

基于 NLRP3 炎症小体探讨黄芪赤风汤抗代谢相关脂肪性肝病的作用

刘洁¹, 梁玉琴¹, 张驰¹, 陈平平², 王宇², 卢芳², 刘树民^{2*}

1. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040

2. 黑龙江中医药大学 中医药研究院, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要: **目的** 基于核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NLRP3) 信号通路, 研究黄芪赤风汤 (HQCFT) 对代谢相关脂肪性肝病 (MAFLD) 小鼠的作用机制。 **方法** 将 32 只 C57BL/6J 小鼠采用高脂饲料与基础饲料混合饲喂, 并在 10 d 内逐步减少基础饲料添加占比、增加高脂饲料占比, 以达到适应性过渡喂养, 后喂食高脂饲料持续 12 周, 8 只对对照组小鼠接受正常饲料。将造模小鼠随机分为 4 组: 模型组、阿托伐他汀钙片 (Ato, 阳性药, 0.005 g·kg⁻¹) 组和 HQCFT 低、高剂量 (1.95、3.90 g·kg⁻¹) 组, 第 13 周开始 ig 给予各剂量 HQCFT 和 Ato, 持续 28 d, 而对照组和模型组给予等量的 0.9% 氯化钠溶液。观察小鼠一般状态; 肝脏组织进行苏木素-伊红 (HE) 染色与油红 O 染色; 试剂盒法检测血清总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、白细胞介素-1 β (IL-1 β) 和 IL-18 含量; Western blotting 分析测定肝脏 p-核因子 (NF)- κ B/NF- κ B、NLRP3、半胱氨酰天冬氨酸特异性蛋白酶-1 (Caspase-1) 以及凋亡相关斑点样蛋白 (ASC) 表达; 通过 Auto Dock 软件对 HQCFT 中 7 种活性成分 (芍药内酯苷、芍药苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素、黄芪甲苷) 和核心靶点 (NLRP3、Caspase-1、ASC、NF- κ B) 进行分子对接。 **结果** 与对照组相比, 模型组出现明显活动量降低, 毛发黏连, 饮食在造模期较对照组增加, 在造模成功后相较于对照组有一定减少, 大便明显发臭, 体质量上升; 肝脏组织有明显脂肪空泡和炎症反应浸润; 血清 TC、LDL-C、HDL-C、AST、ALT、IL-1 β 、IL-18 含量显著升高, 肝脏组织中 p-NF- κ B/NF- κ B、NLRP3、Caspase-1、ASC 蛋白水平显著上调 ($P < 0.05$ 、 0.01); 与模型组相比, HQCFT 组小鼠状态好转, 体质量降低, 肝脏组织脂质沉积明显改善, 炎症浸润减少, 血清 TC、LDL-C、HDL-C、AST、ALT、IL-1 β 、IL-18 水平显著降低, 肝组织 p-NF- κ B/NF- κ B、NLRP3、Caspase-1、ASC 蛋白水平显著下调 ($P < 0.05$ 、 0.01)。分子对接显示, HQCFT 活性成分芍药内酯苷、芍药苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素、黄芪甲苷与 ASC、NF- κ B、Caspase-1、NLRP3 具有高亲和力。 **结论** HQCFT 可明显改善高脂饮食诱导的 MAFLD 小鼠肝脏脂质沉积, 与其抑制 NLRP3 炎症小体诱导的炎症反应密切相关。

关键词: 黄芪赤风汤; 代谢相关脂肪性肝病; 脂质沉积; 炎症; NLRP3 炎症小体

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2026)03-0762-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.03.003

Exploring metabolic associated fatty liver disease effect of Huangqi Chifeng Tang based on NLRP3 inflammasome

LIU Jie¹, LIANG Yuqin¹, ZHANG Chi¹, CHEN Pingping², WANG Yu², LU Fang², LIU Shumin²

1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

2. Institute of Traditional Chinese Medicine, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: Objective Based on the nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptor 3 (NLRP3) signaling pathway, the mechanism of Huangqi Chifeng Tang (HQCFT) on metabolic associated fatty liver disease (MAFLD) mice was studied. **Methods** Thirty-two C57BL/6J mice were fed with a mixture of high-fat diet and basic diet. Over a period of 10 d, the proportion of the basic diet was gradually reduced and the proportion of the high-fat diet was increased to achieve an adaptive transition feeding. Then, the mice were fed with the high-fat diet for 12 weeks. Eight mice in the control group were given normal diet. The mice were randomly

收稿日期: 2025-09-22

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目 (PL2024H239)

作者简介: 刘洁, 硕士研究生, 从事中药药性理论及药效物质基础研究。E-mail: 15049218634@163.com

*通信作者: 刘树民, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药药性理论及药效物质基础研究。E-mail: keji-liu@163.com

