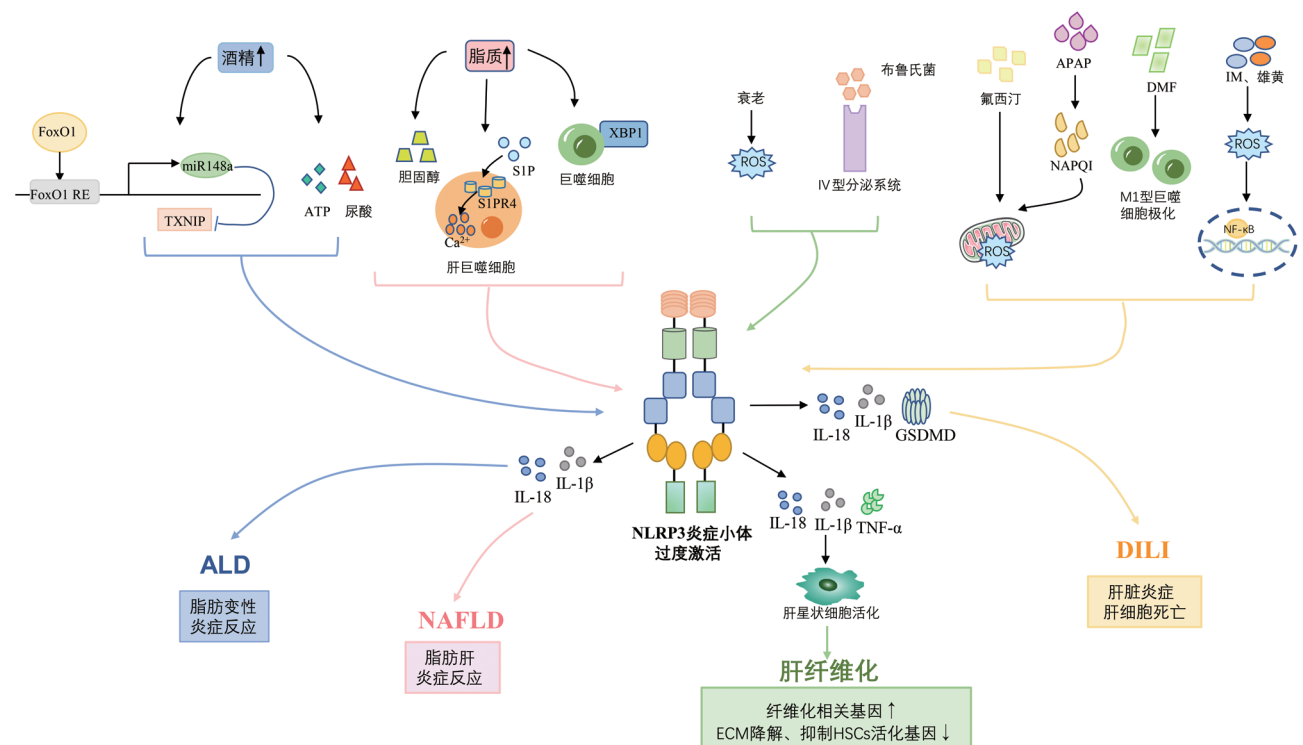


图2 NLRP3炎症小体通路激活与慢性肝病及肝损伤的关系

NLRP3 炎症小体激活通路相关靶点也已开发出部分抑制剂并进入临床试验用于治疗肝脏疾病 (表 1)。对 NLRP3 炎症小体调控机制的研究总结有助于深入了解慢性肝病及肝损伤的发病机制, 也为基于抑制 NLRP3 炎症小体防治慢性肝病及肝损伤的临床新药开发和研究提供理论依据和参考。尽管如此, 目前关于 NLRP3 炎症小体在慢性肝病及肝损伤中的研究仍存在着一些问题有待解决。首先, 除已知肝病相关炎症小体激活信号分子外, 其他 DAMPs 在 NLRP3 炎症小体过度激活相关肝病中的作用仍不完全清楚。此外, 在不同类型肝病发病过程中, NLRP3 炎症小体在肝实质细胞和非实质细胞中活化的细胞特异性, 及其在不同细胞间的串扰对肝脏炎性损伤发展的作用, 也有待于进一步的研究; 其次, 虽然当前基于 NLRP3、Caspase-1 和 IL-1 等开发的小分子抑制剂在基础和临床试验中显示出了较好的抗肝病作用, 但 NLRP3 炎症小体本身作为机体抵抗病原感染的重要免疫防御机制, 非靶向性的全身阻断 NLRP3 炎症小体通路可能会增加机体的感染风险, 损害正常的免疫防御体系。因此, 未来仍需对 NLRP3 炎症小体调控机制, 特别是在不同类型、不同病程阶段的慢性肝病及肝损伤中的作用机制进行深入研究, 通过对相关化学合成或天然产物来源的抑制剂进行进一步筛选和结构优化, 并结合纳米材料等药物靶向转运体系, 从而获得作用明确、安全可控的细胞特异性 NLRP3 抑制剂, 用于临床慢性肝病及肝损伤的预防和治疗。

## [参 考 文 献]

- [1] Xiao J, Wang F, Wong NK, et al. Global liver disease burdens and research trends: analysis from a Chinese perspective. *J Hepatol*, 2019, 71: 212-21
- [2] Zhang Q, Ma C, Duan Y, et al. Gut microbiome directs hepatocytes to recruit MDSCs and promote cholangiocarcinoma. *Cancer Discov*, 2021, 11: 1248-67
- [3] Liu T, Xu G, Liang L, et al. Pharmacological effects of Chinese medicine modulating NLRP3 inflammasomes in fatty liver treatment. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 967594
- [4] Brubaker SW, Bonham KS, Zanoni I, et al. Innate immune pattern recognition: a cell biological perspective. *Annu Rev Immunol*, 2015, 33: 257-90
- [5] Gong T, Liu L, Jiang W, et al. DAMP-sensing receptors in sterile inflammation and inflammatory diseases. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20: 95-112
- [6] Xu T, Du Y, Fang XB, et al. New insights into Nod-like receptors (NLRs) in liver diseases. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*, 2018, 10: 1-16
- [7] Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL- $\beta$ . *Mol Cell*, 2002, 10: 417-26
- [8] Zhao N, Li CC, Di B, et al. Recent advances in the NEK7-licensed NLRP3 inflammasome activation: mechanisms, role in diseases and related inhibitors. *J Autoimmun*, 2020, 113: 102515
- [9] Serti E, Werner JM, Chattergoon M, et al. Monocytes activate natural killer cells via inflammasome-induced interleukin 18 in response to hepatitis C virus replication. *Gastroenterology*, 2014, 147: 209-20.e3
- [10] Yu X, Lan P, Hou X, et al. HBV inhibits LPS-induced NLRP3 inflammasome activation and IL-1 $\beta$  production via suppressing the NF- $\kappa$ B pathway and ROS production. *J Hepatol*, 2017, 66: 693-702
- [11] Neumann K, Schiller B, Tiegs G. NLRP3 inflammasome

表1 NLRP3炎症小体通路靶点抑制剂在相关肝病治疗中的进展

类型	抑制剂名称	适应证	临床进展	参考文献
NLRP3炎症小体抑制剂	MCC950	NAFLD、DILI	-	[45, 62]
	CY-09	NAFLD	-	[75]
	格列本脲	NAFLD、肝纤维化	-	[58, 76]
	BAY11-7082	NAFLD	-	[78]
Caspase抑制剂	IDN-6556	NASH	II期	[79]
	Ac-YVAD-cmk	NASH、肝纤维化	-	[58, 80]
	VX-166	NASH	-	[81]
	GS-9450	NASH	II期	[82]
