

# Caspase-1 及其相关炎症因子 在二乙基亚硝胺诱导大鼠肝癌形成过程中的变化及意义

杨琪, 卓少元

**摘要** 目的 探讨半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶(Caspase-1)及其相关炎症因子白细胞介素1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、IL-18、核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)在二乙基亚硝胺(DEN)诱导大鼠肝癌形成过程中的变化及意义。方法 制备DEN诱导的大鼠肝炎-肝硬化-肝癌模型,并分别于造模第0、6、13、20周取材,光镜下观察大鼠肝脏病理变化,采用生物化学法检测大鼠血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶(GGT)和 $\alpha$ -L-岩藻糖苷酶(AFU)及肝癌组织中的Caspase-1活性,酶联免疫吸附实验(ELISA法)检测血清炎症因子IL-1 $\beta$ 、IL-18、NF- $\kappa$ B含量的变化。结果 模型组大鼠在造模后第20周均形成肝癌。在DEN诱导肝癌形成过程中,大鼠肝脏指数逐渐升高,胸腺指数则逐渐降低,且大鼠肝脏形态及病理切片均发生相应的改变;血清ALT、AST、GGT、AFU、IL-1 $\beta$ 、IL-18和NF- $\kappa$ B含量以及肝癌组织中Caspase-1活性均随着造模进程逐渐升高,且在造模第20周(肝癌期)达到最高。结论 利用DEN成功制备大鼠肝炎-肝硬化-肝癌模型。其中Caspase-1及其相关炎症因子IL-1 $\beta$ 、IL-18、NF- $\kappa$ B可作为DEN诱癌过程中肝细胞损伤的标志因子,在肝癌发生发展过程中发挥重要作用。

**关键词** 肝癌; Caspase-1; 白细胞介素1 $\beta$ ; 白细胞介素18; 核因子 $\kappa$ B

**中图分类号** R 735.7

2019-04-28 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81660775、81860824)

作者单位: 广西中医药大学基础医学院, 南宁 530200

作者简介: 杨琪, 女, 硕士研究生;

卓少元, 男, 副教授, 医学博士, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: sherwin\_zhuo@126.com

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2019)09-1382-05  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.09.010

肝癌是目前临床常见难治的恶性肿瘤,其国内发病率与死亡率分别位居恶性肿瘤第四位和第二位<sup>[1]</sup>。肝癌发病机制非常复杂,但促进肿瘤的炎症是目前公认的肿瘤十大特征之一<sup>[2]</sup>,慢性肝脏炎症在肝癌的发生发展及转移过程中具有至关重要的推动作用<sup>[3-4]</sup>。Caspase-1是第一个在哺乳动物中被发现的半胱氨酸-天冬氨酸特异性蛋白酶(cysteine containing aspartate specific protease, Caspase),其在多种炎症反应中具有核心调控作用<sup>[5]</sup>。该研究采用腹腔注射二乙基亚硝胺(diethylnitrosamine, DEN)的方式来诱导大鼠肝炎-肝硬化-肝癌模型,旨在探讨Caspase-1及其相关炎症因子白细胞介素1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、IL-18、核因子- $\kappa$ B(nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)在DEN诱导大鼠肝癌形成过程中的变化及意义。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 雄性SD大鼠42只, SPF级, 体质量( $140 \pm 20$ )g, 购于广西医科大学实验动物中心, 生产许可证号SCXK桂2014-0002, 使用许可证号SYXK桂2014-0003。

**1.2 实验试剂** DEN购自美国Sigma公司, 货号N0756-10ML; 谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)和谷草转氨酶(glutamic-oxalacetic transami-

mitochondrial reverse transmission was observed. Annexin V-FITC/PI cell apoptosis assay results showed that the apoptosis rate of THP-1 cells in SC, LC groups were significantly lower compared with MC group( $P < 0.01$ ), The apoptosis rate of group LC was higher than that of group SC( $P < 0.01$ ), and that of group TC was significantly higher than that of group SC and group LC( $P < 0.01$ ), there was no significant difference in apoptosis rate between group TC and group MC( $P > 0.05$ ). The expression level of KIF5B in BM-MSCs was higher than that in THP-1 cells( $P < 0.001$ ). Rotenone significantly inhibited the expression of KIF5B in BM-MSCs( $P < 0.01$ ). **Conclusion**

Mitochondria of BM-MSCs are unidirectionally transmitted to THP-1 cells via TNTs, which may induces apoptosis resistance in THP-1 cells; intercellular mitochondrial transport may be associated with motor protein KIF5B.