divided into four groups: the model group, the Ato (positive drug, 0.005 g·kg⁻¹) group, and the low and high doses of HQCFT (1.95 and 3.90 g·kg⁻¹) groups. From the 13th week, each dose of HQCFT and Ato was ig given for 28 d, while the control group and the model group were given the same amount of 0.9% sodium chloride solution. The general condition of the mice was observed; liver tissues were stained with hematoxylin-eosin (HE) and oil red O; Serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), interleukin-1 β (IL-1 β) and IL-18 contents were detected by kits; Western blotting was used to analyze the expression of p-NF- κ B/NF- κ B, NLRP3, cysteinyl aspartate-specific protease-1 (Caspase-1), and ASC proteins in the liver; the seven active components in HQCFT (paeonol glycoside, paeonol, anthocyanidin glucoside of sophorae, sophorin, anthocyanidin, sophoroside, astragaloside) and the core targets [NLRP3, Caspase-1, apoptosis-related speck-like protein (ASC), NF- κ B] were subjected to molecular docking using Auto Dock software. **Results** Compared with the control group, the model group showed significant reduction in activity level, hair adhesion, increased food intake during the modeling period, a certain decrease compared to the control group after successful modeling, significantly more foul-smelling feces, and increased body weight; Liver tissue showed obvious fat vacuoles and inflammatory infiltration; The contents of serum TC, LDL-C, HDL-C, AST, ALT, IL-1 β , and IL-18 significantly increased, and the protein levels of p-NF- κ B/NF- κ B, NLRP3, Caspase-1, and ASC in liver tissue significantly upregulated ($P < 0.05, 0.01$) compared with the model group; compared with the model group, mice in the HQCFT group improved their condition, had lower body weight, significantly improved lipid deposition in liver tissue, reduced inflammatory infiltration, and significantly lower serum TC, LDL-C, HDL-C, AST, ALT, IL-1 β , and IL-18 levels, and significantly downregulated the protein levels of p-NF- κ B/NF- κ B, NLRP3, Caspase-1, and ASC in liver tissue ($P < 0.05, 0.01$). Molecular docking showed that the active components of HQCFT, such as peucedane glycoside, peucedanin, anthocyanidin glucoside, penicillin glycoside, anthocyanidin, penicillin, and astragaloside IV, had high affinity with ASC, NF- κ B, Caspase-1, and NLRP3. **Conclusion** HQCFT can significantly improve lipid deposition in the liver of mice with MAFLD induced by high-fat diet, and is closely related to its inhibition of the inflammatory response induced by NLRP3 inflammasome.

Key words: Huangqi Chifeng Tang; metabolic-associated fatty liver disease (MAFLD); lipid deposition; inflammatory; NLRP3 inflammasome

代谢相关脂肪性肝病 (MAFLD), 旧称非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD)^[1], 是最常见的肝病原因, 其特征是在没有饮酒和其他已知肝毒性因子的情况下存在肝脂肪变性^[2]。国际专家组提出了一种既全面又简单的 MAFLD 诊断新定义, 并且独立于其他肝脏疾病, 这些标准基于肝脂肪变性的证据, 以及以下 3 个标准之一, 即超重/肥胖、2 型糖尿病、代谢失调^[3]。MAFLD 是一种复杂、多系统的代谢紊乱性疾病, 其发病机制涉及多条代谢通路交互作用, 而中医药凭借多成分协同、多途径调控、多靶点干预的治疗模式, 在防治 MAFLD 中展现出广阔的应用前景和科学价值^[4]。

MAFLD 的发生和发展与肝脏炎症密切相关, 而在炎症反应中, 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NLRP3) 炎症小体扮演着关键角色^[5]。MAFLD 状态下, 细胞外炎症因子通过刺激核因子- κ B (NF- κ B), 上调宿主细胞中 NLRP3 炎症小体的关键组分^[6], 包括 NLRP3 本身。凋亡相关斑点样蛋白 (ASC) 负责将已被激活的 NLRP3 与 pro-半胱氨酰天冬氨酸特异性蛋白酶-1 (Caspase-1) 聚集在一起, 形成激活的炎症小体复合物。NLRP3 通过介导

pro-Caspase-1 自身催化裂解, 生成具有活性的 Caspase-1。Caspase-1 进一步切割其下游底物, 最主要的是生成 2 种细胞因子: 白细胞介素-1 β (IL-1 β) 和 IL-18^[7], 这 2 种细胞因子是强大的促炎介质, 能够招募更多的免疫细胞进入肝脏, 加剧肝脏局部的炎症反应, 从而驱动和维持肝脏的慢性炎症, 加速 MAFLD 的进展, 并可能导致肝纤维化、肝硬化甚至肝细胞癌的发生^[8]。黄芪赤风汤 (HQCFT) 由黄芪、赤芍、防风三味药组成, 出自清代王清任的《医林改错》, 具有健脾益气, 疏肝理气、化湿降浊、活血化瘀之功效, 与 MAFLD 的核心病机高度契合。本研究通过高脂饲料喂养 C57BL/6J 小鼠构建 MAFLD 模型, 系统评价了 HQCFT 对肝脏脂质沉积和炎症反应的改善作用, 旨在阐明 HQCFT 通过抑制 NLRP3 炎症小体减轻 MAFLD 的作用机制。

1 材料

1.1 药品与试剂

黄芪、赤芍和防风 (批号 230300301、230403851、230300369) 购自康美药业股份有限公司, 经黑龙江中医药大学药学院药用植物教研室南洋副教授鉴定分别为膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.)

Bge. 的干燥根、毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根、伞形科植物防风 *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. 的干燥根, 符合《中国药典》2025 年版相关标准。根据本课题组前期研究确定 HQCFT 的最佳提取工艺^[9], 按照 10:3:2 的比例分别称取黄芪、赤芍、防风 3 种药材, 置于蒸馏水 (1:10) 中浸泡 1 h 后回流 3 次, 每次 1 h, 合并 3 次的滤液。滤液通过旋转蒸发器进行浓缩并使用真空冷冻干燥机进行冷冻干燥, 然后储存在 -20 °C。HQCFT 的水提提取率为 37.78%, 将冻干的 HQCFT 粉末溶于双蒸水中配制所需浓度。

阿托伐他汀钙片 (Ato, 货号 FR0240, 美国辉瑞生物制药公司); 高脂饲料 (货号 D12492, 脂肪 60%、蛋白质 20%、碳水化合物 20%, 北京小泰有泰生物科技有限公司); 三酰甘油 (TG) 测定试剂盒 (货号 R02802)、总胆固醇 (TC) 测定试剂盒 (货号 R03002)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 测定试剂盒 (货号 A112-1-1)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 测定试剂盒 (货号 R03402), 均购自深圳雷杜生命科学公司; 天冬氨酸氨基转移酶 (AST) (货号 C010-1-1)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT) (货号 C009-1-1), 南京建成生物工程研究所; IL-1 β ELISA 检测试剂盒 (货号 ml037361)、IL-18 ELISA 检测试剂盒 (货号 ml002816), 上海酶联生物科技有限公司; 4% 多聚甲醛溶液 (货号 BL539A, 白鲨生物科技有限公司); NLRP3 (货号 GB114320)、NF- κ B (货号 GB11997)、p-NF- κ B、(货号 GB113882)、Caspase-1 (货号 GB11383)、ASC (货号 GB115270), 武汉赛维尔生物技术有限公司; GAPDH 抗体 (货号 AF1186, 碧云天生物技术有限公司)。

