

# 黄柏碱通过调控炎症小体影响肝癌细胞的增殖和凋亡

张海涛, 马超 (首都医科大学附属北京佑安医院 普通外科, 北京 100069)

**摘要:** **目的** 探讨黄柏碱 (phellodendrine, PHE) 通过炎症小体对肝癌细胞增殖和凋亡的影响。**方法** 将体外培养的人肝癌细胞系HepG2进行以下处理: 空白对照组不添加任何药物, L-PHE组使用10  $\mu\text{mol/L}$  PHE处理, M-PHE组使用20  $\mu\text{mol/L}$  PHE处理, H-PHE组使用40  $\mu\text{mol/L}$  PHE处理; 阳性对照组使用10  $\mu\text{mol/L}$  顺铂处理。验证PHE调控NOD样受体蛋白3 (NOD-like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3) 及下游信号通路时将HepG2细胞进行以下处理: 空白对照组不进行任何干预; si-NC组使用非靶向序列的干扰小RNA (small interfering RNA, siRNA) 进行转染, 作为阴性对照; si-NLRP3组使用针对NLRP3的siRNA进行转染, 敲低NLRP3表达; si-NLRP3 + PHE组先使用针对NLRP3的siRNA进行转染, 再用40  $\mu\text{mol/L}$  PHE处理。采用Western blot法检测NLRP3及含胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-1 (cysteinyl aspartate specific proteinase-1, Caspase-1) 的相对表达量, 采用酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测肝癌细胞中白细胞介素 (interleukin, IL) -1 $\beta$ 、IL-6、肿瘤坏死因子 $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、IL-8和IL-18等炎症因子的水平。采用CCK-8法检测肝癌细胞的增殖, 采用TUNEL实验检测细胞凋亡。**结果** 相较于空白对照组, L-PHE组、M-PHE组、H-PHE组及阳性对照组肝癌细胞中NLRP3 ( $0.82 \pm 0.12$ 比 $0.54 \pm 0.06$ 比 $0.33 \pm 0.04$ 比 $0.28 \pm 0.03$ 比 $1.07 \pm 0.16$ )、Caspase-1 ( $0.74 \pm 0.08$ 比 $0.51 \pm 0.04$ 比 $0.32 \pm 0.02$ 比 $0.34 \pm 0.04$ 比 $1.05 \pm 0.13$ )、IL-1 $\beta$  [ $(59.72 \pm 3.58)$  ng/L比 $(50.13 \pm 4.34)$  ng/L比 $(34.43 \pm 3.15)$  ng/L比 $(35.87 \pm 4.42)$  ng/L比 $(75.35 \pm 4.27)$  ng/L]、IL-6 [ $(36.42 \pm 3.51)$  ng/L比 $(25.85 \pm 3.23)$  ng/L比 $(17.53 \pm 2.82)$  ng/L比 $(15.93 \pm 2.61)$  ng/L比 $(53.23 \pm 4.16)$  ng/L]、TNF- $\alpha$  [ $(78.14 \pm 5.25)$  ng/L比 $(70.33 \pm 4.81)$  ng/L比 $(55.72 \pm 4.67)$  ng/L比 $(56.43 \pm 4.52)$  ng/L比 $(87.91 \pm 8.23)$  ng/L]、IL-8 [ $(75.16 \pm 5.31)$  ng/L比 $(62.54 \pm 5.12)$  ng/L比 $(47.35 \pm 4.93)$  ng/L比 $(45.68 \pm 4.77)$  ng/L比 $(91.42 \pm 7.84)$  ng/L]、IL-18 [ $(65.35 \pm 4.51)$  ng/L比 $(51.83 \pm 4.22)$  ng/L比 $(37.55 \pm 3.18)$  ng/L比 $(38.35 \pm 3.64)$  ng/L比 $(75.56 \pm 5.79)$  ng/L]水平均显著降低, 细胞增殖能力降低, 凋亡能力增强 ( $P$ 均 $< 0.05$ )。与L-PHE组相比, M-PHE组、H-PHE组及阳性对照组肝癌细胞中NLRP3、Caspase-1及炎症因子水平均显著降低, 细胞增殖能力降低, 凋亡能力增强 ( $P$ 均 $< 0.05$ )。与M-PHE组相比, H-PHE组及阳性对照组肝癌细胞中NLRP3、Caspase-1及炎症因子水平均显著降低, 细胞增殖能力降低, 凋亡能力增强 ( $P$ 均 $< 0.05$ )。H-PHE组与阳性对照组间上述各指标差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。与空白对照组相比, NLRP3组NLRP3 ( $1.28 \pm 0.37$ 比 $1.02 \pm 0.15$ )、Caspase-1 ( $1.35 \pm 0.35$ 比 $1.06 \pm 0.13$ )、IL-1 $\beta$  [ $(95.62 \pm 5.82)$  ng/L比 $(80.21 \pm 4.56)$  ng/L]、IL-6 [ $(72.14 \pm 6.21)$  ng/L比 $(55.34 \pm 4.78)$  ng/L]、TNF- $\alpha$  [ $(113.12 \pm 9.67)$  ng/L比 $(90.12 \pm 7.65)$  ng/L]、IL-8 [ $(128.21 \pm 11.34)$  ng/L比 $(92.45 \pm 8.21)$  ng/L]、IL-18 [ $(107.56 \pm 10.51)$  ng/L比 $(76.54 \pm 6.34)$  ng/L]水平均显著升高 ( $P$ 均 $< 0.05$ )。si-NLRP3组、NLRP3 + PHE组NLRP3 ( $0.38 \pm 0.07$ 比 $0.36 \pm 0.04$ 比 $1.02 \pm 0.15$ )、Caspase-1 ( $0.55 \pm 0.05$ 比 $0.59 \pm 0.06$ 比 $1.06 \pm 0.13$ )、IL-1 $\beta$  [ $(45.43 \pm 3.67)$  ng/L比 $(42.72 \pm 4.42)$  ng/L比 $(80.21 \pm 4.56)$  ng/L]、IL-6 [ $(23.11 \pm 2.25)$  ng/L比 $(21.34 \pm 2.61)$  ng/L比 $(55.34 \pm 4.78)$  ng/L]、TNF- $\alpha$  [ $(49.12 \pm 3.24)$  ng/L比 $(50.43 \pm 4.52)$  ng/L比 $(90.12 \pm$

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2025.02.001

基金项目: “癌症、心脑血管、呼吸和代谢性疾病防治研究” 重大专项 (2023ZD0502400)

