

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.05.018

· 综述 ·

药物通过 gasdermin 家族蛋白介导的细胞焦亡途径与抗肿瘤治疗研究进展

Research progress on drug-mediated pyroptosis pathway through gasdermin family proteins and its anti-tumor therapy

殷婷婷^{1,2} 综述; 张春泽², 张伟华² 审阅(1. 天津中医药大学 研究生院, 天津 301617; 2. 天津市人民医院 肛肠外科, 天津 300121)

[摘要] 细胞焦亡是一种以促炎为特点的细胞程序性死亡方式, 其生物学特征为依赖于半胱氨酸天冬蛋白酶(caspases)家族蛋白切割 gasdermin 家族蛋白, 使活化的 gasdermin 家族蛋白在质膜上形成离子穿孔, 导致细胞肿胀裂解。目前已知的细胞焦亡信号途径包括 gasdermin-D(GSDMD)介导的经典途径和非经典途径, 以及 gasdermin-E(GSDME)介导的化疗药物等处理后的细胞焦亡途径。越来越多的研究显示, 细胞焦亡与肿瘤细胞死亡及相关正常组织细胞损伤密切相关, 陆续有多种药物或者提取物被证实抗肿瘤分子机制与焦亡相关, 这为抗肿瘤治疗的研究提供了新的思路和方法。本文就细胞焦亡的分子机制与焦亡相关药物抗肿瘤治疗的研究进展进行综述。

[关键词] 细胞焦亡; Gasdermin 蛋白家族; 半胱氨酸天冬蛋白酶; 抗肿瘤治疗

[中图分类号] R730.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)05-0582-07

细胞焦亡(pyroptosis)是近年来新发现的细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD)方式之一, 以促进细胞炎症性死亡为主要方式, 依赖 gasdermin (GSDM)蛋白家族成员形成质膜孔产生渗透压差导致细胞肿胀死亡, 与多种疾病如微生物感染、中风及肿瘤密切相关^[1-3]。近年来, 关于多种药物或提取物等通过调控 NOD-样受体(NOD-like receptor, NLR)家族^[4-8]、激活半胱氨酸天冬蛋白酶(caspase)家族^[9-11]等方式调节细胞焦亡的报道为癌症治疗提供了全新视角。本文对细胞焦亡的分子机制及其与药物抗肿瘤治疗的关系的研究进展作一综述。

1 细胞焦亡概述

细胞焦亡被认为是一种炎症性程序性细胞死亡, 由可识别危险信号并激活促炎细胞因子(如 IL-18 和 IL-1 β)分泌的炎症小体介导的一种固有免疫反应^[1-2]。随着研究的深入, 证实其分子机制是通过炎症小体中的 caspase 家族成员 caspase-1/4/5/11 与 GSDM 蛋白家族相互作用在质膜上形成离子孔道, 导致细胞内渗透压失衡, 出现细胞胀大直至解体死亡的细胞溶解现象, 可引发炎症反应, 故细胞焦亡又称炎症性死亡。需要强调的是, 只有 GSDM 阳性的细胞才能被炎症性 caspase 剪切引发细胞焦亡, 若不表达或低表达 GSDM 蛋白, 则即使 caspase 家族活化, 也无法引起细胞焦亡途径, 故而相比炎症小体中的 caspase 家族, GSDM 家族才是真正介导细胞焦亡的关键底物。

除了上述炎症性死亡的细胞焦亡, 近两年研究发现了非依赖炎症小体内炎症 caspase 的细胞焦亡途径, 即由 caspase-3 介导的以 Gasdermin-E/Deafness Autosomal Dominant 5 (GSDME/DFNA5)为底物的细胞焦亡途径。而 caspase-3 以凋亡性 caspase 的名义被广泛研究, 那么细胞焦亡与细胞凋亡二者区别在哪里呢? 首先, 细胞凋亡指为维持机体内环境稳定, 由基因控制的细胞自主的、非炎症性细胞程序性死亡方式, 是生命的基本现象; 而细胞焦亡是机体的一种重要的天然免疫反应, 可在抗击感染中发挥重要作用, 两者作用不同。其次, 与细胞凋亡由多基因严格控制不同, 细胞焦亡是由 GSDM 蛋白家族介导的细胞程序性坏死过程, 若不表达 GSDM 家族, 即使 caspase 活化仍旧无法诱导焦亡。最后, 细胞凋亡的最典型特征是染色质固缩、DNA 片段化细胞膜起泡、细胞皱缩和凋亡小体形成等, 而细胞焦亡会导致细胞膜出现空泡及细胞肿胀, 两者在形态上具有明显差别。就目前研究来讲, 形态学上的差异是区别焦亡与凋亡最直观的方法。

[基金项目] 天津卫生健康委员会项目(No. 2014KZ053, No. 2017KZ057)。Project supported by the Health Commission of Tianjin City (No.2014KZ053, No. 2017KZ057)

[作者简介] 殷婷婷(1992-), 硕士生, 主要研究天然产物与抗结直肠癌机制研究, E-mail: Valentina1010@163.com

[通信作者] 张春泽(ZHANG Chunze, corresponding author), 博士, 副主任医师, 硕士研究生导师, 主要研究结直肠癌临床治疗, E-mail: chunze.zhang@nankai.edu.cn