1.2 主要仪器

LC-10N 型冷冻真空干燥机 (上海力辰仪器科技有限公司); Chemray420 型全自动生化仪 (深圳雷杜公司); TGL16E 型离心机 (长沙英泰仪器有限公司); SWE-FP 型低温研磨仪 (武汉赛维尔生物技术有限公司); M200 pro 型酶标仪 (瑞士 Tecan 公司); Leica UC7 超薄切片机 (德国 Leica 公司); R-1020 型旋转蒸发器 (郑州长城科工贸有限公司)。

1.3 实验动物

40 只 C57BL/6J 雄性小鼠, 8 周龄, 体质量 18~22 g, 由辽宁长生生物技术股份有限公司提供, 实验动物生产许可证号 SCXK (辽) 2020-0001。动物

饲养于 SPF 质量标准动物室中, 湿度 (55 \pm 5) %, 温度 (25 \pm 2) °C, 自由饮水与摄食, 12 h 光/暗循环周期。本实验经黑龙江中医药大学实验动物伦理委员会批准 (伦理批准号 2023122801)。

2 方法

2.1 模型的建立

将 32 只 C57BL/6J 小鼠采用高脂饲料与基础饲料混合饲喂, 并在 10 d 内逐步减少基础饲料添加占比、增加高脂饲料占比, 以达到适应性过渡喂养, 后喂食高脂饲料持续 12 周^[10], 8 只对照组小鼠接受正常饲料。将造模小鼠随机分为 4 组: 模型组、Ato (阳性药, 0.005 g \cdot kg⁻¹) 组和 HQCFT 低、高剂量 (1.95、3.90 g \cdot kg⁻¹) 组, 第 13 周开始 ig 给予各剂量 HQCFT 和 Ato, 持续 28 d, 而对照组和模型组给予等量的 0.9% 氯化钠溶液。

2.2 血清和组织样本采集

实验饲养过程中, 每周记录小鼠体质量, 以监测其生长状况。末次给药后对受试动物进行 12 h 禁食处理, 随后, 小鼠摘眼取血, 以 3 500 r \cdot min⁻¹ 离心 15 min 分离血清。处死小鼠迅速取出肝脏组织, 分为 2 份: 一部分用于组织病理学检测, 置于 4% 多聚甲醛固定; 另一部分用于生化检测, 迅速置于 -80 °C 保存。

2.3 肝脏油红 O 染色

肝脏组织切片后于油红 O 染液中染色, 经酒精分化至背景清晰, 复染细胞核, 最后封片。在显微镜下观察并拍照, 以评估肝脏中脂质沉积情况。

2.4 肝脏组织病理学检查

采用苏木精-伊红 (HE) 染色观察肝脏组织病理学, 组织用乙醇脱水, 石蜡包埋, 切片, 脱蜡, 根据说明书对肝脏组织进行 HE 染色, 染色后的切片经乙醇和二甲苯分别进行脱水和透明处理, 并将切片用中性树胶封固。在光学显微镜下观察小鼠肝脏组织病理学形态变化。

2.5 血脂水平检测

使用生化试剂盒检测各组小鼠血清中的 TC、TG、LDL-C、HDL-C 水平。

2.6 肝功能指标测定

采用 ELISA 试剂盒检测各组小鼠血清肝功能指标 ALT、AST 水平。

2.7 血清炎症因子测定

采用 ELISA 试剂盒, 按照说明书中的步骤, 检测各组小鼠血清中炎症细胞因子 IL-1 β 、IL-18 水平。

2.8 分子对接验证

本课题组前期通过指纹图谱建立,检测芍药内酯苷、芍药苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素、黄芪甲苷的含量,从而进行 HQCFT 的质量控制^[11]。据此选择 HQCFT 中的这几种有效成分作为配体,受体选 NLRP3 炎症小体高频靶点。利用 Pubchem 数据库及 PDB 数据库导出核心靶点和核心成分的结构,通过 Auto Dock 软件对 7 种活性成分和核心靶点进行分子对接,预测受体和配体的对接情况,进行可视化。

2.9 Western blotting 检测 NLRP3 炎症小体相关因子蛋白表达

将肝脏样本置于含有蛋白酶抑制剂的裂解缓冲液中进行低温匀浆处理。随后,12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min 取上清,使用 BCA 测定蛋白浓度。提取的蛋白转移至 PVDF 膜上,使用 5% 脱脂牛奶进行膜封闭。随后,将 PVDF 膜与一抗 (p-NF-κB、NF-κB、NLRP3、Caspase-1、ASC、GAPDH) 在 4 °C 下孵育过夜。膜洗涤后,加入二抗孵育 1 h,最后,使用化学发光成像仪采集化学发光图像。

2.10 统计分析

采用 SPSS 23.0 软件进行统计分析,每个实验至少涉及 3 个单独的重复,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析评估对照组与实验组之间的差异。

3 结果

3.1 HQCFT 对 MAFLD 小鼠一般状态的影响

在整个实验过程中,对照组小鼠精神和活动量正常,毛色顺滑发亮,饮食和大小便也没有异常;模型组则出现明显活动量降低,毛发黏连,饮食在造模期较对照组高,在造模成功后相较于对照组有一定减少,大便明显发臭;与模型组比较,HQCFT

