

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.02.002

· 基础研究 ·

## GSDME 通过调控细胞焦亡影响乳腺癌 MCF-7 细胞对紫杉醇的敏感性

石瑛<sup>ab</sup>, 任静静<sup>a</sup>, 梁晨<sup>a</sup>, 王芳<sup>a</sup>, 李伟<sup>a</sup>, 李肖甫<sup>a</sup> (郑州大学 a. 第三附属医院检验科; b. 检验系, 河南 郑州 450052)

**[摘要]** **目的:** 探讨 GSDME 是否通过调控细胞焦亡影响乳腺癌 MCF-7 细胞对化疗药物紫杉醇 (paclitaxel, PTX) 的敏感性。**方法:** 利用 RNA 干扰技术敲降 GSDME 在 MCF-7 细胞中的表达, 采用 CCK-8 法、流式细胞术、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 释放实验及 Wb 技术分别检测 GSDME 低表达前后, PTX 对细胞增殖、焦亡、LDH 释放、GSDME-N 端蛋白及 cleaved-caspase-3 蛋白表达水平的变化情况。**结果:** 与对照组比较, PTX 处理组细胞的焦亡率、LDH 释放量、GSDME-N 端蛋白及 cleaved-caspase-3 蛋白的表达水平均显著升高 (均  $P < 0.01$ ); 与 si-NC 组比较, 敲低 GSDME 可使 si-GSDME 组细胞对 PTX 的敏感性降低, 其细胞焦亡率、LDH 释放量及 GSDME-N 端蛋白表达水平均显著下降 (均  $P < 0.01$ )。**结论:** 敲减 MCF-7 细胞中 GSDME 的表达量可显著抑制细胞焦亡并降低细胞对 PTX 的敏感性。

**[关键词]** 乳腺癌; MCF-7 细胞; 焦亡; GSDME; 紫杉醇

**[中图分类号]** R735; R736 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)02-0146-006

## GSDME influences sensitivity of breast cancer MCF-7 cells to paclitaxel by regulating cell pyroptosis

SHI Ying<sup>ab</sup>, REN Jingjing<sup>a</sup>, LIANG Chen<sup>a</sup>, WANG Fang<sup>a</sup>, LI Wei<sup>a</sup>, LI Xiaofu<sup>a</sup> (a. Clinical Laboratory; b. Department of Laboratory Examination, the Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate whether GSDME affects the sensitivity of breast cancer MCF-7 cells to paclitaxel (PTX) by regulating cell pyroptosis. **Methods:** GSDME was knocked-down in MCF-7 cells by RNA interference technique. CCK-8 assay, flow cytometry, lactate dehydrogenase (LDH) release method and Wb were respectively used to detect cell proliferation, pyroptotic rate, LDH release, GSDME-N-terminal protein and cleaved-caspase-3 protein levels in PTX-treated MCF-7 cells before and after GSDME knock-down. **Results:** Compared with the control group, the pyroptotic rate, LDH release, GSDME-N-terminal protein and cleaved-caspase-3 protein levels in the PTX-treatment group significantly increased (all  $P < 0.01$ ). Compared with the si-NC group, the PTX-sensitivity of si-GSDME group decreased, and the pyroptotic rate, LDH release and GSDME-N-terminal protein all significantly decreased (all  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Knock-down of GSDME in MCF-7 cells significantly inhibited cell pyroptosis and reduced drug sensitivity of MCF-7 cells to PTX.

