doi:10.11659/jjssx.01E025013

·基础研究·

肝细胞特异性NLRP3基因敲除小鼠模型的构建及鉴定

苟鸿翔[1],韩金成[1],甘丰德[1],易耀兴[2],范克瑞[3,4],胡 凯[4] (1.重庆医科大学2022级临床一系,重庆 400016;2.重庆医科大学国家级基础医学实验教学示范中心,重庆 400016;3.重庆医科大学基础医学院人体解剖学教研室,重庆 400016;4.重庆医科大学基础医学院干细胞与组织工程研究室,重庆 400016)

[摘 要] **目的** 探讨利用Cre-LoxP基因敲除技术构建肝特异性NLRP3基因敲除小鼠模型的可能性及基因鉴定方法。**方法** 第一阶段将肝细胞特异性表达白蛋白启动子-Cre(Alb^{Cre})重组酶的小鼠与$NLRP3^{flox/flox}$小鼠进行交配,经2代选育配种,获取基因型为$NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre+/-}$的肝细胞特异性NLRP3基因敲除小鼠(肝细胞NLRP3敲除组)和基因型为$NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre-/-}$的小鼠为同窝对照小鼠(同窝对照组)。第二阶段为大量繁殖阶段,将$NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre+/-}$目的小鼠与$NLRP3^{flox/flox}$小鼠交配繁殖可快速获得大量实验用目的小鼠与同窝对照小鼠。小鼠编号后剪取鼠尾提取DNA,采用PCR法鉴定繁殖小鼠的基因表型;qPCR和Western blot检测小鼠肝组织中NLRP3 mRNA和蛋白表达水平,HE染色观察肝组织形态学改变,检测血清肝转氨酶、炎症因子。观察2组小鼠体质量变化、肝体比值及繁殖发育中的特殊情况。**结果** F2代中目的小鼠基因表型符合理论结果$NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre+/-}$;肝细胞NLRP3敲除组小鼠肝组织中NLRP3 mRNA及蛋白表达水平显著低于同窝对照组($P<0.05$);肝细胞NLRP3敲除组小鼠NLRP3基因敲除后不影响生长发育及繁殖,小鼠体质量、肝体比值、肝组织形态、血清肝转氨酶、炎症因子与同窝对照组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 采用Cre-LoxP基因敲除技术可成功构建肝细胞特异性NLRP3基因敲除小鼠模型,为下一步动物层面研究肝中NLRP3基因功能提供了重要的技术支持。

[关键词] NLRP3;Cre-LoxP技术;肝;基因敲除;肝细胞
[中图分类号] R575 [文献标志码] A [收稿日期] 2025-01-03

Construction and identification of hepatocyte-specific NLRP3 gene knockout mouse model

GOU Hong-xiang[1], HAN Jin-cheng[1], GAN Feng-de[1], YI Yao-xing[2], FAN Ke-rui[3,4], HU Kai[4] (1.Clinical Division 1, Grade 2022, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 2.National Demonstration Center for Experimental Teaching of Basic Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 3.Department of Human Anatomy, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 4.Stem Cell and Tissue Engineering Research Laboratory, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To explore the possibility and genetic identification method of constructing a hepatocyte-specific NLRP3 gene knockout mouse model by using Cre-LoxP system gene knockout technology. **Methods** Phase one: mice specifically expressing the albumin promoter-Cre (Alb^{Cre}) recombinase in hepatocytes were mated with $NLRP3^{flox/flox}$ mice, and the hepatocyte-specific NLRP3 gene knockout mice with the genotype of $NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre+/-}$ (hepatocyte NLRP3 knockout group) and the control mice in the same litter with the genotype of $NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre-/-}$ (control group in the same litter) were obtained after two generations of selection and mating. The second stage was the mass reproduction stage. Mating $NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre+/-}$ target mice with $NLRP3^{flox/flox}$ mice could quickly obtain a large number of experimental target mice and control mice in the same litter. The DNA was extracted from the tails of mice after numbering, and the offspring genotype was identified by PCR. qPCR and Western blot were used to detect the mRNA and protein expression levels of NLRP3 gene in the liver tissue. HE staining was used to observe the morphological changes in liver tissues, and serum liver transaminases and inflammatory factors were detected. The changes in body weight, liver-to-body ratio and special circumstances during reproduction and development of mice in the two groups were observed. **Results** The offspring genotype of the target mice in the F2 generation was consistent with theoretical result of $NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre+/-}$. The mRNA and protein levels of NLRP3 in liver tissues of mice in the hepatocyte NLRP3 knockout group were significantly lower than those in the control group in the same litter ($P<0.05$). The mice in the hepatocyte NLRP3 knockout group was not affected in terms of growth, development and reproduction after the NLRP3 gene knockout. There were no statistically significant differences in the body weight, liver-to-body ratio, liver tissue morphology, serum liver transaminase or inflammatory factors between the hepatocyte