2 细胞焦亡的分子机制

2.1 通过炎症小体介导的经典与非经典的细胞焦亡途径

经典与非经典的细胞焦亡途径均依赖于炎症小体(图1)。病原微生物感染宿主时,病原相关模式分子(pathogen-associated molecular pattern, PAMP)被宿主细胞的模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)识别进而组成炎症小体。炎症小体的激活不仅会导致细胞炎症性死亡,还会激活 caspase-1 并剪切加工 IL-1 β 和 IL-18 等炎性因子。炎症小体是主要由支架蛋白、接头蛋白、效应蛋白3部分组成的多蛋白复合体,具体来说就是 PRR、ASC 衔接蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD)和炎性 caspase。PRR 家族主要是由 NLR 家族和 AIM2(absent in melanoma 2)组成^[13]。NLR 家族受体因其能调节多种蛋白形成炎症小体的功能而被大量研究,同时 GSDMD 为激活的炎性 caspase 的切割底物,而炎性 caspase 的活性受 NLR 受体家族调节,目前有许多药物及中药提取物可通过调节 NLR 受体家族中的 NLRP3 受体活性,从而调节各种免疫细胞或肿瘤细胞的焦亡,以达到保护正常细胞或增加对肿瘤细胞杀伤作用等目的。ASC 衔接蛋白可以通过 CARD-CARD(caspase recruitment)结构域及 PYD-PYD(Pyrin Domain)结构域相互作用,充当桥梁

连接 PRR 和炎性 caspase;炎性 caspase 根据焦亡途径中的功能划分为 caspase-1 和 caspase-4/5/11 两类,分别在经典和非经典炎症小体中发挥作用。经典炎症小体中 caspase-1 的功能不仅仅是激活 GSDMD 剪切介导焦亡发生和致炎因子 IL-18 和 IL-1 β 释放,还能使宿主细胞激活重定向细胞死亡、细胞修复与存活、抑制细胞内细菌生长、促进其他炎性细胞因子的功能等等;非经典炎症小体介导的细胞焦亡的发生依赖于 caspase-11/4/5 识别并结合脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)与 GSDMD 反应引发非经典细胞焦亡途径^[12, 14-16]。只有 caspase-4/11 经 D289/D285 特异位点自切割处理后形成的 P10 产物,才能与胞内 LPS 结合进行寡聚活化,形成的 P10 型 caspase-4/11 才是具有裂解 GSDMD、诱导细胞焦亡的具有活性的炎性 caspase,同样,含有经 D316 特异位点自处理后形成的 P10 产物,并被 PRR 识别的 P10 型 caspase-1 才具有裂解 GSDMD 的活性。活化后的 caspase-1/4/11 均可以切割 GSDMD 阳性细胞中的 GSDMD,暴露出 N 端与 C 端(GSDMD-C),其中 P10 型 caspase-1/4/11 对 GSDMD-C 结构域具有高亲和力,而生成的长度为 242 个氨基酸的 N 端切割产物(GSDMD-NT),可以细胞质膜为靶点,形成一个直径 10~21 nm 的可渗透性转化孔加速膜的穿孔并释放 IL-1 β 和 IL-18,造成细胞膜内外离子渗透压失衡,导致细胞溶解,细胞胀大溶解产生细胞焦亡^[1, 17-19]。

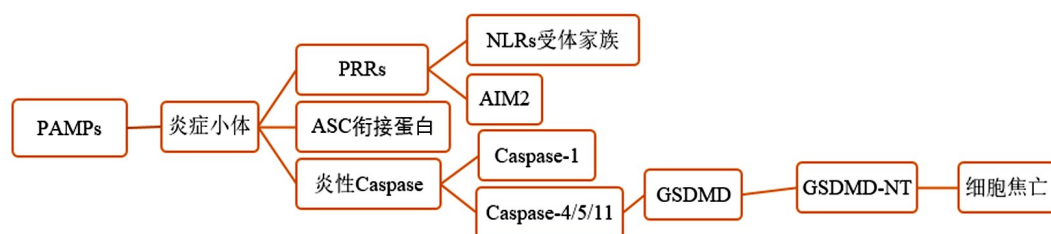


图1 细胞焦亡途径分子机制

2.2 通过 caspase-3 介导的继发性焦亡

以往的研究认为 caspase-3 主要与凋亡相关,激活 caspase-3 可裂解 caspase 激活的脱氧核糖核酸酶抑制物(caspase-activated DNase inhibitor, ICAD)以释放 caspase 激活的脱氧核糖核酸酶(caspase-activated DNase, CAD),CAD 降解细胞核内的染色体 DNA 并导致染色质凝聚。研究^[20-22]表明,对于表达 GSDME 的细胞, caspase-3 活化后在激活凋亡的同时还可以诱发细胞焦亡,镜下可以清晰地观察到细胞焦亡的形态特征,并通过 Western blotting 等手段检测到 GSDME 的活性 N 端。剪切体 GSDME 可靶向细胞质膜形成孔洞,导致细胞渗透性裂解从而引起继发性焦

亡。总结来说, caspase-3 是否诱发细胞焦亡,视细胞表达 GSDME 与否而不同:若细胞表达 GSDME,则活化 caspase-3 可同时引发细胞凋亡和细胞焦亡;而 GSDME 不表达或低表达的情况下, caspase-3 仅诱发细胞凋亡,具体途径见图2。

目前关于 caspase-3 介导的细胞焦亡研究属于较新的领域,已确定证实 GSDME 为该途径关键性底物,而 caspase-3 与 GSDME 之间的反应是诱导该焦亡途径的主要条件,已发现多种肿瘤细胞可通过此途径发生焦亡,但更详细的具体分子机制尚未探究,同时,细胞焦亡与细胞凋亡之间是否存在相互转化、相互转化的具体条件为何、对于抗肿瘤治疗方面是否

