

杨润泽,秦靖,郭晨博,等. 坏死性凋亡在胰腺疾病中的作用机制研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(7): 933-941.
YANG R Z, QIN J, GUO C B, et al. Research progress on mechanism of necrotizing apoptosis in pancreatic disease [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(7): 933-941.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2024.07.012

坏死性凋亡在胰腺疾病中的作用机制研究进展

杨润泽^{1#}, 秦靖^{3#}, 郭晨博¹, 胡耀华², 汪湛东¹, 张延英¹, 宋冰¹,
白敏¹, 师长宏^{3*}, 汪永锋^{1*}

(1. 甘肃中医药大学基础医学院, 兰州 730000; 2. 延安大学医学院,
陕西 延安 716000; 3. 空军军医大学实验动物中心, 西安 710000)

【摘要】 坏死性凋亡介于细胞凋亡和坏死之间, 是一种受调控的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶非依赖性程序性细胞死亡, 可诱导炎症反应发生。研究表明, 它与胰腺疾病的病程进展及预后密切相关, 在胰腺疾病进展中发挥重要的双向调控作用, 且相关的坏死性凋亡抑制剂与诱导剂有望用于胰腺疾病的治疗。基于此, 本文对坏死性凋亡发生的机制及其在胰腺疾病进展中的作用进行综述, 旨在为胰腺疾病的发病机制和治疗提供新的认识, 为其靶向性药物的研发提供理论依据。

【关键词】 坏死性凋亡; 急性胰腺炎; 胰腺癌; 受体相互作用蛋白激酶 1; 受体相互作用蛋白激酶 3; 混合谱系激酶结构域样

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2024) 07-0933-09

Research progress on mechanism of necrotizing apoptosis in pancreatic disease

YANG Runze^{1#}, QIN Jing^{3#}, GUO Chenbo¹, HU Yaohua², WANG Zhandong¹, ZHANG Yanying¹,
SONG Bing¹, BAI Min¹, SHI Changhong^{3*}, WANG Yongfeng^{1*}

(1. Basic Medical College of Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China;
2. Medical College of Yan'an University, Yan'an 716000, China; 3. Experimental Animal Center of Air
Force military Medical University, Xi'an 710000, China)

Corresponding author: WANG Yongfeng. E-mail: wyf@gszy.edu.cn; SHI Changhong. E-mail: changhong@fmmu.edu.cn

【Abstract】 Necroptosis is a regulated process of programmed cell death independent of aspartic acid-specific cysteine protease, which can induce inflammation. Studies have shown that necroptosis is closely related to the progression and prognosis of pancreatic disease and plays an important two-way regulatory role in its progression. Related necroptosis inhibitors and inducers are expected to be used in the treatment of pancreatic disease. We herein review the mechanism of necroptosis and its role in the progression of pancreatic disease to provide a new understanding of the pathogenesis and treatment of pancreatic diseases and offer a theoretical basis for the research and development of targeted drugs.

【Keywords】 necroptosis; acute pancreatitis; pancreatic cancer; receptor-interacting protein kinase 1 (RIPK1); receptor-interacting protein kinase 3 (RIPK3); mixed-lineage kinase domain-like (MLKL)

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

【基金项目】 国家自然科学基金(82160871), 甘肃省自然科学基金(22JR5RA591), 甘肃省中医药管理局项目(GZKZ-2021-10)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (82160871), Natural Science Foundation of Gansu Province (22JR5RA591), Project of Gansu Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine (GZKZ-2021-10).

【作者简介】 杨润泽, 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 中西医肿瘤防治。Email: 1377623986@qq.com;

秦靖, 女, 助理实验师, 研究方向: 中西医肿瘤防治。Email: qinjingjd@fmmu.edu.cn。

#共同第一作者

【通信作者】 汪永锋, 男, 教授, 硕士生导师, 研究方向: 中西医结合治疗胰腺病研究。Email: wyf@gszy.edu.cn;

师长宏, 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 人类疾病的动物模型。Email: changhong@fmmu.edu.cn。

* 共同通信作者

胰腺外分泌功能的异常通常会导致急性胰腺炎 (acute pancreatitis, AP) 和胰腺癌 (pancreatic cancer, PC)。在全球范围内, AP 是最常见的胰腺疾病, 而 PC 是致死率最高的胰腺疾病。AP 在全球每年的总发病率约为 34/100 000, 并随着现代生活方式的改变而逐年增高^[1]。PC 是最致命的恶性肿瘤之一, 发病率和死亡率分别位于恶性肿瘤的第七位和第六位, 且近几年的发病率呈上升趋势^[2]。AP 和 PC 不仅给患者带来了心理和经济负担, 而且给社会带来了巨大的经济负担。近年来, 随着对细胞死亡方式的研究愈发深入, 研究者们发现坏死性凋亡与 AP 和 PC 的发展密切相关^[3]。坏死性凋亡是一种依赖混合谱系激酶结构域样蛋白 (mixed lineage kinase-like, MLKL)、受体相互作用蛋白激酶 3 (receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 3, RIPK3) 和受体相互作用蛋白激酶 1 (receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1, RIPK1) 活性的调节性细胞死亡^[4]。研究表明, 胰腺腺泡细胞的坏死性凋亡在 AP 早期即可被观察到, 并且在 AP 的进展中发挥关键作用^[5]。此外, 由于胰腺癌细胞具有抗凋亡性, 坏死性凋亡作为一种细胞死亡的替代死亡方式有望成为 PC 新的治疗策略^[6]。近期随着对坏死性凋亡在胰腺疾病进展中的研究进一步深入, 越来越多的研究表明, 坏死性凋亡在胰腺疾病发展中的作用并不是单一的, 其双向调控作用对于机体的保护和维持稳态至关重要。

基于此, 本文将对坏死性凋亡在急性胰腺炎和胰腺癌发展中的双向调控作用进行归纳, 并探讨了相关靶向分子化合物在胰腺疾病治疗中的作用, 以为胰腺疾病生理病理研究和相关药物开发提供新的思路, 从而提高临床患者的疗效并改善其预后。