**[Key words]** breast cancer; MCF-7 cells; pyroptosis; GSDME; paclitaxel

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(2): 146-151. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2019.02.002]

乳腺癌是女性常见的恶性肿瘤,其发病率和病死率均稳居榜首<sup>[1]</sup>。紫杉醇 (paclitaxel, PTX) 是其一线化疗药物,其配合手术可在很大程度上解决患者的治疗问题,但肿瘤多药耐药 (multidrug resistance, MDR) 的发生是导致转移并致患者死亡的重要原因<sup>[2-5]</sup>。目前,化疗药物抗肿瘤的作用机制多为细胞凋亡或自噬,而细胞焦亡在肿瘤细胞中还未得到深入研究。

细胞程序性死亡包括凋亡、坏死和焦亡,其中凋亡研究最为深入<sup>[6]</sup>。焦亡过程与凋亡相似,但不产生凋亡小体,而是在胞膜上形成小孔致使细胞肿胀破裂。Gasdermin 蛋白家族与焦亡相关,其中 gasder-

min E (GSDME) 又称 DFNA5, 是一个耳聋基因, 目前焦亡研究<sup>[7-10]</sup>最热的是 caspase-3 特异性切割 GSDME 蛋白从而介导焦亡的发生。GSDME 蛋白分为 GSDME-C 端和 GSDME-N 端结构域, 两者互相结合时起自抑制作用; 当 caspase-3 特异性切割 GSDME 的

**[基金项目]** 河南省高等学校重点科研项目 (No. 19A320055)。Project supported by the Key Research Program of Higher Education in Henan Province (No. 19A320055)

**[作者简介]** 石瑛 (1971-), 女, 博士, 副主任技师, 硕士生导师, 主要从事肿瘤免疫学检验的临床与基础研究

**[通信作者]** 石瑛 (SHI Ying, corresponding author), E-mail: syybr@126.com

D270位点时,释放出活性N端结构域,具有结合膜脂并集聚打孔的特性。还有研究<sup>[11]</sup>表明,GSDME与黑色素瘤耐药相关。

本研究利用转染技术,在乳腺癌MCF-7细胞中敲低GSDME,探讨GSDME是否可以通过调控焦亡发生,从而降低MCF-7细胞对化疗药物PTX的敏感性,为乳腺癌细胞的耐药机制研究提供实验依据,并为指导临床用药提供数据支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞系及主要试剂

人乳腺癌细胞系MCF-7购自ATCC公司,PTX购自西安昊轩生物科技有限公司,细胞凋亡检测试剂盒购自美国BD公司,CCK-8法试剂盒购自日本同仁化学研究所,LDH试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司,Lipofectamine™ 3000购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司,兔抗人GSDME单克隆抗体购自美国Abcam公司,兔抗人caspase-3单克隆抗体购自美国CST公司,兔抗人GAPDH多克隆抗体和羊抗兔IgG-HRP购自上海生工生物工程股份有限公司。

### 1.2 应用RNA干扰技术敲降MCF-7细胞GSDME的表达

取对数生长期MCF-7细胞接种到6孔板中( $1 \times 10^6$ 个/孔),待细胞汇合至70%时进行转染。GSDME-siRNAs引用自WANG等<sup>[7]</sup>,有两条si-GSDME序列,组别分别为空白对照组(blank control, Ctrl),阴性对照组(si-NC)和RNA干扰组(si-GSDME),其中si-GSDME组又分为si-GSDME\_1组、si-GSDME\_2组、si-GSDME\_(1+2)组和2si-GSDME\_(1+2)组。siRNA终浓度为20 nmol/L,转染48 h后进行后续其他实验。

### 1.3 CCK-8法检测PTX药物对乳腺癌MCF-7细胞增殖的影响

取对数生长期的MCF-7细胞接种到96孔板中( $8 \times 10^3$ 个/孔),过夜孵育后加入含PTX的新鲜培养基,终浓度分别为0、6、12、24、48、96、192 nmol/L,继续培养24 h后弃上清,加入含10% CCK-8的预混无血清培养基,并使用酶标仪测定波长在450 nm处的光密度(D)值。同时取对数生长的MCF-7细胞接种到96孔板中( $8 \times 10^3$ 个/孔),待细胞汇合至70%时,利用RNAi技术转染入si-NC及si-GSDME 48 h后,加入含PTX的新鲜培养基,终浓度分别为0、10、40、160、640、2 560、10 240 nmol/L,继续培养24 h后检测波长在450 nm处的光密度(D)值。细胞增殖抑制率 =  $[1 - (\text{实验组} D \text{值} / \text{对照组} D \text{值})] \times 100\%$ ,利用SPSS软件计算其半数抑制浓度(median inhibitory concentration, IC<sub>50</sub>)数值。每组设置3个平行复孔。

