

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.01.005

紫草素诱导卵巢癌 SKOV3 和 A2780 细胞坏死性凋亡的作用及其机制研究

冯伟¹, 马建文², 饶梅冬^{1△}

(1. 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市妇幼保健院, 新疆 乌鲁木齐 830001; 2. 新疆医科大学附属中医医院, 新疆 乌鲁木齐 830001)

摘要:目的 探讨紫草素对人卵巢癌 SKOV3 和 A2780 细胞的抑制作用及其可能的作用机制。方法 采用不同浓度紫草素处理卵巢癌 SKOV3 和 A2780 细胞及人正常卵巢上皮 IOSE80 细胞,以四甲基偶氮唑盐(MTT)法检测细胞活性,Annexin V-FITC/PI 双染色结合流式细胞术检测细胞坏死性凋亡,Hoechst 33342 和 PI 染色定性分析细胞形态,2',7'-二氯荧光黄双乙酸盐(DCFH-DA)荧光探针测定活性氧,蛋白质印迹(Western Blotting)法测定受体相互作用蛋白激酶 1(RIP1)和 RIP3 蛋白的表达。结果 紫草素对卵巢癌 SKOV3 和 A2780 细胞的增殖抑制作用明显,且表现出显著的剂量和时间依赖性;紫草素处理后,SKOV3 和 A2780 细胞的凋亡率(Annexin V⁺/PI⁻细胞)无明显变化,而坏死的细胞(PI⁺细胞或 Annexin V⁺/PI⁺细胞)比例明显增加,与对照组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$);Hoechst 33342 和 PI 染色定性分析显示,PI⁺细胞没有明显的细胞凋亡特征;紫草素可明显诱发 SKOV3 和 A2780 细胞产生过量的活性氧,显著上调坏死性凋亡相关蛋白 RIP1 和 RIP3 的表达,与对照组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$);当预先使用活性氧抑制剂 N-乙酰-L-半胱氨酸(NAC)或 RIP1 抑制剂(Nec-1)预处理时,SKOV3 和 A2780 细胞的坏死性凋亡率明显下降,相比紫草素组,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论 紫草素可明显抑制卵巢癌 SKOV3 和 A2780 细胞的增殖,其作用机制和诱导卵巢癌细胞产生大量的活性氧、上调 RIP1 和 RIP3 蛋白的表达,以及激活坏死性凋亡进程有关。

关键词:紫草素;卵巢癌细胞;坏死性凋亡;活性氧;受体相互作用蛋白激酶

中图分类号:R932;R285.5;R273

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)01-0019-05

Effect and Mechanism of Shikonin-Induced Necroptosis in Ovarian Cancer SKOV3 and A2780 Cells

FENG Wei¹, MA Jianwen², RAO Meidong¹

(1. Urumqi Maternal and Child Health Hospital, Urumqi, Xinjiang, China 830001; 2. The Affiliated TCM Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, China 830001)

Abstract: Objective To investigate the inhibitory effect of shikonin on human ovarian cancer SKOV3 and A2780 cells and its possible mechanism. **Methods** Human ovarian cancer SKOV3 and A2780 cells and human normal ovarian epithelial IOSE80 cells were treated by different concentrations of shikonin, and the cell activity was detected by MTT. The cell necroptosis were measured by Annexin V-FITC/PI double staining combined with flow cytometry, the cell morphology was qualitatively analyze by Hoechst 33342 and PI staining. Reactive oxygen species(ROS) was detected by fluorescent probe of 2',7'-dichloro diacetate(DCFH-DA). The expression of receptor interacting protein kinase 1(RIP1) and RIP3 protein were determined by Western Blotting method. **Results** Shikonin significantly inhibited the proliferation of SKOV3 and A2780 cells, and showed a dose and time-dependent manner. The apoptosis rates of SKOV3 and A2780 cells did not change significantly after treated with shikonin(Annexin V⁺/PI⁻ cells), but the rates of necrotic cells (PI⁺ cells or Annexin V⁺/PI⁺ cells) were significantly increased, compared with the control group, the difference was significant($P < 0.05$, $P < 0.01$). Hoechst 33342 and PI staining qualitative analysis showed that PI⁺ cells had no obvious apoptosis characteristics. Shikonin could obviously induce excessive ROS production and up-regulate the expression of RIP1 and RIP3 in SKOV3 and A2780 cells, which had significant difference compared with the control group($P < 0.05$, $P < 0.01$). The rates of cell necroptosis of SKOV3 and A2780 cells were significantly decreased when pre-treated with the ROS inhibitor N-acetyl-L-cysteine(NAC) or RIP1 inhibitor(Nec-1), compared with the shikonin group, the difference was significant($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** Shikonin can significantly inhibit the proliferation of ovarian cancer SKOV3 and A2780 cells, and its mechanism is relative to inducing a large amounts of ROS, up-regulating the expression of RIP1 and RIP3 protein, and activating the process of necroptosis.

