

基于细胞焦亡途径探讨中医药抗肿瘤机制研究进展*

岳亚楠^{1,2}, 柳青峰²

1. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110000; 2. 辽宁省金秋医院, 辽宁 沈阳 110000

摘要:天然中药在抗肿瘤方面具有独特优势,而细胞焦亡途径的发现为中医药靶点的选择提供了新方向。随着对细胞焦亡认识的深入及其与肿瘤治疗相关性的探索,诱导细胞焦亡以促进化疗、免疫治疗等疗法更好地发挥抑制肿瘤增殖及瘤体生长作用机制的研究愈加深入。中医阴阳平衡理论对细胞焦亡的有序、适度控制具有重要指导意义,而中医药因其多靶点、多途径特点对肿瘤化疗及免疫治疗增敏、减少耐药性的优势逐渐显现。但目前中药有效成分靶向细胞焦亡途径的研究尚处于基础阶段,且以单味药单成分为主,尚未明确靶向机制及上下游靶点;中药复方相关研究较少,且其发挥细胞焦亡作用的主要成分并不明确。针对此,今后可结合网络药理学、分子对接等生物信息技术或基因敲除方式对中药各成分影响细胞焦亡的机制进行多维度、多靶位及多因子分析,并在中医平衡理论及“损其有余,补其不足”治疗原则的指导下引导适度可控的焦亡。

关键词:细胞焦亡;肿瘤免疫;中医药;焦孔素家族

DOI:10. 16368/j. issn. 1674 - 8999. 2023. 07. 244

中图分类号:R285 **文献标志码:**A **文章编号:**1674 - 8999(2023)07 - 1488 - 09

Research Progress on TCM Anti - Tumor Mechanism
Based on Pyroptosis Pathway

YUE Yanan^{1,2}, LIU Qingfeng²

1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shengyang Liaoning China 110000;
2. Jinqiu Hospital of Liaoning Province, Shengyang Liaoning China 110000

Abstract: Natural Chinese medicine has unique advantages in anti - tumor, and the discovery of the pyroptosis pathway provides a new direction for the selection of Chinese medicine targets. With the in - depth understanding of pyroptosis and the exploration of its correlation with tumor therapy, the research on the mechanism of inducing pyroptosis to promote chemotherapy, immunotherapy, and other therapies to better inhibit tumor proliferation and tumor growth has become more and more mature. The theory of TCM Yin - Yang balance has important guiding significance for the orderly and moderate control of pyroptosis, and the TCM advantages in enhancing the sensitivity of tumor chemotherapy and immunotherapy and reducing drug resistance due to its multi - target and multi - channel characteristics are gradually emerging. However, at present, the research on pyroptosis pathways targeted by TCM active ingredients is still in the basic stage, and it is mainly a single ingredient of a single drug, and the targeting mechanism and upstream and downstream targets have not yet been clarified. And there are few relevant studies on Chinese herbal compound prescriptions, and the main components that play a role in pyroptosis are not clear. Given this, in the future, network pharmacology, molecular docking, and other bioinformatics technologies or gene knockout methods can be combined to conduct multi - dimensional, multi - target, and multi - factor analyses on the mechanism of each TCM component affecting pyroptosis. And guide moderate and controllable pyroptosis under the guidance of TCM balance theory and treatment principles "Cutting what is more than enough, making up what is not enough".

Key words: pyroptosis; tumor immunity; traditional Chinese medicine; pyrokorins family

细胞焦亡是一种最初被认为是与免疫沉默的细胞凋亡相似且依赖 caspase - 1 介导的程序性细胞死亡。随着研究的深入,细胞焦亡被重新定义为细胞肿胀伴随细胞膜破裂并释放炎症因子的新型促炎性

* 基金项目:沈阳市科技计划项目(21 - 173 - 9 - 32)

细胞坏死形式。除了两条经典或非经典途径,凋亡半胱天冬酶、颗粒酶等介导的细胞焦亡新通路也逐渐被发现。

细胞焦亡在心肌缺血再灌注损伤、阿尔茨海默病、自身免疫性疾病等多种疾病中的作用逐渐受到关注,在肿瘤发生、发展及转归中的双刃剑作用及与肿瘤免疫的密切联系也得到了证实,诱导细胞焦亡从而进一步抗肿瘤已成为肿瘤领域的研究热点。细胞焦亡本身与中医阴阳学说的联系也为中医药调控该途径提供了理论依据,随着中药中各类化合物对细胞焦亡通路的靶向机制研究越来越多,对中医药抗肿瘤也有了新的探索。

1 细胞焦亡概述与机制

细胞焦亡是由 GSDM 蛋白介导的区别于非炎症性细胞凋亡的一种促炎性程序性死亡方式。与细胞凋亡过程中细胞皱缩后死亡但细胞膜结构完整的特征不同的是,细胞焦亡表现为膜破裂、细胞肿胀及可激活炎症反应的细胞内容物的释放。这种独特的细胞死亡模式最初于 1992 年在福氏志贺氏菌感染的小鼠巨噬细胞中被发现,后将其归为细胞凋亡。1997 年,研究发现福氏志贺氏菌诱导的“凋亡”过程中负责切割多向性促炎因子白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)的 caspase-1 可被激活,直至 2001 年被正式描述为“焦亡”^[1-3]。细胞焦亡早期被 Cookson 等认为是 caspase-1 依赖性单核细胞死亡,但后续研究发现,小鼠 caspase-11 和其人类同源蛋白 caspase-4、caspase-5 在识别胞浆脂多糖时可直接结合脂多糖引起激活从而触发焦亡,且有学者通过全基因组编辑筛选确定了 GSDM 家族成员之一 GSDMD 是 caspase-1、caspase-4、caspase-5、caspase-11 的通用底物,活化的炎性半胱天冬酶对 GSDMD 进行切割裂解,并通过释放具有膜打孔活性的寡聚化的 GSDMD-N 端结构域破坏细胞膜,从而引发细胞焦亡,GSDMD 是细胞焦亡最关键的蛋白分子^[4-5]。此外,GSDM 家族成员 GSDME 等也被证明参与其中,因此细胞焦亡的定义转变为由 GSDM 介导的程序性死亡方式。

