论著·基础研究

NLRP3 炎性小体及其上游激活蛋白 GSDMD 在原发性胆汁性肝硬化中的表达*

向国艳[1]，樊　佳[2]，叶震璇[3]，付　雪[3]，张海燕[3]，张　华[3,4△]

（1. 贵州医科大学临检教研室，贵州贵阳 550004；2. 西南医科大学附属中医医院检验科，四川泸州 646000；3. 贵州省人民医院检验科，贵州贵阳 550002；4. 贵州医科大学医学检验学院，贵州贵阳 550004）

摘　要：目的　初步探讨核苷酸结合寡聚化结构域样受体 3（NLRP3）及其上游激活蛋白 gasdermin D（GSDMD）与原发性胆汁性肝硬化（PBC）免疫炎性反应的关联。**方法**　收集就诊于贵州省人民医院的患者外周血血浆，采用生化分析仪检测肝功能，间接免疫荧光法检测抗线粒体抗体（AMA），免疫印记法检测抗线粒体 M2 型抗体（AMA-M2）。以肝功能出现异常且 AMA 或 AMA-M2 阳性来确诊 PBC 患者。分别收集 30 例 PBC 患者（PBC 组）与 30 例体检健康者（健康对照组），采用 q-PCR 与 Western blot 分别检测两组外周血单个核细胞中 NLRP3 与 GSDMD 的 mRNA 和蛋白的表达量。采用 ELISA 检测 Caspase-1 和白细胞介素（IL）-18 在血浆中的表达量。**结果**　PBC 患者肝功能各项指标测量值均高于健康对照组（$P<0.05$），且 AMA 或 AMA-M2 为阳性。PBC 患者外周血单个核细胞中 NLRP3、GSDMD 的 mRNA 和蛋白表达均高于健康对照组（$P<0.05$）。Caspase-1、IL-18 在 PBC 组血浆中的表达水平高于健康对照组（$P<0.05$）。**结论**　NLRP3 与 GSDMD 可能参与了 PBC 的免疫炎性反应。

关键词：核苷酸结合寡聚化结构域样受体 3；　gasdermin D；　原发性胆汁性肝硬化

DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2019.17.001　　**中图法分类号：**R657.3，R446.1

文章编号：1673-4130(2019)17-2049-05　　**文献标识码：**A

Expression of NLRP3 inflammasome body and its upstream activator GSDMD in primary biliary cirrhosis*

XIANG Guoyan[1], *FAN Jia*[2], *YE Zhenxuan*[3], *FU Xue*[3], *ZHANG Haiyan*[3], *ZHANG Hua*[3,4△]

(1. *Teaching and Researching Section of Clinical Laboratory, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou* 550004, *China*; 2. *Department of Clinical Laboratory, Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated to Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan* 646000, *China*; 3. *Department of Clinical Laboratory, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang, Guizhou* 550002, *China*; 4. *School of Clinical Laboratory Science, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou* 550004, *China*)

Abstract: Objective　To investigate the relationship between nucleotide binding oligomerization domain-like receptor 3 (NLRP3) and its upstream activator gasdermin D (GSDMD) and immunoinflammasome response in primary biliary cirrhosis (PBC). **Methods**　Peripheral blood plasma was collected from patients in Guizhou Provincial People's Hospital. Liver function was detected by biochemical analyzer. Indirect immunofluorescence assay was used to detect anti-mitochondrial antibody (AMA) and immunoblotting to detect anti-mitochondrial M2 antibody (AMA-M2). Patients with PBC were diagnosed with abnormal liver function and positive AMA or AMA-M2. The expressions of NLRP3 and GSDMD in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of 30 PBC patients (PBC group) and 30 healthy persons (healthy control group) were detected by q-PCR and Western blot. The expressions of Caspase-1 and interleukin-18 (IL-18) in plasma were detected by ELISA. **Results**　The measured values of liver function test items in patients with PBC were higher than those in healthy controls ($P<0.05$), and AMA or AMA-M2 were positive. The mRNA and protein expression of NLRP3 and GSDMD in PBC patients was higher than that in healthy control group ($P<0.05$), and the expression of Caspase-1 and IL-18 in PBC patients was higher than that in healthy control group ($P<0.05$).