IL-1抑制剂	阿那白滞素	ALD、肝纤维化	II期	[36, 58]
	卡纳单抗	肝纤维化	-	[83]
DAMPs抑制剂	别嘌呤醇	ALD、NAFLD	-	[84-85]
	丙磺舒	ALD	-	[84]
	艾塞那肽	NAFLD	IV期	[86]
	维拉帕米	NAFLD	-	[87]



- and IL-33: novel players in sterile liver inflammation. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 2732
- [12] Swanson KV, Deng M, Ting JP. The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics. *Nat Rev Immunol*, 2019, 19: 477-89
- [13] Huang Y, Xu W, Zhou R. NLRP3 inflammasome activation and cell death. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18: 2114-27
- [14] Liu SX, Liu H, Wang S, et al. Diallyl disulfide ameliorates ethanol-induced liver steatosis and inflammation by maintaining the fatty acid catabolism and regulating the gut-liver axis. *Food Chem Toxicol*, 2022, 164: 113108
- [15] Song N, Liu ZS, Xue W, et al. NLRP3 phosphorylation is an essential priming event for inflammasome activation. *Mol Cell*, 2017, 68: 185-97.e6
- [16] Akther M, Haque ME, Park J, et al. NLRP3 ubiquitination -- a new approach to target NLRP3 inflammasome activation. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 8780
- [17] Di A, Xiong S, Ye Z, et al. The TWIK2 potassium efflux channel in macrophages mediates NLRP3 inflammasome-induced inflammation. *Immunity*, 2018, 49: 56-65.e4
- [18] Paik S, Kim JK, Silwal P, et al. An update on the regulatory mechanisms of NLRP3 inflammasome activation. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18: 1141-60
- [19] Kelley N, Jeltema D, Duan Y, et al. The NLRP3 inflammasome: an overview of mechanisms of activation and regulation. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 3328
- [20] Katsnelson MA, Lozada-Soto KM, Russo HM, et al. NLRP3 inflammasome signaling is activated by low-level lysosome disruption but inhibited by extensive lysosome disruption: roles for K<sup>+</sup> efflux and Ca<sup>2+</sup> influx. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2016, 311: C83-100
- [21] Holley CL, Schroder K. The rOX-stars of inflammation: links between the inflammasome and mitochondrial meltdown. *Clin Transl Immunology*, 2020, 9: e01109
- [22] Yu JW, Lee MS. Mitochondria and the NLRP3 inflammasome: physiological and pathological relevance. *Arch Pharm Res*, 2016, 39: 1503-18
- [23] Yabal M, Calleja DJ, Simpson DS, et al. Stressing out the mitochondria: mechanistic insights into NLRP3 inflammasome activation. *J Leukoc Biol*, 2019, 105: 377-99
- [24] Sharif H, Wang L, Wang WL, et al. Structural mechanism for NEK7-licensed activation of NLRP3 inflammasome. *Nature*, 2019, 570: 338-43
- [25] Schmidt FI, Lu A, Chen JW, et al. A single domain antibody fragment that recognizes the adaptor ASC defines the role of ASC domains in inflammasome assembly. *J Exp Med*, 2016, 213: 771-90