[基金项目] 2023年重庆医科大学大学生科学研究与创新实验项目(202323);重庆市博士“直通车”科研项目基础研究与前沿探索(CSTB2022BSXM-JCX0043)

[通信作者] 范克瑞,E-mail: fankerui@cqmu.edu.cn

NLRP3 knockout group and the control group in the same litter (P>0.05). **Conclusion** The Cre-LoxP gene knockout technology can be used to successfully construct a hepatocyte-specific NLRP3 gene knockout mouse model, providing an important technical support for the next step of studying the function of the NLRP3 gene in the liver at the animal level.

Keywords: NLRP3; Cre-LoxP technology; liver; gene knockout; hepatocyte

肝疾病是一个严重的公共卫生问题,每年全世界约有200万人因肝疾病死亡[1]。急性和慢性肝疾病的特征是肝细胞损伤和炎症级联反应。炎症小体在免疫细胞和非免疫细胞中广泛表达,在许多自身免疫性和非自身免疫性肝疾病中起关键作用[2]。炎症小体是一系列多聚蛋白复合物,通过释放细胞因子保护宿主免受外来病原体和自身损伤,通常由三种成分组成:传感器、适配器和效应器。传感器被称为模式识别受体,能识别外源性或内源性信号,触发先天免疫反应,释放细胞因子,诱导细胞死亡[3]。作为传感器之一的核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(NOD-like receptor protein 3,NLRP3)炎症小体研究最为广泛,是一种存在于各种免疫细胞(尤其是巨噬细胞和中性粒细胞)中的复杂分子结构,由3个不同的元件组成,即NLRP3传感器、衔接蛋白凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain,ASC)和效应蛋白caspase-1,可促进白细胞介素(interleukin,IL)-1β和IL-18前体转化为其活性形式[2-4]。NLRP3炎症小体作为促炎信号的放大器,可促进细胞因子级联[5]。无论急性或者慢性肝疾病,NLRP3都是病情恶化的关键因素。

Cre-LoxP系统的基因敲除技术是一种研究目标基因功能的有效工具,其原理为白蛋白启动子-Cre(albumin promoter-Cre, Alb^{Cre})重组酶在特定位点(即LoxP位点)特异性识别DNA序列,将LoxP位点间的相应基因序列重组或删除,进而敲除目的基因[6]。为了研究NLRP3炎症小体在肝疾病(尤其是以肝实质细胞为主要病理损伤特征的疾病)中的作用及可能机制,本研究通过Cre-LoxP系统建立肝细胞特异性敲除NLRP3小鼠模型,检测小鼠的炎症因子、肝功能等,并总结目的小鼠迅速繁殖的策略及基因鉴定方法,为后续研究NLRP3炎症小体在肝细胞中的病理生理作用及相关机制提供实验技术基础。

