

DOI: 10.13376/j.cbls/2021096

文章编号: 1004-0374(2021)07-0888-08

抗肿瘤药物诱导肿瘤细胞副凋亡机制研究进展

段静诗, 余雅琴, 何昕雅, 康宁*

(天津中医药大学中西医结合学院, 天津 301617)

摘要: 大多数化疗药主要是通过诱导肿瘤细胞凋亡来发挥其抗癌作用。然而, 癌细胞容易获得逃避凋亡的能力, 对当前的化疗产生抵抗。在这种情况下, 诱导癌细胞中非凋亡性细胞死亡方式以增强放化疗的敏感性、改善化疗耐药的现状, 成为了新的研究热点。副凋亡 (paraptosis) 是一种新的细胞程序性死亡形式, 属非凋亡性细胞死亡方式, 表现为来源于内质网和线粒体肿胀的细胞质广泛的空泡化。该文综述了近年来关于副凋亡的相关背景以及抗肿瘤药物诱导副凋亡的相关分子机制, 并展望了其未来的发展方向, 以期为治疗癌症提供新思路 and 理论依据。

关键词: 副凋亡; 癌症; 抗肿瘤药物; 抗肿瘤分子机制

中图分类号: Q25; R730.5 **文献标志码:** A

Advances in the mechanism of paraptosis induced by anti-tumor drugs

DUAN Jing-Shi, YU Ya-Qin, HE Xin-Ya, KANG Ning*

(School of Integrative Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China)

Abstract: Most chemotherapeutic drugs exhibit the anti-cancer effects by inducing apoptosis in the tumor cells. However, the malignant cancer cells are easy to become resistant to the chemotherapy by obtaining the ability to escaping apoptosis. In this case, to enhance the sensitivity to chemotherapy and radiotherapy and to improve chemotherapy resistance, triggering non-apoptotic cell death in cancer cells was investigated, which becomes a new research hotspot. Paraptosis, a new type of programmed cell death, is a form of non-apoptotic cell death. It is characterized by extensive vacuolation of cytoplasm from the dilation of the endoplasmic reticulum (ER) and mitochondria. Here, we review the background of paraptosis, and the molecular mechanism of paraptosis induced by the anti-tumor drugs, and look forward the future studies of paraptosis to provide new ideas and theoretical basis for the treatment of cancer by inducing paraptosis.

Key words: paraptosis; tumor; anti-tumor drugs; molecular mechanism of anti-tumor effect

癌症严重威胁人类的生命健康, 是全球居民死亡的主要原因之一。据统计, 全球每年约新增 1 810 万癌症病例和 960 万癌症死亡病例^[1], 而中国每年估计新增 430 万例, 死亡 290 万例^[2]。在临床上, 癌症的治疗以手术和放化疗为主, 诱导肿瘤细胞凋亡是化疗药物发挥作用的常见方式, 然而由于恶性肿瘤细胞常对凋亡表现出先天性的或获得性的抗性, 大多数患者在接受放化疗治疗后逐渐对凋亡诱导剂的敏感性降低, 从而导致耐药的产生。因此, 诱导癌细胞发生非凋亡性细胞死亡, 是潜在的开发

抗肿瘤药物的研究方向^[3]。本文将简要介绍副凋亡 (paraptosis)——一种非凋亡性细胞死亡——的形态学和生化特征以及抗肿瘤药物诱导副凋亡的相关分子机制, 为开发治疗人类癌症的新策略提供思路和依据。

收稿日期: 2021-03-05; 修回日期: 2021-04-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(81774087); 天津中医药大学中西医结合学院研究生创新基金项目(ZXYCXLX201807)

*通信作者: E-mail: kangnnd@163.com; Tel: 18920189618

1 副凋亡的发现

早在 2000 年, Sperandio 等^[4]就发现, 过表达胰岛素样生长因子 1 受体 (insulin-like growth factor I receptor, IGF1R) 能诱导 293T 细胞和小鼠胚胎成纤维细胞死亡, 但在超微结构上, 该死亡方式缺乏核碎裂、凋亡小体形成、染色质凝集等凋亡特征, 反而在胞质内形成了大量空泡, 也不受 Caspase 抑制剂的影响。他们将这种 IGF1R 诱导的与细胞凋亡不同的死亡方式称之为 paraptosis, 中文可译为副凋亡或旁凋亡^[5]。2009 年, 细胞死亡命名委员会 (Nomenclature Committee on Cell Death, NCCD) 重新对细胞死亡的不同方式进行了定义和分类, 副凋亡被归为八种非典型细胞死亡之一^[6]。

2 副凋亡的发生过程及其形态学、生化特征

通常, 副凋亡和凋亡可同时发生在一个细胞中, 副凋亡可随机分布在凋亡的细胞中, 也可聚集发生。如图 1 所示, 在副凋亡发生的早期, 细胞膜和细胞器完整无损, 染色质呈分散状, 细胞核清晰。随后, 内质网和高尔基体逐渐肿胀, 细胞进一步退化, 染色质浓缩并破碎, 在核膜处形成凝集体, 线粒体肿胀, 嵴消失, 而后在胞浆内形成大量空泡, 这些空泡主要来源于内质网, 部分源于线粒体, 此时, 细胞质几乎被大大小小的空泡所占据, 空泡常互相融合, 形成大泡, 最后, 被巨噬细胞吞噬并降解^[5,7]。