由 GSDMD 介导的细胞焦亡途径分为依赖 caspase-1 的经典焦亡途径和依赖 caspase-4、caspase-5、caspase-11 的非经典焦亡途径。在经典焦亡途径中,炎性 caspases-1 的激活是由多分子

蛋白复合物炎症小体的组装介导的,而炎症小体的代谢活化主要由模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRS)识别病原体相关分子模式(pathogen associated molecular patterns, PAMPs)或宿主细胞胞质中的内源性危险信号启动。激活后的炎症小体与凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC)和 caspase-1 的前体形成复合物,促进 caspase-1 前体的自我剪切,从而得到活性 caspase-1;被活性 caspase-1 切割后的 GSDMD-N 与细胞膜磷脂酰肌醇、磷脂酸和磷脂酰丝氨酸结合,使细胞膜形成膜孔,导致细胞肿胀破裂;被活性 caspase-1 切割得到的成熟 IL-1 β 以及 IL-18 也可通过膜孔释放出来,促进炎症反应的激活^[6-7]。而非经典焦亡途径中,caspase-4、caspase-5、caspase-11 除了同革兰氏阴性菌脂多糖结合从而引起非经典焦亡外,活性 caspase-11 还可以切割并激活 pannexin-1 通道以诱导 ATP 释放,并通过 GSDMD 切割形成的细胞膜膜孔促使 K⁺ 外排,以激活 NLRP3 炎症小体,从而诱导细胞焦亡发生^[8]。

研究发现,GSDM 家族另一成员 GSDME 可被肿瘤坏死因子- α (tumour necrosis factor- α , TNF- α)或化疗药物激活的 caspase-3 切割而产生 GSDME-N 片段,导致某些 GSDME 高表达的癌细胞由细胞凋亡向细胞焦亡转变^[9]。另外,Du 等^[10]研究发现自然杀伤(natural killer, NK)细胞中的颗粒酶 B 可以在 D270 位点后直接裂解 GSDME,并间接激活 caspase-3,从而切割 D270 位点以诱导肿瘤靶点的 GSDME 依赖性焦亡,这一发现可能为克服肿瘤逃避免疫提供了新的思路。

2 细胞焦亡与肿瘤

2.1 细胞焦亡与肿瘤发生发展

随着研究的不断深入,细胞焦亡在包括肿瘤在内的各系统疾病中的参与逐渐被人们了解。细胞焦亡影响肿瘤发生发展的各个阶段,并在肿瘤微环境中发挥着抑瘤或促瘤的双向调节作用。一方面,在焦亡过程中,炎症小体的激活及炎症因子的释放能够导致多组织炎症扩散,炎症性肿瘤微环境的形成对某些肿瘤的生成和转化具有促进作用,并与其不良预后密切相关^[10]。Boone 等^[11]研究显示,在胰腺癌原位肿瘤模型中,炎症小体 NLRP3 表达上调,且其信号通路促进了血小

板的聚集,其活化和聚集水平的升高可以促进胰腺的肿瘤生长。Daley 等^[12] 研究显示,胰腺导管腺癌的发展有赖于巨噬细胞中 NLRP3 信号对其肿瘤微环境中的免疫抑制 CD4⁺ T 细胞极化的支持。另一方面,适度的细胞焦亡可抑制肿瘤细胞的增殖,并且与免疫沉默的细胞凋亡不同,细胞焦亡过程中触发的可控的炎症反应可为激活获得性免疫系统从而产生抗肿瘤免疫提供前提。研究表明,敲除 GSDME 促进了肿瘤生长,故 GSDME 可作为肿瘤抑制因子,通过诱导细胞焦亡增强抗肿瘤免疫能力,且其表达可提高肿瘤浸润的 NK 细胞和 CD8⁺ T 淋巴细胞的数量和功能^[13]。综上,尽管对细胞焦亡认识的深入为抗肿瘤研究提供了新的方向,但如何把控细胞焦亡的程度以及发挥细胞焦亡对肿瘤微环境的有利影响仍是研究者面临的重要问题。

2.2 细胞焦亡与抗肿瘤治疗

2.2.1 细胞焦亡与抗肿瘤化疗治疗 继研究发现多柔比星和顺铂可通过激活 caspase - 3 诱导表达 GSDME 的神经纤维瘤 SH - SY5Y 细胞或黑色素瘤 MeWo 细胞出现依赖性焦亡后,紫杉醇等化疗药物通过介导经典/非经典以及颗粒酶等焦亡途径诱发多种癌细胞焦亡的研究成果越来越多。Zhang 等^[14] 通过细胞生存能力分析、裂解细胞死亡实验等发现,顺铂及紫杉醇均能引起 caspase - 3 的激活和 GSDME - NT 的生成,从而诱导表达 GSDME 的一些 A549 肺癌死亡细胞出现继发性坏死/焦亡的特征性形态,且顺铂诱导焦亡的能力远高于紫杉醇。Yan 等^[15] 在研究中纳入 20 例基于顺铂的新辅助化疗的三阴性乳腺癌患者,选取进行新辅助化疗前的穿刺活检组织、进行新辅助化疗后切除的标本组织以及三阴性乳腺癌细胞株 MDA - MB - 231 进行研究,结果显示,化疗后的标本组织与化疗前的标本比较,不仅焦亡效应分子 GSDMD 表达明显升高,MEG3、NLRP3、caspase - 1、IL - 18 和 IL - 1 β 表达也呈上调趋势;顺铂作用后的 MDA - MB - 231 细胞株 GSDMD - FL 及 GSDMD - N 表达上调,MEG3、NLRP3、pro - caspase - 1 和 caspase - 1 的裂解(C - caspase - 1)均升高,且 IL - 18、IL - 1 β 的积累呈时间依赖性,而敲除 MEG3 可抑制顺铂对细胞焦亡的激活作用。Wang 等^[16] 研究证明,经 5 - 氟尿嘧啶处理后,胃癌细胞 SGC - 7901 和 MKN - 45 出现增殖抑制以及被激活的 caspase - 3 切割而产生的剂量依赖性的 GS-