### 1.4 MCF-7细胞焦亡形态观察

取对数生长期MCF-7细胞接种到6孔板中( $1 \times 10^6$ 个/孔),过夜孵育后换为含48 nmol/L PTX的新鲜培养基。继续培养24 h后,使用倒置显微镜( $\times 200$ )观察并拍照。

### 1.5 流式细胞术检测细胞焦亡

分别收集各组细胞进行流式检测。加入100  $\mu$ l Binding buffer重悬细胞后再依次加入5  $\mu$ l Annexin V-FITC和5  $\mu$ l PI混匀,室温避光孵育15 min,加400  $\mu$ l Binding buffer重悬细胞,30 min内上流式细胞仪检测。自动检测10 000个细胞并由BD FAC-SDiva.8软件进行数据分析。以Annexin V-FITC<sup>+</sup>/PI<sup>+</sup>双阳性细胞百分率作为焦亡率<sup>[7,9-10,12-13]</sup>。

### 1.6 LDH释放实验检测细胞毒性

取对数生长期细胞于96孔板( $8 \times 10^3$ 个/孔),待细胞汇合至90%时换为含48 nmol/L PTX的新鲜无血清培养基,继续培养24 h。按照CytoTox96®分析试剂盒实验说明书定量测量LDH在细胞裂解后的释放量,检测D<sub>450</sub>值。LDH释放率(%) =  $(\text{处理组} D_{450} \text{值} - \text{空白对照} D_{450} \text{值}) / (\text{最大酶释放组} D_{450} \text{值} - \text{空白对照} D_{450} \text{值}) \times 100\%$ 。每组设3个平行复孔,实验重复3次。

### 1.7 Wb检测MCF-7细胞中GSDME-N端和cleaved-caspase-3的表达

分别收集各组细胞置于相应的1.5 ml EP管中,加入RIPA蛋白裂解缓冲液提取蛋白,实验方法严格按照操作说明书进行。收集的蛋白利用BCA的方法进行定量,并取20  $\mu$ g总蛋白进行10% SDS-PAGE,将蛋白全部转移至0.22  $\mu$ m PVDF膜上。5%脱脂奶粉室温封闭1 h,分别加入稀释后的兔抗人GSDME和Caspase-3(1:1 000)单克隆抗体、GAPDH多克隆抗体(1:1 000),4  $^{\circ}$ C孵育过夜,再用羊抗兔IgG-HRP(1:10 000)室温孵育1 h。采用ECL显色,拍照并用Image J 1.48u软件进行灰度值分析。

### 1.8 统计学处理

采用SPSS 23.0软件进行统计学分析,每组实验均重复3次,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本t检验,多组间比较采用单因素方差分析及LSD-t检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