有临床意义等,也需要进一步的探索,相信该领域会成为十分有意义的抗肿瘤治疗新方向。

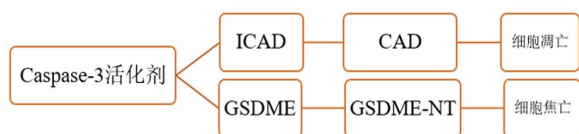


图2 caspase-3相关的焦亡与凋亡

3 GSDM蛋白家族与细胞焦亡

GSDM蛋白家族包括GSDMA~D、GSDME/DFNA5及常染色体隐性遗传性耳聋59蛋白(deafness, autosomal recessive 59, DFNB59)共6位成员,大多数家族成员保持相同的结构域,在成孔结构域和阻遏结构域之间具有显著的相似性,仅存连接子在不同^[23-24]。GSDMD和GSDME可作为炎症caspase及凋亡caspase的底物分子被切割,暴露其具有活性的N端产物从而活化,诱导细胞焦亡^[1, 17, 21, 22, 25-27]。

GSDMD主要在免疫细胞和肠上皮细胞表达^[27],在食管癌^[28]、三阴性乳腺癌^[29]、卵巢癌^[30]等肿瘤细胞中也有表达,其中食管癌细胞同时还表达GSDME^[31]。五味子甲、乙、丙素通过抑制线粒体活性氧(mitochondrial ROS, mt-ROS)的产生、ATP的释放和K⁺的流出降低NLRP3和活性caspase-1的水平,保护单核细胞THP-1细胞膜的完整性,抑制GSDMD介导的焦亡^[32]。二甲双胍可切割食管癌细胞表达的GSDMD而诱导焦亡^[28]。炎症小体中活化的caspase-1可以诱导GSDMD阳性的细胞中的GSDMD活化产生细胞焦亡^[1, 26-27, 33]。将细胞中的GSDMD敲除后发现caspase-1活化诱导的细胞焦亡现象消失或显著减少^[26]。由此可见,炎症caspase并非细胞焦亡的最主要底物,GSDMD才是此焦亡途径中的决定性分子。

GSDME是最早发现的GSDM蛋白,由于其突变与遗传性、非综合性耳聋的发生相关,所以最初被命名为DFNA5^[34-35]。DFNA5可被活化的caspase-3特异性剪切产生一个类似于GSDMD-NT的GSDME-N片段,该片段在质膜上形成离子穿孔引发细胞溶解死亡,即细胞焦亡,故而WANG等^[36]将其重新命名为GSDME。GSDME主要在胎盘、脑、心、肾、耳蜗、肠和IgE原性肥大细胞等正常组织中表达^[24, 36],食管癌^[32]、胃癌^[37]、非小细胞肺癌^[38]、肝癌^[39]、骨肉瘤^[40]、胶质细胞瘤^[41]等肿瘤细胞也有表达。ROGERS等^[21-22]研究表明如果凋亡细胞没有被清除,活化的caspase-3会激活GSDME使细胞进入称为继发性坏死/焦亡的溶解和炎症阶段。GSDME阳性的细胞在

caspase-3活化剂(如化疗药物、肿瘤坏死因子和病毒感染)的作用下产生具有活性的GSDME-N,GSDME-N的增加伴随着大量乳酸脱氢酶(LDH)的释放,揭示了细胞的坏死,而由于GSDME-N靶向质膜产生孔道导致的细胞胀大及溶解表明死亡方式已从凋亡转化为继发性焦亡。敲降GSDME的细胞则发生凋亡。同时,WANG等^[36]发现,在化疗药激活caspase-3的作用下,GSDME阳性的胃癌肿瘤细胞发生焦亡,而GSDME阴性或低表达的正常组织未检测到细胞焦亡。因此推测,与炎症死亡的细胞焦亡相同,GSDME是细胞焦亡的关键分子。

综上所述,GSDM家族与细胞焦亡直接相关,GSDMD及GSDME可被炎症小体中活化的炎症caspase及caspase-3剪切,只有暴露具有活性的N端(GSDMD-NT、GSDME-N片段)才能够穿透细胞膜形成质孔,继而引起细胞焦亡,若不表达GSDM,即使Caspase家族表达甚至活化细胞也无法出现焦亡现象。激活caspase-3可诱导细胞凋亡,但GSDME阳性细胞可同时出现细胞焦亡。

4 剪切gasdermin蛋白家族的caspases家族

Caspases是一类蛋白酶家族,根据其蛋白酶序列的同源性可分为3个亚族:caspase-1亚族包括caspase-1、4、5、11;caspase-2亚族包括caspase-2、9;caspase-3亚族包括caspase-3、6、7、8、10。caspases家族不仅在细胞凋亡过程中起重要作用,家族中的一个亚科“炎症caspases”还与微生物病原体的免疫应答有关。例如炎症小体中的caspase-1和caspase-11,除了可以切割GSDM家族诱导细胞焦亡外,还可以直接或间接导致促炎细胞因子IL-1 β 和IL-18的分裂和活化,导致细胞炎症性死亡进程,参与机体的免疫应答^[42-43]。

Caspase-1作为一种无活性的酶原存在于吞噬细胞的胞质中,是第一个被鉴定的哺乳动物caspases蛋白,又称IL-1 β 转化酶^[44]。活化的caspase-1可将GSDMD、IL-1 β 前体和IL-18前体切割成成熟的生物活性形式。成熟的IL-1 β 参与多种免疫反应,包括炎症细胞向感染部位的募集,促进细胞炎症性死亡^[45-46]。