- [26] Lei Q, Yi T, Chen C. NF-κB-Gasdermin D (GSDMD) axis couples oxidative stress and NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 3 (NLRP3) inflammasome-mediated cardiomyocyte pyroptosis following myocardial infarction. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 6044-52
- [27] Shi J, Zhao Y, Wang K, et al. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature*, 2015, 526: 660-5
- [28] He WT, Wan H, Hu L, et al. Gasdermin D is an executor of pyroptosis and required for interleukin-1β secretion. *Cell Res*, 2015, 25: 1285-98
- [29] Yi YS. Caspase-11 non-canonical inflammasome: a critical sensor of intracellular lipopolysaccharide in macrophage-mediated inflammatory responses. *Immunology*, 2017, 152: 207-17
- [30] Downs KP, Nguyen H, Dorfleutner A, et al. An overview of the non-canonical inflammasome. *Mol Aspects Med*, 2020, 76: 100924
- [31] Ding J, Shao F. SnapShot: the noncanonical inflammasome. *Cell*, 2017, 168: 544.e1
- [32] Yi YS. Regulatory roles of the caspase-11 non-canonical inflammasome in inflammatory diseases. *Immune Netw*, 2018, 18: e41
- [33] Rühl S, Broz P. Caspase-11 activates a canonical NLRP3 inflammasome by promoting K<sup>+</sup> efflux. *Eur J Immunol*, 2015, 45: 2927-36
- [34] Seitz HK, Bataller R, Cortez-Pinto H, et al. Alcoholic liver disease. *Nat Rev Dis Primers*, 2018, 4: 16
- [35] Stickel F, Datz C, Hampe J, et al. Pathophysiology and management of alcoholic liver disease: update 2016. *Gut Liver*, 2017, 11: 173-88
- [36] Petrasek J, Bala S, Csak T, et al. IL-1 receptor antagonist ameliorates inflammasome-dependent alcoholic steatohepatitis in mice. *J Clin Invest*, 2012, 122: 3476-89
- [37] Petrasek J, Iracheta-Vellve A, Saha B, et al. Metabolic danger signals, uric acid and ATP, mediate inflammatory cross-talk between hepatocytes and immune cells in alcoholic liver disease. *J Leukoc Biol*, 2015, 98: 249-56
- [38] Cui K, Yan G, Xu C, et al. Invariant NKT cells promote alcohol-induced steatohepatitis through interleukin-1β in mice. *J Hepatol*, 2015, 62: 1311-8
- [39] Heo MJ, Kim TH, You JS, et al. Alcohol dysregulates miR-148a in hepatocytes through FoxO1, facilitating pyroptosis via TXNIP overexpression. *Gut*, 2019, 68: 708-20
- [40] Dewidar B, Kahl S, Pafili K, et al. Metabolic liver disease in diabetes - from mechanisms to clinical trials. *Metabolism*, 2020, 111S: 154299
- [41] Scorletti E, Carr RM. A new perspective on NAFLD: focusing on lipid droplets. *J Hepatol*, 2022, 76: 934-45
- [42] Lebeaupin C, Vallée D, Hazari Y, et al. Endoplasmic reticulum stress signalling and the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*, 2018, 69: 927-47
- [43] Friedman SL, Neuschwander-Tetri BA, Rinella M, et al. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nat Med*, 2018, 24: 908-22