*　**基金项目：**贵州省人民医院国家自然科学基金培育基金项目（黔科合 LH 字[2017] 5724 号）。

作者简介：向国艳，女，在读硕士，主要从事自身免疫性疾病发病机制相关研究。　△　**通信作者**，E-mail：780837482@qq.com。

本文引用格式：向国艳，樊佳，叶震璇，等. NLRP3 炎性小体及其上游激活蛋白 GSDMD 在原发性胆汁性肝硬化中的表达[J]. 国际检验医学杂志，2019，40(17)：2049-2052.

Conclusion NLRP3 and GSDMD may be involved in the immune inflammasome response of PBC.

Key words: nucleotide binding oligomerization domain-like receptor 3; gasdermin D; primary biliary cirrhosis

原发性胆汁性肝硬化(PBC)是自身免疫性肝病中最常见的一种类型,其以胆管上皮细胞被破坏、肝内胆汁淤积为主要特征。该病好发于中老年女性,起病隐匿且病程较长[1-2]。目前,PBC 的发病机制尚不完全清楚。在其发生发展过程中,炎性细胞的浸润是胆管上皮细胞破坏、胆汁淤积的主要原因之一,该原因也成为研究 PBC 致病机制的关键点。

核苷酸结合寡聚化结构域样受体 3(NLRP3)是参与固有免疫应答的受体之一。最新报道,gasdermin D(GSDMD)蛋白裂解后得到的 N 端结构域可能是激活 NLRP3 炎性小体的关键物质[3-4]。本课题组前期研究发现,Caspase-1 和白细胞介素(IL)-18 参与了 PBC 细胞免疫炎性反应[5-6],但是对于其上游的调控蛋白 NLRP3 及与 NLRP3 激活相关的 GSDMD 在 PBC 中的研究尚未见报道。因此,本研究拟通过检测 PBC 患者及体检健康者 NLRP3 与 GSDMD 的 mRNA 和蛋白表达水平、血浆中 Caspase-1 和 IL-18 的表达水平,探讨 NLRP3 炎性小体及其上游激活蛋白 GSDMD 与 PBC 免疫炎性反应的关联。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2016 年 11 月至 2017 年 9 月贵州省人民医院确诊为 PBC 的患者(PBC 组)及体检健康者(健康对照组),各 30 例。PBC 组患者平均年龄为(58.27±13.61)岁,健康对照组平均年龄为(53.83±9.64)岁,两组男女比例一致。该研究经贵州省人民医院伦理委员会审查通过(2017109),并且所有患者知情同意。排除标准:排除系统性自身免疫病、胆管炎、其他原因引起的肝脏疾病等。诊断标准参照美国肝病学会(AASLD)于 2009 年推荐的诊断指南[7]。

1.2 仪器与试剂 人外周血淋巴细胞分离液、DNA/RNA/蛋白共提取试剂盒、逆转录试剂盒和 SYBR Green Ⅱ试剂盒购自索莱宝生物股份有限公司;GodView Ⅱ核酸染料、Anti-NLRP3 单克隆抗体、Anti-GSDMD 单克隆抗体、β-actin 单克隆抗体购自 Abcam 生物有限公司。

1.3 方法

1.3.1 生化检测和自身抗体谱检测 收集受试者外周静脉血 3 mL,分离的血浆和血清分别用于自身抗体谱和肝功能检测。间接免疫荧光法检测抗线粒体抗体(AMA),免疫印记法检测抗线粒体 M2 型抗体(AMA-M2),全自动生化分析仪检测肝功能。

1.3.2 外周血单个核细胞(PBMC)的富集及 RNA/蛋白的提取 收集纳入研究者外周血 3 mL 于乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K_2)抗凝管中,3 500 r/min 离心 15 min 分离血浆与血细胞,血细胞用于单个核细胞提取。通过 Ficoll 法分离 PBMC,并取 5×10^6 个细胞用于 RNA 的提取。按照试剂盒说明书提取 RNA 与蛋白,并经微量核酸定量仪检测其水平与纯度。使用凝胶成像仪检测其完整性,28S/18S 约等于 2∶1 且无 DNA 条带时,说明完整性较好。将 RNA 逆转录为 cDNA,所得 cDNA 与蛋白保存于-20 ℃,以备后续实验使用。采用 q-PCR 与 Western blot 分别检测两组 PBMC 中 NLRP3 与 GSDMD 的 mRNA 和蛋白的表达量。