Caspase-11是一种鼠源性的caspase分子,与人源的caspase-4/5序列存在60%相似,激活焦亡模式也相似。Caspase-11与caspase-1不同,在非经典炎症小体中,caspase-11作为胞内脂多糖(LPS)的受体,识别并结合LPS,激活非经典炎症小体的形成,不需要caspase-1参与就可以诱导细胞焦亡^[16]。但是IL-1 β 和IL-18的剪切加工和分泌也仍然需要激活caspase-1。活化的caspase-11可以激活NLRP3炎症小体,进而介

导 caspase-1 对 IL-1 β 和 IL-18 的剪切与加工^[15]。

Caspase-3 在焦亡途径中作为切割 GSDME 的关键条件而存在,活化的 caspase-3 具有切割 GSDME 的作用,只有产生具有活性的 GSDME-N 才能穿透细胞膜形成孔道,从而导致细胞焦亡。除此之外, caspase-3 被广泛认为是凋亡性 caspase^[44, 47-48]。caspase-3 属于异源活化(Hetero-activation),即由一种 caspase 活化另一种 caspase,故而除了凋亡途径,在 caspase-3 介导的焦亡途径中,也需要 caspase-3 活化剂(如化疗药物、肿瘤坏死因子和病毒感染)激活才可以继续切割底物分子 GSDME 诱导焦亡^[21, 36]。

5 焦亡与抗肿瘤治疗

5.1 诱导肿瘤细胞焦亡及逆转耐药

目前已知多种药物及中药提取物可通过活化炎症 caspase 及 caspase-3 切割细胞本身表达的 GSDM 家族诱导肿瘤细胞焦亡。化疗药 α -NETA (2-naphthylethyltrimethylammonium)^[31]可激活通过非经典焦亡途径中的 caspase-4-GSDMD 通路诱导细胞焦亡,同时发现 α -NETA 处理后卵巢癌细胞 caspase-3/8/9 均明显增加,证明 α -NETA 可同时诱导卵巢癌细胞凋亡及焦亡;化疗药多柔比星^[49]可激活 caspase-3 诱导黑色素瘤细胞凋亡及并诱导 caspase-3-GSDME 通路介导的焦亡,也可诱导黑色素瘤细胞自噬,相对单种诱导细胞死亡的方式,多种死亡方式叠加能更好的杀伤肿瘤细胞。除此之外,若将化疗药 α -NETA 应用于治疗可同时表达 GSDMD 和 GSDME 的食管癌,其不仅可引发非经典途径的焦亡及凋亡,还可诱导 caspase-3-GSDME 通路介导的焦亡,这是一条值得去验证和思考的治疗途径。此外,二甲双胍^[29, 50]及 ω -3 二十二碳六烯酸(DHA)^[30, 51]本身已被报道可通过凋亡或自噬等途径杀伤食管癌及三阴性乳腺癌细胞;近期又发现它们可同时切割肿瘤细胞中的 GSDMD 上调其细胞焦亡使药物产生更强的抗肿瘤作用。多种化疗药如顺铂^[52]、紫杉醇^[52]、铬铂^[53]激活 caspase-3 诱导肿瘤细胞凋亡的同时,因其活化了 caspase-3-GSDME 焦亡途径而诱导了多种肿瘤细胞包括食管癌细胞、非小细胞肺癌细胞及结肠癌细胞的焦亡,进一步增强了化疗药对肿瘤细胞的杀伤力。其中,铬铂虽能诱导成熟的 IL-1 β 分泌,但无法活化 caspase-1,故无法诱导经典途径焦亡。有研究证实顺铂与 PLK1 激酶抑制剂联合应用后 caspase-3 裂解增加直接导致了食管癌细胞的焦亡,PLK1 抑制可增强食管癌患者的顺铂的抗癌作用,对临床抗癌治疗有一定的指导意义^[32]。成胶质细胞瘤细胞、骨肉瘤细胞及非小细胞肺癌细胞中表达的 GSDME 可被中药提取物

及衍生物高良姜素(galangin)^[41]、薯蓣皂苷(camptothecin)^[40]、和胡椒碱类似物(piperlongumine analogue)^[38]及辛伐他汀^[54]活化剪切而引发细胞焦亡增加其死亡。此外,任静静^[55]等发现紫杉醇在乳腺癌 MCF-7 细胞中通过细胞焦亡的方式发挥抗肿瘤作用,GSDME 可通过提高细胞焦亡逆转乳腺癌紫杉醇耐药株 MCF-7/Taxol 细胞的耐药性。

上述例子提示了无论是化疗药还是目前新型的天然产物通过诱导肿瘤细胞焦亡可作为抗肿瘤治疗研究方向的新的切入点,需要我们更加深入思考的是,目前诱导细胞焦亡最重要的底物是 GSDM 家族,若 GSDM 家族蛋白发生突变,或焦亡途径中某一步的分子发生了突变,是否会导致焦亡的抗性?产生了抗性对抗肿瘤作用是正向还是负向?目前尚未有相关研究证实他们的关系,不失为一个值得研究的方向。如何克服癌症的耐药性是当今医学的一大难题,药物联合应用是目前最主要的解决方式,若能通过提高耐药细胞的焦亡,通过另一种细胞死亡方式逆转其耐药,是值得探索的一条新途径。另外,细胞焦亡与其他细胞死亡方式并非彼此对立拮抗,而是可以共同存在甚至相互协同促进的,进一步明确了焦亡机制在抗肿瘤研究中的价值。