**Key words** acute monocytic leukemia; human bone marrow mesenchymal stem cells; THP-1 cells; apoptosis

nase, AST) 测定试剂盒购自长春汇力生物技术有限公司, 货号分别为 C002-a、C001-a;  $\alpha$ -L-岩藻糖苷酶 ( $\alpha$ -L-fucosidase, AFU) 和  $\gamma$ -谷氨酰转肽酶 ( $\gamma$ -glutamyl transpeptidase, GGT) 测定试剂盒购于南京建成生物工程研究所, 货号分别为 E008、C017; 大鼠 Caspase-1 活性测定试剂盒购于北京索莱宝科技有限公司, 货号 BC3810; 大鼠 IL-1 $\beta$ 、IL-18 和 NF- $\kappa$ B 酶联免疫吸附测定试剂盒均购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司, 货号分别为 E-EL-R0012c、E-EL-R2426c、E-EL-R0674c。

**1.3 主要仪器** Chemray 全自动生化分析仪购自美国 Rayto 公司; Epoch Bioteck 全波长酶标仪购自美国 Bioteck 公司; DMI3000B 研究型倒置显微镜购自德国 Leica 公司; ST 16R 高速离心机购自美国 Thermo Fisher Sorvall Scientific 公司。

#### 1.4 方法

**1.4.1 动物造模** 实验大鼠共 42 只, 适应性饲养 1 周后(温度为 21~23 °C, 湿度 50%), 随机分为正常对照组(6 只) 和模型组(36 只), 其中模型组按照 70 mg/kg 体质量给予腹腔注射 DEN, 每周 1 次, 连续注射 10 周。

**1.4.2 标本采集及处理** 造模第 0 周随机抽取正常组动物 3 只, 及造模第 6、13、20 周最后 1 天随机抽取模型组动物 3 只, 分别用 3% 戊巴比妥腹腔注射麻醉, 腹主动脉取血, 常规制备血清并分装后于 -80 °C 保存备用。之后迅速取其完整肝脏、脾脏和胸腺组织标本, 计算肝、脾和胸腺指数: 脏器指数 (%) = 脏器湿重(g) / 体质量(g) × 100%。

**1.4.3 肝脏组织形态学观察** 在各组大鼠肝脏同部位取组织一块, 4% 多聚甲醛固定后, 石蜡包埋, 切片脱蜡, HE 染色, 脱水封片, 光镜下观察。

**1.4.4 血清指标检测** 采用可见分光光度法检测各组大鼠血清中 ALT、AST、GGT 和 AFU 的含量; 采用 ELISA 法检测血清炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-18 和 NF- $\kappa$ B 水平。以上步骤均严格按照相关试剂盒说明书操作。

**1.4.5 肝脏(或肝癌)组织 Caspase-1 活性检测** 组织加裂解液匀浆后离心取上清液, 用 Bradford 法测定蛋白浓度, 使蛋白浓度达到 1~3 mg/ml。按照 Caspase-1 活性测定试剂盒说明书操作, 于 405 nm 波长检测光密度 (optical density, OD) 值, 计算 Caspase-1 活性, Caspase-1 活性百分比 = 实验组 OD 值 / 对照组 OD 值 × 100%。

**1.6 统计学处理** 采用 SPSS 17.0 for Windows 进

行统计分析, 数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 符合正态分布资料采用单因素方差分析(ANOVA) 检验; 若为非正态分布资料采用 Mann-Whitney U 秩和检验来比较两组间差异是否有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 一般情况比较** 模型组大鼠在造模前期, 进食进水量和正常组相差不大, 从造模第 5 周开始进食进水量都明显下降, 精神萎靡活动量减少, 且开始暴躁; 第 9 周开始有大鼠死亡, 至造模结束共有 7 只大鼠死亡, 解剖发现腹腔积水且胃肠道透明, 其余大鼠在第 20 周均已致癌。正常组(第 0 周) 大鼠肝脏形态正常, 颜色鲜红, 质地柔软, 表面光滑无任何异常, 见图 1A; 造模第 6 周大鼠肝脏与第 0 周比较, 除颜色稍深之外, 无明显的异常表现, 见图 1B; 造模第 13 周大鼠肝脏表面逐渐粗糙, 出现数量不等、大小不一的灰白色近圆形病灶, 直径大多 1 mm 以下, 呈弥散分布, 见图 1C; 造模 20 周时, 大鼠肝脏表面非常粗糙, 出现多个大小不一的灰白色结节, 部分大鼠腹腔有黄色腹水, 肝脏与周围器官黏连严重, 可见出血和坏死, 见图 1D。在造模过程中, 大鼠体质量呈逐渐上升趋势。与正常组(第 0 周) 大鼠比较, 造模第 6 周大鼠肝脏、脾脏和胸腺指数均下降; 随着造模进程, 肝脏指数和脾脏指数逐渐增加; 而胸腺指数逐渐下降, 与正常组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 表明 DEN 对脏器具有一定的毒性, 大鼠免疫功能被抑制。见表 1。

