

·综述·

坏死性凋亡在肿瘤放化疗中的研究进展与思考

董佳丽 路璐 樊赛军

300192 天津, 中国医学科学院北京协和医学院放射医学研究所, 天津市放射医学与分子核医学重点实验室

通信作者: 樊赛军, Email: fansaijun@irm-cams.ac.cn

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2017.03.012

【摘要】 肿瘤具有对程序性细胞死亡的抵抗作用, 这是肿瘤细胞会产生放化疗耐受的原因之一。细胞程序性死亡不仅包括依赖含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 (caspase) 的细胞凋亡, 也包括一种最近研究热门的非依赖 caspase 的死亡形式——坏死性凋亡。目前研究发现坏死性凋亡是由受体相互作用蛋白 1 (RIP1)、受体相互作用蛋白 3 (RIP3) 以及混合谱系激酶结构域蛋白 (MLKL) 进行调控。笔者简要地总结了目前国内外坏死性凋亡相关的研究进展, 为坏死性凋亡作为一种肿瘤放化疗新靶点的深入研究提供新思路。

【关键词】 肿瘤; 坏死性凋亡; 受体相互作用蛋白; 混合谱系激酶结构域蛋白

基金项目: 国家自然科学基金 (81572969); 科技部科研院所开发项目 (2014EG150134); 天津科技支撑项目 (14ZCZDSY00001); 天津市应用基础与前沿技术研究计划青年项目 (15JQJNJC46000)

Progress in research on necroptosis as a target for cancer radiotherapy and chemotherapy Dong Jiali, Lu Lu, Fan Saijun

Tianjin Key Laboratory of Radiation Medicine and Molecular Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Science, Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China

Corresponding author: Fan Saijun, Email: fansaijun@irm-cams.ac.cn

【Abstract】 A characteristic of cancer is resistance to programmed cell death, which sustains cell survival through oncogenic transformation and therapeutic resistance. Recent studies have shown that programmed cell death is not limited to caspase-dependent apoptosis. Necroptosis, a caspase-independent form of cell death, is regulated by receptor interacting protein 1, receptor interacting protein 3, and mixed lineage kinase domain-like proteins. This review summarized current research studies on necroptosis to provide perspectives for the development of novel tumor radiotherapy and chemotherapy strategies that target this process.

【Key words】 Neoplasms; Necroptosis; Receptor interacting protein; Mixed lineage kinase domain-like protein

Fund programs: National Natural Science Foundation of China(81572969); Technology and Development and Research Projects for Research Institutes, Ministry of Science and Technology (2014EG150134); Tianjin Science and Technology Support Plan Project(14ZCZDSY00001); The Natural Science Foundation of Tianjin(15JQJNJC46000)

1 坏死性凋亡

通过细胞死亡来消除损伤的细胞是必不可少的机体生物过程, 细胞死亡调控障碍则可导致许多疾病的发生, 如肿瘤和炎症。基于形态特征和生化特性, 细胞死亡可分为细胞凋亡、坏死、自噬性死亡和有丝分裂障碍几种主要形式^[1]。细胞凋亡和坏死

是两个最独特的细胞死亡方式。细胞凋亡称之为程序性细胞死亡, 具有高度可调节性。对于坏死, 以前普遍认为是一个随机和被动的过程, 不具有可调节性。然而, 越来越多的证据表明其与凋亡相似, 坏死可以以一种不依赖 caspase 的方式被诱导和调控, 即坏死性凋亡(necroptosis)。有研究发现, 许多的细胞应急过程和因素可以诱导坏死性凋亡发

生, 目前包括 TNF 受体超家族、T 细胞受体、干扰素受体、Toll 样受体、细胞代谢和遗传毒性应激以及各种抗肿瘤化合物诱导^[2]。这些启动因素导致受体相互作用蛋白 1(receptor-interacting protein 1, RIP1)活化→受体相互作用蛋白 3(receptor-interacting protein 3, RIP3)磷酸化→混合谱系激酶结构域蛋白(mixed lineage kinase domain-like protein, MLKL)磷酸化, 形成 RIP1/ RIP3/MLKL 复合物(即 necrosome), 从而导致 MLKL 的三聚体形成, 进而转位至质膜(图 1), 介导上游细胞死亡受体和下游执行分子, 如活性氧的猝发、血浆膜通透性增加和胞内 ATP 减少, 从而发挥其生物作用^[3-4]。但是也有研究表明, 某些坏死性凋亡的发生不需要 RIP1 参与, 可直接激活 RIP3 或 MLKL^[5]。另外, 也发现了一些 necrosome 特异性抑制剂可以抑制坏死性凋亡的发生, 例如 necrostatin-1[(Nec-1)RIP1 激酶抑制剂]、GSK-843/-872/-840(RIP3 激酶抑制剂)和 necrosulfonamide(MLKL 抑制剂)^[6]。