通信作者: 张海涛 Email: zhanghaitao@ccmu.edu.cn

7.65) ng/L]、IL-8 [(48.21 ± 4.34) ng/L比 (50.38 ± 4.77) ng/L比 (92.45 ± 8.21) ng/L]、IL-18 [(37.25 ± 3.62) ng/L比 (39.13 ± 3.51) ng/L比 (76.54 ± 6.34) ng/L] 水平显著降低 ( $P$ 均 < 0.05); si-NC组无显著变化 ( $P$ 均 > 0.05)。与NLRP3组比较, si-NLRP3组、NLRP3 + PHE组NLRP3、Caspase-1及炎症因子水平显著降低 ( $P$ 均 < 0.05)。与si-NLRP3组比较, NLRP3 + PHE组炎症因子水平无显著变化 ( $P$  > 0.05)。结论 PHE可降低肝癌细胞中NLRP3的表达并抑制肝癌细胞增殖, 促进凋亡。这可能是PHE通过抑制NLRP3表达进而抑制下游蛋白Caspase-1和炎症因子表达实现的。

关键词: 黄柏碱; 肝癌; NOD样受体蛋白3; 细胞增殖; 细胞凋亡

### Phellodendrine affects the proliferation and apoptosis of hepatocellular carcinoma cells via regulating inflammasome

Zhang Haitao, Ma Chao (Department of General Surgery, Beijing YouAn Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effects of phellodendron (PHE) on the proliferation and apoptosis of hepatocellular carcinoma cells via regulating inflammasome. **Methods** Human hepatocellular carcinoma cell line HepG2 was cultured *in vitro* and subjected to various drug treatments as follows: control group (no treatment), L-PHE group (treated with 10  $\mu$ mol/L PHE), M-PHE group (treated with 20  $\mu$ mol/L PHE), H-PHE group (treated with 40  $\mu$ mol/L PHE) and positive control group (treated with 10  $\mu$ mol/L cisplatin). To verify the regulatory role of PHE on NOD-like receptor family pyrin domain containing 3 (NLRP3) and its downstream pathways, additional experimental groups were established: control group (no intervention), si-NC group [transfected with non-targeting small interfering RNA (siRNA) as a negative control], si-NLRP3 group (transfected with siRNA targeting NLRP3 to knock down its expression) and si-NLRP3 + PHE group (transfected with siRNA targeting NLRP3 followed by treatment with 40  $\mu$ mol/L PHE). Western blot analysis was used to detect the relative expression of NLRP3 and cysteinyl aspartate specific proteinase-1 (Caspase-1). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of inflammatory factors including interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-6, tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), IL-8 and IL-18. CCK-8 assay was performed to evaluate proliferation rates and TUNEL assay was conducted to assess apoptosis. **Results** Compared with those of control group, the levels of NLRP3 (0.82 ± 0.12 vs. 0.54 ± 0.06 vs. 0.33 ± 0.04 vs. 0.28 ± 0.03 vs. 1.07 ± 0.16), Caspase-1 (0.74 ± 0.08 vs. 0.51 ± 0.04 vs. 0.32 ± 0.02 vs. 0.34 ± 0.04 vs. 1.05 ± 0.13), IL-1 $\beta$  [(59.72 ± 3.58) ng/L vs. (50.13 ± 4.34) ng/L vs. (34.43 ± 3.15) ng/L vs. (35.87 ± 4.42) ng/L vs. (75.35 ± 4.27) ng/L], IL-6 [(36.42 ± 3.51) ng/L vs. (25.85 ± 3.23) ng/L vs. (17.53 ± 2.82) ng/L vs. (15.93 ± 2.61) ng/L vs. (53.23 ± 4.16) ng/L], TNF- $\alpha$  [(78.14 ± 5.25) ng/L vs. (70.33 ± 4.81) ng/L vs. (55.72 ± 4.67) ng/L vs. (56.43 ± 4.52) ng/L vs. (87.91 ± 8.23) ng/L], IL-8 [(75.16 ± 5.31) ng/L vs. (62.54 ± 5.12) ng/L vs. (47.35 ± 4.93) ng/L vs. (45.68 ± 4.77) ng/L vs. (91.42 ± 7.84) ng/L] and IL-18 [(65.35 ± 4.51) ng/L vs. (51.83 ± 4.22) ng/L vs. (37.55 ± 3.18) ng/L vs. (38.35 ± 3.64) ng/L vs. (75.56 ± 5.79) ng/L] reduced significantly in L-PHE group, M-PHE group, H-PHE group and positive control group (all  $P$  < 0.05). Additionally, cell proliferation was inhibited and apoptosis was enhanced in these groups (all  $P$  < 0.05). Compared with those in L-PHE group, the relative expression of NLRP3 and Caspase-1 and the levels of inflammatory cytokines reduced significantly in M-PHE group, H-PHE group and positive control group (all  $P$  < 0.05), while the cell proliferation decreased and cell apoptosis increased (all  $P$  < 0.05). Similarly, compared with the M-PHE group, the H-PHE and positive control group exhibited significantly lower levels of NLRP3, Caspase-1 and inflammatory cytokine (all  $P$  < 0.05), along with reduced cell proliferation and enhanced cell apoptosis (all  $P$  < 0.05). No significant