1.3.3 NLRP3 及 GSDMD 的 mRNA 表达水平检测 采用 Primer Premier 5.0 与 Oligo 6 软件进行引物设计。NLRP3(155 bp)上游引物 5′-GCC ACG CTA ATG ATC GAC TT-3′,下游引物 5′-ACA GTG GGA TTC GAA ACA CG-3′;GSDMD(156 bp)上游引物 F:5′-GGA CCC TAA CAC CTG GCA GAC T-3′,下游引物 5′-TTG TGG GTG CGC GTG ACT T-3′。应用 ABI7500 PCR 仪检测目的基因。每个样本设置 3 个复孔。95 ℃ 30 s,95 ℃ 5 s,60 ℃ 34 s,40 个循环进行反应。根据 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算结果。

1.3.4 NLRP3 和 GSDMD 的蛋白表达水平检测 用 BCA 试剂盒测定蛋白水平后,以 β-actin 为内参,依次进行蛋白凝胶电泳、转膜、封闭、孵育抗体等步骤,曝光采集图片后通过 Image J 分析灰度值计算相对表达水平。

1.3.5 Caspase-1 与 IL-18 的表达水平检测 严格按照 ELISA 试剂盒说明书,通过多功能酶标仪在 450 nm/620 nm 波长处分别对 PBC 组与健康对照组外周血血浆中 Caspase-1 与 IL-18 进行吸光度(A)值检测。

1.4 统计学处理 实验数据通过 SPSS20.0 进行统计分析,计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,计数资料采用率(%)表示。如果方差齐采用两独立样本 t 检验进行统计分析,方差不齐可以通过 t' 检验进行统计分析。若 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 AMA 与 AMA-M2 检测 30 例 PBC 患者中 AMA-M2 均为阳性(100.0%),其中≥"++"有 29 例(96.7%)。AMA 滴度≥1∶320 有 21 例(70.0%)。而 30 例健康对照者 AMA 与 AMA-M2 均为阴性。在鼠肾基质片中近曲小管和远曲小管可见明显颗粒状荧光。见表 1、图 1。

2.2 肝功能相关生化指标 健康对照组的 6 项肝功能生化指标均在正常范围内。PBC 组 6 项检测指标

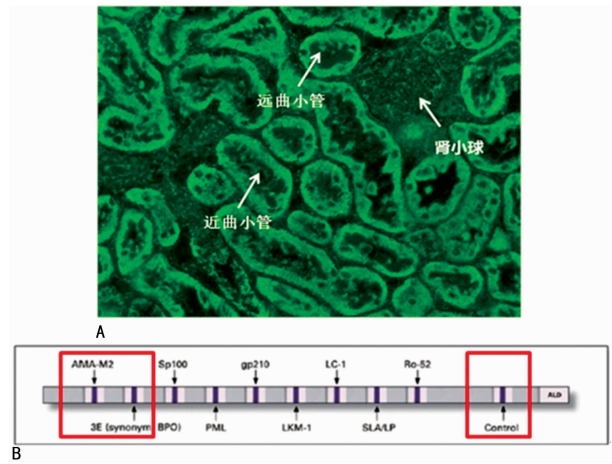
均高于健康对照组，差异有统计学意义（$P<0.05$）。见表 2。

表 1　PBC 组 AMA 及 AMA-M2 的表达

AMA 滴度	n	AMA-M2		
		+	++	+++
<1∶100	9	1	1	7
1∶320	12	—	4	8
≥1∶1 000	9	—	—	9
合计	30	1	5	24

2.3　总 RNA 的纯度及完整性　根据 1% 的琼脂糖凝胶电泳结果显示 28S/18S 约为 2∶1，有少量的 5S RNA。微量核酸检测仪结果显示，所有的标本在 A_{260}/A_{280} 的比值在 1.9～2.0，说明 RNA 的纯度较好，可用于后续实验。10 个样本的电泳结果见图 2。

2.4　NLRP3 和 GSDMD mRNA 的表达情况　PBC 组 PBMC 中 NLRP3 与 GSDMD mRNA 的表达水平分别为健康对照组的 1.977 倍和 3.275 倍（$P<0.05$）。见图 3。



注：A 表示 AMA 滴度为 1∶320 的示意图（4×40 倍）；B 表示免疫印迹膜条示意图

图 1　AMA 荧光模型和免疫印迹模条

表 2　肝功能相关生化指标检测结果（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	AKP(U/L)	γ-GT(U/L)	ALT(U/L)	AST(U/L)	TBIL(μmol/L)	DBIL(μmol/L)
健康对照组	30	68.6±15.6	25.5±7.6	20.2±6.9	16.9±4.3	13.2±3.6	5.4±1.7
PBC 组	30	313.0±221.0*	330.0±259.0*	78.7±73.5*	93.6±73.0*	48.5±93.3*	31.8±68.1*
P		0.02	0.005	0.033	0.011	0.042	0.016