2 个剂量组上述症状均有一定改善,此外各组小鼠均无死亡。实验过程中各组小鼠的体质量变化如图 1 所示,与对照组相比,模型组小鼠的体质量升高 17.65%,给予 HQCFT 进行干预后,HQCFT 组体质量增长缓慢,且呈现剂量相关性。

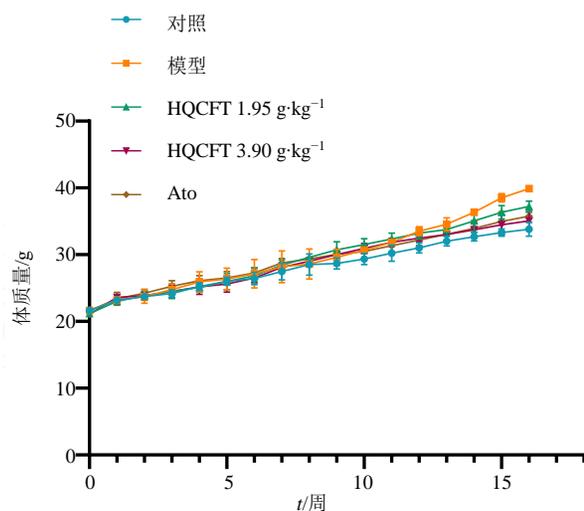


图 1 HQCFT 对 MAFLD 小鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)
Fig. 1 Effect of HQCFT on body weight of MAFLD mice ($\bar{x} \pm s, n=8$)

3.2 HQCFT 对 MAFLD 小鼠肝脏组织脂质沉积的影响

对照组肝脏组织中,存在极少数胞质内可见的微小红色脂滴,整体染色信号微弱;与对照组比较,模型组肝脏组织呈现出显著的油红 O 染色阳性,即模型组肝细胞内充盈着大量脂滴,部分细胞可见巨大的脂滴;与模型组比较,经过 HQCFT 干预后,小鼠肝脏组织中油红 O 染色面积显著减小,脂滴多呈微滴状,且分布于肝细胞质中,大滴脂滴现象大幅减少,脂质沉积及分布明显减少。结果见图 2。

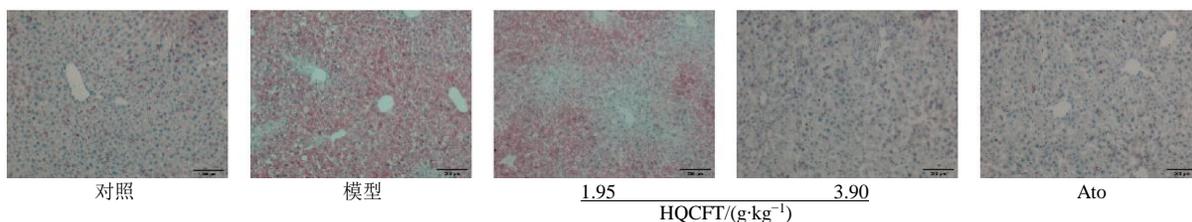


图 2 HQCFT 对 MAFLD 小鼠肝脏组织脂质沉积的影响 (油红 O 染色, ×100)

Fig. 2 Effect of HQCFT on lipid deposition in liver tissue of MAFLD mice (Oil red O staining, ×100)

3.3 HQCFT 对 MAFLD 小鼠肝脏组织病理形态的影响

小鼠肝脏病理学 (图 3) 可见,对照组肝小叶

结构清晰,肝细胞无脂肪变性,细胞核清晰分布于细胞中心;与对照组比较,模型组则出现明显的脂肪脂滴浸润、变性,细胞结构破坏,胞质松散有多

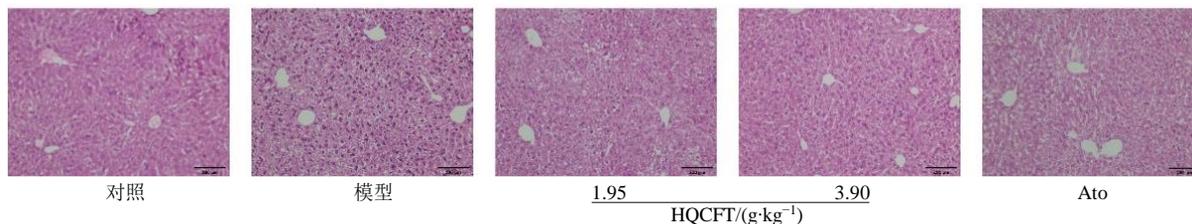


图 3 HQCFT 对 MAFLD 小鼠肝脏病理形态的影响 (HE 染色, ×100)

Fig. 3 Effect of HQCFT on hepatic pathological morphology in MAFLD mice (HE staining, ×100)

个圆形脂肪空泡,肝小叶不清晰,多处肝细胞肿胀;与模型组比较,经过 HQCFT 干预后,小鼠肝脏组织中的上述症状均有不同程度的改善,脂肪空泡细胞明显减少,肝细胞肿胀减轻,提示 HQCFT 可以有效改善肝脏组织的病理损伤和脂质沉积。

3.4 HQCFT 对 MAFLD 小鼠血清生化指标的影响

与对照组比较,模型组小鼠血脂指标 TC、LDL-C 和 HDL-C 均显著升高 ($P < 0.01$);与模型组比较, HQCFT 组血脂指标 TC、LDL-C 和 HDL-C 均

显著降低 ($P < 0.01$)。表明 HQCFT 可以有效降低血脂水平,且呈现剂量相关性,以 HQCFT 高剂量组效果最佳。结果见表 1。

3.5 HQCFT 对 MAFLD 小鼠肝功能的影响

与对照组比较,模型组小鼠肝损伤指标 AST、ALT 均显著升高 ($P < 0.05$);与模型组比较, HQCFT 低剂量组的 AST 显著降低 ($P < 0.05$), HQCFT 高剂量组的 ALT 和 AST 均显著降低 ($P < 0.05$)。结果见表 2。