1 材料与方法

1.1 动物

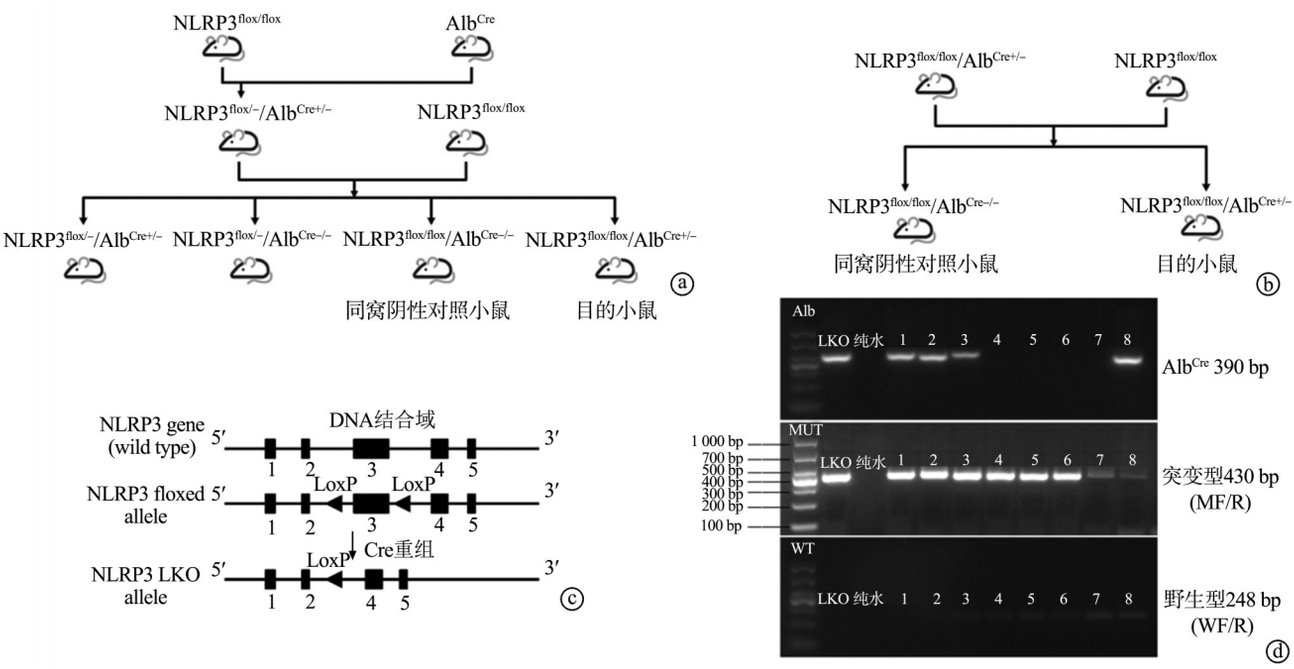
小鼠购自赛业(广州)生物科技有限公司,包括$NLRP3^{flox/flox}$、Alb^{Cre}两种工具小鼠,每种小鼠1雄2雌,分别进行种群数量繁殖后,再进行杂交。动物饲养与繁殖在重庆医科大学实验动物中心进行。整个培育繁殖过程及动物实验均严格按照国家《实验动物管理条例》执行,符合国家及学校实验动物伦理学管理规定要求。本实验经重庆医科大学实验动物管理和使用委员会同意(批准号:IACUG-CQMU-2024-0856)。