differences were observed between H-PHE group and positive control group in terms of NLRP3, Caspase-1 and inflammatory cytokine levels (all  $P > 0.05$ ). Compared with those of control group, NLRP3 group showed significantly increased levels of NLRP3 ( $1.28 \pm 0.37$  vs.  $1.02 \pm 0.15$ ), Caspase-1 ( $1.35 \pm 0.35$  vs.  $1.06 \pm 0.13$ ), IL-1 $\beta$  [ $(95.62 \pm 5.82)$  ng/L vs.  $(80.21 \pm 4.56)$  ng/L], IL-6 [ $(72.14 \pm 6.21)$  ng/L vs.  $(55.34 \pm 4.78)$  ng/L], TNF- $\alpha$  [ $(113.12 \pm 9.67)$  ng/L vs.  $(90.12 \pm 7.65)$  ng/L], IL-8 [ $(128.21 \pm 11.34)$  ng/L vs.  $(92.45 \pm 8.21)$  ng/L] and IL-18 [ $(107.56 \pm 10.51)$  ng/L vs.  $(76.54 \pm 6.34)$  ng/L], si-NLRP3 group and si-NLRP3 + PHE group showed significantly reduced levels of NLRP3 ( $0.38 \pm 0.07$  vs.  $0.36 \pm 0.04$  vs.  $1.02 \pm 0.15$ ), Caspase-1 ( $0.55 \pm 0.05$  vs.  $0.59 \pm 0.06$  vs.  $1.06 \pm 0.13$ ), IL-1 $\beta$  [ $(45.43 \pm 3.67)$  ng/L vs.  $(42.72 \pm 4.42)$  ng/L vs.  $(80.21 \pm 4.56)$  ng/L], IL-6 [ $(23.11 \pm 2.25)$  ng/L vs.  $(21.34 \pm 2.61)$  ng/L vs.  $(55.34 \pm 4.78)$  ng/L], TNF- $\alpha$  [ $(49.12 \pm 3.24)$  ng/L vs.  $(50.43 \pm 4.52)$  ng/L vs.  $(90.12 \pm 7.65)$  ng/L], IL-8 [ $(48.21 \pm 4.34)$  ng/L vs.  $(50.38 \pm 4.77)$  ng/L vs.  $(92.45 \pm 8.21)$  ng/L] and IL-18 [ $(37.25 \pm 3.62)$  ng/L vs.  $(39.13 \pm 3.51)$  ng/L vs.  $(76.54 \pm 6.34)$  ng/L] (all  $P < 0.05$ ), while no significant changes were observed in si-NC group ( $P > 0.05$ ). Compared with those of NLRP3 group, the levels of NLRP3, Caspase-1 and inflammatory factors in si-NLRP3 group and NLRP3 + PHE group were significantly reduced (all  $P < 0.05$ ). Compared with those of si-NLRP3 group, no significant differences were found in NLRP3, Caspase-1 and inflammatory cytokine levels in si-NLRP3 + PHE group ( $P > 0.05$ ).

**Conclusions** PHE could reduce the expression of NLRP3 in HCC cells, inhibit cell proliferation, and promote apoptosis. This effect may be mediated through the suppression of NLRP3 expression, which subsequently inhibited the activation of downstream proteins such as Caspase-1 and the production of inflammatory cytokines.

**Keywords:** Phellodendrine; Liver cancer; NOD-like receptor family pyrin domain containing 3; Proliferation; Apoptosis

肝癌是全球范围内常见的恶性肿瘤之一，其高复发率和进展性给患者带来了极大的痛苦。目前临床上主要采用手术切除、化学治疗和放射治疗等手段，但这些传统治疗方法效果有限，尤其是对于晚期和复发性病例<sup>[1]</sup>。近年来，寻找新的治疗靶点和开发新型抗肿瘤药物成为了研究的重点方向。黄柏碱 (phellodendrine, PHE) 作为一种从中草药黄柏中提取的天然生物碱，因其广泛的生物活性而备受关注。PHE具有抗炎、抗菌和抗癌等多种生物活性<sup>[2,3]</sup>，已在多个研究中显示出良好的抗癌潜力<sup>[4]</sup>。有研究发现，PHE通过结合白细胞介素-1受体相关激酶1 (interleukin-1 receptor-associated kinase 1, IRAK1) 的磷酸化位点T387显著降低了肿瘤的体积<sup>[5]</sup>。也有研究发现，PHE或其药用盐通过抑制Kirsten大鼠肉瘤病毒癌基因同源物 (Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog, KRAS) 突变型胰腺癌细胞的巨胞饮作用，降低KRAS突变型胰腺癌中Bcl2/Bax表达比例，进而抑制KRAS突变型胰腺癌的增殖并诱导其凋亡<sup>[6]</sup>。但目前PHE与肝癌间的关系还尚无明确的研究报道。本研究拟验证PHE是否能通过激活或抑制炎症小体来调控肝癌细胞的增殖，并进一步探讨其潜在的分子机制。

## 1 资料与方法

### 1.1 实验材料

1.1.1 实验药品与耗材 黄柏碱 (上海源叶生物科技有限公司); 人肝癌细胞系HepG2 (来源: 中科院上海细胞库), 培养基及相关试剂包括DMEM/F12培养基 (上海赛默飞世尔科技有限公司); 胎牛血清 (杭州奥泰生物技术有限公司); 青霉素/链霉素混合液 (北京索莱宝科技有限公司); 转染试剂包括Lipofectamine 3000 (苏州赛默飞世尔生物科技有限公司); 微小RNA (microRNA, miRNA) 模拟物和抑制剂 (苏州吉玛基因股份有限公司); 蛋白质提取试剂包括放射免疫沉淀分析 (radio-immunoprecipitation assay, RIPA) 裂解液 (南京博森科技有限公司); Western blot试剂包括聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene difluoride membrane, PVDF) 膜 (上海吉凯基因化学技术有限公司); 抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (anti-glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 抗体 (南京博森科技有限公司); 增强化学发光 (enhanced chemiluminescence, ECL) 液 (北京百泰克生物科技有限公司); CCK-8试剂盒 (上海吉凯基因化学技术有限公司)、脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导

的dUTP缺口末端标记法(terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling, TUNEL)试剂盒(上海赛默飞世尔科技有限公司)。

1.1.2 细胞培养 收到细胞后立即解冻,转移至含RPMI-1640培养基(添加10%胎牛血清及青霉素/链霉素)的离心管中,在离心半径10 cm、1000 r/min条件下离心5 min,弃上清后用新鲜培养基重悬细胞,接种于培养瓶,置于37 °C、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养。每日观察,当细胞融合度达80%~90%时进行传代:磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)洗涤2次后,加入0.25%胰蛋白酶-EDTA消化2~5 min,终止消化并吹打混匀后,再次在相同条件下离心5 min,弃上清,重悬细胞并计数,调整细胞密度至 $1 \times 10^5$ 个/ml后接种于新培养瓶中继续培养。

1.1.3 实验分组与药物处理 根据分组进行药物处理,空白对照组:不添加任何药物;L-PHE组:使用10 μmol/L PHE进行干预;M-PHE组:使用20 μmol/L PHE进行干预;H-PHE组:使用40 μmol/L PHE进行干预。阳性对照组:使用10 μmol/L顺铂干预<sup>[7]</sup>。将细胞均匀接种于各组培养瓶中并加入相应药物,在相同条件下继续培养。每组设3个复孔,并独立重复实验3次。