与细胞凋亡不同, 坏死性凋亡在胚胎发育过程中通常不会出现(表 1)。有报道称, 坏死性凋亡的异常激活可影响发育和淋巴细胞的内稳态性^[6]。坏死性凋亡通过抑制病毒增殖或提高炎症反应起到对抗病毒感染的的作用^[7]。另外, 坏死性凋亡与许多疾病的发生发展有着密切的关系, 包括 TNF 介导的低体温症和全身炎症反应、缺血性再灌注损伤、神经退行性疾病、Gaucher 病、渐进的动脉粥样硬化病变以及肿瘤相关性疾病^[8]。

2 坏死性凋亡的信号通路

坏死性凋亡可以由不同的刺激因素所引发, 这种刺激因素可通过外源性途径诱导, 如 TNF, 包括 TNF- α 、Fas(有关细胞凋亡的膜表面分子)配体(FasL、CD95)、肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)^[9]。在配体的刺激下, 激活的受体与 RIP1 通过各自的死亡结构域相互作用, 并募集细胞凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis proteins, IAPs), 如 cIAP1 和 cIAP2, 形成细胞膜相关复合物(图 1), 从而导致促存活因子核转录因子 kappa B(NF- κ B)和丝裂原活化蛋白激酶的激活^[10]。在这个过程中, RIP1 通过 cIAPs 和其他 E3 泛素连接酶发生多聚泛素化。自动泛素化和后续 cIAPs 的降解由线粒体衍生的半

表 1 细胞凋亡和坏死性凋亡的比较

Table 1 Comparison of apoptosis and necroptosis

特点	细胞凋亡	坏死性凋亡
细胞质收缩	有	没有
染色质凝聚	有	轻微的
核碎裂	有	没有
细胞膜出泡	有	没有
凋亡小体脱落	有	没有
细胞器肿胀	没有	有
溶酶体膜通透性增加	没有	有
质膜通透性增加	没有	有
Caspase 的活化	有	没有
通路关键调节因子	促凋亡蛋白(Bid、Bax、Bak)、细胞色素C、凋亡酶激活因子(Apaf-1)、caspase-9、caspase-8/10、Fas 相关死亡结构域(FADD)、RIP1	RIP1、RIP3、MLKL
细胞死亡执行者	Caspase-3、caspase-7	MLKL 三聚体和离子通道的形成
抑制剂	zVAD(泛 Caspase 抑制剂)	Nec-1 (RIP1 抑制剂); GSK-843、GSK-872 和 GSK-840 (RIP3 抑制剂); NSA(MLKL 抑制剂)
生理学和病理学作用	在胚胎发育过程中控制细胞数目和内稳态、免疫调节、病原体防御。抑制细胞凋亡可能会导致癌症、自身免疫性疾病、炎症性疾病和病毒感染。	病毒感染、肿瘤坏死因子介导的低体温症和全身炎症反应、缺血再灌注损伤、神经退行性疾病、Gaucher 病、渐进的动脉粥样硬化病变和肿瘤。

注: 表中, RIP1: 受体相互作用蛋白 1; RIP3: 受体相互作用蛋白 3; MLKL: 混合谱系激酶结构域蛋白。

胱天冬蛋白酶激活剂(second mitochondria-derived activator of caspases, SMAC)或小分子 SMAC 类似物(也叫做 IAP 抑制剂)刺激^[11], 随后通过去泛素化酶(CYLD 和 A20)促进 RIP1 去泛素化^[12]。RIP1 从细胞膜上分离, 其功能也将从一个促存活蛋白演变为一个促死亡蛋白。RIP1 结合到 Fas 相关死亡结构域(Fas-associated death domain, FADD)并募集 procaspase-8, 激活 caspase-8, 进而诱导细胞发生凋亡^[13]。而激活的 caspase-8 通过诱导坏死性凋亡中心调节因子(如 RIP1 和 RIP3)的分裂来抑制坏死性凋亡的发生^[14]。通过抑制剂或者基因敲除抑制 caspase-8 的活性, 可使细胞死亡方式转变为坏死性凋亡。RIP3 和 RIP1 也可通过各自的同型相互作

用基序(RHIM)域相互结合,形成功能性淀粉样蛋白信号复合物^[15],导致RIP3在227位的丝氨酸发生自身磷酸化并募集假性激酶MLKL^[16]。需要注意的是,RIP3一直是促死亡基因,而RIP1具有多效性,能正负双向调控坏死性凋亡和RIP3活性。例如,RIP1能够抑制胞浆中自发激活的RIP3的表达^[17]。