DME 裂解,从而发生焦亡。

2.2.2 细胞焦亡与抗肿瘤免疫治疗 肿瘤免疫疗法依靠对免疫微环境的重塑和对免疫逃逸的有效抑制重新激活人体抗肿瘤免疫反应,已成为研究前景广阔的一种新兴疗法,而细胞焦亡与肿瘤免疫的复杂联系使其在抗肿瘤免疫中的机制及应用越来越受到关注。细胞焦亡对免疫激活的正向作用不仅与细胞焦亡释放的炎症介质触发天然免疫反应并招募免疫 T 细胞浸润从而促使效应 T 细胞的免疫增强有关,而且与淋巴细胞发挥细胞毒性作用使肿瘤细胞诱导 TME 进入免疫刺激状态有关^[10]。Wang 等^[17] 将生物正交化学体系应用于 GSDM,使 GSDM 有选择性地释放到肿瘤细胞,结果显示,不到 15% 的肿瘤细胞发生焦亡便可清除基于 4T1 细胞所建立的乳腺肿瘤移植瘤,且免疫细胞数量显著增加,但当小鼠为免疫缺陷或 T 细胞衰竭小鼠时肿瘤不会被抑制,同时提出焦亡触发的炎症可与免疫检查点抑制剂协同作用。Hou 等^[18] 研究表明,经典的免疫检查点抑制剂 PD - L1 在缺氧条件下可与活化的 STAT3 结合,促进核易位以及 GSDMC 基因转录的形成,而被 caspase - 8 切割后的 GSDMC 在 TNF - α 的作用下可诱导乳腺癌细胞发生焦亡。临床试验也证明了,PD - L1 抑制剂与化疗或放疗结合可诱导肿瘤细胞发生焦亡,从而提高患者的生存率^[19]。除了肿瘤细胞焦亡,免疫细胞焦亡同样可以触发强烈的免疫反应。Hage 等^[20] 以索拉菲尼药物干预肝细胞癌小鼠模型,证明索拉菲尼可上调 IL - 1 β 、IL - 18 等促炎细胞因子的表达增强 caspase - 1 活性,诱导巨噬细胞焦亡,并且触发了巨噬细胞同 NK 细胞的相互作用,使癌细胞死亡数量增加 4 倍。而 NK 细胞和细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocytes,CTLs)所属的细胞毒性淋巴细胞是抗肿瘤免疫治疗中不可缺少的细胞执行者。NK 细胞和 CTLs 细胞释放出的颗粒酶 A 可以在穿孔素靶向细胞的作用下裂解 GSDMB,促进靶细胞焦亡,而颗粒酶 B 对肿瘤靶细胞的焦亡作用则是通过直接裂解 D270 位点的 GSDME 和间接激活相同位点的 caspase - 3 诱导的。

3 中医药靶向细胞焦亡途径在抗肿瘤中的应用

3.1 中医理论下的细胞焦亡 作为中医理论的重要组成部分及哲学基础,阴阳学说与现代生物医学

中内环境的动态平衡及生物体内对立制约的调控息息相关,包括细胞生命活动的各个环节^[21]。《素问·阴阳应象大论》曰:“阴阳者,天地之道也,万物之纲纪,变化之父母,生杀之本始,神明之府也。”阴阳被认为是万物变化的起源和生长毁灭的根本,阴与阳既对立又依存,二者互根互用,相互转化。阴阳属性体现在细胞层面上即为细胞的生长与死亡。《道德经》云:“万物负阴而抱阳,冲气以为和。”又有《素问·生气通天论》言:“阴平阳秘,精神乃治。”阴阳消长处于动态平衡时,机体各环节方能有序运转。细胞焦亡相较于细胞增殖,虽属“阴”,但其本身亦处于一种阴阳动态平衡之中,焦亡不足或过度失控则属于阴阳失衡。《素问·阴阳应象大论》言:“阳胜则阴病,阴胜则阳病。”在肿瘤疾病过程中,焦亡不足会加速癌细胞增殖,焦亡过度则会导致炎症物质释放过多,引发炎症肿瘤微环境的形成并导致新的炎症性疾病产生。因此,调控细胞焦亡要遵循“补其不足,损其有余”的原则,使细胞焦亡维持在适度的范围内,并恢复到阴阳平衡状态。

3.2 中医药靶向细胞焦亡途径的抗肿瘤作用 尽管有些化疗药物会诱导癌细胞焦亡从而抑制肿瘤发展,但也有研究显示,化疗期间 GSDME 介导的焦亡会产生不良反应,原因可能在于 GSDMs 除了在肿瘤组织细胞中高表达外,也在正常组织细胞中表达,即在介导癌细胞焦亡的同时,也会导致正常组织细胞发生焦亡^[9,22]。中药具有多成分、多靶点以及不良反应少的优点,随着对其调控细胞焦亡研究的深入,许多中药单体及复方通过靶向细胞焦亡途径抗肿瘤均发挥着自身优势。