## 1.2 检测方法

1.2.1 Western blot检测NOD样受体蛋白3(NOD-like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3)、含胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-1(cysteiny aspartate specific proteinase-1, Caspase-1)在肝癌细胞中的表达水平 收集各组细胞,用预冷RIPA裂解液(含蛋白酶抑制剂)裂解细胞,于4 °C、离心半径10 cm、10 000 r/min离心5 min,取上清并用BCA试剂盒测定蛋白浓度。取适量蛋白样品与上样缓冲液混合,95 °C煮沸5 min变性。采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)分离蛋白,随后将蛋白转移至PVDF膜。用含5%脱脂奶粉的TBST(tris buffered saline with tween 20)溶液室温封闭1 h,加入抗-NLRP3、抗-Caspase-1一抗,4 °C孵育过夜。TBST洗膜3次后,加入辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase conjugated, HRP)标记的羊抗兔二抗,室温孵育1 h。ECL发光液显影,化学发光成像系统曝光,分析蛋白条带表达水平。同时使用抗-GAPDH抗体作为内参,校正蛋白上样量。采用ImageJ软件进行灰度值分析,计算NLRP3和Caspase-1蛋白的相对表达量。

1.2.2 酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunoadsorbent assay, ELISA)检测肝癌细胞中

炎症因子水平 取各组处于对数生长期的肝癌细胞,收集培养上清液,于4 °C、离心半径10 cm、3000 r/min条件下离心10 min以去除细胞碎片,取上清并分装保存于-80 °C备用。采用ELISA法检测白细胞介素(interleukin, IL)-1β、IL-6、肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor α, TNF-α)、IL-8和IL-18水平。将标准品按浓度梯度稀释,样品按说明书推荐比例稀释,每组设3个复孔,室温孵育1~2 h;洗板3~5次后,加入含1%牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)的PBS封闭液,室温封闭1 h,随后加入酶标抗体,室温孵育1 h。再次洗板后加入TMB显色液,避光显色10~30 min,加入终止液(2 mol/L硫酸)终止反应,在450 nm波长下测定吸光度(A)值,根据标准曲线计算各炎症因子浓度。

1.2.3 CCK-8法检测肝癌细胞增殖 在细胞培养24 h和48 h后分别收集细胞。使用CCK-8试剂盒检测各组细胞的增殖能力,按照CCK-8试剂盒说明书操作,将CCK-8溶液加入到细胞培养液中,继续培养2 h。最后,使用酶标仪在450 nm波长下测定A值。

1.2.4 TUNEL实验检测肝癌细胞凋亡 将处于对数生长期的肝癌细胞调整为 $1 \times 10^5$ 个/ml,接种于培养皿中贴壁培养。根据分组加入相应药物后,在37 °C、5% CO<sub>2</sub>条件下继续培养48 h。随后用胰蛋白酶消化细胞,PBS洗涤2次,4%多聚甲醛固定15 min,再次PBS洗涤。加入0.1% Triton X-100通透10 min,然后避光室温孵育TUNEL反应液1 h;PBS洗涤后加入4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)染核5 min,再次洗涤。使用荧光显微镜观察并拍照,使用ImageJ软件统计TUNEL阳性细胞比例,计算凋亡率。

## 1.3 验证PHE调控NLRP3及下游通路影响

1.3.1 细胞分组 取生长良好的肝癌细胞,将其均匀分配到各个培养瓶中,并根据实验设计分为以下几组:空白对照组,不进行任何干预处理;si-NC组,使用非靶向序列的干扰小RNA(small interfering RNA, siRNA)进行转染,作为阴性对照;NLRP3组,使用NLRP3过表达质粒进行转染;si-NLRP3组,使用针对NLRP3的siRNA进行转染,敲低NLRP3表达;NLRP3 + PHE组,先使用NLRP3过表达质粒进行转染,待转染完成后再加入40 μmol/L PHE进行干预。每组实验均设置3个复孔,并独立重复实验3次。

1.3.2 细胞转染 取对数生长期的肝癌细胞,胰蛋白酶消化后PBS洗涤3次,重悬使细胞浓度为 $1 \times 10^6$ 个/ml。将si-NC或si-NLRP3溶于无核糖核酸酶(ribo nuclease,

RNase) 的超纯水中, 配制成100  $\mu\text{mol/L}$ 的储存液, 工作浓度稀释至20  $\text{nmol/L}$ 。取250  $\mu\text{l}$  Opti-MEM培养基加入EP管, 依次加入2  $\mu\text{l}$  Lipofectamine RNAiMAX和2  $\mu\text{l}$  siRNA, 混匀后室温静置20 min形成转染复合物。将复合物加入细胞中, 轻轻混匀。6 h后更换新鲜培养基以减少毒性。对于si-NLRP3 + PHE组, 在转染完成后加入40  $\mu\text{mol/L}$  PHE继续培养。根据实验设计进行后续检测。

1.4 统计学处理 采用SPSS 19.0软件分析数据, IL-1 $\beta$ 等炎症因子及NLRP3和Caspase-1的相对表达量均为正态分布的计量资料, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示; 组间比较采用单因素方差分析, 组内两两比较采用LSD-*t*检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 PHE对肝癌细胞NLRP3、Caspase-1表达的影响 Western blot结果表明, 相较于空白对照组, L-PHE组、M-PHE组、H-PHE组及阳性对照组肝癌细胞中NLRP3、Caspase-1水平显著降低 ( $P < 0.05$ )。与L-PHE组比较, M-PHE组、H-PHE组及阳性对照组肝癌细胞中NLRP3、Caspase-1水平显著降低 ( $P < 0.05$ )。与M-PHE组比较, H-PHE组及阳性对照组肝癌细胞中NLRP3、Caspase-1水平显著降低 ( $P < 0.05$ )。H-PHE组与阳性对照组肝癌细胞中NLRP3、Caspase-1水平差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表1、图1。

2.2 各组肝癌细胞炎症因子水平 与空白对照组相比, L-PHE组、M-PHE组、H-PHE组及阳性对照组肝癌细胞中炎症因子水平均显著降低 ( $P < 0.05$ )。与L-PHE组比较, M-PHE组、H-PHE组及阳性对照组肝癌细胞中炎症因子水平显著降低 ( $P < 0.05$ )。与M-PHE组比较, H-PHE组及阳性对照组肝癌细胞中炎症因子水平显著降低 ( $P < 0.05$ )。L-PHE组与阳性对照组肝癌细胞中炎症因子水平差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表2。