5.2 抑制正常细胞焦亡

GSDM 家族除了在肿瘤细胞中表达,也在正常组织细胞中表达,丙戊酸(valproic acid)^[56]、补阳还五汤^[57]、MC4 受体激动剂^[58]、喜树碱(camptothecin)^[59]等通过抑制炎症小体中 NLRs 家族,阻断了炎症 caspase 的活化,从而抑制了脑缺血再灌注损伤后 GSDM 家族活化介导的神经元的焦亡,发挥神经保护作用;五味子甲、乙、丙素^[28]、甘草甜素(glycyrrhizin)^[60]、黄芩苷(baicalin)^[5]、野黄芩苷(scutellarin)^[6]、褪黑素、^[61]掌叶半夏凝集素(pinellapedatisectalectin)^[4]、杨梅素(dihydromyricetin)^[7]、大黄素(emodin)^[62-63]等多种中药提取物可通过降低细胞焦亡水平,保护单核细胞、Kupffer 细胞(肝巨噬细胞)、巨噬细胞等免疫细胞、血管内皮细胞、人脐静脉内皮细胞等内皮细胞及心肌细胞,降低正常细胞损害,提高其细胞活性。这些中药提取物中除了大黄素在心肌细胞中未明确验证何通路调节 GSDMD 活性外,其他药物无一例外均可通过抑制 NLRP3/caspase-1 通路来下调或消除 GSDMD 的活化,从而降低细胞焦亡水平。上述例子提示了中药提取物更多作用于抑制正常细胞焦亡,某种程度上可解释目前临床癌症治疗中中西医结合治疗用中药调理患者免疫力,减轻化疗副反应的现象。

化疗是当前抗肿瘤治疗的主要手段之一,GSDM 家族比起在肿瘤组织中表达,在正常组织细胞,尤其

是免疫细胞中表达更多,化疗药诱导正常组织细胞焦亡若能减轻,那化疗副反应相对会减轻。中药提取物更多地表现出了抑制正常细胞焦亡的趋势,若与化疗药联合应用或能减轻化疗药对正常细胞的焦亡损伤,有一定的应用前景。

5.3 协同作用

多柔比星也可通过凋亡、焦亡及细胞自噬等多种细胞死亡方式杀伤黑色素瘤细胞^[49],同时也会通过活化NLRP3炎症小体激活GSDMD介导的心肌细胞焦亡^[64],而胚胎干细胞外泌体与多柔比星联合应用已被证实可抑制多柔比星治疗带来的心肌细胞^[65]及骨骼肌细胞^[66]的焦亡,并可维持对肿瘤细胞的杀伤作用。

药物联合治疗是癌症研究中最常见的策略之一,适当的药物组合可以显著提高细胞对抗癌药物的敏感性。开发诱导肿瘤细胞焦亡的药物,与其他抗肿瘤药联合应用,则有可能适当减少每种药物使用的剂量,这有助于减少不良反应的发生、克服癌细胞产生耐药性,提高患者治疗效率。

6 展望

目前细胞焦亡中细胞炎性死亡的机制研究较广泛和深入,caspase-3介导的焦亡途径是近年来较为热门的研究课题,同时细胞焦亡与GSDM蛋白家族之间的联系可以为未来的研究提供更多方向,而其中相互作用的具体分子机制仍不甚明确。如多种细胞死亡方式之间是否存在相互转化;凋亡与焦亡过程均依赖caspase-3的活化,两种细胞死亡方式之间是否存在相互转化,两者可否共存,凋亡与焦亡之间是否存在协同、对抗或推动的交互作用;焦亡途径中关键分子的突变是否会产生对焦亡的抗性,而这一变化对细胞的影响是正向抑或是负向等等。目前研究证据表明癌症治疗中增强肿瘤细胞焦亡可以有效提高对癌细胞的杀伤作用,甚至逆转癌症耐药情况,而抑制正常组织焦亡则有减轻化疗副反应,提高患者生存质量的效果。因此,对于细胞焦亡机制的研究不仅有利于细胞程序性死亡方式多样性的探索,更有利于为焦亡所导致的相关疾病的治疗及药物开发提供新视角。细胞焦亡类药物与现有的抗癌药联合应用,将会为药物治疗方案提供更多选择,多药联合应用可有效降低耐药的可能性,加强药物对癌细胞的杀伤作用,提高细胞对治疗药物的敏感性,为更多肿瘤患者带来治愈的希望。

[参考文献]

[1] SHI J J, GAO W Q, 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.