3.2.1 中药单体

3.2.2.1 酮类化合物 木犀草素作为天然类黄酮化合物,在高脂血症、哮喘等多种疾病中具有抗炎活性。Yu 等^[23]在木犀草素抗非小细胞肺癌(Non-small cell lung cancer, NSCLC)的机制研究中发现,木犀草素不仅可抑制 NSCLC 细胞中 caspase-1 的激活和 IL-1 β 的成熟,且可以抑制 NSCLC 细胞中高表达的黑素瘤缺乏因子 2(absent in melanoma 2, AIM2)炎症小体的激活,以抑制其上皮-间充质转变,从而发挥木犀草素的抗肿瘤作用。银杏叶提取物是包含银杏黄酮类化合物与萜内酯类化合物成分的物质,李军等^[24]将不同浓度的银杏叶提取物作用于乳腺癌细胞 MCF-7,在银杏叶提取物的干预下,

MCF-7 中 GSDMD、caspase-1、cleaved caspase-1 蛋白表达上调,且细胞焦亡率呈剂量依赖性提高,而 Calpain-1、NLRP3 蛋白以及 Th17、Treg 蛋白下调水平也随着药物浓度的增加而增加,提示银杏叶提取物可能通过靶向细胞焦亡途径及调控 Th17/Treg 水平延缓了乳腺癌的生长速度。高良姜素是从传统中药中提取的天然黄酮类化合物,孔杨^[25]研究发现,在利用 3-MA 阻断自噬后,高良姜素诱导的原发性胶质母细胞瘤细胞焦亡标记 GSDME 的 N 端蛋白表达量增加,且在小鼠模型中高良姜素联合自噬抑制剂组 ki67 蛋白的阳性表达率最低,提示高良姜素可通过诱导 GSDME 介导的细胞焦亡增强抗肿瘤作用。远志酮是中药远志的酮类提取物,Chen 等^[26]研究发现,经远志酮干预的肝细胞癌组织及细胞系中的上游分子 NLRP3、caspase-1、成熟的 IL-1 和 IL-18 蛋白表达量均显著提高,同时,ki67 的表达呈剂量依赖性抑制,表明远志酮能够通过激活 caspase-1 介导的焦亡通路抑制肿瘤生长。水飞蓟宾提取自水飞蓟,是一种广泛用于降酶保肝的黄酮类抗氧化剂,在三阴性乳腺癌细胞 MDA-MB-231 中干扰线粒体生物发生、减少活性氧产生的同时,抑制 NLRP3 炎症小体的激活及 caspase-1 和 IL- β 蛋白的转录翻译,从而抑制其侵袭和迁移^[27]。

3.2.2.2 萜类化合物 熊果酸是夏枯草、山茱萸、白花蛇舌草等中药中具有抗炎、抗氧化作用的五环三萜类化合物。杨晨等^[28]为明确其抗肿瘤机制,以不同浓度的熊果酸溶液作用于人肝癌 SMMC-7721 细胞,并观察其焦亡形态,结果显示,SMMC-7721 的增殖率及集落数随着药物浓度的增加而降低,表明熊果酸上调了 GSDMD-N、caspase-1、NLRP3 的蛋白表达,且在 30 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的药物浓度组别中,细胞出现了肿胀破裂、内容物释放等焦亡形态。Yuan 等^[29]研究显示,葫芦素 B 作为一种提取自天然中药的四环三萜类化合物,可以通过结合 toll 样受体 4(TLR4)激活 NLRP3 从而裂解 GSDMD,诱导焦亡,亦能通过诱导 A549 细胞的线粒体障碍而引发焦亡。此外,在非小细胞肺癌小鼠模型中,葫芦素 B 组的肺肿瘤生长受到抑制,且无剂量依赖性。白桦脂酸是中药桑白皮中的五环三萜类化合物成分,研究表明在白桦脂酸单独或联合顺铂干预食管癌细胞 TE-11 建立的裸鼠异种移植模型的体内实验中,白桦脂酸联合顺铂组的 Caspase-1 阳性表达率

与白桦脂酸组比较显著升高,而 ki67 阳性表达率明显降低,提示白桦脂酸通过细胞焦亡方式对顺铂治疗食管癌的效力具有增敏作用^[30]。雷公藤甲素是中药雷公藤的主要活性成分之一,属于二萜类化合物。Cai 等^[31]通过体内外实验证明,雷公藤甲素可以下调头颈癌 HK1、C666-1 细胞的 c-Myc/HK-II 轴的表达水平及有氧糖酵解,并以沉默的 HK-II 激活 caspase-3 和 GSDME 的切割,诱导由 GSDME 介导的头颈部癌细胞的焦亡。黄独素 B (Diosbulbin B, DB) 是提取自黄药子的富含二萜内酯类成分的化合物, Li 等^[32]以低剂量黄独素 B 处理胃癌细胞,可下调 PD-L1 的表达,从而激活 NLRP3 炎症小体,促使顺铂治疗后的 CR-GC 细胞引发焦亡,提高顺铂治疗的敏感性。

3.2.2.3 生物碱类化合物 来源于中药苦参的活性成分氧化苦参碱在多种肿瘤中发挥着抑制作用,张景正等^[33]在氧化苦参碱诱导结肠癌 HCT116 细胞死亡的分子机制研究中发现,氧化苦参碱可以下调 Wnt/ β -catenin 信号通路,促进细胞凋亡,而且在不同药物浓度下,关键蛋白 GSDME 的表达均有显著增高,cleaved caspase-3 水平上调,表明氧化苦参碱在促进癌细胞死亡从而抗肿瘤方面可能较有潜力。Yao 等^[34]研究黄连的主要生物碱成分小檗碱对 NLRP3 炎症小体通路的抑制作用,以小檗碱对三阴性乳腺癌细胞进行干预,结果显示小檗碱不仅可以抑制 MDA-MB-231 活性及迁移能力,亦可下调 NLRP3 炎症小体级联中 NLRP3、pro-caspase-1、ASC、IL-18、IL-1 β 蛋白的表达;同时,在小檗碱的作用下,MDA-MB-231 细胞中 P2X7 的表达降低,表明小檗碱可通过抑制细胞因子的成熟和分泌改变肿瘤微环境,并抑制 p2x7 介导的 NLRP3 炎症小体激活。