Key words: shikonin; ovarian cancer cell; necroptosis; reactive oxygen species; receptor-interacting protein kinase

卵巢癌发病率居女性生殖系统恶性肿瘤第3位,但死亡率远远超过其他任何一种妇科恶性肿瘤,位居第1位^[1]。其主要原因是发病隐匿,早期症状不明显,缺乏有

效的早期诊断方法,60%~70%的患者确诊时已属晚期,5年生存率仅30%^[2]。传统的化学治疗(简称化疗)药物主要细胞毒性类药物,其作用机制主要依赖于肿瘤

第一作者:冯伟,大学本科,主管中药师,研究方向为中药抗肿瘤,(电子信箱)fengweixj123@sina.com。

[△]通信作者:饶梅冬,硕士研究生,副主任医师,研究方向为妇科肿瘤的基础治疗,(电子信箱)raomeidong@sina.com。

细胞与正常细胞生长、修复、死亡动力学等之间的差异,往往缺乏特异性^[3]。因此,选择性杀死肿瘤细胞而减少对正常组织的损伤作用是恶性肿瘤化疗的新挑战。紫草素(shikonin)是一种由草本植物紫草根部分生而来的萘醌化合物,具有良好的抗炎和抗菌活性,用于治疗烧伤、皮肤病和喉咙疼痛等^[4];还具有显著的抗肿瘤活性,如诱导肝癌细胞凋亡、抑制黑色素瘤的增殖、杀死白血病细胞等^[5-6]。其抗肿瘤作用机制与诱导肿瘤细胞的凋亡(apoptosis)和坏死性凋亡(necroptosis)有关,且在引起肿瘤细胞凋亡和坏死性凋亡过程中活性氧(ROS)的过量产生往往有着重要作用^[7-8]。作为一种细胞程序性死亡方式,坏死性凋亡跟多种抗肿瘤药物的作用机制相关^[9]。本研究中探讨了紫草素对人卵巢癌细胞 SKOV3 和 A2780 增殖的影响及可能的作用机制,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与细胞

仪器:BX53 型荧光显微镜(日本奥林巴斯公司);BD FACSVia 型流式细胞仪(美国 BD Biosciences 公司)。

试剂:MEM 培养基、胎牛血清均购于美国 Hyclone 公司;紫草素(纯度 $\geq 98\%$,批号为 S7576,规格为 10 mg),二甲基亚砜(DMSO,纯度 $\geq 99.7\%$,批号为 D2650-5X,规格为 5 mL),Hoechst 33342(纯度 $\geq 98.0\%$,批号为 B2261,规格为 25 mg),PI(纯度 $\geq 98.0\%$,批号为 04511-1KT-F),受体相互作用蛋白激酶 1(RIP1)抑制剂(Nec-1,纯度 $\geq 98.0\%$,批号为 SML1990,规格为 5 mg),N-乙酰-L-半胱氨酸(NAC,纯度 $\geq 98.0\%$,批号为 1009005,规格为 200 mg),PI-Annexin V-FITC 试剂盒(批号为 APOAF-20TST)和 2',7'-二氯荧光黄双乙酸盐(DCFH-DA)荧光探针(纯度 $\geq 97.0\%$,批号为 D6883,规格为 50 mg),均购于美国 Sigma 公司;小鼠抗人单克隆 RIP1 和 RIP3 抗体(美国 Abcam 公司),小鼠抗人单克隆 β -Actin 抗体(美国 Santa Cruz Biotechnology 公司);Cy3 标记的山羊抗小鼠 IgG 多克隆抗体(二抗,中国中山金桥生物技术公司)。