- [2] 杨依霏. Mt功能变化和焦亡相关蛋白表达在HEV致肝脏损伤中的作用[D]. 北京: 中国农业大学, 2015.
- [3] LEE S, HIROHAMA M, NOGUCHI M, et al. Influenza A virus infection triggers pyroptosis and apoptosis of respiratory epithelial cells through the type I interferon signaling pathway in a mutually exclusive manner[J/OL]. J Virol, 2018, 92(14): e00396-e00318 [2019-10-13]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6026744/>. DOI:10.1128/JVI.00396-18.
- [4] WANG W, MAO S H, YU H L, et al. Pinellia pedatisecta lectin exerts a proinflammatory activity correlated with ROS-MAPKs/NF- κ B pathways and the NLRP3 inflammasome in RAW264.7 cells accompanied by cell pyroptosis[J]. Int Immunopharmacol, 2019, 66: 1-12. DOI:10.1016/j.intimp.2018.11.002.
- [5] 颜亮, 李陈广, 徐丽慧, 等. 黄芩苷对NLRP3炎症小体活化和细胞焦亡的抑制作用及其机制研究[J]. 免疫学杂志, 2018, 34(2): 93-100, 114. DOI:10.13431/j.cnki.immunol.j.20180014.
- [6] 景艳芸. 野黄芩苷抑制巨噬细胞中NLRP3炎症小体活化及其抗败血症作用研究[D]. 广州: 暨南大学, 2018.
- [7] HU Q, ZHANG T, YI L, et al. Dihyromyricetin inhibits NLRP3 inflammasome-dependent pyroptosis by activating the Nrf2 signaling pathway in vascular endothelial cells[J]. Biofactors, 2018, 44(2): 123-136. DOI:10.1002/biof.1395.
- [8] XIE J, ZHUAN B, WANG H X, et al. Huaier extract suppresses non-small cell lung cancer progression through activating NLRP3-dependent pyroptosis[J/OL]. Anat Rec (Hoboken), 2019: Epub ahead of print [2019-10-13]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31692261/>. DOI:10.1002/ar.24307.
- [9] CHU Q, JIANG Y N, ZHANG W, et al. Pyroptosis is involved in the pathogenesis of human hepatocellular carcinoma[J]. Oncotarget, 2016, 7(51): 84658-84665. DOI:10.18632/oncotarget.12384.
- [10] 林秋茹. 棉酚通过非经典炎症小体通路诱导小鼠巨噬细胞发生焦亡[D]. 广州: 暨南大学, 2016.
- [11] HE T, XU X, ZHANG X Y, et al. Effectiveness of Huai qi Huang granules on juvenile collagen-induced arthritis and its influence on pyroptosis pathway in synovial tissue[J]. Curr Med Sci, 2019, 39(5): 784-793. DOI:10.1007/s11596-019-2106-3.
- [12] BERGSBAKEN T, FINK S L, COOKSON B T. Pyroptosis: host cell death and inflammation[J]. Nat Rev Microbiol, 2009, 7(2): 99-109. DOI:10.1038/nrmicro2070.
- [13] LAMKANFI M, DIXIT V M. Inflammasomes and their roles in health and disease[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2012, 28: 137-161. DOI:10.1146/annurev-cellbio-101011-155745.
- [14] DONG T, LIAO D H, LIU X H, et al. Using small molecules to dissect non-apoptotic programmed cell death: necroptosis, ferroptosis, and pyroptosis[J]. ChemBioChem, 2015, 16(18): 2557-2561. DOI: 10.1002/cbic.201500422.
- [15] KAYAGAKI N, WARMING S, LAMKANFI M, et al. Non-canonical inflammasome activation targets caspase-11[J]. Nature, 2011, 479(7371): 117-121. DOI:10.1038/nature10558.
- [16] SHI J J, ZHAO Y, WANG Y P, et al. Inflammatory caspases are innate immune receptors for intracellular LPS[J]. Nature, 2014, 514(7521): 187-192. DOI:10.1038/nature13683.
- [17] ZHAO Y, SHI J J, SHAO F. Inflammatory caspases: activation and cleavage of gasdermin-D *in vitro* and during pyroptosis[J]. Methods