2.3 各组肝癌细胞增殖情况 与空白对照组相比, L-PHE组、M-PHE组、H-PHE组及阳性对照组肝癌细胞增殖能力显著降低 ( $P < 0.05$ )。与L-PHE组比较, M-PHE组、H-PHE组及阳性对照组肝癌细胞增殖能力显著降低 ( $P < 0.05$ )。与M-PHE组比较, H-PHE组及阳性对照组肝癌细胞增殖能力显著降低 ( $P < 0.05$ )。H-PHE组与阳性对照组肝癌细胞增殖能力差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表3。

2.4 各组肝癌细胞的凋亡率 空白对照组、L-PHE组、M-PHE组、H-PHE组及阳性对照组肝癌细胞凋亡率分别为 (10.2  $\pm$  1.5) %、(18.3  $\pm$  2.1) %、(26.5  $\pm$  2.8) %、(35.2  $\pm$  3.2) %、(34.8  $\pm$  3.1) %, 差异有

统计学意义 ( $F = 50.902$ ,  $P < 0.001$ ), 其中L-PHE组、M-PHE组、H-PHE组及阳性对照组显著高于空白对照组, M-PHE组、H-PHE组及阳性对照组显著高于L-PHE组, H-PHE组及阳性对照组显著高于M-PHE组 ( $P$ 均 $< 0.05$ ), H-PHE组与阳性对照组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图2。

2.5 PHE调控NLRP3对NLRP3、Caspase-1蛋白的影响 Western blot结果表明, 与空白对照组比较, NLRP3组NLRP3、Caspase-1蛋白水平显著升高, si-NLRP3组、NLRP3 + PHE组NLRP3、Caspase-1蛋白水平显著降低 ( $P < 0.05$ ), si-NC组无显著变化 ( $P > 0.05$ )。与NLRP3组比较, si-NLRP3、NLRP3 + PHE组NLRP3、Caspase-1蛋白水平显著降低 ( $P < 0.05$ )。与si-NLRP3组比较, NLRP3 + PHE组NLRP3、Caspase-1蛋白水平无显著变化 ( $P > 0.05$ )。见表4、图3。

2.6 PHE调控NLRP3对炎症因子水平的影响 与空白对照组比较, NLRP3组炎症因子水平显著升高, si-NLRP3组、NLRP3+PHE组炎症因子水平显著降低 ( $P < 0.05$ ), si-NC组无显著变化 ( $P > 0.05$ )。与NLRP3组比较, si-NLRP3组和NLRP3 + PHE组炎症因子水平显著降低 ( $P < 0.05$ )。与si-NLRP3组比较, NLRP3 + PHE组炎症因子水平无显著变化 ( $P > 0.05$ )。见表5。

表1 各组肝癌细胞 NLRP3 和 Caspase-1 的相对表达量 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	NLRP3	Caspase-1
空白对照组	1.07 $\pm$ 0.16	1.05 $\pm$ 0.13
L-PHE组	0.82 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	0.74 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>
M-PHE组	0.54 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>	0.51 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>
H-PHE组	0.33 $\pm$ 0.04 <sup>abc</sup>	0.32 $\pm$ 0.02 <sup>abc</sup>
阳性对照组	0.28 $\pm$ 0.03 <sup>abc</sup>	0.34 $\pm$ 0.04 <sup>abc</sup>
<i>F</i> 值	36.433	51.882
<i>P</i> 值	$< 0.001$	$< 0.001$

注: <sup>a</sup>与空白对照组相比,  $P < 0.05$ , <sup>b</sup>与L-PHE组相比,  $P < 0.05$ , <sup>c</sup>与H-PHE组相比,  $P < 0.05$ ; L-PHE组、M-PHE组、H-PHE组PHE剂量分别为10  $\mu\text{mol/L}$ 、20  $\mu\text{mol/L}$ 、40  $\mu\text{mol/L}$ 。

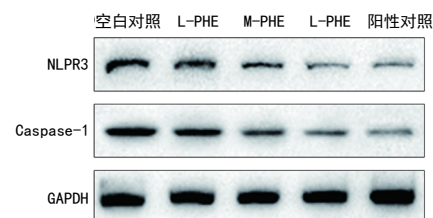


图1 Western blot 检测各组肝癌细胞 NLRP3、Caspase-1 蛋白表达

注: L-PHE组、M-PHE组、H-PHE组PHE剂量分别为10  $\mu\text{mol/L}$ 、20  $\mu\text{mol/L}$ 、40  $\mu\text{mol/L}$ 。

表2 各组肝癌细胞炎症因子水平 ( $\bar{x} \pm s$ , ng/L)

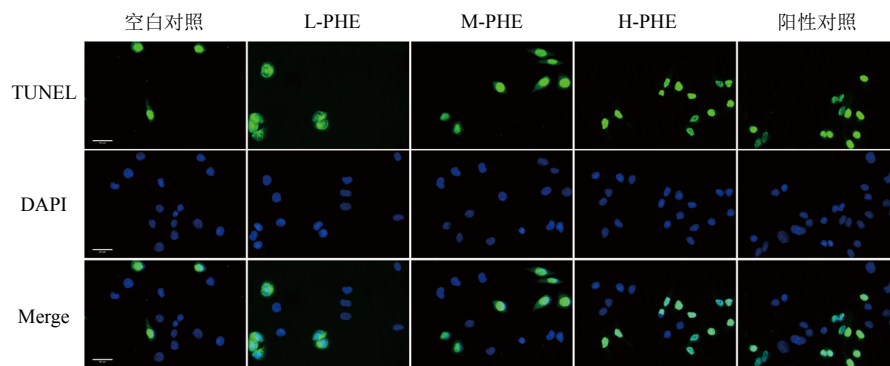
组别	IL-1 $\beta$	IL-6	TNF- $\alpha$	IL-8	IL-18
空白对照组	75.35 $\pm$ 4.27	53.23 $\pm$ 4.16	87.91 $\pm$ 8.23	91.42 $\pm$ 7.84	75.56 $\pm$ 5.79
L-PHE组	59.72 $\pm$ 3.58 <sup>a</sup>	36.42 $\pm$ 3.51 <sup>a</sup>	78.14 $\pm$ 5.25 <sup>a</sup>	75.16 $\pm$ 5.31 <sup>a</sup>	65.35 $\pm$ 4.51 <sup>a</sup>
M-PHE组	50.13 $\pm$ 4.34 <sup>ab</sup>	25.85 $\pm$ 3.23 <sup>ab</sup>	70.33 $\pm$ 4.81 <sup>ab</sup>	62.54 $\pm$ 5.12 <sup>ab</sup>	51.83 $\pm$ 4.22 <sup>ab</sup>
H-PHE组	34.43 $\pm$ 3.15 <sup>abc</sup>	17.53 $\pm$ 2.82 <sup>abc</sup>	55.72 $\pm$ 4.67 <sup>abc</sup>	47.35 $\pm$ 4.93 <sup>abc</sup>	37.55 $\pm$ 3.18 <sup>abc</sup>
阳性对照组	35.87 $\pm$ 4.42 <sup>abc</sup>	15.93 $\pm$ 2.61 <sup>abc</sup>	56.43 $\pm$ 4.52 <sup>abc</sup>	45.68 $\pm$ 4.77 <sup>abc</sup>	38.35 $\pm$ 3.64 <sup>abc</sup>
F值	55.446	65.117	18.083	34.303	43.939
P值	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注: <sup>a</sup> 与空白对照组相比,  $P < 0.05$ , <sup>b</sup> 与 L-PHE 组相比,  $P < 0.05$ , <sup>c</sup> 与 H-PHE 组相比,  $P < 0.05$ ; L-PHE 组、M-PHE 组、H-PHE 组 PHE 剂量分别为 10  $\mu\text{mol/L}$ 、20  $\mu\text{mol/L}$ 、40  $\mu\text{mol/L}$ 。