3.2.2.4 苷类化合物 重楼皂苷 H 是存在于中药重楼中的偏诺皂苷元型甾体皂苷,孙光强等^[35]以重楼皂苷 H 干预耐替莫唑胺胶质瘤 SHG44R 细胞株,结果显示重楼皂苷 H 会诱导 SHG44R 细胞出现细胞膜受损及内容物释放等形态的焦亡改变,而且重楼皂苷 H 组的 caspase-1、caspase-11、GSDMD、IL-1 β 、IL-18 和 NLRP3 蛋白表达水平显著升高。芍药苷作为白芍提取物,具有抗炎、抗氧化及抗肿瘤药理活性, Wang 等^[36]研究表明,芍药苷通过泛素-蛋白酶体依赖途径对胶质母细胞瘤 U87 和 U251 细

胞中 TLR4 具有下调作用,且 NLRP3、caspase-1 和 pro-IL-1 β 等下游效应蛋白的表达水平降低,因此,芍药苷对胶质母细胞瘤的抑制作用是通过 TLR4 的分解及炎症因子释放的减少实现的。薯蓣皂苷是提取自山药的一类天然甾体皂苷类化合物, Ding 等^[37]在体内外实验研究中将薯蓣皂苷用于干预骨肉瘤细胞及 MNNG/HOS 细胞建立的骨肉瘤裸鼠模型,研究表明薯蓣皂苷可抑制细胞增殖及瘤体增长,并能使细胞出现特征性的焦亡形态,同时, GSDME-N 的表达上调,且随着剂量的增加而增加;使用 caspase-3 特异性抑制剂 Z-DEVD-FMK 进一步干预后, GSDME-N 与 c-caspase-3 的表达量均明显下调,证明薯蓣皂苷可通过靶向 caspase-3-GSDME-N 轴诱导骨肉瘤细胞焦亡,以发挥其抗肿瘤活性。提取自中药麦冬、麦冬皂苷 B 是苷类化合物的一种,程子昱的研究^[38]通过电镜证明了麦冬皂苷 B 对 3 种非小细胞癌系细胞有不同程度的焦亡形态的改变,在其作用下,耐药细胞株 A549/DDP 中 Cox2 蛋白的表达以及线粒体膜电位显著降低,乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LHD) 释放率更为显著,且焦亡通路中 caspase-1、IL-1 β 、GSDMD 等基因的表达均上调,因此麦冬皂苷 B 可通过激活经典焦亡通路以促进顺铂耐药株发生焦亡,逆转其耐药性。

3.2.2.5 多酚类化合物 虎杖苷是从虎杖根茎中分离的活性成分,为白藜芦醇苷的多酚类化合物, Zou 等^[39]研究发现,虎杖苷在抑制非小细胞癌 A549 和 H1299 细胞增殖与迁移的同时,还可以抑制 NLRP3、ASC 和 pro-caspase-1 等的表达水平。此外,研究表明 NF- κ B 与 NLRP3 炎症小体呈正相关关系,虎杖苷抗肿瘤可能是通过 NF- κ B 信号通路抑制 NLRP3 的激活。姜黄素是一种分离自姜黄块茎中、不溶于水且具有抗癌活性的多酚类化合物, Liang 等^[40]用不同浓度的姜黄素干预肝癌 HepG2 细胞以研究其抗肿瘤机制,结果显示姜黄素处理后的 HepG2 细胞活性氧水平提高,细胞在出现肿胀、膜溶解等形态学改变的同时释放大量 LHD,且随着姜黄素浓度增加,全长 GSDME 蛋白表达下调水平递增, GSDME-N 上调水平递增,提示姜黄素能通过诱导焦亡促进癌细胞死亡。中药单体基于细胞焦亡途径抗肿瘤作用机制见表 1。

3.2.2 中药复方 西黄丸是源于《外科证治全生集》的抗乳腺癌经典方剂,临床广泛应用于肿瘤的

治疗中。郭垠梅^[41]研究表明,西黄丸干预肝癌 SMMC-7721 细胞后可以上调剪切体 caspase-3、NLRP3、GSDME 以及剪切体 GSDME 等蛋白的表达,而加入 caspase-3 抑制剂后,这些蛋白的表达水平降低,提示西黄丸能通过诱导细胞焦亡抗肝癌。健脾消癌方是蒋益兰教授根据临床经验及结肠癌“虚瘀毒”的病机特点自拟的方子,卢林竹^[42]用 SD 大鼠制备健脾消癌方含药血清并将其作用于人结肠癌 HCT116,观察细胞形态并检测各炎症因子及关键蛋白的表达,结果显示含药血清组细胞出现焦亡现象,且 IL-1 β 、IL-18 炎症因子的表达与正常组比较显著上升,各浓度含药血清组的 caspase-3 及全长