1.2 主要试剂

丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase,ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase,AST)检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所有限公司;IL-1β、肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor-alpha,TNF-α)ELISA试剂盒,鼠尾直接PCR试剂盒Bimake购自深圳欣博盛生物科技有限公司;高纯度琼脂糖购自北京爱博泰克生物科技有限公司;DNA Marker、SYBR® GreenPremix Pro Taq HS qPCR Kit、Evo M-MLV反转录预混型试剂、快速RNA提取试剂盒购自湖南艾科瑞生物工程有限公司;Alb^{Cre}、NLRP3引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成;Anti-β-actin小鼠单克隆抗体购自美国CST公司;NLRP3兔多克隆抗体购自上海碧云天生物技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 肝细胞特异性NLRP3基因敲除小鼠模型构建及快速繁殖 第一阶段(图1a):获取目的小鼠,将F0代Alb^{Cre}小鼠1雄和$NLRP3^{flox/flox}$小鼠2雌或将$NLRP3^{flox/flox}$小鼠1雄和Alb^{Cre}小鼠2雌放入饲养笼中,将杂交得到的F1代小鼠进行基因鉴定,获得$NLRP3^{flox/-}/Alb^{Cre+/-}$小鼠。将F1代小鼠与$NLRP3^{flox/flox}$小鼠杂交,获得F2代小鼠,理论应含$NLRP3^{flox/-}/Alb^{Cre-/-}$、$NLRP3^{flox/-}/Alb^{Cre+/-}$、$NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre+/-}$、$NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre-/-}$小鼠,其中$NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre+/-}$为目的小鼠,即肝细胞特异性NLRP3基因敲除小鼠,而$NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre-/-}$为同窝阴性对照小鼠。第二阶段(图1b):将$NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre+/-}$目的小鼠与$NLRP3^{flox/flox}$小鼠进行杂交,获得$NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre+/-}$、$NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre-/-}$两种基因型小鼠,其中$NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre+/-}$为目的小鼠(肝细胞NLRP3敲除组),$NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre-/-}$为同窝阴性对照小鼠(同窝对照组);此阶段可根据所需增加相应繁育小鼠的笼数。后续实验以同窝阴性对照小鼠与目的小鼠为实验对象,性别不限。样本量设计基于95%置信水平和80%效能,最终每组选取8只小鼠进行分析,以确保数据具有统计学意义。



a:第一阶段繁育;b:第二阶段繁育;c:肝细胞特异性NLRP3基因敲除构建策略;d:小鼠基因型鉴定

图1 肝细胞特异性NLRP3基因敲除小鼠快速繁殖示意图及基因型鉴定图

1.3.2 小鼠基因型检测 剪取实验小鼠鼠尾放入无酶EP管中,加入现配100 μL组织消化液(Protease Plus:BufferL=2 μL:100 μL)充分混匀,然后在55 ℃金属浴或水浴消化30 min,再放入95 ℃金属浴或水浴下孵育5 min,室温以12 000 r/min离心5 min,取上清作为小鼠DNA基因鉴定的PCR模板。PCR扩增体系以20 μL为例:ddH_2O 8 μL,正、反向引物各0.5 μL,2×M-PCR OPTI™ Mix 10 μL,DNA模板1 μL,然后在PCR仪上进行扩增,2%琼脂糖凝胶电泳并显影,根据条带大小鉴定小鼠基因型。NLRP3突变型正向引物(NLRP3-MF):5′-GCTACTTCCATTTGTCACGTCC-3′;NLRP3野生型正向引物(NLRP3-WF):5′-CACCCTGCATTTTGTTGTTG-3′;共用反向引物(NLRP3-M/WR):5′-CGTGTAGCGACTGTTGAGGT-3′;Alb^{Cre}正向引物:5′-GAAGCAGAAGCTTAGGAAGATGG-3′,反向引物:5′-TTGGCCCCTTACCATAACTG-3′。

1.3.3 肝体比值 8周后称小鼠体质量,麻醉后眼眶取血,离心后-80 ℃保存。断颈处死小鼠取肝,对小鼠肝大体形态进行拍照后称重,计算肝体比值。肝体比值=小鼠肝质量/体质量。

1.3.4 血清肝转氨酶、炎症因子指标检测 血清肝转氨酶ALT、AST检测按照相应试剂盒说明书进行,然后在多功能酶标仪上检测505 nm波长处OD值。炎症因子TNF-α、IL-1β的检测根据相应ELISA试剂盒说明书进行。