除了死亡受体配体,坏死性凋亡也可以由其他刺激因素触发,如Toll样受体(TLRs)3和4与脂多糖(LPS)以及双链RNA(dsRNA)的结合、CD3/CD28与T细胞受体(TCR)结合、干扰素的干扰作用、DNA损伤和病毒感染^[9]。上述刺激因素导致RIP3的激活通常涉及到各自的同型相互作用基序(respective homotypic interaction motif, RHIM)的相互作用。例如,Toll样受体(TLRs)通过RHIM包含蛋白,即 β 干扰素TIR结构域衔接蛋白(TIR-domain-containing adaptor inducing interferon- β , TRIF)在RIP1不存在的条件下直接激活RIP3^[18]。依赖于DNA的干扰素调节因子激活剂(DAI)是一种包含RHIM的细胞蛋白,病毒感染后,可能通过RHIM-RHIM的相互作用直接激活RIP3^[19]。单纯疱疹病毒1型(HSV-1)感染后,病毒的核糖核苷酸还原酶大亚基(ICP6)与RIP3通过RHIM-RHIM相互作用引发坏死性凋亡和宿主防御,这一过程不需要去泛素化酶CYLD和肿瘤坏死因子受体(tumour necrosis factor receptor, TNFR)^[7]。此外,具有RIP3高表达或者执行RIP3低聚反应的细胞可以绕过RIP1来诱导坏死性凋亡^[17]。干扰素诱导的依赖于RIP1/RIP3的坏死性凋亡是通过干扰素应答基因的转录来激活的^[20]。众所周知,辐射可以引起细胞凋亡,也有研究工作发现辐射可引发坏死性凋亡^[21-25]。笔者所在实验室目前正在对电离辐射诱导的坏死性凋亡及其可能的机制做深入的研究。

目前研究已发现MLKL是RIP1/RIP3的下游信号因子,并且是坏死性凋亡的主要执行者^[26]。

MLKL在胞浆中通常以无活性的单体形式存在^[16]。激活条件下,RIP3通过MLKL激酶结构域与其结合,促进MLKL在357位苏氨酸和358位丝氨酸残基的磷酸化^[16],从而破坏MLKL单体结构并促进其发生低聚反应^[27]。低聚的MLKL与磷脂酰肌醇脂质和磷脂有亲和力,使其从胞浆易位到血浆和细胞内膜,破坏膜的完整性进而促进细胞坏死性死亡^[27]。然而,MLKL及其下游信号分子在坏死性凋亡中发挥的作用仍有待阐明。

在TNF- α 的刺激下,激活的TNFR与RIP1相互作用,并募集细胞凋亡抑制蛋白cIAP1和cIAP2以形成质膜相关复合物,导致RIP1发生泛素化。抑制cIAPs会导致RIP1通过去泛素化酶CYLD发生去泛素化以及RIP1解离。然后RIP1与FADD和procaspase-8结合形成复合物,进而激活caspase-8,导致细胞凋亡的发生。如果caspase-8的活性被抑制,RIP1与RIP3结合并促进RIP3发生自身磷酸化进而被激活,随后RIP3募集和磷酸化MLKL。

