



DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2014.08.010

www.csumed.org/xbwk/fileup/PDF/201408811.pdf

游离脂肪酸对THP-1巨噬细胞NALP3炎性通路的影响

付丽瑶, 周伏喜, 王学红, 卢放根

(中南大学湘雅二医院消化内科, 长沙 410011)

[摘要]目的: 探讨 NALP3 炎性小体在非酒精性脂肪性肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis, NASH) 的炎症发生发展中的可能作用。方法: 选择 THP-1 构建体外巨噬细胞模型, 用不同浓度的棕榈酸干预 24 h; 用不同浓度的 N-乙酰半胱氨酸 (N-acetylcysteine, NAC) 预处理细胞后加入高浓度的棕榈酸孵育 24 h。分别用活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 指示剂结合流式细胞仪检测 THP-1 中 ROS 的变化; ELISA 检测细胞上清液中 IL-1 β 的浓度; 免疫荧光技术检测 NALP3, caspase-1 蛋白的表达; 荧光定量 PCR 检测 NALP3 蛋白复合体各组分 (NALP3, ASC, caspase-1)mRNA 的表达水平。结果: 与空白组相比, 各棕榈酸组细胞内 ROS 增加, NALP3 和 caspase-1 蛋白表达及其分泌 IL-1 β 水平均增加 ($P < 0.05$), 并随棕榈酸浓度增加而增强; NAC 预处理后, 与单纯棕榈酸组相比, 各 NAC 组 THP-1 产生 ROS 水平均下降, 同时 NALP3 和 caspase-1 蛋白表达水平, NALP3 复合体各组分 mRNA 水平及其分泌 IL-1 β 的能力均降低 ($P < 0.05$), 此抑制作用随 NAC 浓度增加而增强。结论: 游离脂肪酸可通过产生 ROS 调节巨噬细胞 NALP3 炎性小体信号通路的活化引起炎症因子分泌, 该通路可能是 NASH 的发病机制之一。

[关键词] 棕榈酸; THP-1 巨噬细胞; 活性氧; NALP3; 炎性小体

Effect of free fatty acid on NALP3 inflammasome signaling pathway in THP-1 macrophages

FU Liyao, ZHOU Fuxi, WANG Xuehong, LU Fanggen

(Department of Gastroenterology, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

Abstract

Objective: To investigate the potential effect of NALP3 inflammasome on the occurrence and development of nonalcoholic steatohepatitis (NASH).

Methods: THP-1 macrophages were cultured for 24 h by palmitic acid at various concentrations. The THP-1 macrophages were pretreated with N-acetyl-cysteine at different doses for 24 h before the palmitic acid cultivation. ROS production was determined by flow cytometry. The expression of IL-1 β was detected by ELISA; the expressions of NALP3 protein and caspase-1 protein were detected by immunofluorescence; NALP3, ASC, and caspase-1 mRNA were measured by real-time PCR.

Results: Compared with the THP-1 macrophages without palmitic acid, the level of ROS, NALP3 protein and caspase-1 protein, and the expression of IL-1 β were increased after palmitic acid

收稿日期(Date of reception): 2014-04-22

作者简介(Biography): 付丽瑶, 硕士, 医师, 主要从事非酒精性脂肪肝方面的研究。

通信作者(Corresponding author): 周伏喜, Email: fuxizhou@163.com

treatment in a dose dependent manner ($P < 0.05$). Compared with the THP-1 macrophages with palmitic acid (400 $\mu\text{mol/L}$), the level of NALP3 mRNA ($P < 0.05$), the level of NALP3 protein and caspase-1 protein ($P < 0.05$), the expression of IL-1 β ($P < 0.05$) were decreased after preadministration of N-acetyl-cysteine in a dose dependent manner.

Conclusion: ROS induced by free fatty acid can regulate the activation of NALP3 inflammasome signaling pathway leading to the release of inflammatory cytokines. This pathway may be the possible mechanism of NASH.