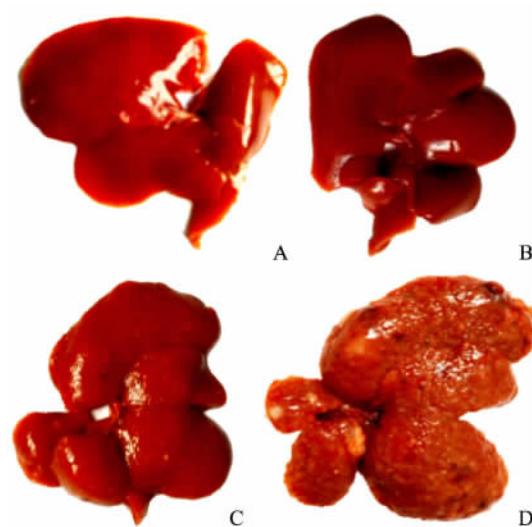


图 1 DEN 诱导癌过程中大鼠肝脏形态变化

A、B、C、D: 造模第 0、6、13、20 周肝脏

表1 造模不同时期大鼠体质量及脏器指数比较( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

时间点	体质量(g)	肝脏指数	脾脏指数	胸腺指数
第0周	163 ± 16	296.69 ± 9.25	32.39 ± 4.91	20.12 ± 10.37
第6周	338 ± 27	271.07 ± 8.64	17.66 ± 2.68	10.15 ± 6.23
第13周	420 ± 39	388.26 ± 12.12	27.12 ± 4.09	6.67 ± 4.76
第20周	428 ± 44	552.65 ± 17.41 **	43.53 ± 6.61	3.06 ± 2.18 **

与第0周比较: \*\* $P < 0.01$

**2.2 肝脏组织病理学比较** 正常组(第0周)大鼠肝细胞完整,在肝小叶中央静脉周围呈放射状排列。造模第6周大鼠肝细胞肿胀,表现为弥漫性肝细胞水肿,部分肝细胞呈嗜酸性变;肝小叶结构尚完整,小叶内可见灶性坏死伴炎性细胞浸润。造模第13周大鼠肝细胞水肿进一步加重,可见不同程度的小泡性脂肪变性;出现嗜酸性或透明细胞增生灶,可见典型假小叶形成。造模第20周大鼠肝细胞可见不同程度的脂肪变性,肝癌细胞成团块状,部分有出血和坏死,并伴有肝细胞增生灶和结节。见图2。

**2.3 大鼠血清生化指标含量变化** 血清ALT、AST、GGT、AFU的含量均随着造模进程逐渐升高。与正常组(第0周)比较,血清ALT、AST和GGT含量在造模第13周差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),第20周表现则更加明显;血清AFU含量在造模第20周差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。见表2。提示大鼠肝功能在造模过程中逐渐恶化。

#### 2.4 大鼠血清IL-1β、IL-18和NF-κB含量变化

血清IL-1β、IL-18和NF-κB含量均随着造模进程逐渐升高。与正常组(第0周)比较,造模第6周大鼠血清IL-1β含量升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),NF-κB含量升高,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ );造模第13周大鼠血清IL-1β、NF-κB含量明显升高( $P < 0.01$ );造模第20周鼠血清IL-1β、IL-18和NF-κB含量最高( $P < 0.01$ )。见表3。

#### 2.5 大鼠肝脏(或肝癌)组织中Caspase-1活性变化

大鼠肝脏组织中Caspase-1活性随着造模进程

表2 造模不同时期大鼠血清生化指标含量变化( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

肝功能	第0周	第6周	第13周	第20周	F值
ALT(U/L)	71.00 ± 0.33	78.32 ± 0.41	157.98 ± 0.94 **	321.46 ± 0.72 **	84 083.147
AST(U/L)	70.08 ± 0.53	95.53 ± 0.85 *	149.37 ± 0.90 **	310.78 ± 0.42 **	36 809.370
GGT(U/L)	36.05 ± 0.69	42.87 ± 0.40	62.56 ± 0.67 **	80.21 ± 0.59 **	2 193.548
AFU(U/L)	9.58 ± 1.56	10.42 ± 1.93	15.00 ± 1.84	23.12 ± 1.26 **	29.406