1 坏死性凋亡概述

1.1 坏死性凋亡的特点

坏死性凋亡既不是坏死, 也不是凋亡, 它是细胞凋亡受阻后, 细胞外信号或细胞内信号被激活, 由 RIPK1 和 RIPK3 介导的一种模拟细胞凋亡和坏死特征的细胞程序性坏死方式。不同于细胞凋亡会出现的细胞皱缩, 凋亡小体形成并通过吞噬细胞和巨噬细胞吞噬掉免疫原性的蛋白质, 坏死性凋亡的特征则是细胞肿胀, 细胞质空泡形成, 细胞器膜破坏, 溶酶体肿胀和破裂, 细胞膜破坏释放内容物, 引发先天性和适应性免疫应答, 并通过巨胞饮小体

清除坏死细胞^[7]。其分子特点是天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 8 (caspase-8) 被抑制或失活后诱导 RIPK1 和 RIPK3 结合形成复合物, 进一步促使 MLKL 磷酸化, 导致细胞肿胀, 质膜破裂和内容物释放^[8]。

1.2 坏死性凋亡在疾病中发挥双向调控作用

坏死性凋亡作为一种受调控的程序性细胞死亡, 可诱导炎症反应, 并影响肿瘤的发展。尽管与许多疾病的发病机制有关, 但随着研究的进展, 在许多疾病的生理病理中的作用被重新进行评估。许多证据表明, 坏死性凋亡并不是一个纯粹的有害过程, 从生理和病理角度看, 坏死性凋亡是一把“双刃剑”。一方面, 坏死性凋亡可引发炎症级联反应, 导致严重的组织损伤。另一方面, 坏死性凋亡作为一种宿主的防御机制, 通过其强大的促炎作用以抑制肿瘤。

已有研究表明坏死性凋亡的激活, 可导致炎性细胞因子风暴和多器官衰竭^[9]。然而越来越多的证据表明, 坏死性凋亡亦可在肿瘤中发挥抑制作用。在哺乳动物中, 细胞凋亡是抵御肿瘤细胞的第一道防线, 而在各种癌症中细胞凋亡被抑制的情况下, 坏死性凋亡可以作为清除肿瘤细胞的强大第二道防线。在不同类型的癌症中, 坏死性凋亡途径中关键分子的表达上调, 表明坏死性凋亡的激活有效抑制肿瘤细胞生长^[10]。综上所述, 坏死性凋亡是一种具有促炎作用和免疫原性的程序性细胞死亡途径, 在各种生理和病理条件下发挥着双向调控作用。

2 坏死性凋亡发生机制

2.1 坏死性凋亡的启动

坏死是细胞的被动性死亡, 而坏死性凋亡与凋亡均是受到高度调控的细胞死亡形式, 且存在一些共同的上游信号元件。但坏死性凋亡与凋亡启动条件存在巨大差异。凋亡是一种细胞发育到一定阶段会发生的正常现象, 而坏死性凋亡则是细胞在受到外界刺激时发生的程序性死亡, 因此坏死性凋亡在疾病的发生及进展中起重要作用。

坏死性凋亡的启动可由多种刺激因素触发, 大多数需要细胞死亡受体和配体的相互作用。目前已知的受体包括肿瘤坏死因子受体、凋亡相关蛋白因子 (factor of associated suicide, Fas) 和肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体受体 (TNF-related apoptosis-inducing ligand receptor, TRAILR)^[11], 这些受体激活

后招募死亡结构域相关蛋白和 1 型相关死亡域,与 caspase-8 和 caspase-10 等相作用形成寡聚复合物^[12],招募有活性的 RIPK1 抵达细胞膜。之后 RIPK1 可以被凋亡抑制因子泛素化使 RIPK1 从细胞膜上解离,使其转变为促死亡蛋白,通过激活核转录因子- κ B(nuclear factor- κ B,NF- κ B)促使下游炎症发生^[13]。当 caspase-8 失活或活性受到抑制时,细胞凋亡被抑制,RIPK1 通过招募并磷酸化 RIPK3 诱导坏死性凋亡的发生^[14]。此外,RIPK3 也可以通过非依赖 RIPK1 激活的方式调控坏死性凋亡,先天性免疫应答或 DNA 病毒诱导 Z-DNA 结合蛋白 1 激活可以与 RIPK3 同型的相互作用基序结构直接进行结合,激活 RIPK3 进一步磷酸化 MLKL 诱导坏死性凋亡^[15]。

2.2 坏死性凋亡的执行

虽然同为受调控的细胞死亡方式,但凋亡与坏死性凋亡的主要执行分子各不相同。凋亡的执行

者主要为两类酶,包括可彻底破坏细胞的生物命令系统的核酸内切酶和促使细胞结构全面解体的 caspases-3,而坏死性凋亡的主要执行者是 MLKL。MLKL 依赖 RIPK3 的磷酸化可以促进其发生构象变化并向质膜易位,在质膜上产生孔膜复合物,导致其 N 端死亡效应结构域(4 helical bundle domain, 4HBD)的暴露。4HBD 中带正电荷的片段可与质膜上带负电荷的磷脂酰肌醇磷酸盐相互作用完成打孔^[16]。质膜孔形成后 Ca^{2+} 或 Na^{+} 离子内流会导致细胞肿胀破裂,细胞内容物泄露,发生炎症变化和白细胞介素(interleukin, IL)释放,形成细胞死亡的终末阶段(图 1)^[17]。此外,有研究发现免疫抑制剂 TAM (Tyr03, Axl, and Mer) 激酶可以不依赖 RIPK3,直接通过 Tyr376 位点磷酸化 MLKL 以调控坏死性凋亡信号的传导^[18]。因此,精确调控 MLKL 在维持细胞存活、制衡凋亡以及坏死性凋亡方面发挥重要作用。

