

解郁清化方加味干预治疗对代谢相关脂肪性肝病肝纤维化患者 NLPR3 炎症小体的影响

周黎 陈捷

余姚市人民医院检验科，浙江省余姚市，315400；

摘要：目的探讨解郁清化方加味干预治疗对代谢相关脂肪性肝病肝纤维化患者 NLPR3 炎症小体表达水平的影响。方法 收集 2023 年 5 月至 2024 年 4 月在本院肝病科和中医科就诊的 MAFLD 肝纤维化患者 60 例，分为治疗组及对照组，每组各 30 例，采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 法测定 NLPR3 表达水平。结果 治疗后，治疗组患者的 NLPR3 表达水平显著低于对照组，两者有显著的统计学意义差异 ($P<0.01$)。结论 治疗组患者 NLPR3 表达水平下降更明显，揭示解郁清化方抗肝纤维化的可能作用机制可能发挥着一定的作用。

关键词：lncRNA；MALAT1；H19；胸腔积液；应用价值
DOI:10.69979/3029-2808.24.10.010

代谢相关脂肪性肝病 (MAFLD) 原名为非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD)，是一种临床常见的慢性肝病，可进一步引发非酒精性脂肪性肝炎、肝纤维化、肝硬化和肝细胞癌，最终导致患者肝衰竭^[1]。近半世纪以来，中医药抗肝纤维化的研究由最初的经验总结逐步向实验探索和循证医学研究方向转化。临床实践与研究表明：中医药对改善慢性疾病症状、延缓该病的进展有很大优势；如何发掘和利用传统方药逆转或延缓非酒精性脂肪性肝纤维化进展，一直以来颇受临床或研究关注。NLPR3 炎症小体作为炎症反应的核心部分介导 MAFLD 发生发展，NLPR3 活化可加速疾病进展，抑制 NLPR3 炎症小体活化可减轻 MAFLD 炎症反应，延缓疾病进展，NLPR3 炎症小体已成为 MAFLD 的重要治疗靶点。NLPR3 炎症小体评估非酒精性脂肪性肝纤维化的能力仍待进一步验证。本文通过解郁清化方加味的干预治疗，评估其与 MAFLD 肝纤维化患者常规治疗的疗效差异，同时比较两组研究对象的 NLPR3 炎症小体的表达差异。

1 材料与方法

1.1 一般材料

收集 2023 年 5 月至 2024 年 4 月在余姚市人民医院肝病科和中医科就诊的 MAFLD 肝纤维化患者 60 例，将 60 例患者根据随机数字表法分为治疗组及对照组，每组各 30 例。受试者入组依据：(1) 需通过组织病理学 (肝活检金标准) 或临床联合无创评估 (如弹性成像、血清

标志物) 证实纤维化存在，需明确分期 (如 F1-F4)；(2) 影像学或组织学确认肝细胞脂肪沉积 ($\geq 5\%$)，且排除过量酒精摄入 (男性 $<30\text{g}/\text{天}$ ，女性 $<20\text{g}/\text{天}$)。需提供胰岛素抵抗证据 (如 $\text{HOMA-IR}>2.5$ 、糖代谢异常、肥胖或代谢综合征)；(3) 感染性：血清学排除 HBV/HCV 等病毒性肝炎；毒性损伤：严格追溯酒精摄入史 (量效关系) 及肝毒性药物 (如化疗药、部分中药) 使用情况；其他疾病：通过实验室检查及影像学排除自身免疫性肝病、遗传代谢性疾病 (血色病、Wilson 病) 及胆道病变。排除标准：(1) 合并其他继发性肝纤维化的疾病，如 HBV 感染肝病、酒精性肝病及药物性肝病等；(2) 符合非酒精性肝纤维化的诊断，但患者同时合并有严重精神疾病、消化系统、神经系统及造血系统疾病；(3) 已知对中药汤剂过敏者。治疗组，其中男性 19 例，女性 11 例，年龄为 34 岁~73 岁，平均年龄为 (50.9 ± 12.6) 岁。对照组，其中男性 18 例，女性 12 例，年龄为 28 岁~71 岁，平均年龄为 (48.9 ± 13.0) 岁。两组受试者对象的年龄、性格差异均无统计学差异 ($P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 样本的收集

收集临床检验检测使用剩余样本 2 mL，样本以速度 3000 转/分钟，每次离心 15 分钟，置于 -20°C 冷库保存，待统一检测。

1.2.2 检测方法

测定 NLRP3 炎症小体采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法。本实验采用双抗二步夹心法酶联免疫吸附试验(ELISA)。用纯化的抗体包被微孔板,制成固相载体,往包被抗 NLRP3 抗体的微孔中依次加入标本或标准品、生物素化的抗 NLRP3 抗体、HRP 标记的亲合素,经过彻底洗涤后用底物 TMB 显色。TMB 在过氧化物酶的催化下转化成蓝色,并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样本中的 NLRP3 呈正相关。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光度(OD 值),计算样本浓度。

1.3 统计学处理

实验数据应用 SPSS27.0 软件进行统计学分析处理,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料采用卡方检验,组间分析比较采用方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