表 1 HQCFT 对 MAFLD 小鼠血清脂质水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 1 Effect of HQCFT on serum lipid levels in MAFLD mice ($\bar{x} \pm s, n=8$)

| 组别 | 剂量/(g·kg ⁻¹) | TG/(mmol·L ⁻¹) | TC/(mmol·L ⁻¹) | LDL-C/(mmol·L ⁻¹) | HDL-C/(mmol·L ⁻¹) |
|-------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 对照 | — | 0.80 ± 0.06 | 2.93 ± 0.07 | 0.90 ± 0.34 | 0.49 ± 0.08 |
| 模型 | — | 0.90 ± 0.13 | 7.71 ± 1.08** | 2.66 ± 0.03** | 1.40 ± 0.11** |
| HQCFT | 1.95 | 0.84 ± 0.32 | 3.32 ± 0.26## | 0.96 ± 0.25## | 0.58 ± 0.06## |
| | 3.90 | 0.80 ± 0.23 | 3.02 ± 0.28## | 0.92 ± 0.14## | 0.52 ± 0.05## |
| Ato | 0.005 | 0.85 ± 0.45 | 3.09 ± 0.17## | 1.05 ± 0.16## | 0.56 ± 0.10## |

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$ 。
** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs model group.

表 2 HQCFT 对 MAFLD 小鼠肝功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Effect of HQCFT on liver function in MAFLD mice ($\bar{x} \pm s, n=8$)

| 组别 | 剂量/(g·kg ⁻¹) | AST/(U·L ⁻¹) | ALT/(U·L ⁻¹) |
|-------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 对照 | — | 85.80 ± 6.37 | 46.55 ± 6.32 |
| 模型 | — | 116.84 ± 8.46* | 82.95 ± 9.21* |
| HQCFT | 1.95 | 99.82 ± 6.63# | 79.59 ± 4.67 |
| | 3.90 | 94.58 ± 8.74# | 67.16 ± 5.46# |
| Ato | 0.005 | 94.40 ± 5.20# | 60.28 ± 8.75# |

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ 。
* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group.

3.6 HQCFT 对 MAFLD 小鼠血清炎症因子的影响

与对照组比较,模型组小鼠血清炎症介质指标 IL-1β、IL-18 均显著升高 ($P < 0.01$);与模型组比

较, HQCFT 高剂量组小鼠 IL-1β、IL-18 水平显著降低 ($P < 0.05, 0.01$)。结果见表 3。

表 3 HQCFT 对 MAFLD 小鼠血清炎症因子水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 3 Effect of HQCFT on serum inflammatory factors in MAFLD mice ($\bar{x} \pm s, n=8$)

| 组别 | 剂量/(g·kg ⁻¹) | IL-1β/(ng·L ⁻¹) | IL-18/(ng·L ⁻¹) |
|-------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 对照 | — | 14.89 ± 2.33 | 21.27 ± 3.45 |
| 模型 | — | 31.06 ± 2.21** | 61.34 ± 3.67** |
| HQCFT | 1.95 | 29.04 ± 1.28 | 56.94 ± 2.70 |
| | 3.90 | 25.83 ± 1.39## | 54.72 ± 4.52# |
| Ato | 0.005 | 23.49 ± 1.05## | 54.23 ± 1.78## |

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。
** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group.

3.7 HQCFT 活性成分与核心靶点蛋白分子对接可视化

分子对接实验旨在预测 7 种核心成分与高频核心靶点基因的结合能力。对接效力以结合能为评价标准，结合能数值越小，表明配体与受体的结合越紧密，结合活性越优，所有计算得到的结合能均小于 $-27.20 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 。基于对接结果，对每个核心靶点与其结合活性最高的化合物进行了可视化分析。结

果见图 4、5。

3.8 HQCFT 对 NLRP3 炎症小体相关蛋白的影响

与对照组相比，模型组细胞中 p-NF- κ B/NF- κ B、NLRP3、Caspase-1 和 ASC 的蛋白表达均显著上调 ($P < 0.05, 0.01$)；与模型组相比，HQCFT 高剂量组肝脏中 p-NF- κ B/NF- κ B、NLRP3、Caspase-1 和 ASC 蛋白的表达明显下调 ($P < 0.05, 0.01$)，HQCFT 低剂量组肝脏中 NLRP3 蛋白的表达显著下调 ($P <$