Keywords palmitic acid; THP-1 macrophages; ROS; NALP3; inflammasome

非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)是一种无过量饮酒史(乙醇摄入量 $< 20 \text{ g/d}$)可进展为终末期肝病的疾病,以脂肪浸润,肝组织的炎症反应及肝细胞损害和纤维化为特点。近年来非酒精性脂肪肝的发病率呈上升趋势^[1],且NASH患者10~15年内肝硬化发生率高达15%~25%,同时8%的NASH患者可进展为肝癌等严重肝病^[2]。但NASH发病机制尚未完全清楚,目前被广为接受的是Day等^[3]的“二次打击”学说,而第2次打击是一个多因子的过程,其中多种原因产生的ROS所致的氧应激和脂质过氧化损伤是导致肝组织炎症反应的关键^[4-5]。而近年来一类激活途径与ROS密切相关的蛋白复合体——NALP3炎性小体是由核苷酸结合寡聚化结构域样受体(nucleotide-binding oligomerization domainlike receptors, NLRs)家族成员NALP3、衔接蛋白ASC以及效应蛋白caspase-1组成的多蛋白复合体,在2型糖尿病、痛风、动脉粥样硬化等非感染性炎症疾病中的作用日益受到关注^[6-9],其调控的下游炎性因子如IL-1 β , IL-18与NASH患者存在的胰岛素抵抗、炎症反应等密切相关^[10]。目前已有研究通过构建动物模型证实NALP3炎性小体参与了NASH的炎症反应^[11]。但是关于NALP3炎性小体与NASH炎性损伤具体机制的文献报道较少。本实验利用人源单核巨噬细胞(THP-1巨噬细胞)模型探讨游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)对NALP3炎性小体及下游产物的作用,以阐明NASH的发病机制和探索新的相关疾病的治疗途径。

1 材料与方法

1.1 材料

棕榈酸(palmitic acid, PA)、N-乙酰半胱氨酸(N-Acetyl-L-cysteine, NAC)、2', 7'-二氯荧光黄双乙酸盐(DCFH-DA)、荧光二抗CY3, FITC购自美国Sigma公司; IL-1 β ELISA试剂盒购自北

京达科为生物技术有限公司; NALP3蛋白一抗购自英国Abcam公司; caspase-1蛋白一抗购自美国Epitomic公司; 反转录试剂盒购自美国Fermentas公司; TRIzol试剂购自美国Invitrogen公司; THP-1人单核细胞株购自上海生命科学研究所以。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

选取THP-1人单核细胞株按照美国典型物培养中心的说明书进行培养和传代。THP-1培养于含有10%胎牛血清、1%谷氨酰胺的RPMI 1640培养基中,置于37 $^{\circ}\text{C}$, 5%CO₂培养箱内静置培养,待细胞生长良好,进入指数生长阶段,进行细胞干预试验。每次实验前于6孔板中分别接种 1×10^6 个THP-1细胞悬液(2 mL/孔)。用含100 nmol/L PMA的完全培养基孵育72 h,可见80%的细胞由悬浮状态变为贴壁状态,且细胞形态由圆形变为梭形、椭圆形、不规则形,提示单核细胞已分化为巨噬细胞,诱导其分化为THP-1巨噬细胞后换无血清培养基12 h即可进行后续实验。

1.2.2 分组

实验分为两大组。其中第1大组分为以下亚组: 1)空白对照组(含BSA), 2)不同浓度(50, 100, 200, 400 $\mu\text{mol/L}$)PA孵育组。第2大组分为以下亚组: 1)空白组(400 $\mu\text{mol/L}$ PA处理), 2)经不同浓度(12.5, 25, 50, 100 mmol/L)NAC预处理后再加入高浓度PA(400 $\mu\text{mol/L}$)继续培养。孵育24 h取上清液用于ELISA检测IL-1 β , 所得细胞用于余下实验。

1.3 ELISA测定IL-1 β

将THP-1细胞诱导为巨噬细胞后,换无血清培养基培养12 h,经上述两种处理后取上清液4 $^{\circ}\text{C}$, 3 000 r/min,离心10 min,过滤后-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。检测前从低温冰箱中取出置于室温中冻融后混匀,采用双抗体夹心ELISA法,严格按照说明书测定IL-1 β 。

1.4 流式细胞仪检测细胞内ROS

对数生长期细胞进行上述干预24 h, 调整细胞浓度至 $(1\sim 10)\times 10^6/\text{mL}$, 加入终浓度为 $10\ \mu\text{mol/L}$ 的DCFH-DA, 于培养箱中静置1 h, 清洗去除未进入细胞内的DCFH-DA, 重悬细胞后上流式细胞仪检测。测定激发光485 nm, 发射光530 nm处荧光F值

1.5 免疫荧光法检测THP-1内NALP3, caspase-1蛋白的表达

将THP-1细胞培养于6孔板内待细胞被诱导为巨噬细胞后, 换无血清培养基培养12 h, 加入不同浓度的NAC处理10 min后加入PA处理24 h, PBS冲洗, 3.7%冰多聚甲醛固定10 min, 洗涤, 0.25% Tritonx-100破膜, 静置30 min后冲洗, 5% BSA封闭1 h, 加入NALP3一抗及caspase-1一抗, 4 °C孵育过夜, 次日37 °C复温1 h, 洗涤, 孵育CY3, FITC两种荧光二抗, 常温避光45 min, 洗涤, 荧光显微镜观察。