1.4 治疗方案

①解郁清化方的基础方组成:炒白术 15g 茯苓 15g 柴胡 10g 升麻 6g 郁金 15g 白芍 30g 枳壳 15g 陈皮 6g 神曲 10g 制香附 8g 半夏 10g 炙甘草 6g 五味子 3g、生牡蛎 30g(先煎)。

②解郁清化方加减之法:气滞者,加木香 6g 川楝子 6g 等;血虚阴亏者,加炒当归 15g、旱莲草 15g、女贞子 15g 等;血热炽盛者,加焦山栀 15g、芦根 30g、牡丹皮 10g、赤芍 12g 等;湿热内蕴者,加叶下珠 30g、茵陈 30g、薏苡仁 30g、炒白扁豆 30g、白花蛇舌草 30g、土茯苓 15g、厚朴 10g、苍术 15g、砂仁 6g、白蔻仁 6g 等;血瘀癥积者,加半枝莲 30g、丹参 30g、红景天 30g、红花 6g、土鳖虫 6g、水蛭 3g 等;水湿内停者,加猪苓 10g、泽泻 15g 等,随症加减。

③治疗方法:对照组常规西医治疗(护肝降酶调脂等药物),治疗组在常规西医治疗的基础上予解郁清化方加减,汤剂由本院中药煎药室统一水煎煮,每贴中药包装成 200ml/袋*2 袋。服用方法:中药服用方法:一个疗程 12 周,隔天服用,每次 1 袋,早晚饭后 30-60min 各服用一次。

2 结果

2.1 两组患者 NLRP3 炎症小体表达水平比较

治疗前,两组间 NLRP3 表达水平无明显的统计学意

义差异($P > 0.05$)。治疗后,治疗组患者的 NLRP3 表达水平显著低于对照组,有显著的统计学意义差异($P < 0.01$)。(表 1)

表 1 两组患者治疗前后的 NLRP3 表达水平比较(pg/ml)

	n	治疗前 NLRP3	治疗后 NLRP3
治疗组	30	190.9±62.6	102.7±38.1
对照组	30	184.3±58.9	141.5±43.7
t		0.583	6.489
P		>0.05	<0.01

3 讨论

MAFLD 是指除外酒精和其他明确因素所致的以肝实质细胞脂肪变性和脂肪贮积为主要特征的临床病理综合征,其疾病谱包括单纯性脂肪肝(SFL)、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)肝纤维化及相关肝硬化、肝癌^[1-2]。近年来,随着老百姓饮食习惯和生活方式的逐渐改变,MAFLD 的发病率呈逐年增高趋势,并趋于年轻化。NASH 相关肝纤维化为 NAFLD 进展的关键病理阶段,可以进展为肝硬化、肝功能衰竭、肝细胞癌等^[3]。由于代谢相关脂肪性肝病肝纤维化的形成过程和机制复杂,且影响因素较多,而个体之间存在较大的差异,因此至今为止,临床上尚无有效的生物制剂和化学制剂用于治疗。近半世纪以来,中医药抗肝纤维化的研究由最初的经验总结逐步向实验探索和循证医学研究方向转化。临床实践与研究表明:中医药对改善慢性疾病症状、延缓该病的进展有很大优势;如何发掘和利用传统方药逆转或延缓非酒精性脂肪性肝纤维化进展,一直以来颇受临床或研究关注。

根据代谢相关脂肪性肝病肝纤维化的致病因素、病理变化和临床表现,用中医病名概括,多将其归集在黄疸、胁痛、积聚、鼓胀等范畴。马某某名老中医从中医“六郁”理论诠释其发生发展过程,结合非酒精性脂肪性肝纤维化进程中以小叶内炎症、肝细胞气球样变、肝纤维化为主要病理特征,认为中医病理过程中以湿、火相郁为主,前期病理炎症以清“火”为主,中末期肝组织恢复期强调祛“湿”,基于“六郁”理论,我们前期临床研究应用解郁降脂方加减干预治疗非酒精性脂肪性炎症能有效降低转氨酶,减轻患者症状。针对代谢相关脂肪性肝病肝纤维化形成过程以“湿郁”为主,马某某基于解郁降脂方加减拟定解郁清化方,方中以柴胡为君药,佐以香附、郁金以达中正之气,芍药味酸性微寒以养肝血,白术、茯苓、炙甘草健脾祛湿以实中土,麸枳

壳、陈皮理气，神曲和胃兼以解郁，升麻升清阳，半夏降胃浊，牡蛎以平肝软坚，少佐五味子以宁心、滋肾、敛肺，全方重在达中正之气，化中焦之浊，升清阳之气，兼以调养五脏，共奏解郁清化之功，本方在临床应用方面已取得良效，现为了明确解郁清化方加味的抗肝纤维化疗效及抗纤维化的可能作用机制。