GSDME 的蛋白表达明显降低,而 10%、20% 药物浓度下 GSDMD 蛋白表达下调,说明健脾消癌方对肝癌细胞焦亡的诱导机制可能与 caspase-3/GSDME 通路有关。固脾消积饮是由四君子汤加减而来的潘敏求教授的经验方,常被用于治疗原发性肝癌。翦慧颖^[43]的研究显示,以固脾消积饮含药血浆干预 HepG2.2.15 细胞后,caspase-1 抑制剂 VX-765 联合含药血浆组的乳酸脱氢酶及炎症因子 IL-18、IL-1 β 的释放量均明显降低,而含药血浆组的 caspase-1、GSDMD-N 蛋白表达量与正常组比较均上调,固脾消积饮对肝癌细胞焦亡的诱导作用是通过激活 caspase-1/GSDMD 经典通路来实现的。

表 1 中药单体基于细胞焦亡途径抗肿瘤的作用机制

类别	活性成分	作用肿瘤	作用机制	参考文献
酮类	木犀草素	非小细胞肺癌	抑制 caspase-1 的激活和 IL-1 β 的表达,下调 AIM2,抑制其上皮-间充质转变	[23]
酮类	银杏叶提取物	银杏叶提取物	上调 GSDMD、caspase-1、cleaved caspase-1 蛋白表达,下调 Calpain-1、NLRP3 蛋白以及 Th17、Treg 蛋白水平	[24]
酮类	高良姜素	原发性胶质瘤	上调 GSDME-N 端蛋白表达,抑制 ki67 蛋白阳性表达	[25]
酮类	远志酮	肝细胞癌	上调上游分子 NLRP3、caspase-1、成熟的 IL-1 和 IL-18 蛋白表达,抑制 ki67 蛋白阳性表达	[26]
酮类	水飞蓟宾	三阴性乳腺癌	干扰线粒体生物发生、减少活性氧产生,抑制 NLRP3 炎症小体激活以及 caspase-1 和 IL- β 蛋白的转录翻译	[27]
萜类	熊果酸	肝癌	降低 SMMC-7721 的增殖率及集落数,上调 GSDMD-N、caspase-1、NLRP3 的蛋白表达,诱导肿胀、细胞膜破裂、细胞内容物释放等焦亡形态	[28]
萜类	葫芦素 B	非小细胞肺癌	结合 TLR4 激活 NLRP3,裂解 GSDMD,诱导线粒体障碍而引发焦亡;抑制肺肿瘤瘤体生长	[29]
萜类	白桦脂酸	食管癌	联合顺铂可上调 caspase-1 阳性表达,降低 ki67 阳性表达率,对顺铂具有增敏作用	[30]
萜类	雷公藤甲素	头颈部癌	下调 c-Myc/HK-II 轴的表达式水平,抑制有氧糖酵解,以沉默的 HK-II 激活 caspase-3,切割 GSDME,诱导细胞焦亡	[31]
萜类	黄独素 B	胃癌	下调 PD-L1 表达,激活 NLRP3,引发细胞焦亡,对顺铂具有增敏作用	[32]
生物碱类	氧化苦参碱	结肠癌	上调 GSDME、cleaved caspase-3 表达水平,诱导细胞焦亡	[33]
生物碱类	小檗碱	三阴性乳腺癌	抑制 MDA-MB-231 的活力及迁移能力,下调 NLRP3、pro-caspase-1、ASC、IL-18、IL-1 β 蛋白表达,降低 P2X7 表达	[34]
苷类	重楼皂苷 H	耐替莫唑胺胶质瘤	上调 caspase-1、caspase-11、GSDMD、IL-1 β 、IL-18 和 NLRP3 蛋白表达,诱导细胞焦亡形态产生	[35]
苷类	芍药苷	胶质母细胞瘤	下调 TLR4 蛋白表达,降低 NLRP3、caspase-1 和 pro-IL-1 β 等蛋白表达水平	[36]
苷类	薯蓣皂苷	骨肉瘤	上调 GSDME-N 表达,靶向 caspase-3-GSDME-N 轴诱导细胞焦亡	[37]
苷类	麦冬皂苷 B	非小细胞肺癌	降低 Cox2 蛋白表达以及线粒体膜电位,提高 LHD 释放率,上调 caspase-1、IL-1 β 、GSDMD 表达	[38]
多酚类	虎杖苷	非小细胞癌	抑制 A549 和 H1299 细胞增殖与迁移,下调 NLRP3、ASC 和 pro-caspase-1 的表达式水平	[39]
多酚类	姜黄素	肝癌	提高细胞活性氧水平及 LHD 释放率,下调全长 GSDME 表达水平,上调 GSDME-N 水平	[40]

4 小结与展望

细胞焦亡途径已然成为肿瘤治疗的一个潜力靶点。究其机制,一方面,通过依赖 caspase - 1 的经典焦亡途径和依赖 caspase - 4、caspase - 5、caspase - 11 的非经典焦亡途径介导炎症小体的激活和炎症因子的释放,可促进癌细胞焦亡的发生;另一方面, TNF - α 或肿瘤化疗药物均可通过诱导 GSDME 的裂解而完成细胞焦亡。随着对细胞焦亡认识的深入以及细胞焦亡与抗肿瘤相关性的探索,通过诱导细胞焦亡以促进化疗药物、免疫治疗等疗法发挥更好地抑制肿瘤增殖及瘤体生长效用的机制研究愈加深入,但“过度杀伤”正常细胞及其不良反应亦不容忽视。中医阴阳平衡理论与细胞焦亡的有序适度控制具有重要的指导意义,而中医药凭借其多靶点、多途径的特点对肿瘤化疗及免疫治疗增敏、减少耐药性的优势逐渐显现。但目前中医药对细胞焦亡途径的调控依然存在不足:首先,中药成分靶向细胞焦亡途径的研究尚处在基础阶段,且以单味药、单成分为主,其靶向机制和上下游靶点仍需进一步明确。其次,中药复方调控该途径的研究相对较少,因成分复杂且可能涉及多条信号通路,发挥细胞焦亡作用的主要成分并不明确。因此,结合网络药理学及分子对接等生物信息技术或基因敲除等方式对中药各成分影响细胞焦亡的机制进行多维度、多靶位以及多因子基础分析,并在中医平衡理论以及“损其有余,补其不足”治疗原则的指导下引导适度可控的焦亡,仍是中医药以及中西医结合调控细胞焦亡途径面临的挑战。

参考文献:

[1]ZYCHLINSKY A,PREVOST M C,SANSONETTI P J. Shigella flexneri induces apoptosis in infected macrophages [J]. Nature,1992,358(6382):167 - 169.