与第0周比较: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

表3 大鼠血清中IL-1β、IL-18和NF-κB含量变化( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

炎性因子	第0周	第6周	第13周	第20周	F值
IL-1β(pg/ml)	128.53 ± 2.45	151.34 ± 3.08 *	176.24 ± 5.36 **	272.21 ± 2.25 **	163.086
IL-18(pg/ml)	19.91 ± 0.11	20.71 ± 0.20 *	20.59 ± 0.49 *	22.87 ± 0.34 **	31.548
NF-κB(pg/ml)	3 391.68 ± 66.41	3 958.13 ± 47.15	12 277.78 ± 968.39 *	16 668.92 ± 3 030.44 **	33.283

与第0周比较: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

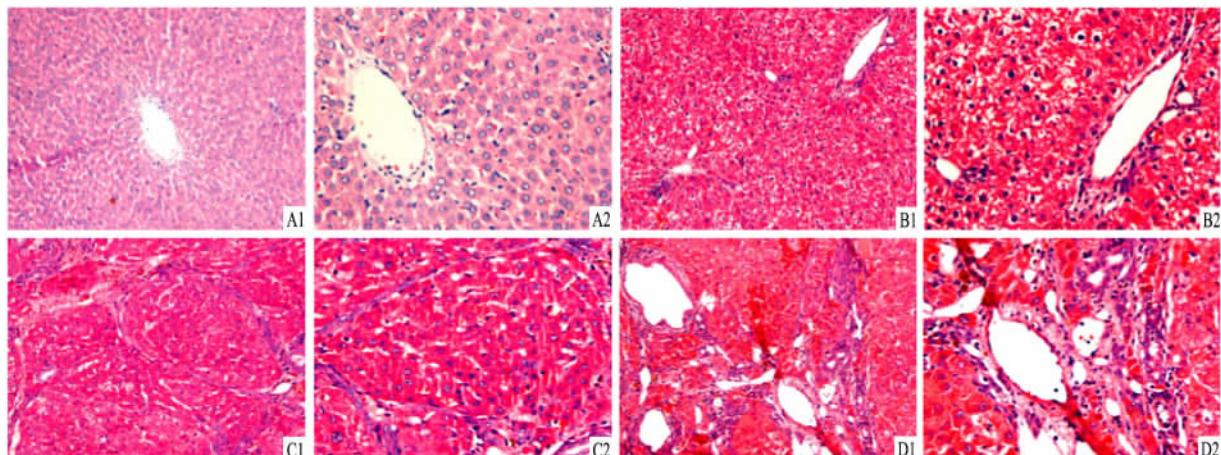


图2 造模不同时期大鼠肝脏组织病理学比较

A、B、C、D: 造模第0、6、13、20周肝脏切片; 1: HE × 200; 2: HE × 400

逐渐升高。与正常组(第0周)比较,造模第6周大鼠肝组织中 Caspase-1 活性升高( $P < 0.05$ ),造模第13周差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),至造模第20周活性达到最高( $P < 0.01$ )。造模第20周时,与大鼠肝脏(含肝癌)组织比较,癌旁正常肝组织中 Caspase-1 活性几乎没有差别;但肝癌组织内 Caspase-1 活性却显著降低,甚至低于造模第6周的肝组织。见表4。

表4 大鼠肝脏组织中 Caspase-1 活性变化( $n = 3, \bar{x} \pm s$ )

时间点	组织来源	活性百分比(%)	F 值
第0周	肝脏组织	-	76.547
第6周	肝脏组织	6.62 ± 0.05*	
第13周	肝脏组织	9.80 ± 1.11**	
第20周	肝脏(含肝癌)组织	13.49 ± 0.64**	
第20周	癌旁正常肝组织	13.58 ± 1.03**	
第20周	肝癌组织	5.61 ± 0.20*	