细胞:人卵巢癌细胞 SKOV3(编号为 HTB-77)和 A2780(编号为 C0049),人正常卵巢上皮细胞 IOSE80(编号为 C1390),均购于中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。

1.2 方法

细胞培养和分组:将 SKOV3, A2780, IOSE80 细胞置 MEM 培养液中,其培养基中含 10% 胎牛血清、链霉素 100 U/mL 和青霉素 100 U/mL,在 5% CO_2 及 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养。待细胞铺满瓶壁 70%~80% 时,再以胰蛋白酶消化传代培养,取对数生长期细胞进行实验。IOSE80 细胞只进行不同浓度紫草素处理后细胞活性的

检测。按 SKOV3 细胞和 A2780 细胞分为对照组、紫草素组、NAC 预处理合并紫草素组和 Nec-1 预处理合并紫草素组。紫草素组加用不同浓度的紫草素处理;NAC 预处理合并紫草素组先使用 1 nmol/L 的 NAC 预处理 2 h,离心,换液,然后用 5 $\mu\text{mol/L}$ 紫草素处理 24 h 后检测;Nec-1 预处理合并紫草素组先使用 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 Nec-1 预处理 2 h,离心,换液,然后用 5 $\mu\text{mol/L}$ 紫草素处理 24 h 后检测。

四甲基偶氮唑盐(MTT)法检测细胞增殖:取已准备好的单细胞悬液,以 5×10^5 个/mL 的密度接种于 96 孔培养板,每孔 100 μL ,每组设 5 个复孔。标准条件培养过夜后,于 48 h 加入新的含紫草素的培养液,紫草素每孔终浓度分别为 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5, 15.0 $\mu\text{mol/L}$,对照组不加药物(只含等量培养基),每组细胞均培养 24 h 后加入 20 μL 5 g/L 的 MTT 溶液处理,培养结束后,加入 150 μL DMSO,避光振荡 10 min,置酶标仪于 492 nm 波长处检测各孔吸光度,计算增殖抑制率。另外,不同时间的实验选择紫草素的浓度为 6.25 $\mu\text{mol/L}$,分别处理 6, 12, 18, 24, 30, 36 h,其他实验步骤同上。存活率 = $A_{\text{处理组}} / A_{\text{对照组}} \times 100\%$ 。

流式细胞术检测细胞坏死性凋亡:将细胞用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 2 次后重悬于 Binding Buffer,然后加入 5 μL 的 Annexin V-FITC 染色,混匀,再加入 5 μL PI,混匀,室温避光反应 10 min,采用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

Hoechst 33342 和 PI 染色观察细胞形态:将对数期细胞按每孔 1×10^5 个置预先置入玻璃盖玻片的 6 孔培养板中,每孔加细胞悬液 2 mL,24 h 后给药,再孵育 24 h 后吸尽培养液,PBS 洗 2 遍,每孔加入 1 mL 固定液[甲醇-冰醋酸(3:1)],固定 15 min,去除固定液,用 PBS 洗 2 遍,加入 10 $\mu\text{g/L}$ 的 Hoechst33342,染色 10 min,用 PBS 洗 2 遍,再加入 10 $\mu\text{g/L}$ 的 PI,染色 10 min,用 PBS 洗 2 遍,于荧光显微镜下观察细胞形态。

活性氧测定:采用 DCFH-DA 荧光探针测定。不同浓度紫草素处理细胞后,取对数生长期细胞并调整细胞浓度至 $1 \sim 10 \times 10^6$ 个/mL,加入终浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 DCFH-DA,37 $^{\circ}\text{C}$ 及 5% CO_2 培养箱中静置 0.5 h,每隔 3~5 min 混匀 1 次,使探针和细胞充分作用。用温暖的 PBS 洗涤细胞 3 次,去除未进入细胞内的 DCFH-DA,最后收获各组细胞,采用流式细胞术测量 DCF 荧光强度。

蛋白质印迹(Western Blotting)法检测:取对数生长期细胞接种于培养瓶,离心,弃培养液,加入 RIPA 细胞裂解液裂解 30 min,BCA 法测定裂解液中的蛋白浓度。取 30 μg 蛋白样品进行 SDS-PAGE 电泳,TBST 漂洗,将 PVDF 膜置含有 RIP1, RIP3, β -Actin 对应单克