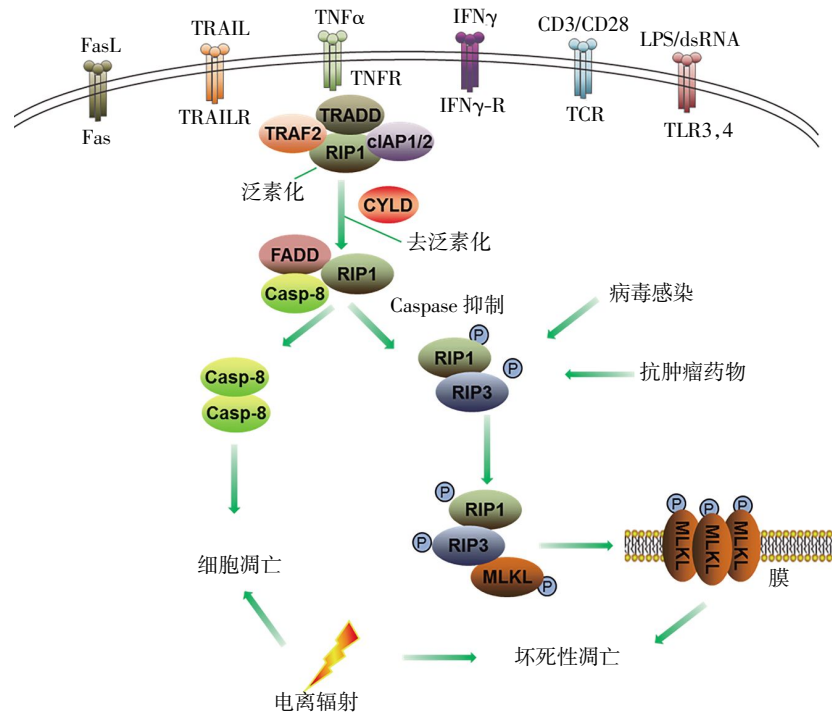


图1 现已知的坏死性凋亡相关的信号通路 图中, Fas: 有关细胞凋亡的膜表面分子; FasL: Fas配体; TRAIL: 肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体; TRAILR: TRAIL受体; TNF- α : 肿瘤坏死因子 α ; TNFR: 肿瘤坏死因子受体; IFN γ : 干扰素 γ ; IFN γ -R: IFN γ 受体; CD3/CD28: T细胞膜表面特异性分子; TCR: T细胞受体; LPS: 脂多糖; dsRNA: 双链RNA; TLR3,4: Toll样受体3和4; TRADD: TNF I型受体相关死亡结构域蛋白; TRAF2: TNF受体相关因子2; cIAP1/2: 细胞凋亡抑制蛋白; CYLD: 去泛素化酶; FADD: Fas相关死亡结构域; RIP1: 受体相互作用蛋白1; RIP3: 受体相互作用蛋白3; MLKL: 混合谱系激酶结构域蛋白; Casp-8: 含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶8。
Fig. 1 A known necroptosis signaling pathway

这一结果使 MLKL 发生低聚反应, MLKL 低聚物破坏细胞膜完整性, 导致坏死性凋亡。

3 坏死性凋亡与肿瘤放化疗

研究发现坏死性凋亡在许多肿瘤细胞株中都可以被诱导。例如, TNF+放线菌酮+泛 Caspase 抑制剂(Z-VAD-FMK, zVAD)、TNF+ IAP 抑制剂+zVAD 等^[28]。而可被诱导发生坏死性凋亡的肿瘤细胞包括了所有常见的肿瘤类型, 如大肠癌、白血病、多发性骨髓瘤、肺癌、卵巢癌、乳腺癌、肝癌、膀胱癌、头颈部癌、多形性胶质母细胞瘤、宫颈癌以及神经母细胞瘤等。这些肿瘤细胞中, 大肠癌细胞和造血肿瘤(如白血病和多发性骨髓瘤)细胞似乎对坏死性凋亡诱导剂更敏感。目前研究发现能诱导结肠癌细胞(如 HT29、Caco-2、CT26)发生坏死性凋亡的激活剂有: TNF+IAP 抑制剂+zVAD、酸性 pH 值条件下单独使用 TRAIL(TNF 相关凋亡诱导配体)、TRAIL 与放线菌酮/高三尖杉酯碱以及 zVAD 结合使用、5-氟尿嘧啶+pancaspase 抑制剂(zVAD 或 IDN-7314)等^[4,29]。报道发现能诱导 Jurkat、CEM-C1 等淋巴细胞白血病细胞系及 MV4-11、Molm13、K562、U937 等髓系白血病细胞株发生坏死性凋亡的诱导剂包括抗 Fas 抗体+放线菌酮+ zVAD、24(S)-羟基胆甾醇+zVAD、obatoclax、obatoclax+地塞米松、SMAC 类似物+ 5-aza-2-脱氧胞苷、SMAC 类似物+阿糖胞苷+ zVAD、紫草素及其类似物、TNF + SMAC 类似物 +zVAD、TRAIL + zVAD、星形孢菌素+zVAD^[4,30]。此外, 不论 zVAD 存在与否, 紫草素都能诱导骨髓瘤细胞系 KMS-12-PE、RPMI-8226 和 U266 发生坏死性凋亡^[31]。最新的研究结果表明, 苦参碱能诱导胆管癌细胞发生 RIP3 依赖的坏死性凋亡^[32]。已报道的可诱导肿瘤细胞发生坏死性凋亡的化合物以及抗肿瘤药物见表2。

有研究表明上皮来源的肿瘤细胞中, 放疗引起的细胞凋亡有限, 而当放疗与热疗结合后则会引发坏死性凋亡^[21]。有报道称除了药物和激酶抑制剂能够诱导坏死性凋亡, 辐照也能诱导坏死性凋亡^[22]。

使用 RIP1 和 caspase 的特异性抑制剂后, 确定了坏死性凋亡是辐射诱导的细胞死亡的重要机制, 这一途径与细胞凋亡在辐射诱导细胞发生死亡中具有协同作用^[22]。Harberts 等^[23]指出 MyD88(髓样分化因子)可能是决定紫外线诱导细胞凋亡还是坏死性凋亡的关键因素。此外, 低剂量照射会激活 caspase-8 以诱导细胞发生凋亡并通过裂解 RIP1 来抑制坏死的发生。高剂量照射下, caspase-8 的活性降低而 RIP1/RIP3 的复合物 necrosome II 形成, 复合物通过非 caspase-3 通路诱导坏死性凋亡, 这一过程由钙蛋白酶、组织蛋白酶 B/D、细胞凋亡诱导因子介导^[24]。激活 RIP1-RIP3-MLKL 通路会促进肿瘤细胞的死亡, 但 Liu 等^[25]的研究表明, 坏死性凋亡的相关基因在保持致瘤能力方面也起到关键的作用, 并且能对放疗产生抵抗作用。目前关于放射诱导坏死性凋亡的具体机制以及动物实验数据较少, 但我们相信坏死性凋亡在肿瘤放疗中将起到十分重要的作用。