- Mol Biol, 2018, 1714: 131-148. DOI:10.1007/978-1-4939-7519-8_9.
- [18] SHI J J, ZHAO Y, WANG K, et al. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death[J]. Nature, 2015, 526(7575): 660-665. DOI:10.1038/nature15514.
- [19] WANG K, SUN Q, ZHONG X, et al. Structural mechanism for GSDMD targeting by autoprocessed caspases in pyroptosis[J]. Cell, 2020, 180(5): 941-955.e20. DOI:10.1016/j.cell.2020.02.002.
- [20] ELMORE S. Apoptosis: a review of programmed cell death[J]. Toxicol Pathol, 2007, 35(4): 495-516. DOI:10.1080/01926230701320337.
- [21] ROGERS C, FERNANDES-ALNEMRI 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[2019-10-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5216131/>. DOI:10.1038/ncomms14128.
- [22] ROGERS C, ERKES D A, NARDONE A, et al. Gasdermin pores permeabilize mitochondria to augment caspase-3 activation during apoptosis and inflammasome activation[J/OL]. Nat Commun, 2019, 10(1): 1689[2019-10-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6459836/>. DOI:10.1038/s41467-019-09397-2.
- [23] DING J J, WANG K, LIU W, et al. Erratum: Pore-forming activity and structural autoinhibition of the gasdermin family[J]. Nature, 2016, 540(7631): 150. DOI:10.1038/nature20106.
- [24] 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.
- [25] YU X L, HE S D. GSDME as an executioner of chemotherapy-induced cell death[J]. Sci China Life Sci, 2017, 60(11): 1291-1294. DOI:10.1007/s11427-017-9142-2.
- [26] TSUCHIYA K, NAKAJIMA S, HOSAJIMA S, et al. caspase-1 initiates apoptosis in the absence of gasdermin D[J/OL]. Nat Commun, 2019, 10(1): 2091[2019-10-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6505044/>. DOI:10.1038/s41467-019-09753-2.
- [27] SAEKI N, USUI T, AOYAGI K, et al. Distinctive expression and function of four GSDM family genes (GSDMA-D) in normal and malignant upper gastrointestinal epithelium[J]. Genes Chromosomes Cancer, 2009, 48(3): 261-271. DOI:10.1002/gcc.20636.
- [28] WANG L, LI K, LIN X J, et al. Metformin induces human esophageal carcinoma cell pyroptosis by targeting the miR-497/PELP1 Axis[J]. Cancer Lett, 2019, 450: 22-31. DOI: 10.1016/j.canlet.2019.02.014.
- [29] PIZATO N, LUZETE B C, KIFFER L F M V, et al. Omega-3 docosahexaenoic acid induces pyroptosis cell death in triple-negative breast cancer cells[J/OL]. Sci Rep, 2018, 8(1): 1952[2019-10-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5792438/>. DOI: 10.1038/s41598-018-20422-0.
- [30] QIAO L Q, WU X M, ZHANG J, et al. A-Neta induces pyroptosis of epithelial ovarian cancer cells through the GSDMD/caspase-4 pathway[J]. FASEB J, 2019, 33(11): 12760-12767. DOI: 10.1096/fj.201900483RR.
- [31] WU M J, WANG Y, YANG D, et al. A PLK1 kinase inhibitor enhances the chemosensitivity of cisplatin by inducing pyroptosis in oesophageal squamous cell carcinoma[J/OL]. EBioMedicine, 2019, 41: 244-255[2019-11-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6442225/>. DOI:10.1016/j.ebiom.2019.02.012.
- [32] GUO M M, AN F L, YU H Y, et al. Comparative effects of schisan-
- drin A, B, and C on *Propionibacterium acnes*-induced, NLRP3 inflammasome activation-mediated IL-1 β secretion and pyroptosis[J]. Biomedicine Pharmacother, 2017, 96: 129-136. DOI:10.1016/j.biopha.2017.09.097.
- [33] LIU X, ZHANG Z B, RUAN J B, et al. Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores[J]. Nature, 2016, 535(7610): 153-158. DOI:10.1038/nature18629.
- [34] VAN LAER L, HUIZING E H, VERSTREKEN M, et al. Nonsyndromic hearing impairment is associated with a mutation in DFNA5 [J]. Nat Genet, 1998, 20(2): 194-197. DOI:10.1038/2503.
- [35] BISCHOFF A M, LUIJENDIJK M W, HUYGEN P L, et al. A novel mutation identified in the DFNA5 gene in a Dutch family: a clinical and genetic evaluation[J]. Audiol Neurootol, 2004, 9(1): 34-46. DOI:10.1159/000074185.
- [36] WANG Y P, GAO W Q, SHI X Y, et al. Chemotherapy drugs induce pyroptosis through caspase-3 cleavage of a gasdermin[J]. Nature, 2017, 547(7661): 99-103. DOI:10.1038/nature22393.
- [37] WANG Y B, YIN B, LI D N, 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.
- [38] LI Q, CHEN L P, DONG Z J, et al. Piperlongumine analogue L50377 induces pyroptosis via ROS mediated NF- κ B suppression in non-small-cell lung cancer[J]. Chem Biol Interact, 2019, 313: 108820. DOI:10.1016/j.cbi.2019.108820.
- [39] HU J, DONG Y, DING L, et al. Local delivery of arsenic trioxide nanoparticles for hepatocellular carcinoma treatment[J/OL]. Signal Transduct Target Ther, 2019, 4: 28[2019-11-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6799825/>. DOI:10.1038/s41392-019-0062-9.
- [40] DING Q Y, ZHANG W D, CHENG C, et al. Dioscin inhibits the growth of human osteosarcoma by inducing G2/M-phase arrest, apoptosis, and GSDME-dependent cell death in vitro and in vivo[J]. J Cell Physiol, 2020, 235(3): 2911-2924. DOI:10.1002/jcp.29197.
- [41] KONG Y, FENG Z C, CHEN A J, et al. The natural flavonoid galangin elicits apoptosis, pyroptosis, and autophagy in glioblastoma[J/OL]. Front Oncol, 2019, 9: 942[2019-11-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6776614/>. DOI:10.3389/fonc.2019.00942.
- [42] KAYAGAKI N, WARMING S, LAMKANFI M, et al. Non-canonical inflammasome activation targets caspase-11[J]. Nature, 2011, 479(7371): 117-121. DOI:10.1038/nature10558.
- [43] FRANCHI L, EIGENBROD T, MUÑOZ-PLANILLO R, et al. The inflammasome: a caspase-1-activation platform that regulates immune responses and disease pathogenesis[J]. Nat Immunol, 2009, 10(3): 241-247. DOI:10.1038/ni.1703.
- [44] NICHOLSON D W. caspase structure, proteolytic substrates, and function during apoptotic cell death[J]. Cell Death Differ, 1999, 6(11): 1028-1042. DOI:10.1038/sj.cdd.4400598.
- [45] MARTINON F, TSCHOPP J. Inflammatory caspases and inflammasomes: master switches of inflammation[J]. Cell Death Differ, 2007, 14(1): 10-22. DOI:10.1038/sj.cdd.4402038.
- [46] FAUCHEU C, BLANCHET A M, COLLARD-DUTILLEUL V, et al. Identification of a cysteine protease closely related to interleukin-1 beta-converting enzyme[J]. Eur J Biochem, 1996, 236(1): 207-213. DOI:10.1111/j.1432-1033.1996.t01-1-00207.x.
- [47] PORTER A G, JÄNICKE R U. Emerging roles of caspase-3 in apop-