免疫荧光强度的判定方法如下: 荧光闪亮, 呈明显的亮绿色为(+++)~(+++); 荧光明亮, 呈绿色为(++); 荧光较弱, 但清楚可见为(+); 极弱的可疑荧光为(\pm); 无荧光为(-)。

1.6 荧光定量PCR检测NALP3蛋白复合体各组分mRNA表达

按TRIzol说明书提取组织总RNA。取2 μg 总RNA反转录成cDNA, 反转录产物进行 β -actin, NALP3, caspase-1, ASC基因扩增。PCR引物由生工生物工程(上海)有限公司合成, 引物序列如下。NLRP3-F:5'-CCAAGCCAGGGCAGCCTTCA-3', NLRP3-R:5'-GGAAGAAGACGTACACC-3'; ASC-F:5'-CAGGCCCTCCTCAGTCGGCA-3', ASC-R:5'-CCACTCAACGTTTGTGACCCT-3'; Caspase1-F:5'-ATTATTACAGACAAGGGTG-3', Caspase1-R:5'-CCCAGCGTCCCTGCCAGGT-3'; actin-F:5'-CATCCTGCGTCTGGACCTGG-3', actin-R:5'-TAATGTCACGCACGATTTCC-3'。PCR反应程序: 50 °C, 2 min; 95 °C, 10 min; 95 °C, 15 s; 60 °C, 1 min; 扩增40个循环。每一次反应均设阴性平行对照组, 实验重复3次。采用Delta-delta Ct法分析目的基因的相对表达量。

1.7 统计学处理

采用SPSS16.0统计软件包进行统计分析。所有数据以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 组间的比较用单

因素方差分析(One-way ANOVA), 两两比较采用最小显著差法(LSD)检验。检验水准设为 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PA对THP-1内ROS, IL-1 β 的影响

与对照组比较, PA孵育呈剂量依赖性地增加THP-1单核巨噬细胞的平均荧光强度, 即增加ROS的产生($P<0.05$, 图1A), 并且PA孵育呈剂量依赖性地增加THP-1巨噬细胞分泌IL-1 β ($P<0.05$, 图1B)。

2.2 NAC预处理对PA刺激THP-1产生ROS, IL-1 β 的影响

在固定PA浓度时, 加入不同剂量的NAC, 细胞内荧光强度随着NAC量的增加呈递减趋势, 结合该指示剂的特性, 可认为ROS产生减少($P<0.05$, 图2A), 并且NAC呈剂量依赖性减少THP-1巨噬细胞分泌IL-1 β ($P<0.05$, 图2B)。

2.3 NAC预处理对PA孵育刺激的THP-1细胞NALP3炎性复合体各组分mRNA表达水平的影响

与对照组相比, 随着NAC浓度的增加, THP-1细胞NALP3, caspase-1, ASC mRNA表达水平逐渐减弱($P<0.05$, 图3)。

2.4 THP-1细胞内NALP3, caspase-1蛋白的变化

2.4.1 不同浓度PA对THP-1细胞内NALP3, caspase-1蛋白表达的影响

免疫荧光染色结果显示: 空白组THP-1细胞胞浆内可见较弱绿色及红色荧光, 荧光强度为(+), 随着PA浓度增加, NALP3及caspase-1蛋白表达显著增加, 表现为胞内可见绿色以及红色荧光, 荧光强度为(++~+++)(图4)。

2.4.2 不同浓度NAC预处理对PA刺激的THP-1巨噬细胞NALP3, caspase-1蛋白表达的影响

免疫荧光染色结果显示: 单纯PA干预的THP-1细胞胞浆内可见较强绿色以及红色荧光, 荧光强度为(+++), 随着NAC浓度增加, NALP3及caspase-1表达下降, 表现为胞内可见绿色以及红色荧光强度下降, 荧光强度为(+~++)(图5)。