表 2 肿瘤细胞中启动坏死性凋亡的化合物和抗肿瘤药物

Table 2 Overview of necroptosis-inducing compounds and anticancer agents

刺激物	分类	肿瘤类型
紫草素	萘醌	乳腺癌、骨肉瘤、胶质瘤
甲磺酸盐(Obatoclax)	吡啶嘧啶	横纹肌肉瘤、ALL
茶多酚 E(R)	绿茶提取物	前列腺癌
星形孢菌素	激酶抑制剂	恶性淋巴瘤
BI2536(小分子抑制剂)	Plk1 抑制剂	前列腺癌
索拉非尼(Sorafenib)/Givinostat(小分子抑制剂)	多激酶抑制剂/组蛋白去乙酰化酶抑制剂	霍奇金淋巴瘤
化合物 C(dorsomorphin)	AMPK 抑制剂	胶质瘤
亚硒酸钠	硒化合物	卵巢癌
FTY720(免疫抑制剂)	鞘脂类似物	肺癌
Selenosemicarbazone(金属复合物)	金属复合物	肺癌和卵巢癌
蛋白质二硫化物异构酶 A6(PDIA6)	蛋白质二硫键异构酶	肺癌
肿瘤坏死因子相关细胞凋亡诱导配体(TRAIL)	死亡受体配体	结肠癌和肝细胞癌
SMAC 类似物	IAP 拮抗剂	纤维肉瘤、ALL、AML
光动力疗法治疗	照射	胶质母细胞瘤
放疗	照射	甲状腺和肾上腺皮质癌
红血球凝聚 Japan-envelope 病毒(HVJ-E)	病毒	神经母细胞瘤
基于融合毒素白喉	毒素	AML
苦参碱	生物碱	胆管癌

注: 表中, ALL: 急性淋巴细胞白血病; Plk1: 细胞周期依赖性蛋白激酶; AMPK: AMP(腺苷酸)依赖的蛋白激酶; AML: 急性髓细胞白血病; IAP: 细胞凋亡抑制蛋白。

作用。

促凋亡治疗(例如使用顺铂、卡铂、紫杉醇、5-氟尿嘧啶、吉西他滨)是肿瘤的主要化疗方法,但这种治疗的局限性是肿瘤会对化疗药产生耐药性。耐药性可能会破坏凋亡机制,激活促生存信号通路^[33]。大量研究表明,细胞凋亡功能障碍似乎是化疗耐药性的一个关键因素,基因突变和基因表达异常在肿瘤细胞凋亡途径中普遍存在。坏死性凋亡通路的组成与细胞凋亡通路不同,所以对细胞凋亡药物有抵抗作用的肿瘤细胞可能对坏死性凋亡诱导剂敏感。Han 等^[34]报道,紫草素(一种天然产生的萜醌)可诱导 Bcl-2 或 Bcl-xL 过表达的乳腺癌 MCF-7 细胞发生坏死性凋亡。MCF-7/ADR 细胞中多药抗药性蛋白-P 糖蛋白高表达,且对于一系列抗肿瘤药物具有较强的抵抗性,紫草素能够诱导 MCF-7/ADR 细胞发生坏死性凋亡。糖皮质激素是第一个治疗急性淋巴细胞白血病(acute lympho-blastic leukemia, ALL)的药物,它能够诱导细胞周期阻滞和凋亡。然而, Bonapace 等^[35]报道,一组 ALL 患者对糖皮质激素反应不佳,抗 Bcl-2 家族成员的 obatocicax, 可引发依赖于自噬的坏死性凋亡来逆转 ALL 对糖皮质激素的抵抗作用。另外, SMAC 类似物 BV6 与 TNF 的结合使用可引发对凋亡诱导剂具有抗性的人 Jurkat 白血病细胞发生坏死性凋亡,而这些细胞对细胞凋亡诱导剂则表现出抵抗作用^[36]。McCabe 等^[37]报道, IAP 拮抗剂与 caspase 抑制剂 zVAD 结合使用,可诱导对顺铂和 IAP 拮抗剂耐药的卵巢癌细胞系,以及对顺铂耐药的患者来源的癌细胞发生 TNF 依赖的坏死性凋亡。

对传统化疗药物或者放疗具有抗性的患者,可以考虑使用不同组合的化疗药物或其他分子靶向药物(如酪氨酸激酶抑制剂和受体 PD-1 抑制剂)或者不同的放疗方式。促坏死性凋亡治疗将是克服药物以及放疗耐受性的另一理想选择。我们还需要进一步的研究来充分了解坏死性凋亡与肿瘤之间的明确关系,以探讨基于坏死性凋亡的新型肿瘤治疗策略而避免治疗带来的潜在的不良作用。