隆抗体一抗中(1:1 000),4℃冰箱孵育,过夜,用TBST漂洗,再与Cy3标记的山羊抗小鼠IgG多克隆抗体(1:5 000)室温孵育2 h,漂洗后,用Tanon 5500型凝胶成像系统拍照,并分析蛋白产物条带的相对光密度值。

1.3 统计学处理

采用SPSS 20.0统计软件处理。计量资料采用 $\bar{X} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用Student's *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 抑制卵巢癌细胞增殖

结果见图1。不同浓度紫草素处理24 h后,对SKOV3和A2780细胞的增殖均有明显的抑制作用,且呈现一定剂量的依赖性,半数抑制浓度(IC_{50})分别为6.25 $\mu\text{mol/L}$ 和10.0 $\mu\text{mol/L}$;对IOSE80细胞的增殖无显著的抑制作用。6.25 $\mu\text{mol/L}$ 紫草素处理不同时间后,对SKOV3和A2780细胞的增殖均有明显的抑制效应,且呈现时间依赖性。

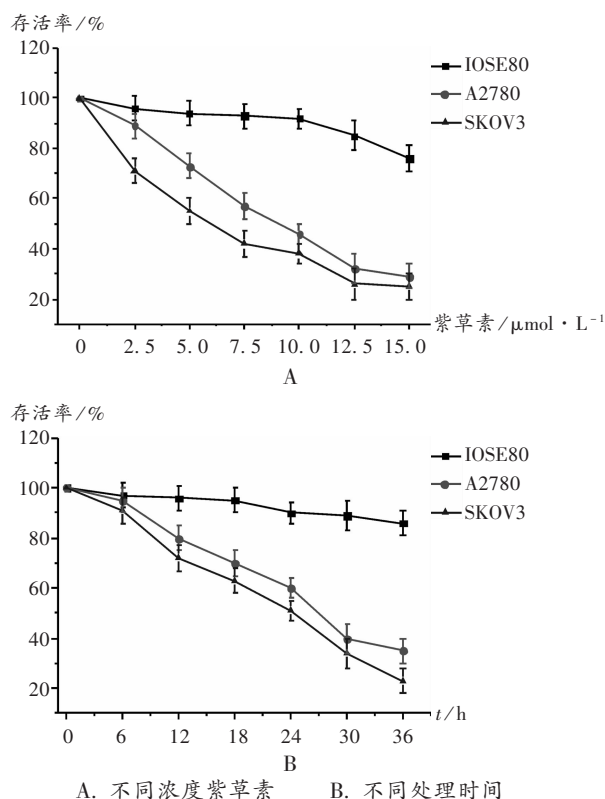


图1 紫草素对卵巢癌细胞增殖的影响($\bar{X} \pm s, n=3$)

2.2 诱导卵巢癌细胞坏死性凋亡

结果见图2和图3。可见,5 $\mu\text{mol/L}$ 和10 $\mu\text{mol/L}$ 紫草素处理后,SKOV3和A2780细胞的早期凋亡率(Annexin V⁺/PI⁻细胞)无明显变化,而PI⁺细胞和Annexin V⁺/PI⁺细胞的比例明显增加,与对照组相比,差异有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。进一步使用Hoechst 33342和PI染色进行定性分析,结果见图4。PI⁺

细胞无明显细胞凋亡特征,说明Annexin V⁺/PI⁻细胞不是晚期凋亡的细胞,PI⁺细胞和Annexin V⁺/PI⁺细胞主要是坏死性凋亡的细胞。提示紫草素诱导SKOV3和A2780细胞坏死性凋亡呈剂量和时间依赖性。