以往报道，NLRP3 活化可加速疾病进展，抑制 NLRP3 炎症小体活化可减轻 NAFLD 炎症反应，延缓疾病进展，NLRP3 炎症小体已成为 NAFLD 的重要治疗靶点。NLRP3 炎症小体的活化机制 NLRP3 炎症小体不仅存在于肝脏免疫细胞中，如单核巨噬细胞、中性粒细胞、淋巴细胞、小胶质细胞中，而其中单核巨噬细胞最多，还可见于一些非免疫细胞，如肝脏实质细胞、肝星状细胞、内皮细胞及肌纤维母细胞等，可引起一系列免疫炎症反应^[4-7]

MAFLD 患者 NLRP3 炎症小体在 NASH 中的有双重作用机制。（1）饱和脂肪酸诱导的 NLRP3 激活与炎症启动饱和脂肪酸通过溶酶体破裂、线粒体功能障碍等途径触发活性氧（ROS）大量生成，直接激活 NLRP3 炎症小体，导致炎症级联反应^[7-9]。巨噬细胞极化参与：在非酒精性脂肪性肝炎（NASH）中，M1 型巨噬细胞通过特异性激活 NLRP3 炎症小体，放大肝脏局部炎症效应^[10]。（2）NLRP3 过度表达对 NASH 病理的双向调控，直接促炎作用：NLRP3 炎症小体过度激活显著加剧 NASH 进展，实验证据显示：NLRP3 基因敲除小鼠的血清及肝组织 TNF- α 水平下降，肝损伤与纤维化程度同步减轻^[11]。代谢干预效应：NLRP3 还可通过调控胰岛素敏感性间接影响 NASH 进程，其机制涉及 AMPK/HMGB-1/NLRP3 信号通路——该通路通过抑制脂肪组织炎症反应，改善肝细胞胰岛素抵抗，形成代谢-炎症双向调控网络^[12]。另外，NLRP3 炎症小体介导的焦亡效应也可以调控 NASH，有研究^[13]表明，通过敲除消皮素基因，可以显著降低 NASH 老鼠的炎症损伤，表明消皮素介导的细胞焦亡在 NASH 中发挥着重要作用。本研究结果显示，治疗后，治疗组患者的 NLRP3 表达水平显著低于对照组，两者有显著的统计学意义差异，从而揭示解郁清化方抗肝纤维化的可能作用机制可能发挥着一定的作用，对 MAFLD 患者的治疗有一定的临床治疗价值。

综上所述，治疗组患者 NLRP3 表达水平下降更明显，揭示解郁清化方抗肝纤维化的可能作用机制可能发挥着一定的作用。因本研究标本量相对较少，有必要进一步扩大标本量继续深入研究，以得到相关研究结论。

参考文献

[1] 李彬, 朱迅. 肿瘤相关巨噬细胞研究进展[J]. 国际

免疫学杂志, 2010, 33(3): 213-216

[2] 王正林, 孔繁学, 胡祥. 肿瘤相关巨噬细胞研究进展[J]. 中华实验外科杂志, 2016, 33(2): 546-549.

[3] 郭浩越, 毛锐, 王冉, 等. 不同表型肿瘤相关巨噬细胞在肿瘤进展中的作用[J]. 中国肿瘤临床, 2018, 45(9): 482-486.

[4] 封贺, 王建莉, 路小超, 等. 肿瘤相关巨噬细胞的研究进展[J]. 生命科学, 2019, 31(3): 217-224.

[5] 何愉胜, 杜先智. 巨噬细胞与结核分枝杆菌的免疫反应的研究进展[J]. 国际呼吸杂志, 2010, 30(12): 734-737.

[6] SINGH S, JHA S. NLRPs as Helpline in the Brain: mechanisms

and therapeutic implications[J]. Mol Neurobiol, 2018, 55(10): 8154-8178.

[7] 杨燕, 葛斐林, 黄倩, 等. 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 炎症小体在肝脏疾病中的作用机制. 临床肝胆病杂志, 2022, 38(4): 942-946.

[8] SUZUKI A, DIEHL AM. Nonalcoholic steatohepatitis[J]. Annu

Rev Med, 2017, 68: 85-98.

[9] MARRA F, SVEGLIATI-BARONI G. Lipotoxicity and the gut-liver axis in NASH pathogenesis[J]. J Hepatol, 2018, 68(2): 280-295.

[10] JINDAL A, BRUZZI S, SUTTI S, et al. Fat-laden macrophages modulate lobular inflammation in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) [J]. Exp Mol Pathol, 2015, 99(1): 155-162.

[11] PIERANTONELLI I, RYCHLICKI C, AGOSTINELLI L, et al. Lack of NLRP3-inflammasome leads to gut-liver axis derangement, gut dysbiosis and a worsened phenotype in a mouse model of NAFLD[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 12200.

[12] QI Y, DU X, YAO X, et al. Vildagliptin inhibits high free fatty acid (FFA)-induced NLRP3 inflammasome activation in endothelial cells [J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2019, 47(1): 1067-1074.

[13] XU B, JIANG M, CHU Y, et al. Gasdermin D plays a key role as a pyroptosis executor of non-alcoholic steatohepatitis in humans and mice [J]. J Hepatol, 2018, 68(4): 773-782.