1.3.5 HE染色 取小鼠部分肝组织,4%多聚甲醛固定、脱水、包埋、切片、HE染色、脱水、二甲苯透明、封片,光学显微镜下观察肝组织结构。

1.3.6 Western blot检测NLRP3蛋白水平 取小鼠肝组织30 mg,制作蛋白上样样本,SDS-PAGE凝胶(依据分子量配制不同浓度)电泳分离,恒压80 V、250 mA湿转40、90 min至活化后的PVDF膜,快速封闭液封闭30 min,4 ℃冰箱一抗(1:1 000)孵育过夜,次日TBST清洗3次后,加入β-actin(1:4 000)和NLRP3(1:2 000)相应二抗,室温孵育2 h,TBST清洗3次,ECL显影剂显影后拍照。

1.3.7 qPCR检测小鼠肝NLRP3 mRNA表达水平 按照快速RNA提取试剂盒操作步骤提取RNA,使用Evo M-MLV反转录预混型试剂盒逆转录成cDNA后进行PCR反应,采用两步法,退火温度60 ℃。反应体系20 μL:ddH_2O 7.2 μL,正、反向引物各0.4 μL,2×SYBR 10 μL,cDNA 2 μL。GAPDH正向引物:5′-TGTCCGTCGTGGATCTGAC-3′,反向引物:5′-CCTGCTTCACCACCTTCTTG-3′;NLRP3正向引物:5′-GTGAAACAAAACGTGCCTTAGAA-3′,反向引物:5′-GGAGGGCT TGATAGCAGTGAA-3′。采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法定量分析肝NLRP3 mRNA表达水平。

1.4 统计学分析

采用GraphPad Prism 8软件进行制图及统计学分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,2组间比较采用独立样本t检验。以$P<0.05$为差异具有统计学意义。

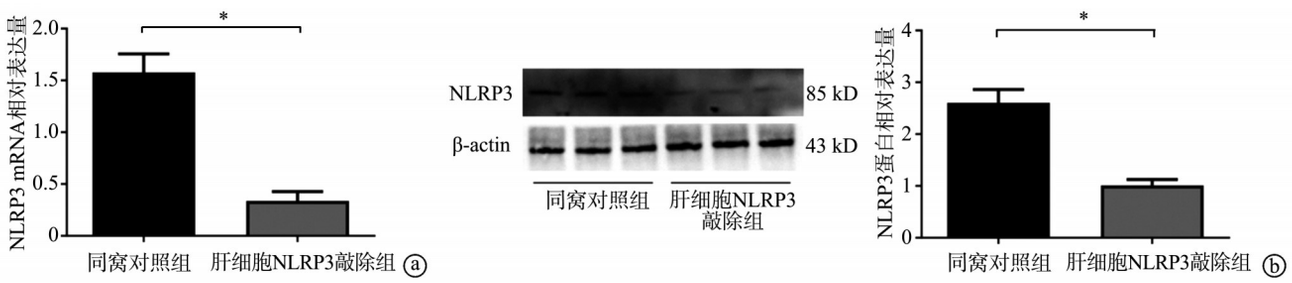
2　结果

2.1　NLRP3$^{flox/flox}$/Alb$^{Cre+/-}$小鼠基因鉴定

通过第一阶段繁育，同窝目的小鼠基因表型为NLRP3$^{flox/flox}$/Alb$^{Cre+/-}$，Alb^{Cre}位点390 bp为阳性条带，NLRP3-LoxP位点仅显示单条带430 bp，1、2号小鼠即为目的小鼠。430 bp与248 bp均显示条带的小鼠，即为NLRP3$^{flox/-}$杂合子小鼠，3、8号小鼠基因表型为NLRP3$^{flox/-}$/Alb$^{Cre+/-}$，4、5、6、7号基因表型为NLRP3$^{flox/-}$/Alb$^{Cre-/-}$，此窝小鼠中没有出现基因表型为NLRP3$^{flox/flox}$/Alb$^{Cre-/-}$的同窝阴性对照小鼠（图1）。