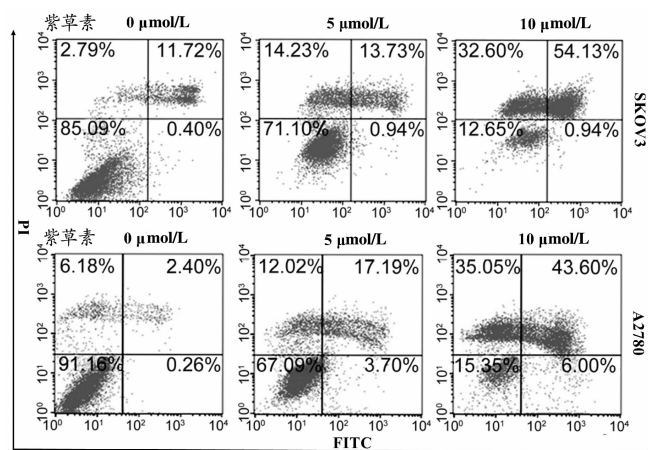
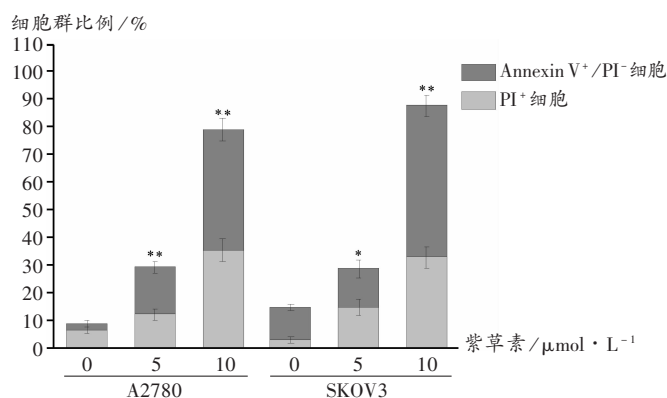


图2 紫草素诱导卵巢癌细胞Annexin V-FITC/PI双染色流式分析结果



注:与对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。图5与图7同。
图3 紫草素诱导卵巢癌细胞坏死性凋亡定量分析($\bar{X} \pm s, n=3$)

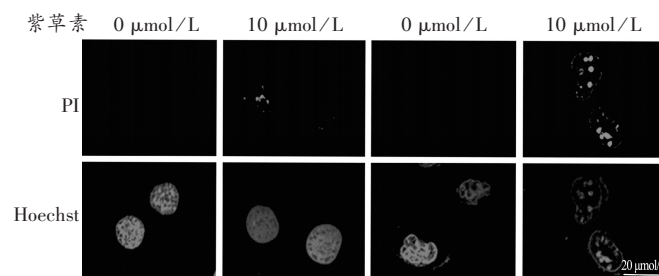


图4 紫草素诱导卵巢癌细胞凋亡Hoechst 33342和PI染色定性分析结果($\times 200$)

2.3 诱导卵巢癌细胞活性氧产生

使用DCFH-DA荧光探针检测紫草素诱导卵巢癌细胞活性氧的产生。由图5可见,5 $\mu\text{mol/L}$ 或10 $\mu\text{mol/L}$ 紫草素处理后,可明显诱发SKOV3和A2780细胞活性氧的产生,与对照组相比,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

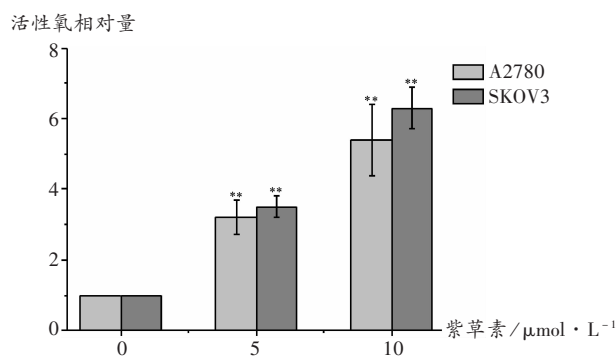


图5 紫草素诱导卵巢癌细胞活性氧相对量 ($\bar{X} \pm s, n=3$)

2.4 卵巢癌细胞 RIP1 和 RIP3 蛋白的表达

结果见图6和图7。5 $\mu\text{mol/L}$ 和 10 $\mu\text{mol/L}$ 的紫草素处理后,可明显上调坏死性凋亡相关蛋白 RIP1 和 RIP3 的表达,与对照组相比,差异有统计学意义 ($P<0.05, P<0.01$)。