然而基于坏死性凋亡的肿瘤治疗面临着一些潜在问题,有些肿瘤细胞自身可功能性地缺失或下调 RIP1、RIP3、MLKL 来逃避坏死性凋亡。Moriwaki 等^[29]指出, RIP1 mRNA 和蛋白的表达只在少数肿瘤细胞中减少,而大多数肿瘤细胞中 RIP3 mRNA

和蛋白的表达都会下调。HeLa 细胞是抗坏死性凋亡的肿瘤细胞,其表达正常水平的 RIP1 而表达低水平的 RIP3。然而,当 RIP3 基因在 HeLa 细胞中异位表达时,其对常用的坏死性凋亡诱导剂变得更加敏感^[38]。根据 Forbes 等^[39]的统计,在肿瘤组织中观察到了 RIP1、RIP3 以及 MLKL 的氨基酸突变,这可能会削弱 RIP 激酶活性或改变其与其他蛋白的相互作用,进而导致坏死性凋亡机制的破坏。肿瘤发展中,实体瘤中缺氧是一种常见现象,由于生长迅速和血管发育不良,会导致肿瘤内坏死。反之缺氧会增强代谢重组、血管生成与肿瘤转移^[40]。在缺氧的条件下,肿瘤细胞可能经历坏死性凋亡,如 RIP1/RIP3 复合物形成及磷酸化,细胞膜崩解,而且通过使用 necrostatin-1(RIP1 抑制剂)可以消除这种现象^[41]。然而,肿瘤细胞可以通过改变代谢途径来提高无氧糖酵解,进而在低氧情况下生存^[41]。

靶向坏死性凋亡作为一种肿瘤放化疗的新策略,可以从以下三方面展开:(1)对肿瘤患者使用促坏死性凋亡药物之前进行 RIP1、RIP3 和 MLKL 基因的检测。通过检测,确定这些基因关键位点是否存在遗传突变以及这些蛋白质在肿瘤组织中的表达水平。(2)结合其他治疗方法来提高肿瘤细胞对坏死性凋亡为基础的治疗的敏感性。如上所述,坏死性凋亡为基础的的治疗应与靶向缺氧的药物结合。(3)发展直接靶向 MLKL 的坏死性凋亡药物。基因突变或缺氧会导致 RIP1 和 RIP3 的表达降低,所以可以开发直接靶向激活 MLKL 的促坏死性凋亡试剂。

4 结论

在过去的几十年里,大量的研究阐明了坏死性凋亡的调节通路,提高了研究人员对经典的凋亡通路和坏死性凋亡途径之间错综复杂关系的理解。坏死性凋亡对放化疗耐受的肿瘤提供了新的治疗方法。正如文中我们提到的,某些肿瘤细胞能在一定的物理或化学刺激下发生坏死性凋亡,促进细胞坏死性凋亡可能能够作为化疗及放疗耐受的肿瘤细胞的潜在替代疗法。然而,肿瘤细胞也有逃避坏死性凋亡的对策,如基因突变或下调 RIP1、RIP3 和 MLKL,而且低氧微环境也是抗坏死性凋亡的重要因素。由于内在或获得性的坏死性凋亡抗性,在实施以坏死性凋亡为基础的的治疗中筛选突变基因和异常表达的蛋白是必需的。并且坏死性凋亡的一些机