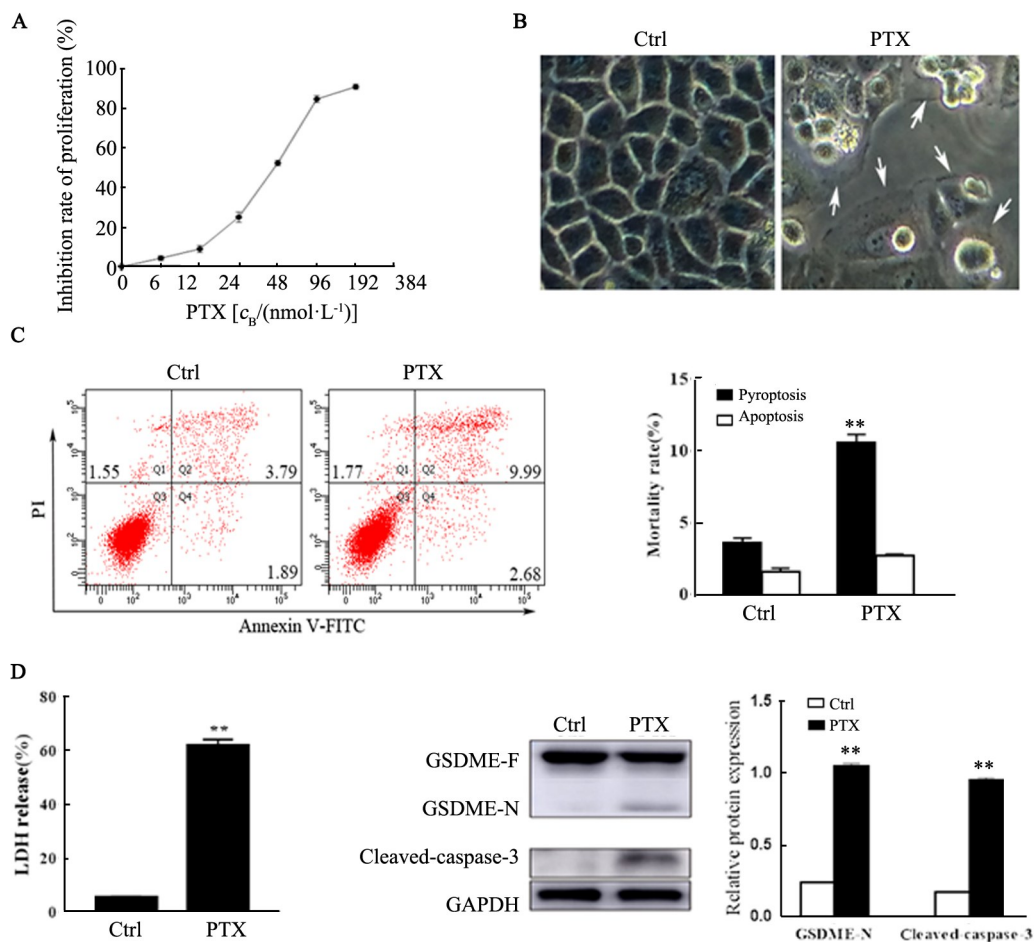
## 2 结果

### 2.1 PTX诱导乳腺癌MCF-7细胞发生焦亡

CCK-8法检测结果(图1A)显示,PTX处理MCF-7细胞24 h后的IC<sub>50</sub>为(46.89 $\pm$ 1.08)nmol/L。用约为半数抑制浓度的PTX(48 nmol/L)处理MCF-7细胞,光镜观察、流式细胞术和LDH释放水平检测结果(图

1B、1C)显示,与Ctrl组比较,PTX诱导可明显增加MCF-7细胞的焦亡率 $[(9.55 \pm 1.01)\% \text{ vs } (3.37 \pm 0.32)\%, P < 0.01]$ 及LDH释放水平 $[(61.88 \pm 1.36)\% \text{ vs } (5.75 \pm 0.09)\%, P < 0.01]$ ;Wb结果(图1D)显示,PTX诱导可明显增加GSDME的N端蛋白及cleaved-cas-

pase-3蛋白水平 $[(1.05 \pm 0.02) \text{ vs } (0.24 \pm 0.01), P < 0.01; (0.96 \pm 0.01) \text{ vs } (0.18 \pm 0.01), P < 0.01]$ 。结果提示,PTX可通过诱导MCF-7细胞发生焦亡进而发挥抗肿瘤作用。



\*\* $P < 0.01$  vs Ctrl group

A: CCK-8 assay for cell inhibition rate of proliferation after PTX treatment for 24 h; B: Representative microscopic images after 48 nmol/L PTX treatment for 24 h (arrows indicate pyroptotic cells,  $\times 200$ ); C: Flow cytometry and LDH release results after 48 nmol/L PTX treatment for 24 h; D: Wb results after 48 nmol/L PTX treatment for 24 h