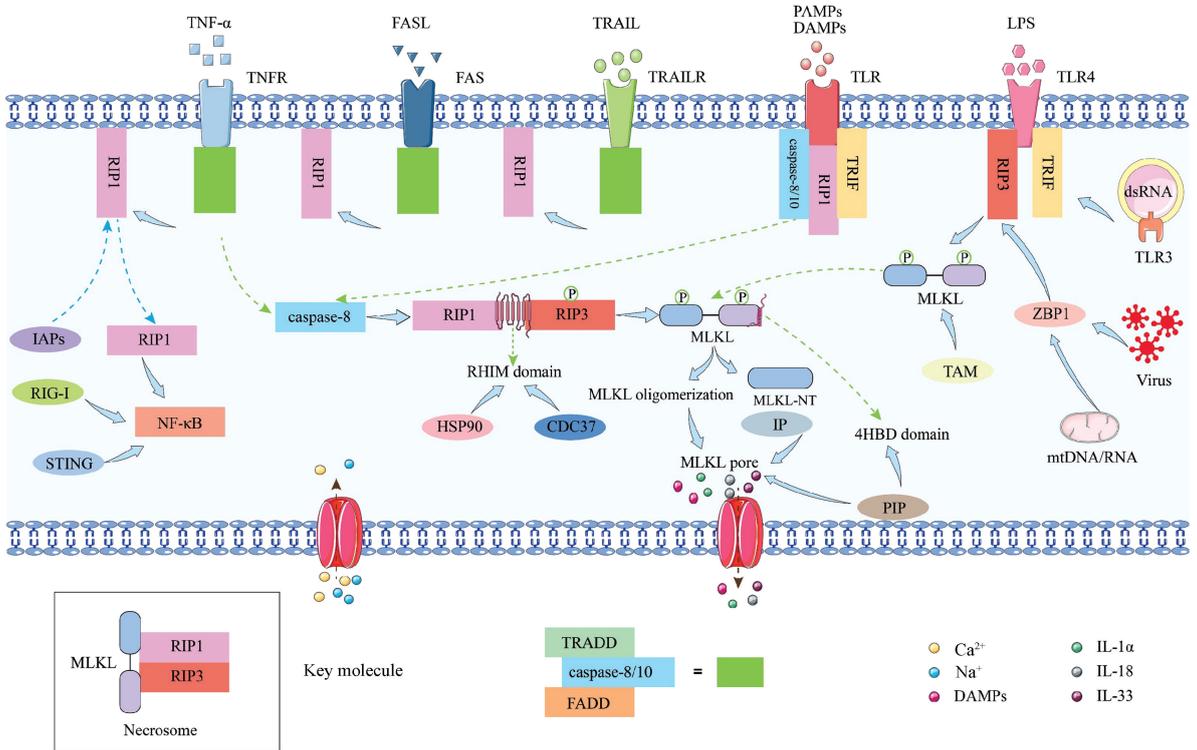


图 1 坏死性凋亡的分子机制图

Figure 1 Molecular mechanism diagram of necrotic apoptosis

3 坏死性凋亡在胰腺炎进展中的作用

AP 是由多种病因引起的胰腺病理性细胞通路和细胞器功能障碍,最终导致胰腺腺泡细胞死亡。AP 起病急、病情重、并发症多,临床上还没有针对性治疗特效药。随着研究的深入,发现坏死性凋亡

作为调节性细胞死亡的形式之一,在 AP 所致腺泡细胞死亡机制及胰蛋白酶过早活化中扮演着非常重要的角色。

3.1 坏死性凋亡在急性胰腺炎进展中发挥促进作用

AP 是胰酶在胰腺内被激活后引起胰腺组织自

身消化、水肿、出血甚至坏死的炎症反应。胰蛋白酶在胰腺导管及腺泡细胞中通常以无活性的酶原形式存在,进入肠腔之后,可在肠激酶的作用下转化为具有活性的胰蛋白酶。当胰管发生梗阻或受酒精、外伤等因素损伤时,胰腺腺泡细胞内酶原颗粒胞吐过程受限,溶酶体与酶原颗粒发生作用,胰蛋白酶原被溶酶体内的组织蛋白酶 B 活化为胰蛋白酶,引起胰腺及胰腺外组织的自我消化^[19]。最新研究表明,溶酶体组织蛋白酶 B 的释放则会激活细胞死亡受体,诱发坏死性凋亡^[20]。在 AP 中可观察到胰腺腺泡细胞发生坏死性凋亡,导致炎症因子的释放和炎症的产生,坏死性凋亡因子 RIPK1、RIPK3 和 MLKL 等在 AP 后续进展过程中扮演了关键角色。研究发现 RIPK3 和 MLKL 高表达与急性胰腺炎坏死程度呈正相关,而 RIPK1 高表达与坏死程度呈负相关^[21]。基于动物模型的实验研究发现,RIPK3 可以通过磷酸化 MLKL 促进胰腺腺泡细胞坏死,而敲除 RIPK3 和 MLKL 可以阻止肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)诱导的细胞因子风暴,抑制炎症反应,保护腺泡细胞。RIPK1 通过抑制 NF- κ B 信号通路的激活,防止腺泡细胞坏死^[22]。上调 RIPK1 或抑制 RIPK3 表达,可能为急性胰腺炎的治疗提供了新的策略。因此,进一步研究坏死性凋亡在 AP 发生发展过程中的作用机制具有重要意义。

3.2 基于坏死性凋亡途径靶点用于急性胰腺炎的治疗研究

AP 是一种具有潜在威胁性的疾病,部分患者最终可发展为重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)。目前针对 AP 的治疗方法仍以补液、抗感染等对症支持治疗为主,这种缺乏特异性的治疗方式是 AP 尤其是 SAP 患者病死率居高不下的主要原因。因此,研发 AP 的特异性治疗方案至关重要。

研究表明,胰腺腺泡细胞的坏死程度决定 AP 的严重程度,通过抑制坏死性凋亡可以最大限度地降低严重程度。因此针对坏死性凋亡途径及相关因子展开的一系列药物开发,相关动物实验研究结果展示出良好的临床应用和转化前景(表 1)。

RIPK1 是坏死性凋亡的关键组成部分,其激动剂为坏死性凋亡抑制剂(necrostatin-1, Nec-1),在急性胰腺炎中发挥重要作用。Nec-1 是一种具有特异性且强效的坏死性凋亡抑制剂,在细胞坏死中靶向 RIPK1 激酶^[23]。研究表明,在酒精和雨蛙素诱导的