制还有待研究,如文中所说,有报道称照射可以引发坏死性凋亡,但是还需要更多的实验来证明这一现象并阐明其具体机制。

利益冲突 本研究由署名作者按以下贡献声明独立开展,不涉及任何利益冲突。

作者贡献声明 董佳丽负责论文撰写;路璐、樊赛军负责设计、论文指导和审校。

参 考 文 献

- [1] Galluzzi L, Vitale I, Abrams JM, et al. Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012[J]. *Cell Death Differ*, 2012, 19(1):107-120. DOI: 10.1038/cdd.2011.96.
- [2] Su Z, Yang Z, Xu Y, et al. Apoptosis, autophagy, necroptosis, and cancer metastasis[J]. *Mol Cancer*, 2015, 14: 48. DOI: 10.1186/s12943-015-0321-5.
- [3] Jouan-Lanhout S, Riquet F, Duprez L, et al. Necroptosis, in vivo detection in experimental disease models[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2014, 35: 2-13. DOI: 10.1016/j.semedb.2014.08.010.
- [4] Cai Z, Jitkaew S, Zhao J, et al. Plasma membrane translocation of trimerized MLKL protein is required for TNF-induced necroptosis [J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 16(1): 55-65. DOI: 10.1038/ncb2883.
- [5] Dillon CP, Weinlich R, Rodriguez DA, et al. RIPK1 blocks early postnatal lethality mediated by caspase-8 and RIPK3[J]. *Cell*, 2014, 157(5):1189-1202. DOI: 10.1016/j.cell.2014.04.018.
- [6] Zhang H, Zhou X, McQuade T, et al. Functional complementation between FADD and RIP1 in embryos and lymphocytes[J]. *Nature*, 2011, 471(7338): 373-376. DOI: 10.1038/nature09878.
- [7] Huang Z, Wu SQ, Liang Y, et al. RIP1/RIP3 binding to HSV-1 ICP6 initiates necroptosis to restrict virus propagation in mice[J]. *Cell Host Microbe*, 2015, 17(2): 229-242. DOI: 10.1016/j.chom.2015.01.002.
- [8] Zhou W, Yuan J. Necroptosis in health and diseases[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2014, 35: 14-23. DOI: 10.1016/j.semedb.2014.07.013.
- [9] Vanlangenakker N, Vanden Berghe T, Vandenaabeele P. Many stimuli pull the necrotic trigger, an overview[J]. *Cell Death Differ*, 2012, 19(1): 75-86. DOI: 10.1038/cdd.2011.164.
- [10] Bertrand MJ, Milutinovic S, Dickson KM, et al. cIAP1 and cIAP2 facilitate cancer cell survival by functioning as E3 ligases that promote RIP1 ubiquitination[J]. *Mol Cell*, 2008, 30(6):689-700. DOI: 10.1016/j.molcel.2008.05.014.
- [11] Varfolomeev E, Blankenship JW, Wayson SM, et al. IAP antagonists induce autoubiquitination of c-IAPs, NF- κ B activation, and TNF α -dependent apoptosis[J]. *Cell*, 2007, 131(4): 669-681. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2007.10.030>.
- [12] Moquin DM, McQuade T, Chan FK. CYLD deubiquitinates RIP1 in the TNF α -induced necrosome to facilitate kinase activation and programmed necrosis[J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e76841[2017-03-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=24098568>. DOI: 10.1371/journal.pone.0076841.
- [13] Wang L, Du F, Wang X. TNF- α induces two distinct caspase-8 activation pathways[J]. *Cell*, 2008, 133(4): 693-703. DOI: 10.1016/j.cell.2008.03.036.
- [14] Oberst A, Dillon CP, Weinlich R, et al. Catalytic activity of the caspase-8-FLIP(L) complex inhibits RIPK3-dependent necrosis[J]. *Nature*, 2011, 471(7338): 363-367. DOI: 10.1038/nature09852.
- [15] Li J, McQuade T, Siemer AB, et al. The RIP1/RIP3 necrosome forms a functional amyloid signaling complex required for programmed necrosis[J]. *Cell*, 2012, 150(2): 339-350. DOI: 10.1016/j.cell.2012.06.019.
- [16] Sun L, Wang H, Wang Z, et al. Mixed lineage kinase domain-like protein mediates necrosis signaling downstream of RIP3 kinase[J]. *Cell*, 2012, 148(1-2):213-227. DOI: 10.1016/j.cell.2011.11.031.
- [17] Orozco S, Yatim N, Werner MR, et al. RIPK1 both positively and negatively regulates RIPK3 oligomerization and necroptosis[J]. *Cell Death Differ*, 2014, 21(10):1511-1521. DOI: 10.1038/cdd.2014.76.
- [18] Kaiser WJ, Sridharan H, Huang C, et al. Toll-like receptor 3-mediated necrosis via TRIF, RIP3, and MLKL[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(43): 31268-31279. DOI: 10.1074/jbc.M113.462341.
- [19] Upton JW, Kaiser WJ, Mocarski ES. DAI/ZBP1/DLM-1 complexes with RIP3 to mediate virus-induced programmed necrosis that is targeted by murine cytomegalovirus vIRA[J]. *Cell Host Microbe*, 2012, 11(3): 290-297. DOI: 10.1016/j.chom.2012.01.016.
- [20] McComb S, Cessford E, Alturki NA, et al. Type-I interferon signaling through ISGF3 complex is required for sustained Rip3 activation and necroptosis in macrophages[J/OL]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(31): E3206-E3213 [2017-03-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=25049377>. DOI: 10.1073/pnas.1407068111.
- [21] Mantel F, Frey B, Haslinger S, et al. Combination of ionising irradiation and hyperthermia activates programmed apoptotic and necrotic cell death pathways in human colorectal carcinoma cells [J]. *Strahlenther Onkol*, 2010, 186(11): 587-599. DOI: 10.1007/s00066-010-2154-x.
- [22] Nehs MA, Lin CI, Kozono DE, et al. Necroptosis is a novel mechanism of radiation-induced cell death in anaplastic thyroid and adrenocortical cancers[J]. *Surgery*, 2011, 150(6): 1032-1039. DOI: 10.1016/j.surg.2011.09.012.
- [23] Harberts E, Fischevich R, Liu J, et al. MyD88 mediates the decision to die by apoptosis or necroptosis after UV irradiation[J]. *Innate Immun*, 2014, 20(5):529-539. DOI: 10.1177/1753425913501706.
- [24] Das A, McDonald DG, Dixon-Mah YN, et al. RIP1 and RIP3 complex regulates radiation-induced programmed necrosis in glioblastoma[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(6): 7525-7534. DOI: 10.1007/s13277-015-4621-6.
- [25] Liu X, Zhou M, Mei L, et al. Key roles of necroptotic factors in promoting tumor growth[J/OL]. *Oncotarget*, 2016, 7(16): 22219-22233 [2017-03-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5008357>. DOI: 10.18632/oncotarget.7924.