[2]HILBI H,CHEN Y,THIRUMALAI K,et al. The interleukin 1beta - converting enzyme, caspase 1, is activated during Shigella flexneri - induced apoptosis in human monocyte - derived macrophages [J]. Infect Immun, 1997, 65 (12): 5165 - 5170.

[3]BOISE L H, COLLINS C M. Salmonella - induced cell death:apoptosis, necrosis or programmed cell death? [J]. Trends Microbiol,2001,9(2):64 - 67.

[4]KAYAGAKI N,STOWE I B,LEE B L,et al. Caspase - 11

• 1494 •

cleaves gasdermin D for non - canonical inflammasome signalling [J]. Nature,2015,526(7575):666 - 671.

[5]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.

[6]YU P,ZHANG X,LIU N,et al. Pyroptosis:mechanisms and diseases [J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6 (1): 128.

[7]BROZ P,DIXIT V M. Inflammasomes:mechanism of assembly,regulation and signalling [J]. Nat Rev Immunol,2016,16(7):407 - 420.

[8]YANG D H,HE Y,MUNOZ - PLANILLO R,et al. Caspase - 11 requires the pannexin - 1 channel and the purinergic P2X7 pore to mediate pyroptosis and endotoxic shock [J]. Immunity,2015,43(5):923 - 932.

[9]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.

[10]DU T T,GAO J,LI P L,et al. Pyroptosis,metabolism,and tumor immune microenvironment [J]. Clin Transl Med, 2021,11(8):e492.

[11]BOONE B A,MURTHY P,MILLER - OCUIN J L,et al. The platelet NLRP3 inflammasome is upregulated in a murine model of pancreatic cancer and promotes platelet aggregation and tumor growth [J]. Ann Hematol,2019,98(7):1603 - 1610.

[12]DALEY D,MANI V R,MOHAN N,et al. NLRP3 signaling drives macrophage - induced adaptive immune suppression in pancreatic carcinoma [J]. J Exp Med,2017,214(6):1711 - 1724.

[13]XU T,WANG Z,LIU J H,et al. Cyclin - dependent kinase inhibitors function as potential immune regulators via inducing pyroptosis in triple negative breast cancer [J]. Front Oncol,2022,12:820696.

[14]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.

[15]YAN H L,LUO B,WU X Y,et al. Cisplatin induces pyroptosis via activation of MEG3/NLRP3/caspase - 1/GSDMD pathway in triple - negative breast cancer [J]. Int J Biol Sci,2021,17(10):2606 - 2621.

[16]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.

[17]WANG Q Y,WANG Y P,DING J J,et al. A bioorthogonal system reveals antitumour immune function of pyroptosis[J]. Nature,2020,579(7799):421–426.

[18]HOU J W,ZHAO R C,XIA W Y,et al. PD–L1–mediated gasdermin C expression switches apoptosis to pyroptosis in cancer cells and facilitates tumour necrosis[J]. Nat Cell Biol,2020,22(10):1264–1275.

[19]LI L S,JIANG M X,QI L,et al. Pyroptosis,a new bridge to tumor immunity[J]. Cancer Sci,2021,112(10):3979–3994.

[20]HAGE C,HOVES S,STRAUSS L,et al. Sorafenib induces pyroptosis in macrophages and triggers natural killer cell–mediated cytotoxicity against hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology,2019,70(4):1280–1297.

[21]沈晓雄. 阴阳学说:一个风靡现代医学界的科学概念[J]. 中医药导报,2018,24(4):1–6.

[21]SHEN X X. Yin–Yang theory:a scientific concept popular in modern medical field[J]. Guid J Tradit Chin Med Pharm,2018,24(4):1–2.

[22]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.

[23]YU Q,ZHANG M D,YING Q D,et al. Decrease of AIM2 mediated by luteolin contributes to non–small cell lung cancer treatment[J]. Cell Death Dis,2019,10(3):218.

[24]李军,黄梅,林曼迪,等. 基于 Calpain–1/NLRP3 调控的细胞焦亡及 Th17/Treg 途径探讨银杏叶抑制乳腺癌细胞增殖的机制[J]. 广东医学,2022,43(7):793–798.

[24]LI J,HUANG M,LIN M D,et al. Mechanism of Ginkgo biloba inhibiting the proliferation of breast cancer cells based on Calpain–1/NLRP3–regulated Pyrolysis and Th17/Treg pathway[J]. Guangdong Med J,2022,43(7):793–798.

[25]孔杨. WGCNA 筛选癌基因 RUVBL1 及高良姜素抗胶质母细胞瘤的效应及机制研究[D]. 济南:山东大学,2020.

[25]KONG Y. Screening of oncogene RUVBL1 and galangin by WGCNA and its anti–glioblastoma effect and mechanism [D]. Jinan:Shandong University,2020.

[26]CHEN Y F,QI H Y,WU F L. Euxanthone exhibits anti–proliferative and anti–invasive activities in hepatocellular carcinoma by inducing pyroptosis:preliminary results[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2018,22(23):8186–8196.