与第0周比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

### 3 讨论

人类原发性肝癌的发生是一个多种诱因、多阶段的过程,要经历肝炎-肝硬化-肝癌的过程。而现代研究证实,DEN 是一种具有遗传毒性的化学物质,具有肝毒性,可致基因突变、畸形,还可诱导肺、肝、血液系统多种肿瘤的形成,应用 DEN 制作肝癌前病变模型具有阶段性特征。汤靓<sup>[6]</sup>的研究表明 DEN 诱导大鼠肝癌模型有明显的三个病程:炎症期(1~8周)、硬化期(9~15周)及肝癌期(16~20周),与人类原发性肝癌的发展过程及病理形态学变化等均非常相似。通过一般观察、肝脏组织病理学比较,以及血清生化指标分析等结果,证实本实验成功复制了该肝癌模型。

本研究分别选取了第0周(正常)、第6周(炎症期)、第13周(硬化期)和第20周(肝癌期)进行相关炎症因子研究。结果显示,血清 IL-1 $\beta$ 、IL-18、NF- $\kappa$ B 含量均随着造模进程逐渐升高,且在造模第20周(肝癌期)达到最高,提示这些炎症因子在 DEN 诱导大鼠肝癌形成过程中可能发挥着非常重要的作用,可作为反映 DEN 诱导肝癌发生发展过程肝细胞损伤程度的标志因子。

IL-1 $\beta$  和 IL-18 在细胞内主要由 Caspase-1 切割白细胞介素 1 $\beta$  前体( precursor of interleukin-1 $\beta$ , pro-IL-1 $\beta$ ) 和 pro-IL-18 产生;当危险信号来临时,pro-Caspase-1 通过核苷酸结合寡聚化结构域核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 1( nucleotide binging

and oligomerization domain-like receptors 1, NLRP1)、NLRP3 和黑色素瘤缺乏因子等多种炎性小体感受器蛋白,及衔接分子凋亡相关斑点样蛋白 ASC( apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD) 的作用被激活,成为 pro-IL-1 $\beta$  和 pro-IL-18 成熟的工具酶<sup>[5]</sup>。NF- $\kappa$ B 是炎症致癌过程中主要的调节因子,研究<sup>[7]</sup>表明 NF- $\kappa$ B 在原发性肝细胞癌组织中表达增强,且与癌组织的分化程度、有无淋巴结转移、患者甲胎蛋白水平等呈正相关。除此之外,pro-Caspase-1 可以利用其半胱天冬酶募集结构域直接与受体相互作用蛋白 2( receptor-interacting protein 2, RIP2) 相互作用,诱导 RIP2 依赖的 NF- $\kappa$ B 激活;与 pro-IL-1 $\beta$ 、pro-IL-18 成熟不同,NF- $\kappa$ B 的激活不需要依赖 Caspase-1 酶的裂解活性<sup>[8]</sup>,而且活化后的 IL-1 还可利用其受体 IL-1R1 激活 NF- $\kappa$ B<sup>[9]</sup>。这表明 IL-1 $\beta$ 、IL-18 和 NF- $\kappa$ B 均可作为 Caspase-1 的效应分子在炎症反应中发挥重要作用。本研究也证实大鼠肝脏组织中 Caspase-1 活性随着造模进程逐渐升高,其表达趋势与血清 IL-1 $\beta$ 、IL-18、NF- $\kappa$ B 含量一致。

值得注意的是,造模第20周肝癌形成后,Caspase-1 活性在大鼠肝脏(含肝癌)组织和癌旁正常肝组织中几乎没有差别,但在肝癌组织内却显著降低,甚至低于造模第6周的肝组织,提示造模第20周大鼠肝脏(含肝癌)组织中 Caspase-1 活性主要源于癌旁正常肝组织。这一结果与 Wei et al<sup>[10]</sup>对临床肝炎、肝硬化、肝癌患者的研究类似: Caspase-1 及其相关炎性小体组分在正常肝组织表达水平相对较低,肝损伤(如肝炎、肝硬化)时表达量明显上调;与癌旁正常肝组织相比,其在肝癌实质细胞中的表达明显下调。其原因可能在于:在肝癌发生发展过程中,一方面,以 Caspase-1 为核心的炎性小体在细胞内激活,通过诱导细胞死亡以消除有癌变倾向的细胞;另一方面,炎性小体效应分子 IL-1 $\beta$ 、IL-18 等的裂解与释放可能在肿瘤微环境中引发炎症循环,导致无菌性炎症和癌症发生<sup>[5,11]</sup>。

刘钱<sup>[12]</sup>的研究也表明当肝脏存在炎症时,肝实质细胞内 Caspase-1 的表达会增强;但在相同条件下,Caspase-1 在肝癌细胞内的上调水平要明显高于正常肝细胞。Caspase-1 作为一种重要的炎症相关分子,可以通过多种方式参与肿瘤炎症微环境调控,其在肿瘤中的作用正如 Zitvogel et al<sup>[11]</sup>所述“在恶性肿瘤细胞与其微环境相互作用过程中,Caspase-1 的激活扮演着双面角色:积极诱导肿瘤细胞程序性