急性胰腺炎动物模型中提前给予 Nec-1 可上调 RIPK1 水平,并降低 RIPK3、MLKL 的表达,抑制细胞坏死性凋亡,降低急性胰腺炎的严重程度^[24]。Nec-1 还可以减少坏死性凋亡在肠道屏障损伤中的作用,从而减轻肠道屏障损伤,对急性胰腺炎合并肠道损伤起到保护作用^[25]。

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)是一种多能干细胞,临床上可解决多种血液系统、心血管、神经系统、自身免疫等方面疾病^[26]。CUI 等^[27]发现 MSC 与 SAP 密切相关,在牛黄胆酸钠诱导的 SAP 中,有骨髓来源的间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSC)干预的实验组其胰腺 RIPK3 和 MLKL 的表达显著降低,系统性炎症反应减少, BMSC 起到抗炎作用。此外, BMSC 与 Nec-1 相比, BMSC 可提高在胰组织中 Reg4 基因、PDX1 基因和 PTF1 基因的表达,增强受损胰腺组织的再生^[28]。

一些中药提纯物可以通过抑制坏死性凋亡对胰腺炎的发展起到良性作用。小檗碱是一种从中草药黄连和其他小檗属植物中分离出来的异喹啉生物碱,可用于治疗许多疾病^[29]。OU 等^[30]建立了大鼠急性胰腺炎模型,发现小檗碱可以通过降低 RIPK3 的表达以及减轻重症胰腺炎大鼠海马组织中的神经元凋亡和坏死性凋亡,来减轻认知缺陷并降低相关死亡率。

此外,针对坏死性凋亡途径中关键蛋白的小分子抑制剂也表现出较好的治疗作用。PX478 是一种具有口服活性的选择性缺氧诱导因子 1 α 抑制剂,通过下调坏死性凋亡因子 RIPK3 和 MLKL 水平来减少胰腺腺泡细胞的坏死,减轻胰腺的组织学损伤^[31]。钙调蛋白依赖型蛋白激酶 II (calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II, CaMK II) 是一种钙调控蛋白,与细胞死亡密切相关。ZHU 等^[32]发现 KN93 作为 CaMK II 抑制剂通过降低 RIPK3、MLKL 的表达和活性氧的产生,对胰腺腺泡细胞起到保护作用。

Toll 样受体是参与非特异性免疫的一类重要蛋白质分子。研究表明 Toll 样受体 4 (Toll-like receptors 4, TLR4) 在胰腺组织中广泛表达并参与坏死性凋亡的激活启动,在胰腺炎中起重要作用^[33]。SU 等^[34]发现一种新型的 15 个氨基酸合成肽 HTD4010 可下调 TLR4 的表达,通过 TLR4 信号通路使 RIPK3 和 MLKL 的表达显著降低,减轻 AP 小

表 1 急性胰腺炎中坏死性凋亡途径相关因子调控药物

Table 1 Drugs regulating factors related to necrotic apoptosis pathway in acute pancreatitis

调控物质 Regulatory substances	靶向蛋白质 Targeted proteins	作用 Effect	参考文献 References
坏死性凋亡抑制剂 Necrostatin-1	RIPK1 ↑	抑制坏死性凋亡诱导的坏死小体形成,可缓解肠道屏障功能障碍并减缓重症胰腺炎的发展。 Inhibiting the formation of necrotic bodies induced by necrotic apoptosis can alleviate intestinal barrier dysfunction and slow down the development of severe pancreatitis.	[23-25]
骨髓来源的间充质干细胞 Mesenchymal stem cells derived from bone marrow	RIPK1 ↑、RIPK3 ↓、MLKL ↓	通过上调 RIPK1,抑制 RIPK3、MLKL 表达,降低 IL-4 和 IL-10 等炎症因子水平,提高抗炎介质水平,减少胰腺腺泡细胞损伤,促进了受损胰腺组织的再生,保护胰腺免受破坏。 By upregulating RIPK1, inhibiting the expression of RIPK3 and MLKL, reducing the levels of inflammatory factors such as IL-4 and IL-10, increasing the level of anti-inflammatory mediators, reducing pancreatic acinar cell damage, promoting the regeneration of damaged pancreatic tissue, and protecting the pancreas from damage.	[26-28]
小檗碱 Berberine	RIPK1 ↑、RIPK3 ↓	降低坏死性凋亡相关蛋白质水平,减缓重症胰腺炎的发展。 Reduce the levels of necroptosis related proteins and slow down the development of severe pancreatitis.	[29-30]
缺氧诱导因子 1α 抑制剂 (PX478) Hypoxia induced factor-1α (PX478)	RIPK3 ↓、MLKL ↓	抑制 RIPK3、p-MLKL 的表达,减少胰腺腺泡细胞的坏死,改善胰腺炎。 Inhibiting the expression of RIPK3 and p-MLKL, reducing necrosis of pancreatic acinar cells, and improving pancreatitis.	[31]
钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II 抑制剂 (KN93) Calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II inhibitor (KN93)	RIPK3 ↓、MLKL ↓	抑制 RIPK3、p-MLKL 的表达,保护胰腺腺泡细胞。 Inhibiting the expression of RIPK3 and p-MLKL to protect pancreatic acinar cells.	[32]
氨基酸合成肽 (HTD4010) Amino acid synthetic peptide (HTD4010)	RIPK3 ↓、MLKL ↓ RIPK1 ↑	通过 Toll 样受体 4 信号通路减轻 AP 的严重程度。 Reduce the severity of AP through the Toll like receptor 4 signaling pathway.	[33-34]
瑞莎托维 Risatovi	RIPK3 ↓	下调 NF-κB,减少大鼠胰腺组织中中性粒细胞和巨噬细胞的迁移和浸润。降低炎症反应,改善肠道屏障功能障碍,减轻胰腺损伤。 Downregulation of NF-κB reduces the migration and infiltration of neutrophils and macrophages in rat pancreatic tissue. Reduce inflammatory response, improve intestinal barrier dysfunction, and alleviate pancreatic damage.	[35]

鼠的严重程度,对小鼠胰腺细胞起保护作用。针对 TLR4 信号通路, WU 等^[35]发现高脂肪饮食具有显著增加 TLR4 和 RIPK3 表达的作用,瑞莎托维作为 TLR4 的选择性抑制剂,可抑制 TLR4 信号,降低 RIPK3 表达以及炎症信号 NF-κB 表达。由此减少了高脂饮食胰腺炎模型小鼠中嗜中性粒细胞和巨噬细胞的迁移和浸润,降低炎症反应,改善肠道屏障功能障碍,从而减轻胰腺损伤,起到保护作用。