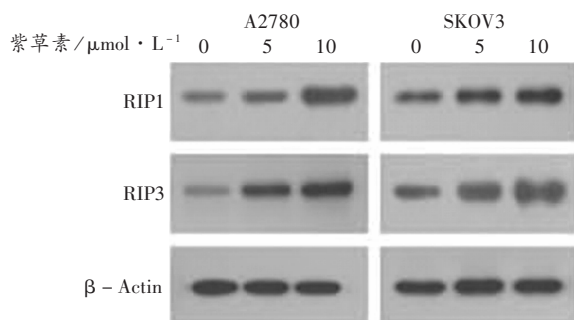


图6 紫草素诱导卵巢癌细胞 RIP1 和 RIP3 蛋白表达的定性分析

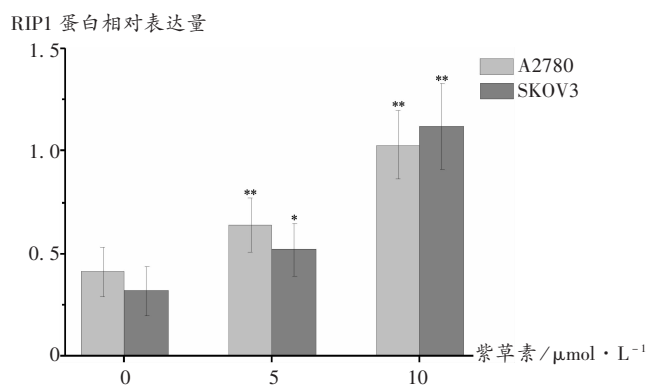
2.5 NAC 和 Nec-1 的影响

结果见图8和图9。当预先使用 NAC 或 Nec-1 预处理后,再使用 5 $\mu\text{mol/L}$ 的紫草素诱导 SKOV3 和 A2780 细胞时,抑制剂预处理组 SKOV3 和 A2780 细胞的坏死性凋亡率(PI^+ 细胞和 $\text{Annexin V}^+/\text{PI}^+$ 细胞)明显下降,相比紫草素组(5 $\mu\text{mol/L}$),差异有统计学意义 ($P<0.05, P<0.01$)。

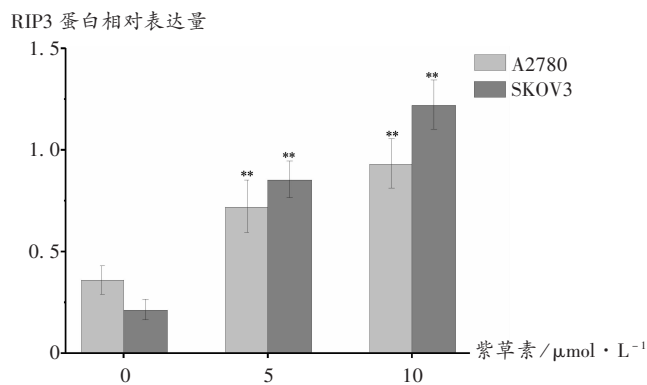
3 讨论

植物中通常含有多种抗肿瘤成分,且许多植物提取物已用于治疗癌症,如长春新碱、紫杉醇、拓扑替康,紫草素是一种从中草药植物中提取的活性化合物。其安全性和有效性已得到了肯定,尤其在妇科肿瘤如宫颈癌^[10]和乳腺癌^[11]中的抗肿瘤作用。李红英等^[12]的研究发现,紫草素可促使卵巢癌 HO-8910 细胞树突状细胞的成熟,从而刺激机体产生特异性的抗肿瘤免疫。

本研究中发现,紫草素以剂量和时间依赖的方式抑制人卵巢癌 SKOV3 和 A2780 细胞的增殖,对于人正常卵巢上皮 IOSE80 细胞的影响很小,说明紫草素用于治疗卵巢癌是安全的。作为细胞的终末事件,坏死性



A



B

A. RIP1 蛋白 B. RIP3 蛋白

图7 紫草素诱导卵巢癌细胞 RIP1 和 RIP3 蛋白表达的定量分析 ($\bar{X} \pm s, n=3$)