- [44] Kaufmann B, Kui L, Reza A, et al. Cell-specific deletion of NLRP3 inflammasome identifies myeloid cells as key drivers of liver inflammation and fibrosis in murine steatohepatitis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2022, 14: 751-67
- [45] Mridha AR, Wree A, Robertson AAB, et al. NLRP3 inflammasome blockade reduces liver inflammation and fibrosis in experimental NASH in mice. *J Hepatol*, 2017, 66: 1037-46

- [46] Torres S, Brol MJ, Magdaleno F, et al. The specific NLRP3 antagonist IFM-514 decreases fibrosis and inflammation in experimental murine non-alcoholic steatohepatitis. *Front Mol Biosci*, 2021, 8: 715765
- [47] Hohenester S, Kanitz V, Schiergens T, et al. IL-18 but not IL-1 signaling is pivotal for the initiation of liver injury in murine non-alcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 8602
- [48] Blasetti Fantauzzi C, Menini S, Iacobini C, et al. Deficiency of the purinergic receptor 2X7 attenuates nonalcoholic steatohepatitis induced by high-fat diet: possible role of the NLRP3 inflammasome. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 8962458
- [49] Hong CH, Ko MS, Kim JH, et al. Sphingosine 1-phosphate receptor 4 promotes nonalcoholic steatohepatitis by activating NLRP3 inflammasome. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2022, 13: 925-47
- [50] Wang Q, Zhou H, Bu Q, et al. Role of XBP1 in regulating the progression of non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*, 2022, 77: 312-25
- [51] Higashi T, Friedman SL, Hoshida Y. Hepatic stellate cells as key target in liver fibrosis. *Adv Drug Deliv Rev*, 2017, 121: 27-42
- [52] Alegre F, Pelegrin P, Feldstein AE. Inflammasomes in liver fibrosis. *Semin Liver Dis*, 2017, 37: 119-27
- [53] Hong Y, Li S, Wang J, et al. Author correction: *in vitro* inhibition of hepatic stellate cell activation by the autophagy-related lipid droplet protein ATG2A. *Sci Rep*, 2018, 8: 14569
- [54] Li J, Li X, Xu W, et al. Antifibrotic effects of luteolin on hepatic stellate cells and liver fibrosis by targeting AKT/mTOR/p70S6K and TGF $\beta$ /Smad signalling pathways. *Liver Int*, 2015, 35: 1222-33
- [55] Gallego P, Castejon-Vega B, Del Campo JA, et al. The absence of NLRP3-inflammasome modulates hepatic fibrosis progression, lipid metabolism, and inflammation in KO NLRP3 mice during aging. *Cells*, 2020, 9: 2148
- [56] Wree A, McGeough MD, Inzaugarat ME, et al. NLRP3 inflammasome driven liver injury and fibrosis: roles of IL-17 and TNF in mice. *Hepatology*, 2018, 67: 736-49
- [57] Gaul S, Leszczynska A, Alegre F, et al. Hepatocyte pyroptosis and release of inflammasome particles induce stellate cell activation and liver fibrosis. *J Hepatol*, 2021, 74: 156-67
- [58] Arriola-Benitez PC, Pesce-Viglietti AI, Gomes MTR, et al. *Brucella abortus* infection elicited hepatic stellate cell-mediated fibrosis through inflammasome-dependent IL-1 $\beta$  production. *Front Immunol*, 2019, 10: 3036