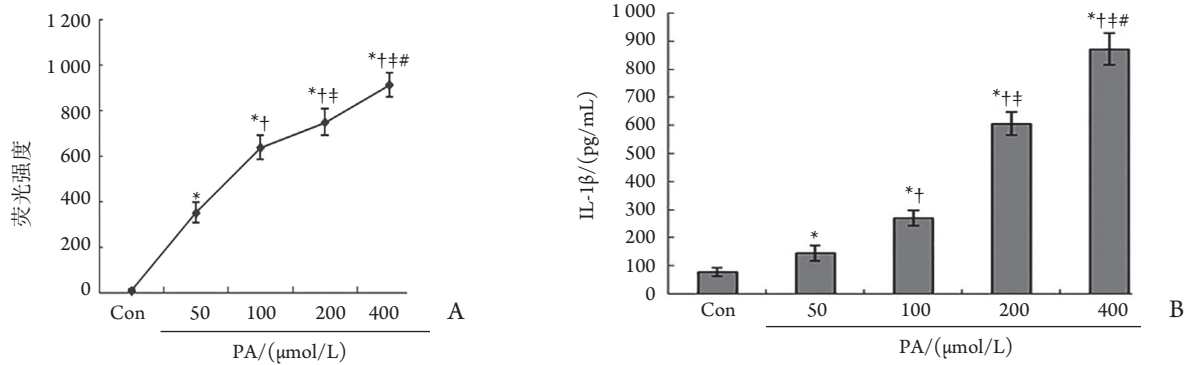


图1 不同浓度 PA(0~400 μmol/L) 对 THP-1 细胞产生 ROS, IL-1β 的影响 ($n=9, \bar{x} \pm s$)

Figure 1 Effect of PA (0~400 μmol/L) on the level of ROS, IL-1β in THP-1 macrophages ($n=9, \bar{x} \pm s$)

A: Fluorescence intensity determined by flow cytometry; B: Change of IL-1β level determined by ELISA. * $P<0.05$ vs Control; † $P<0.05$ vs group of 50 μmol/L PA; ‡ $P<0.05$ vs group of 100 μmol/L PA; # $P<0.05$ vs group of 200 μmol/L PA

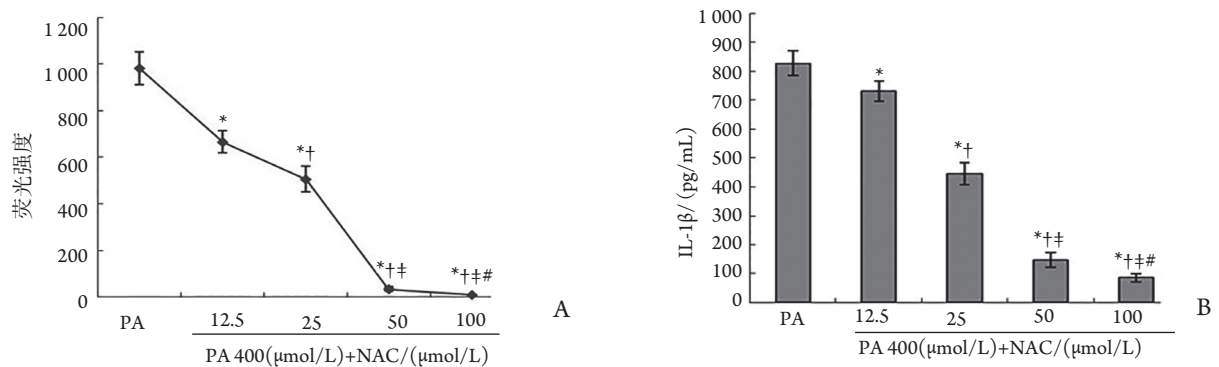


图2 不同浓度 NAC(0~100 mmol/L) 预处理对 PA(400 μmol/L) 刺激 THP-1 细胞产生 ROS, IL-1β 的影响 ($n=9, \bar{x} \pm s$)

Figure 2 Effect of NAC (0~100 mmol/L) on the level of PA(400 μmol/L)-induced ROS, IL-1β in THP-1 macrophages ($n=9, \bar{x} \pm s$)

A: Fluorescence intensity determined by flow cytometry; B: Change of IL-1β level determined by ELISA. * $P<0.05$ vs group of PA; † $P<0.05$ vs group of PA+12.5 μmol/L NAC; ‡ $P<0.05$ vs group of PA+25 μmol/L NAC; # $P<0.05$ vs group of PA+50 μmol/L NAC