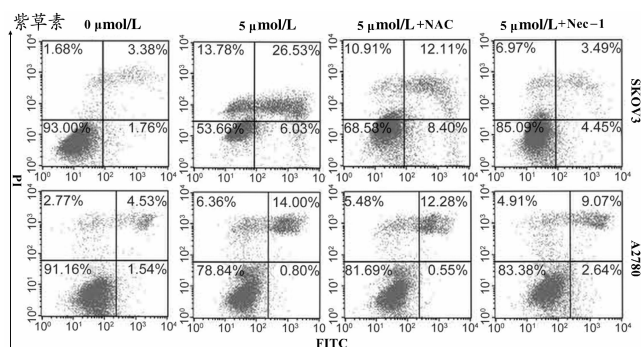
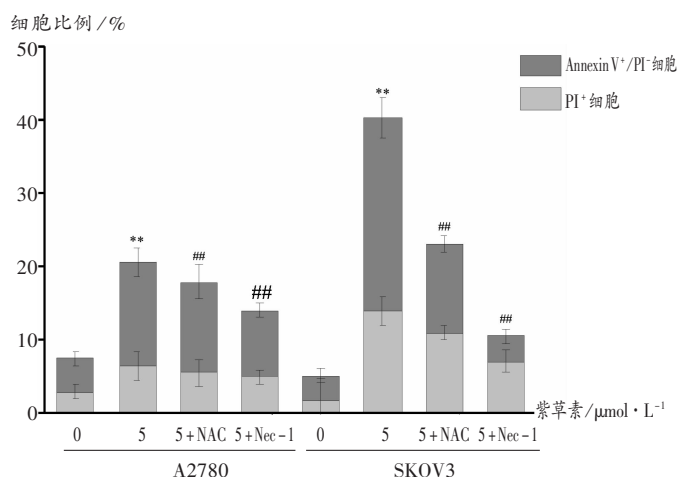


图8 NAC, Nec-1 对紫草素诱导卵巢癌细胞 Annexin V-FITC/PI 双染色流式分析结果

凋亡是一种由多种信号分子有序调控的程序化死亡过程^[13]。本研究结果发现,紫草素可显著增加 PI^+ 细胞和 $\text{Annexin V}^+/\text{PI}^+$ 细胞的比例,而对于 Annexin V^+ 细胞的比例无明显影响。进一步使用 Hoechst 33342 和 PI 染色定性分析显示,紫草素处理的卵巢癌细胞并没有表现出明显的染色体凝聚、细胞核碎片化等细胞凋亡样特征。说明紫草素诱导 SKOV3 和 A2780 细胞以剂量和时间依赖性的形式发生坏死性凋亡。

活性氧引起严重的 DNA 损伤和基因突变,及肿瘤细胞的活性炎症,对于肿瘤细胞的增殖、侵袭、转移和血管生成具有促进作用;活性氧水平一旦达到阈值,肿瘤



注:与对照组相比, ** $P < 0.01$; 与紫草素组相比, * $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图9 NAC, Nec-1对紫草素诱导卵巢癌细胞坏死性凋亡的定量分析($\bar{X} \pm s, n = 3$)

的生长将受到抑制,引起细胞结构分解和死亡^[14]。后者也是大多数化疗和放射治疗杀死癌细胞的依赖机制。有研究显示,活性氧往往是肿瘤细胞坏死性凋亡的“执行者”^[15],可引起细胞内源性分子包括蛋白质、脂质及核酸的损伤,从而促进坏死性凋亡进程^[16]。本研究中使用DCFH-DA荧光探针检测紫草素诱导卵巢癌细胞活性氧的产生,结果显示,紫草素处理后可明显诱发SKOV3和A2780细胞活性氧的产生。说明紫草素导致卵巢癌细胞发生的坏死性凋亡进程和活性氧的过量累积有关。

对坏死性凋亡的机制研究发现,RIP1通过和RIP3结合而激活RIP3,形成RIP1/RIP3复合物,从而触发了典型的坏死性凋亡过程^[17]。因此,RIP1和RIP3是重要的坏死性凋亡相关蛋白。本研究中检测RIP1和RIP3蛋白的表达活性显示,紫草素处理后,卵巢癌细胞中RIP1和RIP3蛋白的表达显著上调。另外,当预先使用NAC, Nec-1抑制剂预处理后,再使用紫草素诱导SKOV3和A2780细胞时,抑制剂预处理组SKOV3和A2780细胞的坏死性凋亡率明显下降。进一步说明,紫草素抑制卵巢癌细胞的增殖和导致卵巢癌细胞发生坏死性凋亡相关,整个过程和活性氧的过量产生及激活RIP1和RIP3蛋白的表达密切相关。