[27]SI L L,FU J N,LIU W W,et al. Silibinin inhibits migration and invasion of breast cancer MDA–MB–231 cells through induction of mitochondrial fusion[J]. Mol Cell Biochem,2020,463(1/2):189–201.

[28]杨晨,黄峰,晁旭,等. 熊果酸对肝癌 SMMC–7721 细胞焦亡作用及机制研究[J]. 中药药理与临床,2022,38(4):101–107.

[28]YANG C,HUANG F,CHAO X,et al. Effect and mechanism of ursolic acid on pyroptosis of hepatocellular carcinoma SMMC–7721 cells[J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med,2022,38(4):101–107.

[29]YUAN R,ZHAO W T,WANG Q Q,et al. Cucurbitacin B inhibits non–small cell lung cancer in vivo and in vitro by triggering TLR4/NLRP3/GSDMD–dependent pyroptosis[J]. Pharmacol Res,2021,170:105748.

[30]CHEN J,PENG R R,NIU Z X,et al. Betulinic acid enhanced the chemical sensitivity of esophageal cancer cells to cisplatin by inducing cell pyroptosis and reducing cell stemness[J]. Ann Palliat Med,2020,9(4):1912–1920.

[31]CAI J,YI M,TAN Y X,et al. Natural product triptolide induces GSDME–mediated pyroptosis in head and neck cancer through suppressing mitochondrial hexokinase–II[J]. J Exp Clin Cancer Res,2021,40(1):190.

[32]LI C F,QIU J Q,XUE Y W. Low–dose Diosbulbin–B(DB) activates tumor–intrinsic PD–L1/NLRP3 signaling pathway mediated pyroptotic cell death to increase cisplatin–sensitivity in gastric cancer (GC)[J]. Cell Biosci,2021,11(1):1–13.

[33]张景正,钟嫒,鲍真真,等. 氧化苦参碱通过 Wnt/β–catenin 信号通路诱导结肠癌 HCT116 细胞凋亡和焦亡作用研究[J]. 药物评价研究,2022,45(10):2017–2023.

[33]ZHANG J Z,ZHONG Y,BAO Z Z,et al. Oxymatrine induces apoptosis and pyroptosis in colon cancer cells via Wnt/β–catenin signaling pathway[J]. Drug Eval Res,2022,45(10):2017–2023.

[34]YAO M J,FAN X D,YUAN B,et al. Berberine inhibits NLRP3 Inflammasome pathway in human triple–negative breast cancer MDA–MB–231 cell[J]. BMC Complement Altern Med,2019,19(1):216.

[35]孙光强,薛玉叶,陆云阳,等. 重楼皂苷 H 诱导耐替莫唑胺胶质瘤 SHG44R 细胞凋亡和焦亡的作用研究[J]. 中南药学,2022,20(5):973–978.

[35]SUN G Q,XUE Y Y,LU Y Y,et al. Effect of Paris saponins H on inducing the apoptosis and pyroptosis of temozolomide–resistant glioma SHG44R cells[J]. Central South Pharm,2022,20(5):973–978.

[36]WANG Z T,YU G Y,LIU Z,et al. Paeoniflorin inhibits glioblastoma growth in vivo and in vitro;a role for the Triad3A–dependent ubiquitin proteasome pathway in TLR4

degradation[J]. *Cancer Manag Res*,2018,10:887 – 897.

[37] 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.

[38] 程子昱. 麦冬皂苷 B 通过 Caspase – 1/GSDMD 通路抑制耐药非小细胞肺癌的作用及其机制研究[D]. 南京:南京中医药大学,2020.

CHENG Z Y. Inhibitory effect of Ophiopogon japonicus saponin B on drug – resistant non – small cell lung cancer through Caspase – 1/GSDMD pathway and its mechanism [D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2020.

[39] ZOU J,YANG Y,YANG Y,et al. Polydatin suppresses proliferation and metastasis of non – small cell lung cancer cells by inhibiting NLRP3 inflammasome activation via NF – κ B pathway [J]. *Biomedecine Pharmacother*, 2018, 108:130 – 136.

[40] LIANG W F,GONG Y X,LI H F,et al. Curcumin activates ROS signaling to promote pyroptosis in hepatocellular carcinoma HepG2 cells[J]. *In Vivo*,2021,35(1):249 – 257.

[41] 郭垠梅. 西黄丸促进肝癌 SMMC – 7721 细胞发生细胞焦亡作用机制研究[D]. 长沙:湖南中医药大学,2021.

GUO Y M. Study on the mechanism of Xihuang Pill in promoting cell death of hepatocellular carcinoma SMMC – 7721 cells [D]. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine,2021.

[42] 卢林竹. 健脾消痞方诱导人结肠癌 HCT116 细胞焦亡的作用机制研究[D]. 长沙:湖南中医药大学,2022.

LU L Z. Study on the mechanism of Jianpi Xiaoi recipe inducing scorching death of human colon cancer HCT116 cells [D]. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine,2022.

[43] 翦慧颖. 基于 Caspase – 1/GSDMD 通路研究固脾消积饮对人肝癌 HepG2. 2. 15 细胞焦亡的影响[D]. 长沙:湖南中医药大学,2021.

JIAN H Y. Based on Caspase – 1/GSDMD pathway, the effect of Gupi Xiaoji Decoction on focal death of human hepatocellular carcinoma HepG2. 2. 15 cells was studied. [D]. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine, 2021.

收稿日期:2023 – 02 – 19

作者简介:岳亚楠(1996 –),女,河南濮阳人,硕士研究生,研究方向:中西医结合治疗普通外科疾病。

通信作者:柳青峰,男,辽宁沈阳人,教授,硕士研究生导师,研究方向:乳腺与甲状腺的基础与临床研究。E – mail:drliuqf1970@126.com

编辑:吴楠