表3 CCK-8 法检测各组肝癌细胞的  $A_{450}$  值 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	24 h	48 h
空白对照组	0.64 $\pm$ 0.05	0.79 $\pm$ 0.06
L-PHE组	0.53 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.67 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>
M-PHE组	0.31 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>	0.44 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>
H-PHE组	0.15 $\pm$ 0.01 <sup>abc</sup>	0.25 $\pm$ 0.03 <sup>abc</sup>
阳性对照组	0.18 $\pm$ 0.02 <sup>abc</sup>	0.27 $\pm$ 0.02 <sup>abc</sup>
F值	145.531	106.815
P值	< 0.001	< 0.001

注: <sup>a</sup> 与空白对照组相比,  $P < 0.05$ , <sup>b</sup> 与 L-PHE 组相比,  $P < 0.05$ , <sup>c</sup> 与 H-PHE 组相比,  $P < 0.05$ ; L-PHE 组、M-PHE 组、H-PHE 组 PHE 剂量分别为 10  $\mu\text{mol/L}$ 、20  $\mu\text{mol/L}$ 、40  $\mu\text{mol/L}$ 。

图2 TUNEL 实验检测各组肝癌细胞的凋亡能力 (TUNEL 染色,  $\times 400$ )

注: TUNEL 绿色荧光, 标记凋亡细胞; DAPI 蓝色荧光, 标记所有细胞核; Merge 绿色和蓝色荧光的叠加图像, 便于同时观察细胞核和凋亡情况。

表4 空白对照组、si-NC 组、NLRP3 组、si-NLRP3 组、NLRP3 + PHE 组 NLRP3、Caspase-1 蛋白相对表达量 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	NLRP3	Caspase-1
空白对照组	1.02 $\pm$ 0.15	1.06 $\pm$ 0.13
si-NC组	1.08 $\pm$ 0.14	1.05 $\pm$ 0.12
NLRP3组	1.28 $\pm$ 0.37 <sup>a</sup>	1.35 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup>
si-NLRP3组	0.38 $\pm$ 0.07 <sup>ab</sup>	0.55 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>
NLRP3 + PHE组	0.36 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>	0.59 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>
F值	14.643	10.957
P值	< 0.001	0.001

注: <sup>a</sup> 与空白对照组相比,  $P < 0.05$ , <sup>b</sup> 与 NLRP3 组相比,  $P < 0.05$ 。

表5 空白对照组、si-NC组、NLRP3组、si-NLRP3组、NLRP3 + PHE组炎症因子水平 ( $\bar{x} \pm s$ , ng/L)

组别	IL-1 $\beta$	IL-6	TNF- $\alpha$	IL-8	IL-18
空白对照组	80.21 $\pm$ 4.56	55.34 $\pm$ 4.78	90.12 $\pm$ 7.65	92.45 $\pm$ 8.21	76.54 $\pm$ 6.34
si-NC组	78.45 $\pm$ 4.32	54.12 $\pm$ 4.56	89.78 $\pm$ 7.56	91.21 $\pm$ 8.14	75.87 $\pm$ 5.64
NLRP3组	95.62 $\pm$ 5.82 <sup>a</sup>	72.14 $\pm$ 6.21 <sup>a</sup>	113.12 $\pm$ 9.67 <sup>a</sup>	128.21 $\pm$ 11.34 <sup>a</sup>	107.56 $\pm$ 10.51 <sup>a</sup>
si-NLRP3组	45.43 $\pm$ 3.67 <sup>ab</sup>	23.11 $\pm$ 2.25 <sup>ab</sup>	49.12 $\pm$ 3.24 <sup>ab</sup>	48.21 $\pm$ 4.34 <sup>ab</sup>	37.25 $\pm$ 3.62 <sup>ab</sup>
NLRP3 + PHE组	42.72 $\pm$ 4.42 <sup>ab</sup>	21.34 $\pm$ 2.61 <sup>ab</sup>	50.43 $\pm$ 4.52 <sup>ab</sup>	50.38 $\pm$ 4.77 <sup>ab</sup>	39.13 $\pm$ 3.51 <sup>ab</sup>
F值	76.473	5.251	48.601	55.179	62.706
P值	< 0.001	0.015	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注: <sup>a</sup> 与空白对照组相比,  $P < 0.05$ , <sup>b</sup> 与NLRP3组相比,  $P < 0.05$ 。

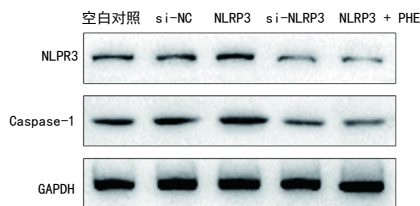


图3 空白对照组、si-NC组、NLRP3组、si-NLRP3组、NLRP3 + PHE组 NLRP3、Caspase-1 NLRP3、Caspase-1 蛋白表达的 Western blot 图

### 3 讨论

肝癌是消化系统最常见的恶性肿瘤,目前的标准治疗方式是手术和传统化学治疗。然而,超过一半的患者因肾功能不全、免疫功能低下或其他并发症而无法耐受,且治疗后易出现复发、进展或转移,预后较差<sup>[8,9]</sup>。靶向药物在多种恶性肿瘤中取得了较好的疗效,肝癌的靶向治疗已进入临床研究阶段<sup>[10]</sup>。炎症小体在肿瘤发展中的作用日益受到重视<sup>[11]</sup>。本研究探讨PHE通过炎症小体对肝癌细胞增殖和凋亡的影响,旨在明确PHE在肝癌治疗中的潜在机制及其对细胞增殖和凋亡的调控作用。