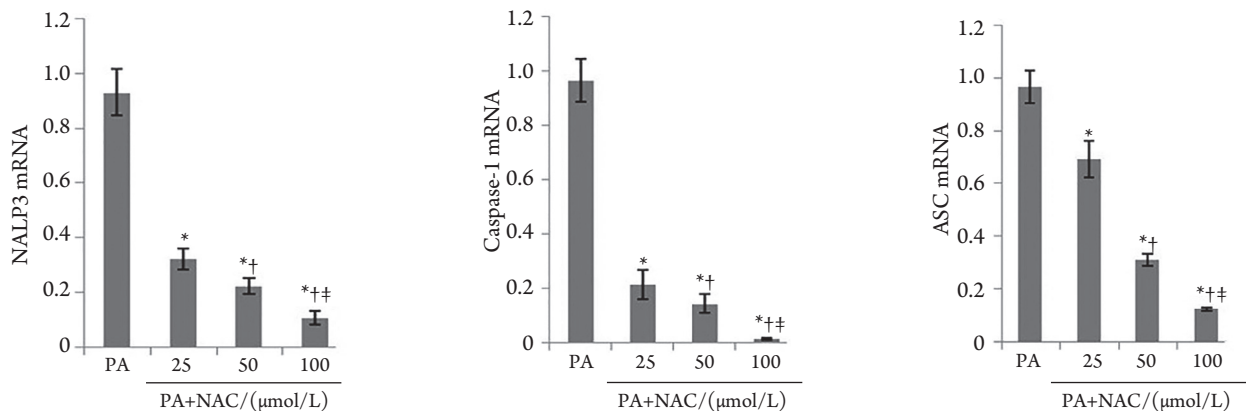


图3 不同浓度 NAC 预处理对 PA(400 μmol/L) 刺激的 THP-1 细胞 NALP3, caspase-1, ASC mRNA 表达水平的影响 ($n=9, \bar{x} \pm s$)

Figure 3 Effect of NAC (0~100 mmol/L) on the level of PA (400 μmol/L)-induced NALP3, caspase-1, ASC mRNA in THP-1 ($n=9, \bar{x} \pm s$)

* $P<0.05$ vs group of PA; † $P<0.05$ vs group of PA+25 μmol/L NAC; ‡ $P<0.05$ vs group of PA+50 μmol/L NAC

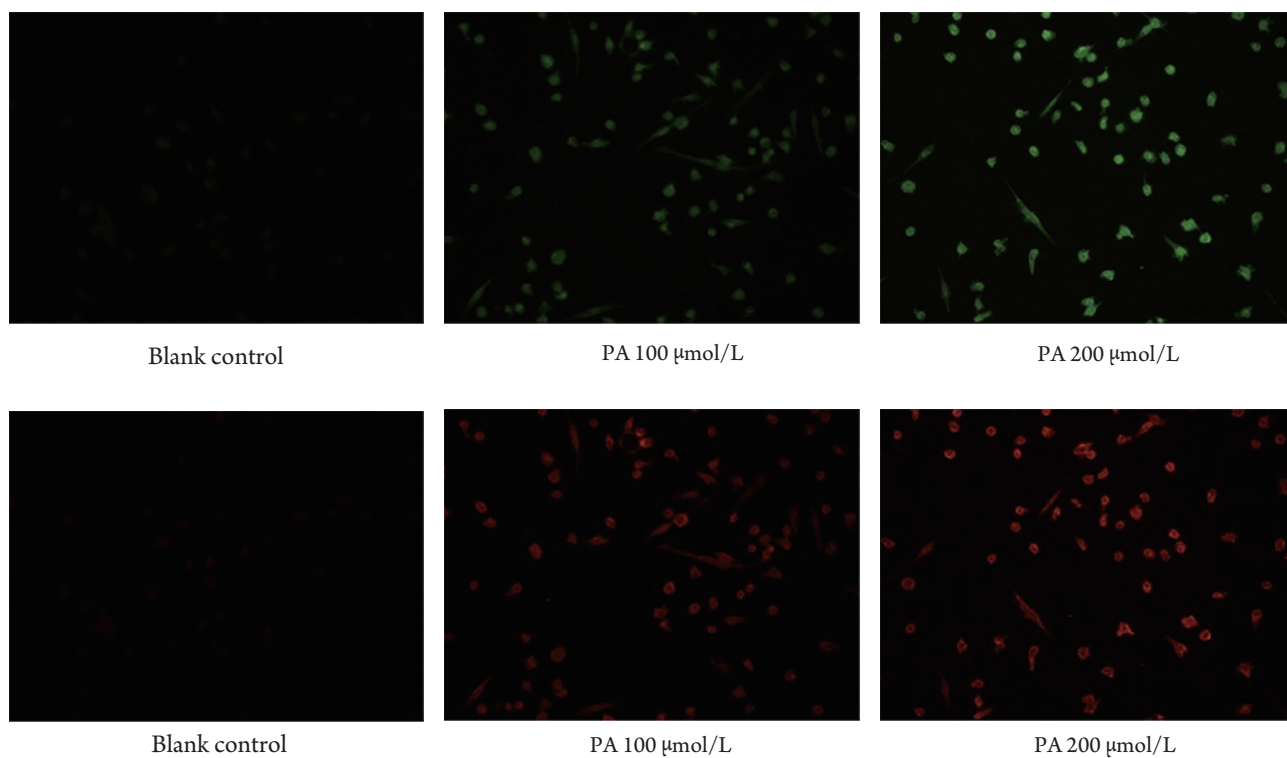


图 4 免疫荧光染色显示不同浓度 PA 对 NALP3 蛋白 (上) 和 caspase-1 (下) 表达的影响

Figure 4 Immunofluorescence staining showing the effect of PA on the NALP3 (upper) and caspase-1 (lower) protein expression