- [59] Knorr J, Kaufmann B, Inzaugarat ME, et al. Interleukin-18 signaling promotes activation of hepatic stellate cells in murine liver fibrosis. *Hepatology*, 2023, 77: 1968-82
- [60] Chalasani NP, Hayashi PH, Bonkovsky HL, et al. ACG clinical guideline: the diagnosis and management of idiosyncratic drug-induced liver injury. *Am J Gastroenterol*, 2014, 109: 950-66; quiz 967
- [61] Kullak-Ublick GA, Andrade RJ, Merz M, et al. Drug-induced liver injury: recent advances in diagnosis and risk assessment. *Gut*, 2017, 66: 1154-64
- [62] Mu W, Xu G, Wei Z, et al. The role of NLRP3 inflammasome in psychotropic drug-induced hepatotoxicity. *Cell Death Discov*, 2022, 8: 313
- [63] Yan M, Huo Y, Yin S, et al. Mechanisms of acetaminophen-induced liver injury and its implications for therapeutic interventions. *Redox Biol*, 2018, 17: 274-83
- [64] Woolbright BL, Jaeschke H. Role of the inflammasome in acetaminophen-induced liver injury and acute liver failure. *J Hepatol*, 2017, 66: 836-48
- [65] Ramachandran A, Jaeschke H. Acetaminophen hepatotoxicity. *Semin Liver Dis*, 2019, 39: 221-34
- [66] Yang R, Tonnesseen TI. DAMPs and sterile inflammation in drug hepatotoxicity. *Hepatol Int*, 2019, 13: 42-50
- [67] Jaeschke H, Ramachandran A. Mechanisms and pathophysiological significance of sterile inflammation during acetaminophen hepatotoxicity. *Food Chem Toxicol*, 2020, 138: 111240
- [68] Wang Y, Zhao Y, Wang Z, et al. Peroxiredoxin 3 inhibits acetaminophen-induced liver pyroptosis through the regulation of mitochondrial ROS. *Front Immunol*, 2021, 12: 652782
- [69] Le Bras J, Muzart J. Recent uses of N,N-dimethylformamide and N,N-dimethylacetamide as reagents. *Molecules*, 2018, 23: 1939
- [70] Li MJ, Zeng T. The deleterious effects of N,N-dimethylformamide on liver: a mini-review. *Chem Biol Interact*, 2019, 298: 129-36
- [71] Liu H, Li MJ, Zhang XN, et al. N,N-dimethylformamide-induced acute liver damage is driven by the activation of NLRP3 inflammasome in liver macrophages of mice. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2022, 238: 113609
- [72] Huang FR, Fang WT, Cheng ZP, et al. Imatinib-induced hepatotoxicity via oxidative stress and activation of NLRP3 inflammasome: an *in vitro* and *in vivo* study. *Arch Toxicol*, 2022, 96: 1075-87
- [73] Yang J, Li J, Guo H, et al. An experimental study reveals the protective effect of autophagy against realgar-induced liver injury via suppressing ROS-mediated NLRP3 inflammasome pathway. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 5697
- [74] Coll RC, Hill JR, Day CJ, et al. MCC950 directly targets the NLRP3 ATP-hydrolysis motif for inflammasome inhibition. *Nat Chem Biol*, 2019, 15: 556-559