死亡和抗肿瘤的免疫监视,但同时也通过刺激自分泌或旁分泌,促进致瘤性炎症及肿瘤的生长与转移”。

### 参考文献

- [1] 陈万青,孙可欣,郑荣寿,等.2014年中国分地区恶性肿瘤发病和死亡分析[J].中国肿瘤,2018,27(1):1-14.
- [2] Hanahan D, Weinberg R A. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. Cell, 2011, 144(5): 646-74.
- [3] Berasain C, Castillo J, Perugorria M J, et al. Inflammation and liver cancer: new molecular links[J]. Ann N Y Acad Sci, 2009, 1155: 206-21.
- [4] Arzumanyan A, Reis H M, Feitelson M A. Pathogenic mechanisms in HBV- and HCV-associated hepatocellular carcinoma[J]. Nat Rev Cancer, 2013, 13(2): 123-35.
- [5] Strøwig T, Henao-Mejía J, Elinav E, et al. Inflammasomes in health and disease[J]. Nature, 2012, 481(7381): 278-86.
- [6] 汤 靓. DEN 诱导大鼠肝癌模型的代谢组学研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2010: 14-36.
- [7] 黄 勇, 窦科峰, 蒋建利. 原发性肝细胞癌中核转录因子-κB 表达增强及其意义[J]. 第四军医大学学报, 2003, 24(24): 2269-71.
- [8] Lamkanfi M, Kalai M, Saelens X, et al. Caspase-1 activates nuclear factor of the kappa-enhancer in B cells independently of its enzymatic activity[J]. J Biol Chem, 2004, 279(23): 24785-93.
- [9] 林丹丹, 刘海燕. 白细胞介素-4 与肿瘤[J]. 免疫学杂志, 2010, 26(12): 1099-103,106.
- [10] Wei Q, Mu K, Li T, et al. Deregulation of the NLRP3 inflammasome in hepatic parenchymal cells during liver cancer progression[J]. Lab Invest, 2014, 94(1): 52-62.
- [11] Zitvogel L, Kepp O, Galluzzi L, et al. Inflammasomes in carcinogenesis and anticancer immune responses[J]. Nat Immunol, 2012, 13(4): 343-51.
- [12] 刘 钱. NLRP3 炎症体在肝细胞内表达和功能的初步研究[D]. 重庆: 第三军医大学, 2014.

## Changes and significances of Caspase-1 and inflammation-associated cytokines during diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis in SD rats

Yang Qi, Zhuo Shaoyuan

(School of Basic Medical Science, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200)

**Abstract** **Objective** To investigate the changes and significances of Caspase-1 in liver and serum interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukin 18 (IL-18), nuclear factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) during diethylnitrosamine (DEN)-induced hepatocarcinogenesis in SD rats. **Methods** Healthy male SD rats were administered with DEN by intraperitoneal injection according to 70 mg/kg, once a week for 10 weeks. The rats were sacrificed at the 0, 6th, 13th and 20th week respectively. After the blood was collected, the liver, thymus and spleen were removed and weighed. The liver pathological changes were observed under light microscopy. The activity of Caspase-1 in hepatocellular carcinoma and the levels of serum alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST),  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase (GGT),  $\alpha$ -L-fucosidase (AFU), and were measured with biochemical method. ELISA was used to detect the levels of IL-1 $\beta$ , IL-18 and NF- $\kappa$ B. **Results** During DEN-induced hepatocarcinogenesis, the liver index of rats increased and the thymus index decreased gradually. Similarly, HE staining showed serious injury. The activity of Caspase-1 in liver cancer tissue and the levels of serum ALT, AST, GGT, AFU, IL-1 $\beta$ , IL-18, NF- $\kappa$ B increased gradually during hepatocarcinogenesis. Compared with the normal group, all were the highest in the 20th week ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** Primary hepatocarcinoma rat model was successfully established with DEN. IL-1 $\beta$ , IL-18, NF- $\kappa$ B and Caspase-1 were symbolic inflammatory factors of hepatocyte damage during hepatocarcinogenesis, and may play important roles in the progress of hepatocarcinoma.

**Key words** hepatocarcinoma; Caspase-1; interleukin-1 $\beta$ ; interleukin 18; nuclear factor  $\kappa$ B