2.2　小鼠肝组织中NLRP3表达

与同窝对照组相比，肝细胞NLRP3敲除组小鼠肝组织中NLRP3 mRNA和蛋白表达均降低，差异有统计学意义（$P<0.05$），见图2。

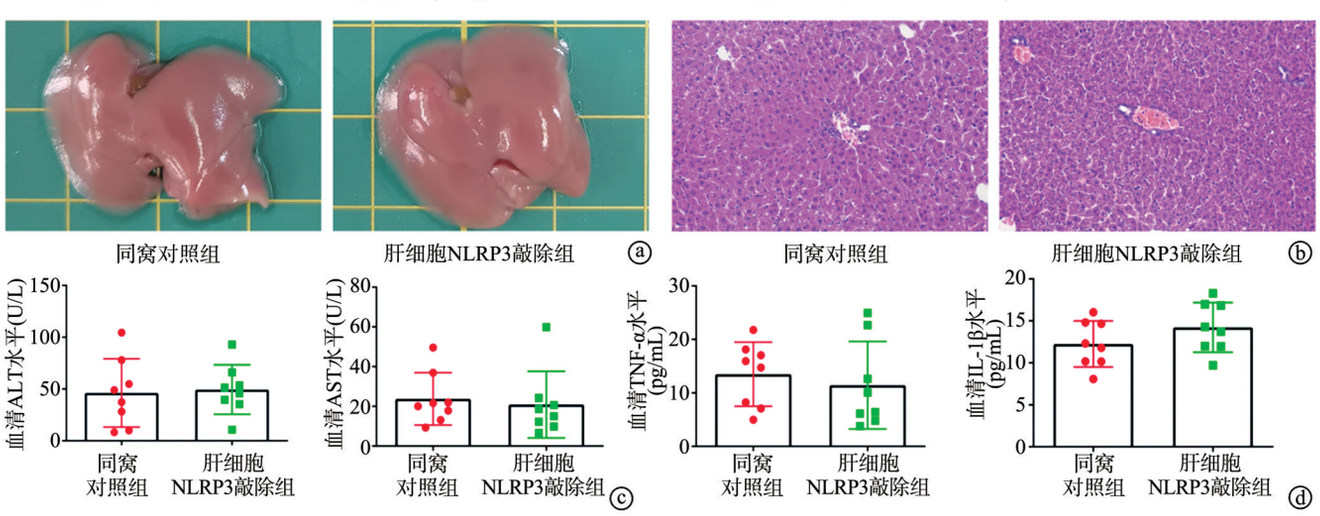


a：肝组织中NLRP3 mRNA表达水平；b：肝组织中NLRP3蛋白表达水平　*：$P<0.05$

图2　小鼠肝组织中NLRP3 mRNA及蛋白表达水平

2.3　肝细胞特异性敲除NLRP3对肝组织形态、血清转氨酶、炎症因子的影响

2组小鼠肝表面光滑，质地柔软，呈红褐色，肉眼未见明显变化（图3a）。HE染色显示，2组小鼠肝小叶结构完整，以中央静脉为中心肝细胞呈放射状排列，肝细胞索、肝血窦规则排列，未见变性、坏死等病理变化（图3b）。2组小鼠血清肝转氨酶、炎症因子比较，差异无统计学意义（$P>0.05$），见图3c、d。



a：肝大体形态；b：HE染色（×200）；c：血清肝转氨酶ALT、AST表达；d：炎症因子TNF-α、IL-1β表达

图3　小鼠肝大体形态、HE染色、肝转氨酶及炎症因子变化

2.4　肝细胞特异性NLRP3敲除对小鼠生长、繁殖的影响

肝细胞特异性NLRP3敲除对小鼠生长、繁殖无影响，未见明显异常。8周后2组小鼠体质量、肝体比值比较，差异均无统计学意义（$P>0.05$），见表1。

表1　2组小鼠体质量、肝体比值比较（$\bar{x}\pm s$，$n=8$）

组别	体质量(g)	肝体比值(%)
同窝对照组	20.83±1.15	3.55±0.50
肝细胞NLRP3敲除组	21.04±1.01	3.46±0.68
t	0.388	0.304
P	0.704	0.766