注：与健康对照组比较，* $P<0.05$；AKP 表示碱性磷酸酶，γ-GT 表示 γ-谷氨酰转肽酶，ALT 表示丙氨酸氨基转移酶，AST 表示天门冬氨酸氨基转移酶，TBIL 表示总胆红素，DBIL 表示直接胆红素

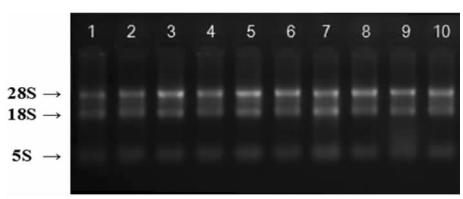
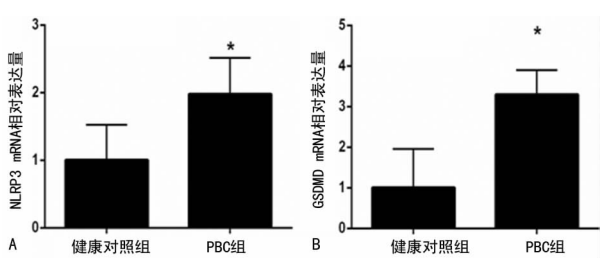


图 2　琼脂糖凝胶电泳结果

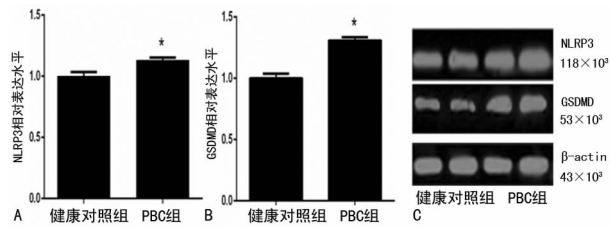


注：* $P<0.05$；A 表示 NLRP3 mRNA 相对表达量；B 表示 GSDMD mRNA 相对表达量

图 3　NLRP3 和 GSDMD mRNA 的相对表达情况

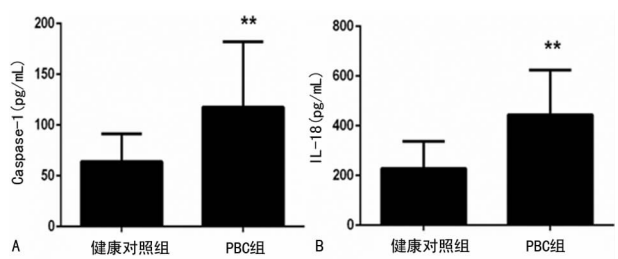
2.5　NLRP3 和 GSDMD 蛋白的表达水平　PBC 组与健康对照组的 NLRP3 蛋白相对表达水平分别为 1.973 2±0.040 7 与 1.746 0±0.060 6，差异有统计学意义（$P<0.05$）；PBC 组与健康对照组的 GSDMD 蛋白相对表达水平分别为 2.885 3±0.059 6 与 2.206 0±0.081 5，差异有统计学意义（$P<0.05$）。见图 4。

2.6　Caspase-1 和 IL-18 的表达水平　使用 Caspase-1 及 IL-18 的标准品建立标准曲线，计算得到 R^2 值分别为 0.998 9 和 0.999 7。PBC 组与健康对照组血浆中 Caspase-1 的水平分别为（118.504±64.472）pg/mL 与（63.935±27.284）pg/mL，差异有统计学意义（$P<0.01$）；PBC 组与健康对照组血浆中 IL-18 的水平分别为（439.326±180.101）pg/mL 与（229.310±109.559）pg/mL，差异有统计学意义（$P<0.01$）。见图 5。