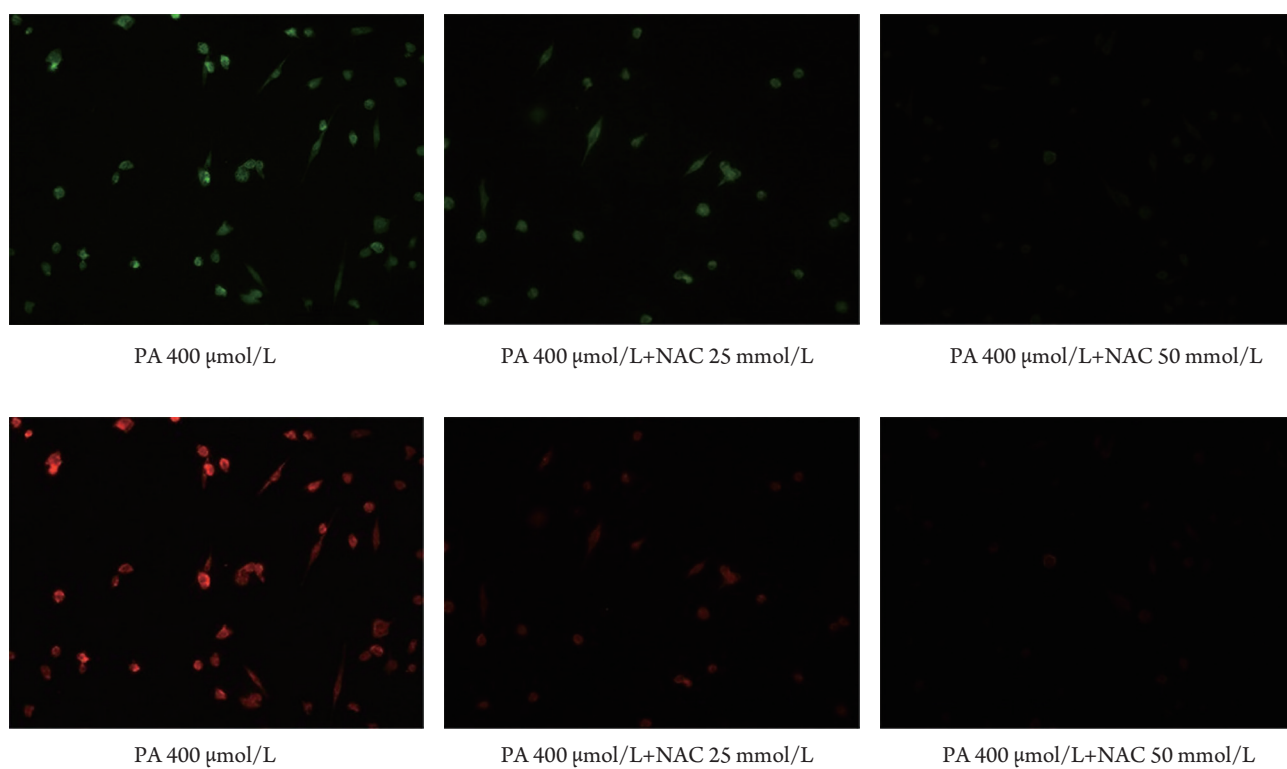


图 5 免疫荧光染色显示不同浓度 NAC 预处理对 PA(400 μmol/L) 刺激的 NALP3 蛋白 (上) 和 caspase-1 (下) 表达的影响

Figure 5 Immunofluorescence staining showing the effect of NAC on the PA-induced NALP3 (upper) and caspase-1 (lower) protein expression

3 讨论

在目前NASH发病机制研究中, 较为普遍接受的理论是Day^[3]等提出的“二次打击”学说, 增多的ROS导致的氧应激和脂质过氧化损伤是二次打击的关键, 而本实验选用在FFA中含量较高且致炎能力强的PA作为干预措施, THP-1巨噬细胞构建细胞模型研究FFA对NASH肝脏炎性细胞的影响。结果表明: PA可诱导THP-1巨噬细胞产生活性氧, 与国内外文献结论相符^[12]。ROS可攻击不饱和脂肪酸, 并启动细胞内的脂质过氧化反应, 放大氧化应激的影响^[13-14]。ROS可激活核因子- κ B, 诱导TNF- α 的合成, 以及表达多种细胞因子, 趋化人类嗜中性粒细胞聚集, 从而形成炎症瀑布诱导凋亡^[15-16]。范建高等^[17]用高脂饮食大鼠模型研究发现, 氧化应激过程可激活枯否细胞。因此活性氧是参与NASH炎症及损伤的重要因子, 但值得注意的是, 尽管激活后的枯否细胞可产生一系列可溶性细胞因子, 如TNF- α , IL-1, IL-6, OLR, TNF- β 等, 但在经过拮抗TNF- α , 降低Bax、核因子 κ B p65表达, 或抑制PPAR- γ 的表达等治疗后单纯脂肪肝进展为NASH的趋势并没有逆转, 提示ROS诱导的炎症反应途径可能存在多样性。