需要注意的是,这些研究都是通过体外实验或动物模型进行的,尚未在临床试验中进行评估。因此,在未来的研究中,应该收集更多的数据,以准确地反映坏死性凋亡在 AP 治疗中的作用,并为进一步研发坏死性凋亡相关药物提供充分证据。

4 坏死性凋亡在胰腺癌进展中的作用

PC 是一种致命的、具有高度侵袭性和耐药性的

疾病。随着其危险因素的激增,如老龄化、吸烟、肥胖、糖尿病和饮酒,PC 的发病率持续增加,并逐渐成为全球癌症相关死亡的主要原因。作为一种预后较差的恶性肿瘤,揭示 PC 发生发展的机制对于制定有效的治疗策略,提高患者的总体生存率具有重要意义。

4.1 坏死性凋亡在胰腺癌进展中发挥抑制作用

研究表明,坏死性凋亡在抑制恶性肿瘤的发展过程中发挥重要作用,通过抑制肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移来改善肿瘤患者预后,BAIK 等^[36]的实验表明,高表达 RIPK3 的 PC 细胞在小鼠胰腺中生长时,肿瘤细胞的坏死性凋亡发生率提高。此外,坏死性凋亡相关因子可作为一种新的标志物,在评估 PC 预后方面具有极大价值。例如,坏死凋亡核心蛋白 RIPK3 和 MLKL 的低表达分别与胰腺癌的预后不良有关。而 MLKL 表达上调预示着低组织学

分级、有限的转移扩散和改善患者总体生存状态。目前研究发现坏死性凋亡中相关因子 RIPK1、RIPK3 在 PC 中高表达,并在化疗后其表达水平进一步上调,可作为 PC 关键的生物标志物^[37]。COLBERT 等^[38]发现坏死性凋亡的关键底物 MLKL 在人胰腺癌组织中高表达,尤其是在肿瘤侵袭前沿的表达更为强烈,并且 MLKL 的高表达与接受辅助化疗的胰腺癌手术切除患者总生存期降低以及无复发生存期降低有关,因此 MLKL 还可作为 PC 患者预后评估的生物标志物。

肿瘤免疫学的实验研究进一步支持了坏死性凋亡的抗肿瘤作用。坏死性凋亡可能在激发免疫原性和抗肿瘤免疫监测方面发挥重要作用。已有研究表明,坏死性肿瘤细胞释放 IL-1 α 激活树突状细胞(dendritic cells, DCs)。被激活的 DCs 通过产生细胞毒性 IL-12 或激活 CD8⁺ T 细胞来清除肿瘤细胞以诱导抗肿瘤免疫反应。类似地, YATIM 等^[39]证明了肿瘤微环境中的成纤维细胞通过坏死性凋亡激活 NF- κ B 信号传导诱导强烈的免疫反应。NKT 细胞也被报道参与了 RIPK3 介导的抗肿瘤免疫反应^[40]。

综上所述,坏死性凋亡独特的作用机制有望为胰腺疾病的治疗和预后评估带来新的前景。

4.2 基于坏死性凋亡途径的相关靶点用于胰腺癌的药物治疗

由于 PC 细胞对凋亡具有抵抗力,在其他癌症中取得良好治疗效果的化疗和免疫治疗药物,在 PC 并未取得良好的临床效果,寻找替代的细胞死亡模式有望成为 PC 治疗的一种新的治疗策略^[41]。因此,坏死性凋亡途径作为一种可调控的新的细胞死亡模式对肿瘤治疗具有重要意义。大多数的肿瘤细胞由于 RIPK3 的低表达而表现对坏死性凋亡的抵抗,从而促进恶性肿瘤的生长,而 MLKL 的低表达也会导致恶性肿瘤预后不良^[42]。这一研究结果为利用坏死性凋亡途径治疗胰腺癌扩展了思路。在肿瘤的治疗中,凋亡诱导剂与癌症耐药密切相关,一旦促凋亡分子不能激活凋亡小体,就会触发 RIPK1 和 RIPK3 介导的坏死性凋亡^[43]。因此,坏死性凋亡可以通过非凋亡途径杀死肿瘤细胞,基于此研发的药物可以改善传统药物的耐药性。RIPK1、RIPK3 和 MLKL 是细胞死亡和存活途径的关键分子,也是治疗 PC 的潜在重要靶点。本文归纳胰腺癌中坏死性凋亡诱导物,为后期研究提供参

考(表 2)。

坏死性凋亡作为凋亡的替代方式,能够加快癌细胞死亡,起到防止肿瘤发展的作用^[44]。紫草素是从赤藓根部分离的天然产物,对炎症、溃疡、感染和肿瘤均有药理作用^[45]。AKIMOTO 等^[46]发现紫草素衍生物萘醌(Naphthoquinone)通过调节 RIPK1、RIPK3 的表达,诱导胰腺癌细胞坏死并增强胰腺癌一线药物吉西他滨在 PC 中的抗癌作用。IMB5036 是一种新的吡嗪酮化合物,具有抗肿瘤活性,可抑制癌细胞的生长和转移^[47]。ZIELINSKA 等^[48]发现 IMB5036 可刺激 MLKL 从细胞质转移到细胞膜上并上调 RIPK1、RIPK3 的水平,激活坏死性凋亡,加速细胞肿胀和增加膜通透性,诱导发生更多的坏死性凋亡,抑制人类胰腺癌的进展。半胱天冬氨酸酶模拟物被广泛应用于如骨髓恶性肿瘤、乳腺癌、结肠癌等肿瘤的研究中^[49]。ANGUIANO-HERNANDEZ 等^[50]发现,半胱天冬氨酸酶激活物的模拟物 BV6 可以激活 RIPK1、RIPK3 和 TNF- α ,加快肿瘤细胞死亡,抑制胰腺癌发展。抗糖尿病脂联素受体激动剂可以激活 RIPK1、细胞外调节激酶 1/2(extracellular regulated protein kinases, ERK1/2)通路,通过坏死性凋亡诱导胰腺癌细胞死亡,抑制肿瘤生长,有望成为 PC 的治疗药物^[51]。银纳米颗粒(Ag nanoparticles, AgNPs)是一种具有提高化疗成功率潜力的试剂。ZHAO 等^[52]发现 AgNPs 可以促进肿瘤抑制因子 p53 蛋白的释放以及上调 RIPK1、RIPK3 和 MLKL 的表达水平,最终在人胰腺癌细胞中诱导混合型程序性细胞死亡,并显著提高胰腺肿瘤中的化学敏感性。极光激酶 A(aurora kinase A gene, AURKA)是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,其上调在人类恶性肿瘤中普遍存在。ZHOU 等^[53]发现 AURKA 抑制剂 CCT137690 可增强 RIPK1-RIPK3 和 RIPK3-MLKL 复合物的形成,诱导 PC 细胞死亡,显著抑制了体外和体内的胰腺癌细胞的生长,这也说明了 AURKA 可能是坏死性凋亡和活化的负调节因子。