综上所述,紫草素可明显抑制卵巢癌SKOV3和A2780细胞增殖,而对正常卵巢细胞毒性较低,其作用机制和诱导卵巢癌细胞产生大量的活性氧和上调RIP1和RIP3蛋白的表达,进而激活坏死性凋亡进程有关。

参考文献:

- [1] SIEGEL RL, MILLER KD, JEMAL A. Cancer statistics, 2018[J]. CA: a cancer journal for clinicians, 2018, 68(1): 7-30.
- [2] KEHOE S. Screening for ovarian cancer[J]. Maturitas, 2015, 81(1): 111-112.

- [3] BOUWMAN P, JONKERS J. The effects of deregulated DNA damage signalling on cancer chemotherapy response and resistance[J]. Nature Reviews Cancer, 2012, 12(9): 587-598.
- [4] LIAO PL, LIN CH, LI CH, et al. Anti-inflammatory properties of shikonin contribute to improved early-stage diabetic retinopathy[J]. Scientific Reports, 2017, 7(44985): 1-11.
- [5] GONG K, LI WH. Shikonin, a Chinese plant-derived naphthoquinone, induces apoptosis in hepatocellular carcinoma cells through reactive oxygen species: a potential new treatment for hepatocellular carcinoma[J]. Free Radical Biology & Medicine, 2011, 51(12): 2259-2271.
- [6] ZHAO Q, ASSIMOPOULOU AN, KLAUCK SM, et al. Inhibition of c-MYC with involvement of ERK/JNK/MAPK and AKT pathways as a novel mechanism for shikonin and its derivatives in killing leukemia cells[J]. Oncotarget, 2015, 6(36): 38934-38951.
- [7] SHAHSAVARI Z, KARAMI-THERANI F, SALAMI S. Shikonin induced necroptosis via reactive oxygen species in the T-47D breast cancer cell line[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16: 7261-7266.
- [8] HUANG C, LUO Y, ZHAO J, et al. Shikonin kills glioma cells through necroptosis mediated by RIP-1[J]. PloS One, 2013, 8(6): e66326.
- [9] 王莲子, 李涛. 坏死性凋亡与肿瘤[J]. 基础医学与临床, 2017, 37(7): 1051-1054.
- [10] 郝臻凤, 刘静, 张瑜, 等. 紫草素对宫颈癌Hela细胞增殖, 侵袭和迁移的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(6): 91-94.
- [11] SHAHSAVARI Z, KARAMI-TEHRANI F, SALAMI S, et al. RIP1K and RIP3K provoked by shikonin induce cell cycle arrest in the triple negative breast cancer cell line, MDA-MB-468: necroptosis as a desperate programmed suicide pathway[J]. Tumor Biology, 2015, 37(4): 4479-4491.
- [12] 李红英, 陈红霞, 汪蕾. 紫草素诱导卵巢癌细胞表达钙网织蛋白促进DC成熟的研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2014, 23(5): 472-474.
- [13] HANSON B. Necroptosis: A new way of dying? [J]. Cancer Biology & Therapy, 2016, 17(9): 899-910.
- [14] GUPTA SC, HEVIA D, PATCHVA S, et al. Upsides and downsides of reactive oxygen species for cancer: the roles of reactive oxygen species in tumorigenesis, prevention, and therapy[J]. Antioxid Redox Signaling, 2012, 16(11): 1295-1322.
- [15] DASGUPTA A, NOMURA M, SHUCK R, et al. Cancer's Achilles' heel: apoptosis and necroptosis to the rescue[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 18(1): 23-29.
- [16] VOSS P, GRUNE T. The nuclear proteasome and the degradation of oxidatively damaged proteins[J]. Amino acids, 2007, 32(4): 527-534.
- [17] XIE T, PENG W, YAN C, et al. Structural insights into RIP3-mediated necroptotic signaling[J]. Cell Rep, 2013, 5(1): 70-78.

(收稿日期: 2018-05-02)