PHE是一种广泛存在于黄连、黄柏等多种植物中的天然化合物,具有复杂的化学结构,包括一个异喹啉环和多个羟基及甲基取代基<sup>[12]</sup>。PHE因其独特的化学结构而具有广泛的药理活性,包括抗氧化、降血糖和抗肿瘤<sup>[13]</sup>。也有研究发现,其对类二十烷酸、神经氨酸酶-1及炎症小体的产生也有显著影响<sup>[14]</sup>。本研究系统评估了PHE对肝癌细胞的作用及其潜在机制。结果显示,PHE呈剂量依赖性地抑制肝癌细胞的增殖并促进细胞凋亡。进一步研究表明,该效应可能与其调控NLRP3炎症小体通路密切相关:PHE显著下调NLRP3和Caspase-1的表达,并减少下游炎症因子IL-1 $\beta$ 和IL-18的释放,提示其抗肿瘤作用可能通过抑制炎症小体的活化实现。已有研究表明,PHE在结直肠癌中通过结合IRAK1的T387位点发挥抗肿瘤作用,在KRAS突变型胰腺癌中则通过调控巨胞饮作用诱导凋亡<sup>[5,6]</sup>。而本研究揭示了PHE在肝癌细胞中主要通过

调控NLRP3炎症小体这一新机制发挥作用,显示出一定的组织或通路特异性。这种在不同肿瘤类型中机制的多样性不仅丰富了对PHE抗癌作用的理解,也为开发基于特定靶点的精准治疗策略提供了新思路。从机制角度看,PHE可能通过直接或间接方式抑制NLRP3的聚集与激活,从而阻断炎症小体复合物的组装,降低Caspase-1的剪切与活化,最终减少促炎因子IL-1 $\beta$ 和IL-18的成熟与释放。炎症因子水平的下降有助于重塑肿瘤微环境,削弱其促癌作用,进而抑制肝癌细胞的增殖并促进凋亡。

近年来,炎症小体在肿瘤中的促进作用为肿瘤治疗提供了新的方向。NLRP3炎症小体作为一类重要的多蛋白复合体,由NLRP3、接头蛋白ASC和前体形式的Caspase-1组成,其激活后能促进IL-1 $\beta$ 和IL-18的成熟与释放<sup>[15,16]</sup>。这些成熟的促炎因子在肿瘤微环境中通过多种机制促进肿瘤的发展,包括构建有利的微环境、促进肿瘤细胞增殖和血管生成<sup>[17,18]</sup>。尽管NLRP3炎症小体在多种癌症如结肠癌、乳腺癌、头颈部肿瘤及前列腺癌中通过炎症反应促进肿瘤发展,但其在肿瘤发生过程中的确切作用仍存争议,某些情况下可能具有肿瘤抑制作用,如促进耐受性T淋巴细胞分化和IL-10的适应性免疫抑制<sup>[19]</sup>。本研究发现,过表达NLRP3可显著增加NLRP3、Caspase-1及炎症因子的表达,抑制NLRP3可显著逆转以上结果。这说明NLRP3可能与Caspase-1及IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-8、IL-18炎症因子的形成有关。其机制可能是NLRP3炎症小体通过激活Caspase-1促进IL-1 $\beta$ 和IL-18的成熟与释放。IL-1 $\beta$ 和IL-18作为主要的促炎因子,通过促进炎症反应支持肿瘤细胞的增殖和存活。IL-1 $\beta$ 还能作用于脂肪细胞,介导血管内皮生长因子A (vascular endothelial growth factor A, VEGF-A) 的表达,促使滋养肿瘤细胞血管的生成,从而支持肿瘤的生长和转移<sup>[20,21]</sup>。此外,NLRP3炎症小体活化还促进IL-6、TNF- $\alpha$ 和IL-8等促炎因子的释放。IL-6通过促进肿瘤细胞的增殖和存活,增强免疫抑制微环境。TNF- $\alpha$ 通过激活核

因子 $\kappa\text{B}$  (nuclear factor  $\kappa\text{B}$ , NF- $\kappa\text{B}$ ) 信号通路促进炎症因子的产生, 进一步加剧炎症反应<sup>[22]</sup>。IL-8作为一种趋化因子可吸引中性粒细胞和其他免疫细胞, 促进肿瘤微环境中的炎症反应<sup>[23,24]</sup>。另外本研究还发现, 过表达NLRP3的肝癌细胞中加入PHE后也可显著降低NLRP3、Caspase-1及炎症因子的表达。这一结果与抑制NLRP3表达的结果相比无显著变化。说明PHE可能通过调节NLRP3表达控制肝癌细胞的增殖和凋亡。其机制可能是PHE通过改变细胞内的代谢状态, 如抑制钾离子外流或减少活性氧的生成, 从而干扰NLRP3的聚合<sup>[25]</sup>, 即使在NLRP3过表达的情况下, PHE也能通过这些机制减少炎症小体的形成, 进而抑制Caspase-1的活化<sup>[26]</sup>; PHE还可能通过直接或间接方式抑制Caspase-1的自剪切, 阻止其从无活性的前体形式转变为活性形式, 从而减少成熟炎症因子的产生<sup>[27]</sup>; PHE通过调节凋亡途径来促进细胞凋亡, 增加促凋亡蛋白Bax的表达, 同时减少抗凋亡蛋白Bcl-2的表达, 从而促进凋亡信号的传递<sup>[28,29]</sup>; PHE还可能通过抑制NF- $\kappa\text{B}$ 信号通路减少促炎因子的合成, 从而减弱炎症反应<sup>[30]</sup>。这些机制共同作用, 使PHE在过表达NLRP3的情况下依然能够有效降低炎症因子的表达, 并抑制肝癌细胞的增殖, 促进凋亡。

尽管本研究揭示了PHE在抑制肝癌细胞增殖和促进凋亡方面的机制, 但仍存在一些不足之处。首先, 研究主要是在细胞水平上进行, 未来需要更多的体内动物模型实验来验证PHE的效果及其安全性。其次, PHE的具体作用机制仍有待进一步阐明, 尤其是其在不同肿瘤类型中的普遍适用性和个体差异性。在后续研究中将通过体内动物模型实验进一步验证PHE的效果及其安全性, 并深入探索其具体作用机制。