- [26] Murphy JM, Czabotar PE, Hildebrand JM, et al. The pseudokinase MLKL mediates necroptosis via a molecular switch mechanism[J]. *Immunity*, 2013, 39 (3): 443–453. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.06.018.
- [27] Wang H, Sun L, Su L, et al. Mixed lineage kinase domain-like protein MLKL causes necrotic membrane disruption upon phosphorylation by RIP3[J]. *Mol Cell*, 2014, 54(1): 133–146. DOI: 10.1016/j.molcel.2014.03.003.
- [28] Lalaoui N, Brumatti G. Relevance of necroptosis in cancer[J]. *Immunol Cell Biol*, 2017, 95(2): 137–145. DOI: 10.1038/icc.2016.120.
- [29] Moriwaki K, Bertin J, Gough PJ, et al. Differential roles of RIPK1 and RIPK3 in TNF-induced necroptosis and chemotherapeutic agent-induced cell death[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2015, 6: e1636 [2017–03–22]. DOI: 10.1038/cddis.2015.16.
- [30] Philipp S, Sosna J, Plenge J, et al. Homoharringtonine, a clinically approved anti-leukemia drug, sensitizes tumor cells for TRAIL-induced necroptosis[J/OL]. *Cell Commun Signal*, 2015, 13: 25 [2017–03–22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4411737/>. DOI: 10.1186/s12964–015–0103–0.
- [31] Wada N, Kawano Y, Fujiwara S, et al. Shikonin, dually functions as a proteasome inhibitor and a necroptosis inducer in multiple myeloma cells[J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(3): 963–972. DOI: 10.3892/ijo.2014.2804.
- [32] Xu B, Xu M, Tian Y, et al. Matrine induces RIP3-dependent necroptosis in cholangiocarcinoma cells[J/OL]. *Cell Death Discov*, 2017, 3: 16096 [2017–03–22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5253620>. DOI: 10.1038/cddiscovery.2016.96.
- [33] Holohan C, Van Schaeybroeck S, Longley DB, et al. Cancer drug resistance: an evolving paradigm[J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(10): 714–726. DOI: 10.1038/nrc3599.
- [34] Han W, Li L, Qiu S, et al. Shikonin circumvents cancer drug resistance by induction of a necroptotic death[J]. *Mol Cancer Ther*, 2007, 6(5):1641–1649. DOI: 10.1158/1535–7163.MCT–06–0511.
- [35] Bonapace L, Bornhauser BC, Schmitz M, et al. Induction of autophagy-dependent necroptosis is required for childhood acute lymphoblastic leukemia cells to overcome glucocorticoid resistance[J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(4): 1310–1323. DOI: 10.1172/JCI39987.
- [36] Laukens B, Jennewein C, Schenk B, et al. Smac mimetic bypasses apoptosis resistance in FADD- or caspase-8-deficient cells by priming for tumor necrosis factor α -induced necroptosis[J]. *Neoplasia*, 2011, 13(10): 971–979. DOI: 10.1593/neo.11610.
- [37] McCabe KE, Bacos K, Lu D, et al. Triggering necroptosis in cisplatin and IAP antagonist-resistant ovarian carcinoma[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1496 [2017–03–22]. <https://www.nature.com/cddis/journal/v5/n10/full/cddis2014448a.html>. DOI: 10.1038/cddis.2014.448.
- [38] Wang Z, Jiang H, Chen S, et al. The mitochondrial phosphatase PGAM5 functions at the convergence point of multiple necrotic death pathways[J]. *Cell*, 2012, 148(1–2):228–243. DOI: 10.1016/j.cell.2011.11.030.
- [39] Forbes SA, Bhamra G, Bamford S, et al. The Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC)[J/OL]. *Curr Protoc Hum Genet*, 2008 [2017–03–22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=18428421>. DOI: 10.1002/0471142905.hg1011s57.
- [40] Wilson WR, Hay MP. Targeting hypoxia in cancer therapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(6): 393–410. DOI: 10.1038/nrc3064.
- [41] Huang CY, Kuo WT, Huang YC, et al. Resistance to hypoxia-induced necroptosis is conferred by glycolytic pyruvate scavenging of mitochondrial superoxide in colorectal cancer cells[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2013, 4: e622 [2017–03–22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=23640464>. DOI: 10.1038/cddis.2013.149.

(收稿日期: 2017–03–27)