图1 PTX诱导MCF-7细胞发生焦亡

Fig.1 Pyroptosis of MCF-7 cells induced by PTX

## 2.2 si-GSDME 转染显著下调 MCF-7 细胞中 GSDME 的表达水平

Wb 结果(见图 2)显示,与 si-NC 组比较,2si-GSDME<sub>(1+2)</sub>组下调 MCF-7 细胞中 GSDME 的表达水平最显著 $[(0.45 \pm 0.02) \text{ vs } (1.10 \pm 0.03), P < 0.01]$ 。因此采用 2si-GSDME<sub>(1+2)</sub>组作为 si-GSDME 组进行后续实验。

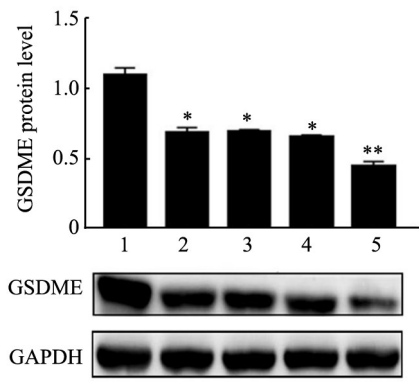
## 2.3 低表达 GSDME 显著降低 MCF-7 细胞对 PTX 药物的敏感性

CCK-8 法检测结果(见图 3)显示,与 Ctrl 组及 si-

NC 组相比,si-GSDME 组对 PTX 的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)显著升高 $[(4\ 559.01 \pm 58.57) \text{ nmol/L vs } (46.89 \pm 1.08) \text{ nmol/L}, (47.54 \pm 1.72) \text{ nmol/L}; \text{均 } P < 0.01]$ ,而 Ctrl 组与 si-NC 组间的 IC<sub>50</sub> 值差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结果表明,GSDME 低表达可降低 MCF-7 细胞对 PTX 的敏感性。

## 2.4 低表达 GSDME 对 PTX 诱导焦亡的影响

用 48 nmol/L 的 PTX 处理上述转染细胞,流式细胞术和 LDH 释放量检测结果(图 4A)显示,与 si-NC 组相比,si-GSDME 组细胞焦亡率显著升高 $[(4.38 \pm$

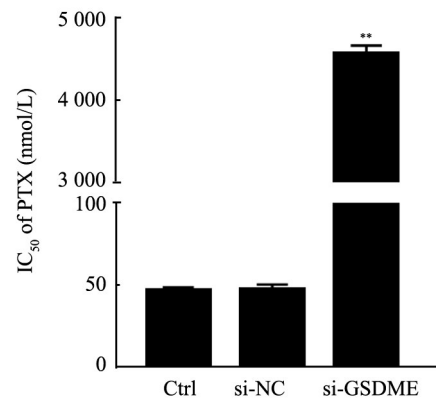


\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs si-NC group

1: si-NC; 2: si-GSDME\_1; 3: si-GSDME\_2;