- [75] Wang X, Sun K, Zhou Y, et al. NLRP3 inflammasome inhibitor CY-09 reduces hepatic steatosis in experimental NAFLD mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 534: 734-39
- [76] Dwivedi DK, Jena GB. NLRP3 inhibitor glibenclamide attenuates high-fat diet and streptozotocin-induced non-alcoholic fatty liver disease in rat: studies on oxidative stress, inflammation, DNA damage and insulin signalling pathway. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2020, 393: 705-16
- [77] Jiang H, He H, Chen Y, et al. Identification of a selective and direct NLRP3 inhibitor to treat inflammatory disorders. *J Exp Med*, 2017, 214: 3219-38
- [78] Ying Y, Zhang H, Yu D, et al. Gegen qinlian decoction

- ameliorates nonalcoholic fatty liver disease in rats via oxidative stress, inflammation, and the NLRP3 signal axis. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 6659445
- [79] Barreyro FJ, Holod S, Finocchietto PV, et al. The pancaspase inhibitor Emricasan (IDN-6556) decreases liver injury and fibrosis in a murine model of non-alcoholic steatohepatitis. *Liver Int*, 2015, 35: 953-66
- [80] Morrison MC, Mulder P, Salic K, et al. Intervention with a caspase-1 inhibitor reduces obesity-associated hyperinsulinemia, non-alcoholic steatohepatitis and hepatic fibrosis in LDLR<sup>-/-</sup>.Leiden mice. *Int J Obes (Lond)*, 2016, 40: 1416-23
- [81] Anstee QM, Concas D, Kudo H, et al. Impact of pancaspase inhibition in animal models of established steatosis and non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*, 2010, 53: 542-50
- [82] Ratziu V, Sheikh MY, Sanyal AJ, et al. A phase 2, randomized, double-blind, placebo-controlled study of GS-9450 in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 2012, 55: 419-28
- [83] Masola V, Carraro A, Granata S, et al. In vitro effects of interleukin (IL)-1 $\beta$  inhibition on the epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) of renal tubular and hepatic stellate cells. *J Transl Med*, 2019, 17: 12
- [84] Iracheta-Vellve A, Petrasek J, Satishchandran A, et al. Inhibition of sterile danger signals, uric acid and ATP, prevents inflammasome activation and protects from alcoholic steatohepatitis in mice. *J Hepatol*, 2015, 63: 1147-55
- [85] Khalaf HM, Ibrahim MA, Amin EF, et al. Allopurinol potentiates the hepatoprotective effect of metformin and vitamin E in fructose-induced fatty liver in rats. *Clin Exp Hepatol*, 2019, 5: 65-74
- [86] Shao N, Yu XY, Ma XF, et al. Exenatide delays the progression of nonalcoholic fatty liver disease in C57BL/6 mice, which may involve inhibition of the NLRP3 inflammasome through the mitophagy pathway. *Gastroenterol Res Pract*, 2018, 2018: 1864307
- [87] Zhou F, Zhang Y, Chen J, et al. Verapamil ameliorates hepatic metaflammation by inhibiting thioredoxin-interacting protein/NLRP3 pathways. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2018, 9: 640