本实验证明在THP-1巨噬细胞内ROS可诱导IL-1 β 产生, 活化的IL-1 β 能同时诱导其自身及IL-6, IL-8, TNF- α 等多种促炎细胞因子和黏附分子、趋化因子的表达, 形成瀑布反映, 造成组织损伤。Kamari等^[18]在研究IL-1 β 基因敲除的小鼠时发现, 在饮食诱导的野生型NASH小鼠中, IL-1 β 基因的敲除能显著减少单纯脂肪肝向脂肪性肝炎的转变。Miura等^[19]发现在NASH的小鼠模型中, 肝脏巨噬细胞产生的IL-1 β 可以引起肝的脂肪样变性、炎症反应以及纤维化。可见IL-1 β 与NASH密切相关, 本实验证明在THP-1巨噬细胞内ROS可诱导IL-1 β 产生, 但目前关于ROS直接诱导IL-1 β 的成熟及分泌的文献较少, 由此推测ROS可能通过某个中间环节促进了IL-1 β 的合成和分泌。

先前的研究已经证明NALP3炎性小体激活是启动IL-1 β , IL-18等细胞因子产生及分泌的关键步骤^[20-21]。NALP3炎性小体是较为复杂的一种炎性小体。属于NOD样受体家族的NALP3活化后通过N端的热蛋白结构域(PYD)招募ASC蛋白, 再通过ASC招募pro-caspase-1, 形成NALP3炎性小体。该复合体的形成是caspase-1蛋白发生效应的平台, 调控IL-1 β , IL-18等细胞因子的成熟与分泌, 而IL-18亦被证实与NASH的炎症密切相关^[22-23]。但迄今为止该复合体的具体活化机制并不明确。而最新的研究

表明在NALP3炎性小体的活化过程中处于核心地位的为ROS, 经研究发现所有的NALP3激活剂均不能直接激活NALP3, 而且所有的NALP3激活剂均可以产生ROS, 如石棉、二氧化硅、明矾、尼日利亚毒素、光泽以及代谢产物如ATP等, 提示氧化还原信号或者氧化应激参与了NALP3炎性小体的活化过程^[24-25]。为探讨ROS诱导肝脏炎性细胞IL-1 β 产生的可能机制, 在本实验同时检测了NALP3, caspase-1蛋白表达以及NALP3各组份mRNA的表达, 结果表明其表达与ROS及IL-1 β 有关, 提示ROS通过NALP3激活途径诱导IL-1 β 。

NALP3普遍存在于人体固有免疫系统, 同样在肝脏巨噬细胞中普遍表达。在非酒精性脂肪性肝病的进展中, 单纯酒精性脂肪肝早期即可发生脂肪酸代谢异常、氧化应激失衡, 此时可产生大量ROS, 提示此时肝脏产生的ROS在激活已知下游炎症通路同时亦可能激活NALP3炎性小体, 造成肝组织的无菌性炎症, 加速单纯性脂肪肝向NASH转变的进程。本实验将在NASH进展过程中产生的ROS创新性地与NALP3结合起来, 为NASH机制以及治疗的研究提供新的思路。但本实验仅仅从细胞的角度探讨NASH的进展, 因条件有限, 故存在不足之处, 如细胞模型的构建, 同时细胞模型本身存在其局限性, 不能全面反应机体内各系统、组织、细胞之间的相互作用, 因而本课题组将继续进行后续kupffer细胞原代培养及整体实验进一步证实这一观点。而调控NALP3炎性小体表达水平, 可能成为NASH治疗新的思路, 值得深入研究。

参考文献

1. Amarapurkar DN, Hashimoto E, Lesmana LA, et al. How common is non-alcoholic fatty liver disease in the Asia-Pacific region and are there local differences?[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2007, 22(6): 788-793.
2. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association[J]. *Hepatology*, 2012, 55(6): 2005-2023.
3. Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"?[J]. *Gastroenterology*, 1998, 114(4): 842-845.
4. Marra F, Gastaldelli A, Svegliati BG, et al. Molecular basis and mechanisms of progression of non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Trends Mol Med*, 2008, 14(2): 72-81.