注：* $P<0.05$；A 表示 NLRP3 相对表达水平；B 表示 GSDMD 相对表达水平；C 表示 Western blot 图

图 4　NLRP3 和 GSDMD 蛋白的相对表达情况



注：** $P<0.01$；A 表示 Caspase-1；B 表示 IL-18

图 5　血浆中 Caspase-1 和 IL-18 的表达情况

3　讨　论

PBC 是一种免疫介导的肝内小胆管渐进性破坏、慢性胆汁淤积性肝脏疾病[1]。目前，PBC 的发病机制仍不明确，可能是免疫、环境及遗传等因素的相互作用[8]，发生针对自身抗原的免疫反应，引起肝内小胆管损伤和胆汁淤积而诱发 PBC。对于 PBC 的诊断主要依据生化指标如碱性磷酸酶（AKP）升高、血清 AMA 或 AMA-M2 阳性、肝脏穿刺出现非化脓性破坏性胆管炎及小叶间胆管破坏的组织学证据[7]，符合以上 3 点中的 2 点即可确诊。其中，血清中 AMA-M2 阳性对该病的诊断有很高的特异度和灵敏度。然而对于 AMA-M2 阴性的患者，则需要进行肝穿刺。鉴于肝穿刺可能会导致一些并发证，患者一般难以接受，因此，目前临床上多以生化指标 AKP 升高、血清 AMA 或 AMA-M2 阳性来诊断 PBC。AMA-M2 检测采用的是免疫印记法，该方法包被的抗原为高纯化抗原，在方法学上有灵敏度和特异度的优势。因此，AMA-M2 的检出率一般都高于 AMA，故间接免疫荧光法和免疫印记法联用，可避免漏诊和误诊。本研究中，30 例 PBC 患者组 AMA-M2 阳性有 30 例（100.0%），而 AMA 滴度 ≥ 1 ∶ 320 只有 21 例（70.0%），该结果也符合 AMA-M2 检出率更高的特点。

NLRP3 炎性小体由 NOD 样受体蛋白 3、接头分子凋亡相关蛋白（ASC）和效应分子前体半胱氨酸酶 1（Pro-Caspase-1）组成。在某些因素的诱导下，NLRP3 炎性小体可通过 ASC 招募 Pro-Caspase-1，使其形成 Caspase-1 p10/p20 四聚体的活性形式，Caspase-1 进一步将 IL-1β 和 IL-18 前体裂解为有活性的 IL-1β 和 IL-18，从而参与炎性反应并调节免疫应答[9-10]。本课题组前期研究发现，Caspase-1、ASC 和 IL-18 参与了 PBC 细胞免疫炎性反应并发挥重要的作用[5-6]。因此，猜想其上游的 NLRP3 也可能参与了 PBC 的发生。本研究检测了 NLRP3、Caspase-1 和 IL-18 的表达，结果表明 NLRP3、Caspase-1 和 IL-18 在 PBC 组中水平显著增高，说明在 PBC 患者体内 NLRP3 基因转录增多，使蛋白表达增加。鉴于 NLRP3 炎性小体激活后，可活化其下游的 Caspase-1 和 IL-18 的成熟和释放。推测在 PBC 患者体内，NLRP3 大量表达后促使下游炎性因子 IL-18 的释放，IL-18 可通过核因子 κB 通路刺激 $CD4^+$ T 细胞增殖分化为 Th1 细胞，Th1 细胞分泌 γ-干扰素（IFN-γ），而 IFN-γ 又可促进 IL-18 的生成，如此恶性循环致使肝脏胆管炎症发生。

目前，NLRP3 的具体调控机制尚不完全清楚。以往认为，NLRP3 炎性小体主要通过细胞内钾离子外流途径、溶酶体途径和活性氧生成途径等被激活[11]。最新研究发现，GSDMD 的 N 端结构域可能参与 NLRP3 炎性小体的激活。通常情况下，GSDMD 的 N 端和 C 端结构域相互抑制，使得 GSDMD 处于无活性的自抑制状态[12]。炎性小体激活后可促使 Caspase-1 的成熟和分泌，成熟的 Caspase-1 通过水解 GSDMD 使其形成并释放具有活性的 N 端结构域[13]。本研究采用 q-PCR 和 Western blot 法检测 GSDMD mRNA 和蛋白表达水平，结果显示 GSDMD 水平在 PBC 患者 PBMC 中显著升高，推测在 PBC 患者体内，可能由于 NLRP3 基因转录增加活化了 Caspase-1，从而促使大量 GSDMD 蛋白 N 端结构域的形成和释放。而 N 端结构域又可以促使 NLRP3 进一步活化，最终形成恶性循环的炎性反应。大量炎症因子攻击胆管上皮细胞使其受损从而导致胆汁淤积，进而促使肝纤维化甚至肝硬化[14]。