引发肿瘤细胞坏死性凋亡的治疗策略在抗肿瘤治疗方面显示出巨大的潜力。然而,这些治疗策略的有效性和安全性需要广泛评估。值得注意的是,坏死性凋亡可能会引起慢性炎症反应,促进血管生成、细胞增殖和转移。因此,需要更多的实验和临床试验来探索基于坏死性凋亡的抗肿瘤治疗的潜在应用^[54]。

表 2 胰腺癌中坏死性凋亡诱导物

Table 2 Ectrotizing apoptosis inducers in pancreatic cancer

物质 Material	靶向蛋白质 Targeted proteins	作用 Effects	参考文献 References
萘醌 Naphthoquinone	RIPK1 ↑、RIPK3 ↑	调节 RIPK1、RIPK3 的表达,诱导胰腺癌细胞坏死。 Regulate the expression of RIPK1 and RIPK3 and induce necrosis of pancreatic cancer cells.	[46]
新型哒嗪酮类化合物 (IMB5036) New pyridazinone compounds (IMB5036)	RIPK1 ↑、RIPK3 ↑、 MLKL ↑	刺激 MLKL 从细胞质转移到细胞膜上,上调 RIPK1、RIPK3、MLKL 的水平,抑制胰腺癌的进展。 Stimulate MLKL to transfer from cytoplasm to cell membrane, up regulate the levels of RIPK1, RIPK3, and MLKL, and inhibit the progress of pancreatic cancer.	[47-48]
半胱天冬氨酸模拟物 (BV6) Cysteine aspartate analogue (BV6)	RIPK1 ↑、RIPK3 ↑、 TNF-α ↑	激活 RIPK1、RIPK3、坏死体复合物以及 TNF-α 水平,加快癌细胞死亡,抑制胰腺癌进展。 Activate RIPK1, RIPK3, necrosome complex and TNF-α levels, accelerate cancer cell death, and inhibit the progress of pancreatic cancer.	[49-50]
抗糖尿病脂联素受体激动剂 Anti diabetes adiponectin receptor agonist	RIPK1 ↑、ERK1 ↑、 ERK2 ↑	激活 RIPK1、ERK1/2 通路,通过坏死性凋亡诱导胰腺癌细胞死亡。 Activate RIPK1 and ERK1/2 pathways and induce pancreatic cancer cell death through necrotic apoptosis.	[51]
银纳米颗粒 Silver nanoparticles	RIPK1 ↑、RIPK3 ↑、 MLKL ↑、LC3-II ↑	上调 RIPK1、RIPK3、MLKL 和 LC3-II 的水平,提高胰腺癌对于化疗的敏感性。 Upregulate the levels of RIPK1, RIPK3, MLKL and LC3-II, and improve the sensitivity of pancreatic cancer to chemotherapy.	[52]
癌基因 (AURKA) 激酶抑制剂 CCT137690 Cancer gene (AURKA) kinase inhibitor CCT137690	RIPK1-RIPK3 ↑、 RIPK3-MLKL ↑	增强 RIPK1-RIPK3 和 RIPK3-MLKL 复合物的形成,诱导 PC 细胞死亡,抑制了肿瘤的发展。 Enhancing the formation of RIPK1-RIPK3 and RIPK3-MLKL complexes, inducing PC cell death, and inhibiting tumor development.	[53]

5 小结展望

细胞坏死性凋亡作为一种新发现的程序性死亡方式,其结合了细胞凋亡和细胞坏死两者的特点,是机体调控细胞死亡的重要方式,在胰腺病变中与 AP 和 PC 发展密切相关。然而,需要注意的是,坏死性凋亡在不同情况下对于胰腺疾病的作用也不同,其可通过引发炎症级联反应导致严重的组织损伤,也可通过其强大的促炎作用发挥抗肿瘤的作用。在 AP 中坏死性凋亡相关关键因子为 RIPK1、RIPK3 和 MLKL,通过干预其相关靶点可减少胰腺腺泡细胞的坏死,对急性胰腺炎发展起到保护作用,并且其相关的坏死性抑制剂在重症胰腺炎中也起到良性作用。此外,坏死性凋亡可在各种类型的刺激下发生,并且在其信号转导通路的基础上,可通过多种途径调节坏死性凋亡以延缓肿瘤进展。此前已有报道称,依赖于 RIPK3 的线粒体磷酸酶 5 可通过去磷酸化调节树突状细胞的活性,并参与抗肿瘤免疫反应^[55]。因此,坏死性凋亡在 PC 预后评估、药物开发、耐药问题等方面提供了重要的研究思路,发现并识别坏死性凋亡的生物标志物,深入研究坏死性凋亡的分子机制和生理病理作用,特别是与其他细胞死亡机制和免疫系统之间的相

互作用,有助于进一步开发抗肿瘤治疗的靶点,为后期坏死性凋亡诱导剂在临床应用提供理论依据。

综上所述,坏死性凋亡在 AP 和 PC 中作用机制的发现为 AP 和 PC 的治疗开辟了新的前景。然而坏死性凋亡与人类疾病之间存在着错综复杂的关系,仍需进一步探究坏死性凋亡在胰腺疾病中的生理和病理作用的分子机制,研究其与其他细胞死亡机制的关系及其与免疫系统的相互作用,从而推进坏死性凋亡在胰腺疾病治疗领域中的应用。