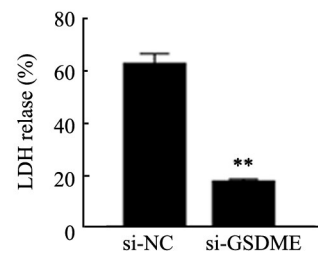
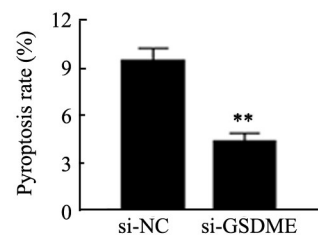
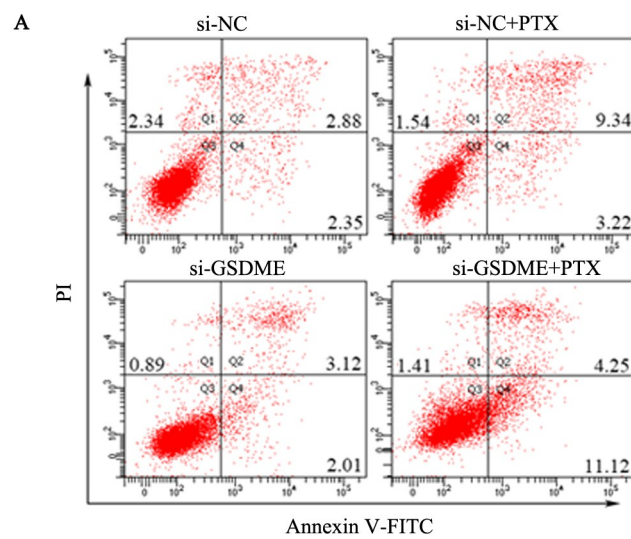
4: si-GSDME\_(1+2); 5: 2si-GSDME\_(1+2)

图2 Si-GSDME转染下调MCF-7细胞中GSDME的表达  
Fig. 2 Down-regulation of GSDME expression in MCF-7 cells by si-GSDME transfection

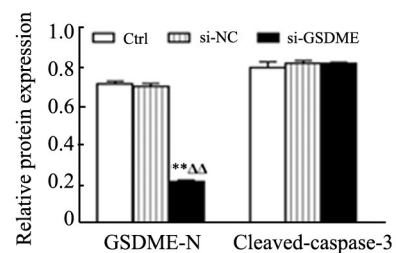
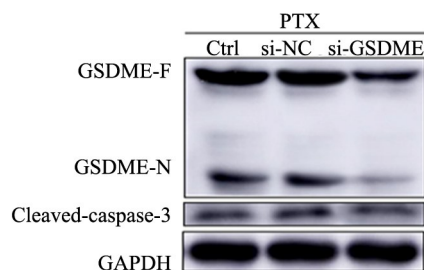


\*\* $P < 0.01$  vs Ctrl or si-NC group

图3 低表达GSDME降低MCF-7细胞对PTX的敏感性  
Fig. 3 Down-regulating GSDME reduces the sensitivity of MCF-7 cells to PTX



B



\*\* $P < 0.01$  vs Ctrl group; <sup>ΔΔ</sup> $P < 0.01$  vs si-NC group

A: Flow cytometry and LDH release results with 48 nmol/L PTX for 24 h; B: Wb results with 48 nmol/L PTX for 24 h

图4 低表达GSDME抑制PTX诱导的MCF-7细胞焦亡

Fig. 4 Down-regulating GSDME inhibits PTX-induced MCF-7 cell pyroptosis

0.53) % vs (9.48±0.79)%,  $P < 0.01$ ]及LDH释放水平均显著降低[(17.56±0.55) % vs (62.69±2.41)%,  $P <$

0.01]。Wb检测结果(图4B)显示, si-GSDME组GSDME的N端蛋白表达水平显著低于Ctrl组及si-NC

组 $[(0.22 \pm 0.01) \text{ vs } (0.71 \pm 0.01)、(0.70 \pm 0.02)]$ ;  $P < 0.01$ ], 而 Ctrl 组与 si-NC 组间的 N 端蛋白表达量的差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); cleaved-caspase-3 蛋白表达水平在以上 3 组间的差异均无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。结果提示, GSDME 低表达可减少 PTX 诱导细胞焦亡的发生。

### 3 讨论

在乳腺癌的化疗过程中, 癌细胞死亡一般分为细胞凋亡或自噬, 而细胞焦亡在化疗药物发挥抗肿瘤的作用中研究甚少<sup>[14]</sup>。细胞凋亡和焦亡有相类似之处, 均由 caspase 家族介导<sup>[8, 15-17]</sup>。Caspase 家族在介导细胞凋亡的过程中最关键的执行分子是 caspase-3, 所以 caspase-3 是细胞凋亡的明星分子已成为共识, 但是基于以往的研究<sup>[7, 10]</sup>表明, 当细胞中存在 GSDME 蛋白时, 能够将化疗药物诱导 caspase-3 介导的细胞凋亡转换为焦亡。