针对 NLRP3 炎性小体的调控可以不同程度缓解疾病进程[15]，这预示着 NLRP3 炎性小体可能成为多种疾病治疗的靶点。若能调控 NLRP3 炎性小体的活化，减少促炎性细胞因子的释放，阻止疾病早期的炎性反应，或许能对疾病起到一定的预防和缓解的作用。因此，对 GSDMD 与 NLRP3 在 PBC 发病中的作用进行研究是十分必要的。

4　结　论

本研究证实，PBC 患者 NLRP3、GSDMD、Caspase-1 和 IL-18 的表达均明显高于健康对照者，在 PBC 患者体内 GSDMD 的高表达激活 NLRP3，间接促进 Caspase-1 与 IL-18 的成熟和释放导致炎性反应发生。NLRP3、GSDMD 可能参与了 PBC 的免疫炎性反应。

参考文献

[1] 中华医学会肝病学分会，中华医学会消化病学分会，中华医学会感染病学分会. 原发性胆汁性肝硬化（又名原发性胆汁性胆管炎）诊断和治疗共识（2015）[J]. 肝脏，2015，20(12)：960-968.

[2] CORPECHOT C，CHRETIEN Y，CHAZOUILLERES O A. Demographic，lifestyle，medical and familial factors associated with primary biliary cirrhosis[J]. J Hepatol，2010，53(1)：162-169.

[3] 刘岳衡，王慧. 细胞焦亡：程序性死亡研究新热点[J]. 临床与病理杂志，2016，36(7)：1006-1011.

[4] SHI J，GAO W，SHAO F. Pyroptosis：gasdermin-mediated programmed necrotic cell death[J]. Trends Biochem Sci，2017，42(4)：245-254.

[5] 赵二川，李红梅，任智晶，等. $CD4^+$ T 细胞中 IL-18 激活的 NF-κB 信号通路与 PBC 发病机制的相关性研究[J]. 重庆医学，2017，46(14)：1892-1896.

[6] 樊佳，赵二川，叶震璇，等. ASC 与 Caspase-1 在 PBC 患者外周血中的表达研究[J]. 重庆医学，2018(8)：1044-1048.

[7] European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines：management of cholestatic liver diseases[J]. J Hepatol，2009，51(2)：237-267.

[8] CAREY E J，LEVY C. Primary biliary

（下转第 2057 页）

参考文献

[1] 刘欢，杨晓凌. 老年类风湿性关节炎的临床特征及血清炎症因子的改变[J]. 实用临床医药杂志，2017，21(3)：188-190.

[2] 王爽，王成武，刘艳华. 中成药联合西药治疗类风湿性关节炎活动期的疗效观察[J]. 中国中医药现代远程教育，2017，15(2)：95-96.

[3] 王爱英. 中西医结合法治疗类风湿性关节炎的临床研究[J]. 中外医疗，2016，36(9)：175-176.

[4] 饶莉，沈春瑾，石哲群，等. 中西医结合治疗类风湿性关节炎的临床研究[J]. 中华中医药杂志，2016，31(2)：546-548.

[5] 张旭东，杨若松，陈伟，等. 雷公藤内酯醇对佐剂性关节炎大鼠脊髓背根神经节中 MCP-1 及 CCR2 表达的影响[J]. 中成药，2016，47(6)：1390-1393.

[6] 谢怡敏，高永翔. 中药治疗类风湿性关节炎的实验研究进展[J]. 中药与临床，2016，32(2)：103-105.

[7] 王娜. 雷公藤内酯醇对类风湿性关节炎初发患者 NK 细胞免疫功能的影响[C]//中国免疫学会. 第九届全国免疫学学术大会论文集. 北京：中国免疫学会出版社，2014：2.

[8] 彭桉平，黄宪章，刘瑞萍，等. 雷公藤内酯醇调控 miR-155 抑制类风湿性关节炎患者单核细胞促炎反应[J]. 细胞与分子免疫学杂志，2014，30(6)：635-638.

[9] 王娟芳. 雷公藤治疗类风湿性关节炎的疗效观察[J]. 内蒙古中医药，2017，36(4)：31.

[10] 钦丹萍，周毅骏，张绍珠，等. 雷公藤多苷抗巨噬细胞炎症及对 TLR4/NF-κB 调控炎症作用的研究[J]. 中国中药杂志，2015，40(16)：3256-3261.