- tosis[J]. *Cell Death Differ*, 1999, 6(2): 99-104. DOI: 10.1038/sj.cdd.4400476.
- [48] MAZUMDER S, PLESCA D, ALMASAN A. caspase-3 activation is a critical determinant of genotoxic stress-induced apoptosis[J]. *Methods Mol Biol*, 2008, 414: 13-21. DOI: 10.1007/978-1-59745-339-4_2.
- [49] YU P, WANG H Y, TIAN M, et al. Eukaryotic elongation factor-2 kinase regulates the cross-talk between autophagy and pyroptosis in doxorubicin-treated human melanoma cells in vitro[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2019, 40(9): 1237-1244. DOI: 10.1038/s41401-019-0222-z.
- [50] FENG Y, KE C, TANG Q, et al. Metformin promotes autophagy and apoptosis in esophageal squamous cell carcinoma by downregulating Stat3 signaling[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1088[2019-11-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3944271/>. DOI:10.1038/cddis.2014.59.
- [51] XIONG A L, YU W P, TIWARY R, et al. Distinct roles of different forms of vitamin E in DHA-induced apoptosis in triple-negative breast cancer cells[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2012, 56(6): 923-934. DOI:10.1002/mnfr.201200027.
- [52] ZHANG C C, LI C G, WANG Y F, et al. Chemotherapeutic paclitaxel and cisplatin differentially induce pyroptosis in A549 lung cancer cells via caspase-3/GSDME activation[J]. *Apoptosis*, 2019, 24(3/4): 312-325. DOI:10.1007/s10495-019-01515-1.
- [53] YU J H, LI S, QI J, et al. Cleavage of GSDME by caspase-3 determines lobaplatin-induced pyroptosis in colon cancer cells[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(3): 193[2019-11-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6389936/>. DOI: 10.1038/s41419-019-1441-4.
- [54] WANG F J, LIU W, NING J F, et al. Simvastatin suppresses proliferation and migration in non-small cell lung cancer via pyroptosis[J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(4): 406-417. DOI:10.7150/ijbs.23542.
- [55] 任静静. GSDME通过细胞焦亡逆转MCF-7/Taxol细胞的耐药性研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2019.
- [56] ZHU S, ZHANG Z, JIA L Q, et al. Valproic acid attenuates global cerebral ischemia/reperfusion injury in gerbils via anti-pyroptosis pathways[J]. *Neurochem Int*, 2019, 124: 141-151. DOI: 10.1016/j.neuint.2019.01.003.
- [57] SHE Y, SHAO L, ZHANG Y R, et al. Neuroprotective effect of glycosides in Buyang Huanwu Decoction on pyroptosis following cerebral ischemia-reperfusion injury in rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 242: 112051. DOI:10.1016/j.jep.2019.112051.
- [58] CHEN S P, ZUO Y C, HUANG L, et al. The MC₄ receptor agonist RO27-3225 inhibits NLRP1-dependent neuronal pyroptosis via the ASK1/JNK/p38 MAPK pathway in a mouse model of intracerebral haemorrhage[J]. *Br J Pharmacol*, 2019, 176(9): 1341-1356. DOI: 10.1111/bph.14639.
- [59] AN P P, XIE J, QIU S, et al. Hispidulin exhibits neuroprotective activities against cerebral ischemia reperfusion injury through suppressing NLRP3-mediated pyroptosis[J]. *Life Sci*, 2019, 232: 116599. DOI:10.1016/j.lfs.2019.116599.
- [60] HUA S Y, MA M Y, FEI X Y, et al. Glycyrrhizin attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury by suppressing HMGB1-dependent GSDMD-mediated kupffer cells pyroptosis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 68: 145-155. DOI:10.1016/j.intimp.2019.01.002.
- [61] ZHANG Y, LIU X, BAI X, et al. Melatonin prevents endothelial cell pyroptosis via regulation of long noncoding RNA MEG3/miR-223/NLRP3 Axis[J]. *J Pineal Res*, 2018, 64(2): e12449[2019-11-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29024030/>. DOI: 10.1111/jpi.12449.
- [62] 吴树宁, 王凯, 施思, 等. 大黄素预处理对LPS/ATP诱导的人脐静脉内皮细胞焦亡的影响[J]. *山西医科大学学报*, 2019, 50(4): 410-414. DOI:10.13753/j.issn.1007-6611.2019.04.006.
- [63] YE B Z, CHEN X D, DAI S S, et al. Emodin alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury by inhibiting gasdermin D-mediated pyroptosis in cardiomyocytes[J/OL]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13: 975-990[2019-11-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6438141/>. DOI:10.2147/DDDT.S195412.
- [64] MENG L P, LIN H, ZHANG J, et al. Doxorubicin induces cardiomyocyte pyroptosis via the TINCR-mediated posttranscriptional stabilization of NLR family pyrin domain containing 3[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2019, 136: 15-26. DOI:10.1016/j.yjmcc.2019.08.009.
- [65] SINGLA D K, JOHNSON T A, TAVAKOLI DARGANI Z. Exosome treatment enhances anti-inflammatory M2 macrophages and reduces inflammation-induced pyroptosis in doxorubicin-induced cardiomyopathy[J/OL]. *Cells*, 2019, 8(10): E1224[2019-11-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6830113/>. DOI: 10.3390/cells8101224.
- [66] TAVAKOLI DARGANI Z, SINGLA R, JOHNSON T, et al. Exosomes derived from embryonic stem cells inhibit doxorubicin and inflammation-induced pyroptosis in muscle cells[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2018, 96(3): 304-307. DOI:10.1139/cjpp-2017-0340.

[收稿日期] 2020-01-09

[修回日期] 2020-04-26

[本文编辑] 黄静怡