5. Zhan YT, An W. Roles of liver innate immune cells in nonalcoholic fatty liver disease[J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(37): 4652-4660.
6. Martinon F, Petrilli V, Mayor A, et al. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome[J]. *Nature*, 2006, 440(7081): 237-241.
7. Duewell P, Kono H, Rayner KJ, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals[J]. *Nature*, 2010, 464(7293): 1357-1361.
8. Zhou R, Tardivel A, Thorens B, et al. Thioredoxin-interacting protein links oxidative stress to inflammasome activation[J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(2): 136-140.
9. Halle A, Hornung V, Petzold GC, et al. The NALP3 inflammasome is involved in the innate immune response to amyloid-beta[J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(8): 857-865.
10. Boni-Schnetzler M, Donath MY. Increased IL-1 beta activation, the culprit not only for defective insulin secretion but also for insulin resistance?[J]. *Cell Res*, 2011, 21(7): 995-997.
11. 方文莉, 施敏, 魏珏, 等. NALP3炎性体在小鼠非酒精性脂肪性肝炎发病中的作用[J]. *肝脏*, 2012, 17(5): 315-318.
FANG Wenli, SHI Min, WEI Jue et al. Potential effect of NALP3 inflammasome in mice model of nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Chinese Hepatology*, 2012, 17(5): 315-318.
12. Wen H, Gris D, Lei Y, et al. Fatty acid-induced NLRP3-ASC inflammasome activation interferes with insulin signaling[J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(5):408-415.
13. Gardner HW. Oxygen radical chemistry of polyunsaturated fatty acids[J]. *Free Radic Biol Med*, 1989, 7(1): 65-86.
14. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes[J]. *Free Radic Biol Med*, 1991, 11(1): 81-128.
15. Hui JM, Hodge A, Farrell GC, et al. Beyond insulin resistance in NASH: TNF-alpha or adiponectin?[J]. *Hepatology*, 2004, 40(1): 46-54.
16. Carter-Kent C, Zein NN, Feldstein AE. Cytokines in the pathogenesis of fatty liver and disease progression to steatohepatitis: implications for treatment[J]. *Am J Gastroenterol*, 2008, 103(4): 1036-1042.
17. 范建高, 钟岚, 王国良, 等. 枯否氏细胞在大鼠非酒精性脂肪性肝炎发病中的作用[J]. *中华肝脏病杂志*, 2001, 9(1): 16-18.
FAN Jianga, ZHONG Lan, WANG Guoliang, et al. The role of Kupffer cells in non-alcoholic steatohepatitis of rats chronically fed with high-fat diet[J]. *Chinese Journal of Hepatology*, 2001 9(1): 16-18.
18. Kamari Y, Shaish A, Vax E, et al. Lack of interleukin-1alpha or interleukin-1beta inhibits transformation of steatosis to steatohepatitis and liver fibrosis in hypercholesterolemic mice[J]. *J Hepatol*, 2011, 55(5): 1086-1094.
19. Miura K, Kodama Y, Inokuchi S, et al. Toll-like receptor 9 promotes steatohepatitis by induction of interleukin-1beta in mice[J]. *Gastroenterology*, 2010, 139(1): 323-334.
20. Dostert C, Petrilli V, Van Bruggen R, et al. Innate immune activation through Nalp3 inflammasome sensing of asbestos and silica[J]. *Science*, 2008, 320(5876): 674-677.
21. Cassel SL, Eisenbarth SC, Iyer SS, et al. The Nalp3 inflammasome is essential for the development of silicosis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(26): 9035-9040.
22. Guebre-Xabier M, Yang S, Lin HZ, et al. Altered hepatic lymphocyte subpopulations in obesity-related murine fatty livers: potential mechanism for sensitization to liver damage[J]. *Hepatology*, 2000, 31(3): 633-640.
23. Kaneda M, Kashiwamura S, Ueda H, et al. Inflammatory liver steatosis caused by IL-12 and IL-18[J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2003, 23(3): 155-162.
24. Gross O, Poeck H, Bscheider M, et al. Syk kinase signalling couples to the NLRP3 inflammasome for anti-fungal host defence[J]. *Nature*, 2009, 459(7245): 433-436.
25. Cruz CM, Rinna A, Forman HJ, et al. ATP activates a reactive oxygen species-dependent oxidative stress response and secretion of proinflammatory cytokines in macrophages[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(5): 2871-2879.

(本文编辑 郭征)

本文引用: 付丽瑶, 周伏喜, 王学红, 卢放根. 游离脂肪酸对 THP-1 巨噬细胞 NALP3 炎性通路的影响 [J]. 中南大学学报: 医学版, 2014, 39(8): 811-817. DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2014.08.010

Cite this article as: FU Liyao, ZHOU Fuxi, WANG Xuehong, LU Fanggen. Effect of free fatty acid on NALP3 inflammasome signaling pathway in THP-1 macrophages[J]. *Journal of Central South University. Medical Science*, 2014, 39(8): 811-817. DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2014.08.010