3　讨论

哺乳动物免疫系统通过先天免疫和适应免疫来抵御内外威胁，先天免疫反应依赖模式识别受体来锁定病原微生物和其他内生或外源病原体。各类免疫和炎症细胞，如单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞和树突状细胞等，通过适应性免疫系统提呈抗原，并产生持久的免疫保护作用[7]。近年来，越来越多的研究表明，炎症小体作为多蛋白复合物，在炎症反应调节中发挥核心作用[8-10]。炎症小体的激活和信号转导与各

种代谢性疾病的发生发展密切相关[11]。NLRP3炎症小体作为天然免疫系统的重要组成部分,参与caspase-1激活、炎症因子IL-1β和IL-18前体的成熟和分泌过程,从而应对微生物感染和细胞损害[12]。因此,在某些情况下,NLRP3被激活或受到抑制可能对机体有益。

条件性敲除基因鼠作为基础实验研究工具近年来发展迅速,其采用Cre-LoxP基因敲除技术在特定的器官组织或细胞中敲除目的基因,而不影响目的基因在其他器官、组织或细胞中的表达,将目的基因的研究精准到特定的器官、组织或细胞内,为目的基因在不同组织、细胞上的差异表达研究提供了一个有效且精准的研究途径[13-14]。基于上述技术,本研究成功构建了肝细胞特异性NLRP3基因敲除小鼠模型,即通过将Cre重组酶基因片段插入肝细胞特异性表达的白蛋白启动子下游,实现肝细胞中NLRP3基因的特异性敲除,为进一步探究肝实质细胞中NLRP3炎症小体在相关肝疾病模型中的作用及机制,提供了关键技术支持;同时,本课题组总结了小鼠繁殖与基因型鉴定的实验方法,可为其他研究者提供借鉴。

本研究为构建肝细胞特异性NLRP3基因敲除小鼠,在第一阶段繁育出目的小鼠,将F0代$NLRP3^{flox/flox}$小鼠与肝细胞特异性表达Cre重组酶的Alb^{Cre}小鼠交配,F1子代基因型理论应出现$NLRP3^{flox/-}/Alb^{Cre+/-}$;第二步将F1与$NLRP3^{flox/flox}$回交,F2子代基因型理论会出现$NLRP3^{flox/-}/Alb^{Cre-/-}$、$NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre+/-}$、$NLRP3^{flox/-}/Alb^{Cre+/-}$、$NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre-/-}$,其中$NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre+/-}$即为肝细胞特异性NLRP3敲除小鼠$NLRP3^{LKO}$。为了在短时间内获得大量目的小鼠,第二阶段需将F2代目的小鼠$NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre+/-}$与$NLRP3^{flox/flox}$小鼠进行交配繁殖,将获得$NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre+/-}$、$NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre-/-}$两种基因型小鼠,其中$NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre+/-}$为目的小鼠,$NLRP3^{flox/flox}/Alb^{Cre-/-}$为同窝阴性对照小鼠。此阶段可根据实验要求扩大繁殖笼数以获得想要的种群数量。本研究通过对比发现,同窝阴性对照小鼠与肝细胞特异性NLRP3基因敲除小鼠体质量、生长情况无显著差异,肝体比值、肝大体形态、血清肝转氨酶、炎症因子未见统计学差异,表明NLRP3基因敲除后对肝无显著影响。而在本研究中可能出现NLRP3敲除未引起肝细胞中NLRP3上下游酶活性、细胞器形态等的细微变化的情况,这可能是由于NLRP3炎症小体在生理条件下活性较低,需外界刺激(如病原体或损伤信号)激活,或者肝细胞可能存在补偿机制,其他炎症通路代偿了NLRP3功能缺失。