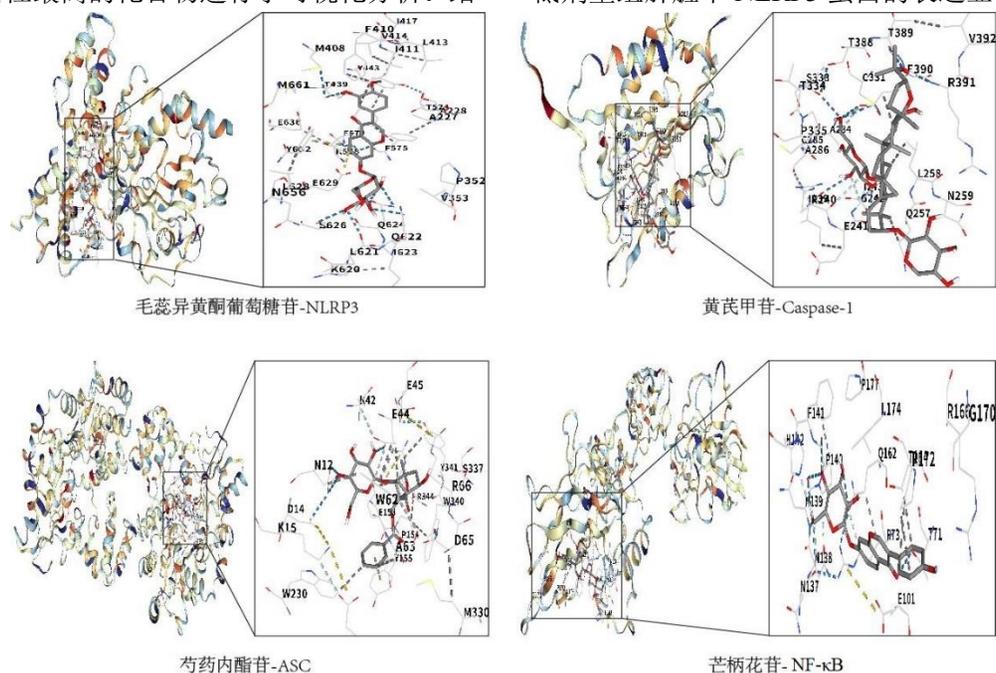


图 4 活性成分与核心靶点蛋白分子对接可视化

Fig. 4 Visualization of molecular docking between active components and core target proteins

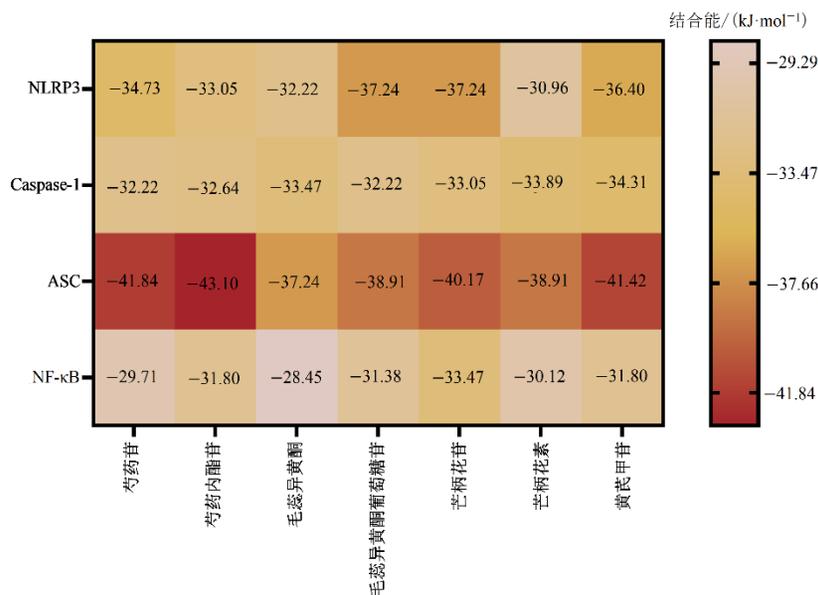


图 5 活性成分与核心靶点蛋白分子对接的结合能

Fig. 5 Binding energy of molecular docking between active components and core target protein

0.05), Ato 组肝脏中 NLRP3、ASC 和 Caspase-1 的蛋白表达显著下调 ($P < 0.05$ 、0.01)。结果见图 6 和表 4。

4 讨论

典型的 MAFLD 病理特征,包括肝脏脂肪堆积、肝细胞损伤、炎症细胞浸润和纤维化,中医学无“代谢相关脂肪性肝病”病名记载,根据其临床表现归属于“胁痛”“积证”“肥气”等范畴。初病多责于饮食不节、喜食肥甘、先天禀赋不足、劳累过度等^[12],致脾胃健运失司,水谷精微运化异常,壅滞肝络,体内肥浊之气蓄积于肝;情志内伤,损伤肝木,致肝气郁结,肝失疏泄,湿浊停聚内生,长期的湿浊内蕴,日久化痰,并阻滞气血运行,形成“痰湿内阻”“肝郁脾虚”的病机,脂类物质(“膏脂”)遂沉淀于肝,导致肝脏脂肪变性。湿浊、痰浊与肝气郁结相互影响,形成湿、痰、瘀、虚交织的复杂

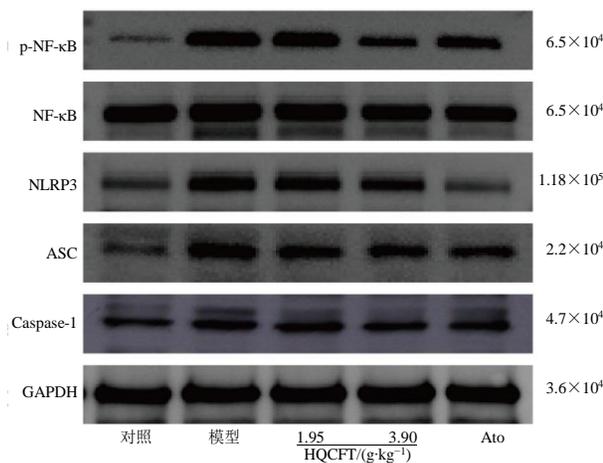


图 6 小鼠肝脏组织 NF-κB、p-NF-κB、ASC、NLRP3、Caspase-1 蛋白表达

Fig. 6 NF-κB, p-NF-κB, ASC, NLRP3, and Caspase-1 protein expression in mice liver tissue

表 4 HQCFT 对 MAFLD 小鼠肝脏脂质代谢相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 4 Effect of HQCFT on expression of liver lipid metabolism-related proteins in MAFLD mice ($\bar{x} \pm s, n=3$)

| 组别 | 剂量/(g·kg ⁻¹) | p-NF-κB/NF-κB | NLRP3/GAPDH | ASC/GAPDH | Caspase-1/GAPDH |
|-------|--------------------------|----------------|---------------|----------------|-----------------|
| 对照 | — | 0.42 ± 0.10 | 0.42 ± 0.04 | 0.41 ± 0.01 | 0.35 ± 0.09 |
| 模型 | — | 0.87 ± 0.17* | 0.66 ± 0.09** | 0.61 ± 0.08** | 0.60 ± 0.06** |
| HQCFT | 1.95 | 0.86 ± 0.07 | 0.61 ± 0.09# | 0.53 ± 0.07 | 0.49 ± 0.06 |
| | 3.90 | 0.52 ± 0.12### | 0.49 ± 0.08# | 0.44 ± 0.07### | 0.38 ± 0.05### |
| Ato | 0.005 | 0.76 ± 0.11 | 0.43 ± 0.09# | 0.47 ± 0.04# | 0.41 ± 0.07### |

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ### $P < 0.01$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ### $P < 0.01$ vs model group.