细胞焦亡是依赖 gasdermin 蛋白家族成员形成质膜孔的一种程序性死亡, GSDME 是最近研究的热点。肿瘤细胞中焦亡的发生是 caspase-3 切割 GSDME 产生 N 端结构域, 进而在胞膜上打孔的一系列过程<sup>[7-10]</sup>。由于 GSDME 启动子区的 DNA 甲基化而在大部分的肿瘤细胞中表达沉默<sup>[18-19]</sup>, 而邵峰实验室<sup>[7]</sup>在研究中发现 GSDME 在乳腺癌 MCF-7 细胞中高表达。因此本研究在乳腺癌细胞 MCF-7 中加入化疗药物 PTX 后显示, 与未加药对照组比较, MCF-7 细胞 GSDME-N 端和 cleaved-caspase-3 蛋白均升高, 焦亡率和 LDH 释放量也显著上升。表明 PTX 在乳腺癌 MCF-7 细胞中可通过细胞焦亡发挥化疗药物抗肿瘤的作用。

有文献<sup>[11]</sup>表明, 敲减 GSDME 可增加黑色素瘤对依托泊苷的耐药性。本研究通过低表达 MCF-7 细胞的 GSDME, 对比低表达前后的 PTX 药物敏感性发现, 低表达 GSDME 会降低 MCF-7 细胞对 PTX 药物的敏感性, 即 GSDME 下降会增加 MCF-7 细胞对 PTX 药物的耐药性。经 PTX 作用后, GSDME 低表达组的 GSDME-N 端焦亡率和 LDH 释放量也显著下降, 但 cleaved-caspase-3 蛋白表达差异无统计学意义。该结果表明, 低表达 GSDME 可显著抑制 MCF-7 细胞发生焦亡, 进而降低 MCF-7 细胞对 PTX 药物的敏感性。但是 caspase-3 蛋白仍然被激活, 可能是敲低 GSDME 后化疗药物导致细胞凋亡和焦亡同时发生。

综上所述, 化疗药物 PTX 在乳腺癌 MCF-7 细胞中是通过焦亡途径发挥化疗药物抗肿瘤的作用, 敲低 GSDME 会通过抑制焦亡发生进而降低 MCF-7 细胞对 PTX 药物的敏感性, 该结果为乳腺