综上所述,采用Cre-LoxP基因敲除技术能够成功建立肝细胞特异性NLRP3基因敲除小鼠模型,通过第二阶段的繁育措施短时间内可获取数量足够的目的小鼠与对照小鼠。这为研究NLRP3基因在各种肝疾病病理发展过程中的作用提供了一个重要的研究工具与策略,同时也为肝细胞特异性NLRP3基因敲除小鼠饲养、快速繁殖以及基因型鉴定提供借鉴。后续研究可进一步构建肝损伤或代谢性疾病模型(如非酒精性脂肪肝、肝纤维化),探究NLRP3在病理状态下的作用机制。

[参考文献]

[1] Balloni A, Tini A, Prospero E, et al. Exposure to synthetic psychoactive substances: a potential cause for increased human hepatotoxicity markers [J]. Clin Chem, 2024, 70(4): 597-628. doi: 10.1093/clinchem/hvad210.

[2] Sayaf K, Battistella S, Russo FP. NLRP3 inflammasome in acute and chronic liver diseases [J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(8): 4537. doi: 10.3390/ijms25084537.

[3] 马婷婷,马 骁. NLRP3炎症体在肝脏疾病中的作用及研究进展[J]. 临床消化病杂志,2022,34(5):395-399. doi: 10.3870/lcxh.j.issn.1005-541X.2022.05.019.

[4] Vlachakis PK, Theofilis P, Soulaidopoulos S, et al. Clinical utility of rilonacept for the treatment of recurrent pericarditis: design, development, and place in therapy[J]. Drug Des Devel Ther, 2024, 18: 3939-3950. doi: 10.2147/DDDT.S261119.

[5] 李尊泰. Nb_2C纳米片层通过αTAT-1下调微管乙酰化水平治疗大鼠牙周炎的机制研究[D]. 长春:吉林大学,2023. doi: 10.27162/d.cnki.gjlin.2023.007717.

[6] 唐兴鸿,孔庆斌,蒋扬富,等. 肝脏特异敲除腺苷酸活化蛋白激酶小鼠模型的建立[J]. 生物医学工程学杂志,2017,34(3):415-420. doi: 10.7507/1001-5515.201703025.

[7] 王国庆. NLRP3抑制剂MCC950在血管重构中的作用研究[D]. 青岛:青岛大学,2021. doi: 10.27262/d.cnki.gqdau.2021.002413.

[8] Ramos-Tovar E, Muriel P. NLRP3 inflammasome in hepatic diseases: a pharmacological target[J]. Biochem Pharmacol, 2023, 217: 115861. doi: 10.1016/j.bcp.2023.115861.

[9] Cho S, Ying F, Sweeney G. Sterile inflammation and the NLRP3 inflammasome in cardiometabolic disease[J]. Biomed J, 2023, 46(5): 100624. doi: 10.1016/j.bj.2023.100624.

[10] Napodano C, Carnazzo V, Basile V, et al. NLRP3 inflammasome involvement in heart, liver, and lung diseases-a lesson from cytokine storm syndrome [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(23): 16556. doi: 10.3390/ijms242316556.

[11] 程永芳,林珍梅,张 玲,等. NLRP3炎症小体在代谢性疾病中的研究进展[J]. 中国免疫学杂志,2024,40(2):445-450. doi: 10.3969/j.issn.1000-484X.2024.02.039.

[12] Charan HV, Dwivedi DK, Khan S, et al. Mechanisms of NLRP3 inflammasome-mediated hepatic stellate cell activation: therapeutic potential for liver fibrosis [J]. Genes Dis, 2022, 10(2): 480-494. doi: 10.1016/j.gendis.2021.12.006.

[13] 黄政伟,季晓克,黄文铅,等. 肝细胞特异性HuR基因敲除小鼠模型的表型研究[J]. 肝胆胰外科杂志,2020,32(8):488-493. doi: 10.11952/j.issn.1007-1954.2020.08.009.

[14] 王超玄,侯 宇,陈 哲,等. 肝脏特异性DEK基因敲除小鼠模型的制备及鉴定[J]. 中国临床解剖学杂志,2018,36(4):397-401. doi: 10.13418/j.issn.1001-165x.2018.04.009.

(编辑:杨 颖)