病理机制。治疗以健脾益气,疏肝理气、化湿降浊、活血化瘀为主要原则,同时加强运动、控制饮食而达到治疗目的^[13]。HQCFT 出自清代王清任的《医林改错》,在中医理论指导下,黄芪赤芍风汤的组方理念与 MAFLD 的病机有着高度的契合性。本方由黄芪、赤芍、防风 3 味药组成,方中黄芪为君,其性温,味甘,归脾、肺经,补气升阳、健脾补中、增强脾胃对水谷精微的运化能力,其“补气”之效恰可针对 MAFLD 中可能存在的“脾虚”或“气虚”基础,改善身体的运化功能,从源头减少湿浊之气;“升阳”则有助于疏通气机。赤芍为臣,其辛、微苦,微寒,归肝、脾经,具有活血化瘀、散瘀止痛之效,其“活血化瘀”之能,可针对 MAFLD 过程中可能出现的“血瘀”或“血脂异常”等病理表现,促进血液循环,改善代谢产物的淤滞。防风为佐引经,辛、微温,归肝、肺、脾、肾经,具有祛风解表、

胜湿止痛、止痒之功,其“祛风”之能,在 MAFLD 中可理解为疏达肝气、散化湿邪,缓解肝气郁结之症并助脾胃运化。三药配伍,意在通过“补气”以固其本,改善整体代谢动能,“活血散瘀”以治其标,改善肝脏淤滞和脂质代谢,“祛风疏邪”以助运化,从而整体改善 MAFLD 患者的肝脏脂质代谢紊乱。黄芪作为传统补益类药物,其主要活性成分黄芪皂苷和黄芪多糖已被证实具有抗炎、抗氧化、改善脂代谢和保护肝脏的功能。现有研究表明^[14],黄芪也能调节 NLRP3 炎症小体,可能通过抑制 NF-κB 通路或清除活性氧 (ROS) 来发挥作用。赤芍性凉,具有清热凉血、和营止痛的功效。其主要活性成分为芍药苷等,具有抗炎、抗氧化、改善微循环、抑制血栓等作用。赤芍^[15]也被报道能够抑制 NLRP3 炎症小体的激活。HQCFT 的使用可以降低肝脏组织中 NLRP3 蛋白的表达水平,有效抑制 ASC 聚集,

降低 Caspase-1 活性, 以及使 NF- κ B 的通路活性减弱, 同时, 下游炎症细胞因子 IL-1 β 、IL-18 的表达和分泌也随之减少, 表明 HQCFT 抑制了炎症小体激活和炎症反应, 从而减轻肝脏脂肪变性、炎症和损伤, 为 MAFLD 的防治提供了一种有潜力的中医药策略。HQCFT 的使用体现了“君臣佐使”的中医理论, 黄芪的补益和调升体质作用, 辅以赤芍的清热和抗炎作用, 共同为抑制 MAFLD 炎症和脂质代谢紊乱提供了良好的基础, HQCFT 通过协同作用, 在更广泛的层面上干预 MAFLD 的病理过程。全方配伍精妙, 尽显调治气血之大义^[16]。本实验经过 HQCFT 的治疗, 由小鼠肝脏组织显示, 脂肪空泡体积和数量减少, 炎症浸润降低, 脂质沉积减少, 血清中 ALT、AST 显著降低, 表明肝细胞损伤得到有效缓解。本研究结果表明, HQCFT 能够显著改善高脂饲料喂养的 C57BL/6J 小鼠的 MAFLD 病变, 减少炎症反应, 减轻肝脏脂质沉积。

然而, MAFLD 并不仅仅局限于脂质代谢紊乱, 炎症反应是其进展和加重的重要驱动因素。血清中 TC、LDL-C、HDL-C 水平显著下降, 证明炎症反应得到有效缓解, NLRP3 炎症小体已被公认为是 MAFLD 进展的关键驱动因素^[17], 也被广泛认为是细胞内炎症的效应因子^[18], NLRP3 炎症小体激活的起始步骤由细胞外炎症兴奋剂提供, 刺激 Toll 样受体 (TLRs), 然后诱导 NF- κ B 激活, 促进 NLRP3、pro-IL-1 β 和 pro-IL-18 的表达。接着细胞表面嘌呤能受体 X7 激活, 受损的线粒体释放大量 ROS, 诱导 NLRP3 炎症小体的激活。NLRP3 炎症小体的激活可导致 ASC 和 Caspase-1 的募集, 以及促进促炎因子的成熟并发挥炎症作用^[19], 特别是 IL-1 β 和 IL-18, 已被证实会直接加剧肝脏炎症^[7]。有研究表明, MAFLD 患者肝脏中 NLRP3 及其下游产物 IL-1 β 的表达水平显著升高, 且这些指标的升高与疾病的严重程度、炎症、纤维化风险呈正相关。动物模型实验也证实, 敲除 NLRP3 或使用 NLRP3 抑制剂能够显著减轻 MAFLD 相关的肝脏炎症和脂质沉积, 延缓疾病进展^[17, 20]。因此, NLRP3 炎症小体已成为治疗 MAFLD 的新兴靶点^[21]。