参 考 文 献 (References)

- [1] TONG X, TANG R, XIAO M, et al. Targeting cell death pathways for cancer therapy: recent developments in necroptosis, pyroptosis, ferroptosis, and cuproptosis research [J]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 174.
- [2] WU Z, HUANG X, CAI M, et al. Novel necroptosis-related gene signature for predicting the prognosis of pancreatic adenocarcinoma [J]. *Aging*, 2022, 14(2): 869-891.
- [3] BAI Y, LAM H C, LEI X. Dissecting programmed cell death with small molecules [J]. *Acc Chem Res*, 2020, 53(5): 1034-1045.
- [4] SHI F L, YUAN L S, WONG T S, et al. Dimethyl fumarate inhibits necroptosis and alleviates systemic inflammatory response syndrome by blocking the RIPK1-RIPK3-MLKL axis [J]. *Pharmacol Res*, 2023, 189: 106697.
- [5] LIU Y, LIU T, LEI T, et al. RIP1/RIP3-regulated necroptosis

- as a target for multifaceted disease therapy [J]. *Int J Mol Med*, 2019, 44(3): 771–786.
- [6] HUANG Y, WANG S, KE A, et al. Ferroptosis and its interaction with tumor immune microenvironment in liver cancer [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2023, 1878(1): 188848.
- [7] SHI C, CAO P, WANG Y, et al. PANoptosis: a cell death characterized by pyroptosis, apoptosis, and necroptosis [J]. *J Inflamm Res*, 2023, 16: 1523–1532.
- [8] DAI W, CHENG J, LENG X, et al. The potential role of necroptosis in clinical diseases [J]. *Int J Mol Med*, 2021, 47(5): 89.
- [9] KITUR K, WACHTEL S, BROWN A, et al. Necroptosis promotes *Staphylococcus aureus* clearance by inhibiting excessive inflammatory signaling [J]. *Cell Rep*, 2016, 16(8): 2219–2230.
- [10] LLOYD A F, DAVIES C L, HOLLOWAY R K, et al. Central nervous system regeneration is driven by microglia necroptosis and repopulation [J]. *Nat Neurosci*, 2019, 22(7): 1046–1052.
- [11] BERTHELOOT D, LATZ E, FRANKLIN B S. Necroptosis, pyroptosis and apoptosis: an intricate game of cell death [J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(5): 1106–1121.
- [12] SCHOCK S N, CHANDRA N V, SUN Y, et al. Induction of necroptotic cell death by viral activation of the RIG-I or STING pathway [J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(4): 615–625.
- [13] ZHANG T, XU D, LIU J, et al. Prolonged hypoxia alleviates prolyl hydroxylation-mediated suppression of RIPK1 to promote necroptosis and inflammation [J]. *Nat Cell Biol*, 2023, 25(7): 950–962.
- [14] VANDENABEELE P, DECLERCQ W, VAN H F, et al. The role of the kinases RIPK1 and RIPK3 in TNF-induced necrosis [J]. *Sci Signal*, 2020, 115(44): 23–25.
- [15] KARKI R, KANNEGANTI T D. ADAR1 and ZBP1 in innate immunity, cell death, and disease [J]. *Trends Immunol*, 2023, 44(3): 201–216.
- [16] QUARATO G, GUY C S, GRACE C R, et al. Sequential engagement of distinct MLKL phosphatidylinositol-binding sites executes necroptosis [J]. *Mol Cell*, 2016, 61(4): 589–601.
- [17] CHEN X, HE W T, HU L, et al. Pyroptosis is driven by non-selective gasdermin-D pore and its morphology is different from MLKL channel-mediated necroptosis [J]. *Cell Res*, 2016, 26(9): 1007–1020.
- [18] ZHANG T, XU D, TREFTS E, et al. Metabolic orchestration of cell death by AMPK-mediated phosphorylation of RIPK1 [J]. *Science*, 2023, 380(6652): 1372–1380.
- [19] LEE P J, PAPACHRISTOU G I. New insights into acute pancreatitis [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16(8): 479–496.
- [20] WU J, MULATIBIEKE T, NI J, et al. Dichotomy between receptor-interacting protein 1- and receptor-interacting protein 3-mediated necroptosis in experimental pancreatitis [J]. *Am J Pathol*, 2017, 187(5): 1035–1048.
- [21] WU J, HUANG Z, REN J, et al. Mkl1 knockout mice demonstrate the indispensable role of Mkl1 in necroptosis [J]. *Cell Res*, 2013, 23(8): 994–1006.
- [22] EKHLAK M, KULKARNI P P, SINGH V, et al. Necroptosis executioner MLKL plays pivotal roles in agonist-induced platelet prothrombotic responses and lytic cell death in a temporal order [J]. *Cell Death Differ*, 2023, 30(8): 1886–1899.
- [23] CAO L, MU W. Necrostatin-1 and necroptosis inhibition: Pathophysiology and therapeutic implications [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 163: 105297.
- [24] OUYANG Y, WEN L, ARMSTRONG J A, et al. Protective effects of necrostatin-1 in acute pancreatitis: partial involvement of receptor interacting protein kinase 1 [J]. *Cells*, 2021, 10(5): 1035.
- [25] SONG G, MA Z, LIU D, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells ameliorate severe acute pancreatitis by inhibiting necroptosis in rats [J]. *Mol Cell Biochem*, 2019, 459(1/2): 7–19.
- [26] UDER C, BRÜCKNER S, WINKLER S, et al. Mammalian MSC from selected species: Features and applications [J]. *Cytometry A*, 2018, 93(1): 32–49.
- [27] CUI Q R, LING Y H, WEN S H, et al. Gut barrier dysfunction induced by aggressive fluid resuscitation in severe acute pancreatitis is alleviated by necroptosis inhibition in rats [J]. *Shock*, 2019, 52(5): e107–e116.
- [28] AASEBØ E, BRENNER A K, HERNANDEZ-VALLADARES M, et al. Proteomic comparison of bone marrow derived osteoblasts and mesenchymal stem cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11): 5665.
- [29] SONG D, HAO J, FAN D. Biological properties and clinical applications of berberine [J]. *Front Med*, 2020, 14(5): 564–582.
- [30] OU X, HUA Y, LIAO X, et al. Cognitive impairments induced by severe acute pancreatitis are attenuated by berberine treatment in rats [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(3): 3437–3444.
- [31] ILEGEMS E, BRYZGALOVA G, CORREIA J, et al. HIF-1 α inhibitor PX-478 preserves pancreatic β cell function in diabetes [J]. *Sci Transl Med*, 2022, 14(638): eaba9112.
- [32] ZHU Q, HAO L, SHEN Q, et al. CaMK II inhibition attenuates ROS dependent necroptosis in acinar cells and protects against acute pancreatitis in mice [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 4187398.
- [33] ANWAR M A, SHAH M, KIM J, et al. Recent clinical trends in Toll-like receptor targeting therapeutics [J]. *Med Res Rev*, 2019, 39(3): 1053–1090.
- [34] SU Y R, HONG Y P, MEI F C, et al. High-fat diet aggravates the intestinal barrier injury via TLR4-RIP3 pathway in a rat model of severe acute pancreatitis [J]. *Mediators Inflamm*, 2019, 2019: 2512687.
- [35] WU J, MA X, CHEN W, et al. Protective effects of HTD4010, a Reg3 α /PAP-derived peptide, in mouse model of acute pancreatitis via toll-like receptor 4 pathway [J]. *Biochem*