癌患者耐药机制研究提供了实验数据支持和新的研究思路。

### [参考文献]

- [1] WARD E M, DESANTIS C E, LIN C C, et al. Cancer statistics: breast cancer in situ[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(6): 481-495. DOI: 10.3322/caac.21321.
- [2] LIU Z, ZHENG X, LV J, et al. Pharmacokinetic synergy from the taxane extract of *Taxus chinensis* improves the bioavailability of paclitaxel[J]. Phytomedicine, 2015, 22(5): 573-578. DOI: 10.1016/j.phymed.2015.03.011.
- [3] LIN Y, LIU Z, LI Y, et al. Short-term hyperthermia promotes the sensitivity of MCF-7 human breast cancer cells to paclitaxel[J]. Biol Pharm Bull, 2013, 36(3): 376-383. DOI: 10.1248/bpb.b12-00774.
- [4] KOMATSU M, WHEELER H E, CHUNG S, et al. Pharmacogenetics in paclitaxel-induced sensory peripheral neuropathy[J]. Clin Cancer Res, 2015, 21(19): 4337-4346. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-0133.
- [5] MOHAMMADI A, MANSOORI B, AGHAPOUR M, et al. The urtica dioica extract enhances sensitivity of paclitaxel drug to MDA-MB-468 breast cancer cells[J/OL]. Biomed Pharmacother, 2016, 83: 835-842[2018-09-08]. [http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753-3322\(16\)30840-x](http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753-3322(16)30840-x). DOI: 10.1016/j.biopha.2016.07.056.
- [6] GALLUZZI L, VITALE I, AQRONSON S A, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the nomenclature committee on cell death 2018[J]. Cell Death Differ, 2018, 25(3): 486-541. DOI: 10.1038/s41418-017-0012-4.
- [7] WANG Y, GAO W, SHI X, et al. Chemotherapy drugs induce pyroptosis through caspase-3 cleavage of a gasdermin[J]. Nature, 2017, 547(7661): 99-103. DOI: 10.1038/nature22393.
- [8] ROGERS C, FERNANDES-ALBERMIRI T, MAYES L, et al. Cleavage of DFNA5 by caspase-3 during apoptosis mediates progression to secondary necrotic/pyroptotic cell death[J/OL]. Nat Commun, 2017, 8: 14128[2018-09-08]. <https://www.nature.com/articles/ncomms14128>. DOI: 10.1038/ncomms14128.
- [9] LU H, ZHANG S, WU J, et al. Molecular targeted therapies elicit concurrent apoptotic and GSDME-dependent pyroptotic tumor cell death[J]. Clin Cancer Res, 2018, 24(23): 1478. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1478.
- [10] WANG Y, YIN B, LI D, et al. GSDME mediates caspase-3-dependent pyroptosis in gastric cancer[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 495(1): 1418-1425. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.11.156.
- [11] LAGE H, HELMBACH H, GROTTKE C, et al. DFNA5 (ICERE-1) contributes to acquired etoposide resistance in melanoma cells[J]. FEBS Lett, 2001, 494(1/2): 54-59. DOI: 10.1016/S0014-5793(01)02304-3.
- [12] GUO Q, WU Y, HOU Y, et al. Cytokine secretion and pyroptosis of thyroid follicular cells mediated by enhanced NLRP3, NLRP1, NLRP4, and AIM2 inflammasomes are associated with autoimmune thyroiditis[J]. Front Immunol, 2018, 4(9): 1197-1212. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01197.
- [13] TANG M, LI X, LIU P, et al. Bradykinin B2 receptors play a neuroprotective role in Hypoxia/reoxygenation injury related to pyroptosis pathway [J]. Curr Neurovasc Res, 2018, 15(2): 138-144. DOI:

- 10.2174/1567202615661805807341.
- [14] 路璐, 王云凤, 吕以东, 等. miR-129-5p 通过 HMGB1 调控乳腺癌 MCF-7 细胞对紫杉醇的敏感性[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2018, 25(1): 62-67. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.01.011.
- [15] HE Y, AMER A O. Microbial modulation of host apoptosis and pyroptosis[J/OL]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2014, 4: 83-87[2018-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4062964>. DOI: 10.3389/fcimb.2014.00083.
- [16] SHI J, GAO W, SHAO F. Pyroptosis: gasdermin-mediated programmed necrotic cell death[J]. *Trends Biochem Sci*, 2017, 42(4): 245-254. DOI: 10.1016/j.tibs.2016.10.004.
- [17] KOVACS S B, MIAO E A. Gasdermins: effectors of pyroptosis[J]. *Trends Cell Biol*, 2017, 27(9): 673-684. DOI: 10.1016/j.tcb.2017.05.005.
- [18] YOSHIKO M, MANABU F, HIROKI K, et al. The potential role of DFNA5, a hearing impairment gene, in p53-mediated cellular response to DNA damage[J]. *J Hum Genet*, 2006, 51(8): 652-664. DOI: 10.1007/s10038-006-0004-6.
- [19] WNG C, TANG L, SHEN D W, et al. The expression and regulation of DFNA5 in human hepatocellular carcinoma DFNA5 in hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Biol Rep*, 2013, 40(12): 6525-6531. DOI: 10.1007/s11033-013-2581-8.

[收稿日期] 2018-09-12

[修回日期] 2018-12-16

[本文编辑] 阮芳铭