[11] 曾小威，李世刚. 类风湿性关节炎治疗及免疫分子机制研究进展[J]. 中华实用诊断与治疗杂志，2015，29(11)：1044-1046.

[12] SEEUWS S, JACQUES P, VAN PRAET J, et al. A multiparameter approach to monitor disease activity in collagen induced arthritis[J]. Arthritis Res Ther, 2010, 12(4): R160.

[13] SERENA B, BARBARAV, ROBERTO C, et al. B-cell in rheumatoid arthritis: from pathogenic players to disease biomarkers[J]. Bio Med Res Int, 2014, 2014: 681678.

[14] GUO Y, ZHANG X, QIN M, et al. Changes in peripheral $CD19^+$ $Foxp3^+$ and $CD19^+$ $TGF\beta^+$ regulatory B-cell populations in rheumatoid arthritis patients with interstitial lungdisease[J]. J Thorac Dis, 2015, 7(3): 471.

[15] 马进，陈岷，李荻，等. 中药联合抗风湿药治疗类风湿性关节炎活动期的临床观察[J]. 中国实验方剂学杂志，2014，20(5)：192-196.

[16] 熊小泉，石文，黄宪章. TLR4 介导的固有免疫在类风湿关节炎模型大鼠发病过程中的意义[J]. 广东医学，2009，30(10)：1471-1477.

[17] 袁娟，胡玲，宋小鸽，等. 艾灸对类风湿性关节炎大鼠关节滑膜组织 Toll 样受体 4-骨髓样分化因子 88-核转录因子-κB 信号通路的影响[J]. 针刺研究，2015，40(3)：199-204.

[18] WOO Y J, YOON B Y, JHUN J U, et al. Regulation of B cell activating factor (BAFF) receptor expression by NF-κB signaling in rheumatoid arthritis B cells[J]. ExpMol Med, 2011, 43(6): 350-357.

[19] TSUBAKI M, TAKEDA T, KINO T, et al. Mangiferin suppresses CIA by suppressing the expression of TNF-α, IL-6, IL-1β, and RANKL through inhibiting the activation of NF-κB and ERK1/2[J]. Am J Transl Res, 2015, 7(8): 1371-1381.

[20] 胡永红，曾克勤，张明敏，等. 雷公藤甲素对胶原诱导的关节炎大鼠滑膜细胞核转录因子-κB 表达与活性的影响[J]. 中华风湿病学杂志，2004，8(9)：515-518.

[21] 刘佳，童萍，左建平，等. LLDT-8 对风湿性关节炎滑膜细胞 NF-κB 信号通路的影响[J]. 现代免疫学，2018，38(4)：265-270.

(收稿日期：2019-02-16　修回日期：2019-05-12)

(上接第 2052 页)

cholangitis: a new era preface[J]. Clin Liver Dis, 2018, 22(3): Ⅻ-ⅩⅣ.

[9] GARCIA-MARTINEZ I, SHAKER M E, MEHAL W Z. Therapeutic opportunities in damage-associated molecular pattern-driven metabolic diseases[J]. Antioxid Redox Signal, 2015, 23(17): 1305-1315.

[10] LAUDISI F, SPREAFICO R, EVRARD M A, et al. Cutting edge: the NLRP3 inflammasome links complement-mediated inflammation and IL-1 beta release[J]. J Immunol, 2013, 191(3): 1006-1010.

[11] ZAMBETTI L P, LAUDISI F, LICANDRO G A, et al. The rhapsody of NLRPs: master players of inflammation. and a lot more[J]. Immunol Res, 2012, 53(1/3): 78-90.

[12] SHI J J, ZHAO Y E, WANG K, et al. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death[J]. Nature, 2015, 526(7575): 660-665.

[13] MAN S M, KANNEGANTI T D. Gasdermin D: the long-awaited executioner of pyroptosis[J]. Cell Res, 2015, 25(11): 1183-1184.

[14] CAREY E J, ALI A H, LINDOR K D. Primary biliary cirrhosis[J]. Lancet, 2015, 386(10003): 1565-1575.

[15] 刘延刚，陈永春，宗英，等. NLRP3 炎症小体的活化及调控机制[J]. 第二军医大学学报，2016，37(7)：868-872.

(收稿日期：2019-01-15　修回日期：2019-04-08)