- Biophys Res Commun, 2019, 512(4): 670–677.
- [36] BAIK J Y, LIU Z, JIAO D, et al. ZBP1 not RIPK1 mediates tumor necroptosis in breast cancer [J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 2666.
- [37] SEIFERT L, WERBA G, TIWARI S, et al. The necrosome promotes pancreatic oncogenesis via CXCL1 and Mincle-induced immune suppression [J]. Nature, 2016, 532(7598): 245–249.
- [38] COLBERT L E, FISHER S B, HARDY C W, et al. Pronecrotic mixed lineage kinase domain-like protein expression is a prognostic biomarker in patients with early-stage resected pancreatic adenocarcinoma [J]. Cancer, 2013, 119(17): 3148–3155.
- [39] YATIM N, JUSFORGUES-SAKLANI H, OROZCO S, et al. RIPK1 and NF- κ B signaling in dying cells determines cross-priming of CD8⁺ T cells [J]. Science, 2015, 350(6258): 328–334.
- [40] KANG Y J, BANG B R, HAN K H, et al. Regulation of NKT cell-mediated immune responses to tumours and liver inflammation by mitochondrial PGAM5-Drp1 signalling [J]. Nat Commun, 2015, 6: 8371.
- [41] MARTINEZ-OSORIO V, ABDELWAHAB Y, ROS U. The many faces of MLKL, the executor of necroptosis [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(12): 10108.
- [42] ALVAREZ-DIAZ S, PREAUDET A, SAMSON A L, et al. Necroptosis is dispensable for the development of inflammation-associated or sporadic colon cancer in mice [J]. Cell Death Differ, 2021, 28(5): 1466–1476.
- [43] HASSANEIN E H M, IBRAHIM I M, ABD EL-MAKSOUH M S, et al. Targeting necroptosis in fibrosis [J]. Mol Biol Rep, 2023, 50(12): 10471–10484.
- [44] KARLOWITZ R, VAN WIJK S J L. Surviving death: emerging concepts of RIPK3 and MLKL ubiquitination in the regulation of necroptosis [J]. FEBS J, 2023, 290(1): 37–54.
- [45] LEE J H, HAN S H, KIM Y M, et al. Shikonin inhibits proliferation of melanoma cells by MAPK pathway-mediated induction of apoptosis [J]. Biosci Rep, 2021, 41(1): BSR20203834.
- [46] AKIMOTO M, MARUYAMA R, KAWABATA Y, et al. Antidiabetic adiponectin receptor agonist AdipoRon suppresses tumour growth of pancreatic cancer by inducing RIPK1/ERK-dependent necroptosis [J]. Cell Death Dis, 2018, 9(8): 804.
- [47] LV X, ZHAO Q, DONG Y, et al. IMB5036, a novel pyridazinone compound, inhibits hepatocellular carcinoma growth and metastasis [J]. Invest New Drugs, 2022, 40(3): 487–496.
- [48] ZIELINSKA E, ZAUSZKIEWICZ-PAWLAK A, WOJCIK M, et al. Silver nanoparticles of different sizes induce a mixed type of programmed cell death in human pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. Oncotarget, 2018, 9(4): 4675–4697.
- [49] BODDU P, CARTER B Z, VERSTOVSEK S, et al. SMAC mimetics as potential cancer therapeutics in myeloid malignancies [J]. Br J Haematol, 2019, 185(2): 219–231.
- [50] ANGUIANO-HERNANDEZ Y M, CHARTIER A, HUERTA S. Smac/DIABLO and colon cancer [J]. Anticancer Agents Med Chem, 2007, 7(4): 467–473.
- [51] HANNES S, ABHARI B A, FULDA S. Smac mimetic triggers necroptosis in pancreatic carcinoma cells when caspase activation is blocked [J]. Cancer Lett, 2016, 380(1): 31–38.
- [52] ZHAO Q, ZHENG Y, LV X, et al. IMB5036 inhibits human pancreatic cancer growth primarily through activating necroptosis [J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2022, 130(3): 375–384.
- [53] ZHOU Y, CAI Z, ZHAI Y, et al. Necroptosis inhibitors: mechanisms of action and therapeutic potential [J]. Apoptosis, 2024, 29(1/2): 22–44.
- [54] RATHJE O H, PERRYMAN L, PAYNE R J, et al. PROTACs targeting MLKL protect cells from necroptosis [J]. J Med Chem, 2023, 66(16): 11216–11236.
- [55] KANG Y J, BANG B R, HAN K H, et al. Regulation of NKT cell-mediated immune responses to tumours and liver inflammation by mitochondrial PGAM5-Drp1 signalling [J]. Nat Commun, 2015, 6: 8371.

[收稿日期] 2023-09-15