然而, 目前关于 HQCFT 治疗 MAFLD 的研究仍存在一些不足, 例如缺乏高质量的临床随机对照试验, 其具体作用机制尚未完全阐述。未来需要进一步开展深入研究, 为 HQCFT 的临床应用提供更充分的科学依据。虽然本研究可能未直接评估纤维

化, 但长期炎症是肝纤维化发生发展的重要驱动力。通过抑制炎症, HQCFT 有望间接减缓或阻止 MAFLD 向肝纤维化进展。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Eslam M, Sanyal A J, George J. MAFLD: A consensus-driven proposed nomenclature for metabolic associated fatty liver disease [J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(7): 1999-2014.e1.
- [2] Šmíd V, Dvořák K, Šedivý P, et al. Effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids on lipid metabolism in patients with metabolic syndrome and NAFLD [J]. *Hepato Commun*, 2022, 6(6): 1336-1349.
- [3] Eslam M, Newsome P N, Sarin S K, et al. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement [J]. *J Hepatol*, 2020, 73(1): 202-209.
- [4] Wu D J, Liu J, Guo Z W, et al. Natural bioactive compounds reprogram bile acid metabolism in MAFLD: Multi-target mechanisms and therapeutic implications [J]. *Int Immunopharmacol*, 2025, 157: 114708.
- [5] Colak Y, Hasan B, Erkalma B, et al. Pathogenetic mechanisms of nonalcoholic fatty liver disease and inhibition of the inflammasome as a new therapeutic target [J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2021, 45(4): 101710.
- [6] Wayal V, Wang S D, Hsieh C C. Novel bioactive peptides alleviate Western diet-induced MAFLD in C57BL/6J mice by inhibiting NLRP3 inflammasome activation and pyroptosis via TLR4/NF- κ B and Keap1/Nrf2/HO-1 signaling pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2025, 148: 114177.
- [7] Huby T, Gautier E L. Immune cell-mediated features of non-alcoholic steatohepatitis [J]. *Nat Rev Immunol*, 2022, 22(7): 429-443.
- [8] Minami Y, Hoshino A, Higuchi Y, et al. Liver lipophagy ameliorates nonalcoholic steatohepatitis through extracellular lipid secretion [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 4084.
- [9] 王秋月, 刘舒毓, 刘树民. 黄芪赤风汤的提取工艺研究 [J]. *华西药学杂志*, 2022, 37(3): 311-314.
Wang Q Y, Liu S Y, Liu S M. Study on extraction technique of Huangqi Chifeng Decoction [J]. *West China J Pharm Sci*, 2022, 37(3): 311-314.
- [10] Xu T, Chen J H, Shao Q, et al. The *Coptidis Rhizoma* and *Bovis Calculus* herb pair attenuates NASH and inhibits the NLRP3 inflammasome activation [J]. *Heliyon*, 2024, 10(14): e34718.

- [11] 袁晋, 王秋月, 刘树民. 黄芪赤风汤指纹图谱建立及主要成分含量测定 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(1): 69-73.
Yuan J, Wang Q Y, Liu S M. Establishment of fingerprint and determination of main components of Huangqi Chifeng Decoction (黄芪赤风汤) [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med, 2024, 26(1): 69-73.
- [12] 陈俊杰, 陈雅璐, 李春夏, 等. 中医药防治非酒精性脂肪性肝病研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2025, 21(4): 232-237.
Chen J J, Chen Y L, Li C X, et al. Research progress in the prevention and treatment of non-alcoholic fatty liver disease with traditional Chinese medicine [J]. Asia Pac Tradit Med, 2025, 21(4): 232-237.
- [13] 郑嘉文, 郑黎明, 裘璟. 郑玉麒治疗非酒精性脂肪肝经验浅析 [J]. 浙江中医杂志, 2024, 59(5): 402.
Zheng J W, Zheng L M, Qiu J. Zheng Yuqi's experience in treating nonalcoholic fatty liver [J]. Zhejiang J Tradit Chin Med, 2024, 59(5): 402.
- [14] Zhang J, Feng Q S. Pharmacological effects and molecular protective mechanisms of Astragalus Polysaccharides on nonalcoholic fatty liver disease [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 854674.
- [15] Guo N, Geng Q Q, Wang Y, et al. Paeoniflorin alleviates metabolic dysfunction-associated fatty liver disease by targeting STING-mediated pyroptosis via inhibiting the NLRP3 inflammasome [J]. Am J Chin Med, 2025, 53(5): 1521-1543.
- [16] 梁玉琴, 付佳琪, 石云鹤, 等. 基于 16S rRNA 测序技术和代谢组学探讨黄芪赤风汤抗动脉粥样硬化的作用机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(13): 94-103.
Liang Y Q, Fu J Q, Shi Y H, et al. Mechanism of Huangqi Chifengtang in treating atherosclerosis based on 16S rRNA sequencing and metabolomics [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2025, 31(13): 94-103.
- [17] Osman H A, Abuhamdah S M A, Hassan M H, et al. NLRP3 inflammasome pathway involved in the pathogenesis of metabolic associated fatty liver disease [J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 19648.
- [18] Wang L, Hauenstein A V. The NLRP3 inflammasome: Mechanism of action, role in disease and therapies [J]. Mol Aspects Med, 2020, 76: 100889.
- [19] Huang Q, Xin X, Sun Q M, et al. Plant-derived bioactive compounds regulate the NLRP3 inflammasome to treat NAFLD [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 896899.
- [20] Bakhshi S, Shamsi S. MCC950 in the treatment of NLRP3-mediated inflammatory diseases: Latest evidence and therapeutic outcomes [J]. Int Immunopharmacol, 2022, 106: 108595.
- [21] Yang G, Jang J H, Kim S W, et al. Sweroside prevents non-alcoholic steatohepatitis by suppressing activation of the NLRP3 inflammasome [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(8): 2790.

[责任编辑 兰新新]