综上, PHE可降低肝癌细胞中NLRP3的表达, 并抑制肝癌细胞增殖, 促进凋亡。这可能是PHE通过抑制NLRP3表达进而抑制下游蛋白Caspase-1和炎症因子的表达实现的。这一机制显示了PHE在抗肝癌治疗中的潜在价值和前景。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 毕新宇, 蔡建强. 转化治疗时代的肝脏外科治疗模式[J]. 临床肝胆病杂志, 2024, 40(9): 1721-1724.
- [2] 王荣. 川黄柏的化学成分及药理活性研究进展[J]. 临床合理用药杂志, 2020, 13(1): 173-174.
- [3] 路舜, 崔红倩, 申远. 黄柏与关黄柏化学成分及药理作用研究进展[J]. 新乡医学院学报, 2023, 40(5): 478-482.
- [4] 李嘉诚, 吴岚, 蔡同凯, 等. 黄柏化学成分及其药理作用研究进展[J]. 药学实践杂志, 2018, 36(5): 389-391, 398.

- [5] 冯泽宇. IRAK1在结直肠癌发生中的作用及乌梅丸防治的机制研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2021.
- [6] 徐晓军, 李萍, 朴玛杜, 等. 黄柏碱或其药用盐在肿瘤治疗方面的应用: CN108309976B[P]. 2022-10-28.
- [7] 庄国琨. 白藜芦醇通过vitamin D通路增强胆管癌患者吉西他滨联合顺铂化疗敏感性[D]. 上海: 中国人民解放军海军军医大学, 2023.
- [8] 王祥宇, 陈进宏. 转移性肝癌的治疗现状与展望[J]. 临床肝胆病杂志, 2024, 40(7): 1289-1294.
- [9] 卫李, 王艳, 王熙苑, 等. 艾美替诺福韦用于乙型肝炎肝硬化失代偿期合并肾损伤患者的挽救治疗1例[J]. 中华肝脏病杂志, 2024, 32(S1): 89-92.
- [10] 马浩寿. 靶向GPC-3的多肽衍生物设计、合成和抗肿瘤活性研究[D]. 上海: 中国人民解放军海军军医大学, 2024.
- [11] 刘畅, 邓垒. NLRP3炎症小体在实体瘤中的研究进展[J]. 癌症, 2023, 42(5): 233-240.
- [12] 杨静容, 陈亚楠, 肖春萍, 等. 响应面法优化盐关黄柏炮制工艺及其成分与色度相关性分析[J]. 中草药, 2024, 55(15): 5093-5103.
- [13] 姜盈盈, 林岳. 黄柏碱改善脓毒症大鼠急性肾损伤的作用及机制研究[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2019, 25(6): 882-887.
- [14] PATEL K, PATEL D K. Biological importance of phellodendrine in traditional and modern medicines: an update on therapeutic potential in medicine[J]. Curr Drug Res Rev, 2024, 16(2): 209-218.
- [15] ZHOU Z, WANG Y, SUN S, et al. *Paeonia lactiflora* Pall. polysaccharide alleviates depression in CUMS mice by inhibiting the NLRP3/ASC/Caspase-1 signaling pathway and affecting the composition of their intestinal flora[J]. J Ethnopharmacol, 2023, 316: 116716.
- [16] LIU G Z, NIU T T, YU Q, et al. Ginkgolide attenuates memory impairment and neuroinflammation by suppressing the NLRP3/caspase-1 pathway in Alzheimer's disease[J]. Aging (Albany NY), 2023, 15(19): 10237-10252.
- [17] 牛涛, 周逢海. 炎症与肿瘤微环境[J]. 中南大学学报(医学版), 2023, 48(12): 1899-1913.
- [18] PEI J, GAO Y, WU A, et al. An inflammation-related subtype classification for analyzing tumor microenvironment and clinical prognosis in colorectal cancer[J]. Front Immunol, 2024, 15: 1369726.
- [19] FAN L, NI R, WANG H, et al. Dioscin alleviates aplastic anemia through regulatory T cells promotion[J]. Hematology, 2024, 29(1): 2326389.
- [20] 郑丽婷. 黄柏碱对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶和胰岛素抵抗糖脂代谢的影响及机制[D]. 广州: 广州中医药大学, 2020.
- [21] 于锦然. 黄柏碱对脑缺血再灌注损伤的保护作用[D]. 南京: 南京理工大学, 2021.
- [22] 陆莉, 刘迪迪, 杨燕青, 等. WP1130通过抑制NLRP3炎症小体活化缓解小鼠的感染性休克[J]. 南方医科大学学报, 2022, 42(12): 1747-1754.
- [23] 胡博, 王小稳, 曹建晖, 等. 哮喘患儿外周血单个核细胞中NLRP3炎症小体及血清中IL-1 $\beta$ 和IL-18表达变化及其意义[J]. 吉林大学学报(医学版), 2019, 45(1): 111-116.
- [24] 罗后宙, 陈国强. 中性粒细胞胞外诱捕网通过上调DU145人前列腺癌细胞IL-8表达促进前列腺癌细胞增殖、侵袭及转移[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2023, 39(3): 261-267.
- [25] 火传益. NLRP3介导的细胞焦亡在聚苯乙烯微塑料所致HUVEC细胞损伤中的作用机制[D]. 长春: 吉林大学, 2023.
- [26] 石明珠, 叶田香, 刘逸轩, 等. 槲子苷代谢产物京尼平对HK-2细胞损伤及NLRP3通路的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2023, 28(5): 481-488.
- [27] MARTÍN-SÁNCHEZ F, MARTÍNEZ-GARCÍA J J, MUÑOZ-GARCÍA M, et al. Lytic cell death induced by melittin bypasses pyroptosis but induces NLRP3 inflammasome activation and IL-1 $\beta$  release[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(8): e2984.
- [28] 杜威, 王粟莉, 李曼, 等. 黄柏碱通过调控Semaphorin 3A抑制脂多糖诱导的肾小管上皮细胞氧化应激和凋亡[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2022, 23(7): 613-616.
- [29] 李成茂, 吴晓玉, 李维娜. 黄柏碱对高糖诱导的晶状体上皮细胞自噬和凋亡影响[J]. 青岛大学学报(医学版), 2024, 60(5): 673-679.
- [30] 杨珂. 黄柏碱对大鼠超负荷运动后抗氧化能力和炎症的影响[J]. 分子植物育种, 2023, 21(12): 4109-4115.

收稿日期: 2025-04-23