副凋亡以始于内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 和 / 或线粒体 (mitochondrial) 肿胀的细胞质广泛的空泡化^[8-11]为特点, 且无明显的细胞膜泡、核收缩或固缩^[12]。副凋亡的发生发展过程中通常不需要 Caspase (Caspase-2、-3、-6、-7 及 -8) 的激活, 不形成凋亡小体, 不受 Bcl-2 家族蛋白影响, 对凋亡抑制剂不敏感, 这些都是副凋亡区别于凋亡的主要特征。但有时在其他类型的细胞死亡方式, 如坏死和自噬中也可出现类似副凋亡的细胞质空泡这种形态学改变, 然而它们之间存在着截然不同的差异,

比如, 坏死不需要 RNA 或蛋白质合成, 质膜破裂, 细胞内容物释放, 引起炎症反应, 坏死的抑制剂 necrostatin-1 也不能阻断副凋亡的发生; 而在副凋亡过程中并未观察到自噬空泡, 这被认为是其与自噬的主要区别, 且自噬的抑制剂 3-甲基腺嘌呤 (3-methyladenine) 也不能抑制副凋亡的发生过程。

此外, 副凋亡有许多典型的生物化学特征。AIP-1/Alix (ALG2-interacting protein 1 or ALG2-interacting protein X) 是胞浆和膜相关蛋白, 在 Ca^{2+} 存在时可与凋亡因子 ALG-2 结合, 被 Sperandio 等^[13]鉴定为副凋亡的“第一特异性抑制因子”, 是因为他们发现 IGF1R 诱导的副凋亡由丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 介导, 并被 AIP-1/Alix 所抑制, 且在往后的几十年中, 不断被证实。另外, Kim 等^[14]研究表明, siRNA 介导的泛素特异性肽酶 10 (ubiquitin specific peptidase 10, USP10) 的敲降和 USP10 抑制剂 spautin-1 的干预均能抑制姜黄素在恶性乳腺癌细胞系中诱导的副凋亡的发生, 从而将 USP10 鉴定为副凋亡的一个新的调节因子。此外, 一直以来大量的实验研究都证明了 Caspase-9 是线粒体介导凋亡途径的关键蛋白酶, 但 Sperandio 等随后又证实了 Caspase-9 也可诱导副凋亡的产生, 但此过程不涉及细胞色素 C 的释放, 不形成凋亡蛋白复合体, 也与凋亡蛋白酶激活因子 (apoptotic protease activating factor-1, Apaf-1) 无关^[4,7]。重要的是, 副凋亡的发生过程必须有蛋白质合成, 有研究证明放线菌素 D (actinomycin D) 和蛋白质合成抑制剂放线菌酮 (cycloheximide, CHX) 能阻断副凋亡发生过程中的转录和翻译, 从而阻断副凋亡的发生。

3 副凋亡的检测

目前大多数的研究通过同时设计两种方案检测副凋亡的发生: 一种是通过相差显微镜观察到细胞质的空泡化、透射电镜观察到线粒体和 (或) 内质网肿胀扩张等细胞形态学方面的改变来确定副凋亡

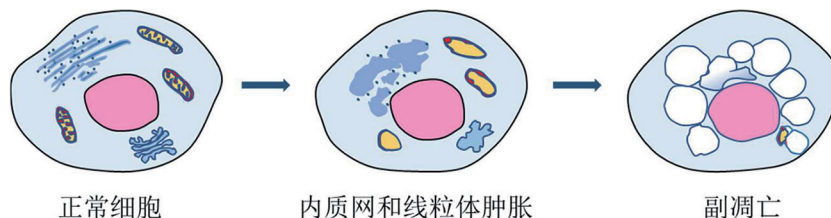


图1 副凋亡的发生过程

的发生^[15-16]；在此基础上，使用 pEYFP-Mito 质粒标记线粒体，pEYFP-ER 质粒标记内质网，并通过荧光显微镜观察可进一步确定这些空泡是否起源于线粒体或内质网^[17]。此外，放线菌素 D、CHX 的预处理造成的细胞质空泡的消失，以及 AIP-1/Alix 蛋白表达水平的降低都是副凋亡发生的有力的直接证据^[18]。另外一种就是与其他几种死亡方式进行区别，通常需考察凋亡或自噬的常见标志物的表达水平，如 Caspase-3、LC3B-II 和 p62 等，发现这些标志蛋白的表达无明显改变或仅出现了轻微的上调或下降，同时使用凋亡、自噬及坏死的抑制剂预处理后不能影响细胞死亡和空泡形成，即可从侧面印证副凋亡的发生^[19]。

4 抗肿瘤药物诱导副凋亡的相关分子机制

迄今为止，研究发现许多抗肿瘤药物能通过触发肿瘤细胞副凋亡发挥抗癌作用，这些药物包括天然产物及其衍生物、金属配合物、化疗药物等。它们可能通过多种途径来诱导副凋亡的发生，如内质网应激、线粒体肿胀、蛋白酶体活性抑制、细胞内离子稳态失衡、MAPK 信号通路的激活等。下文将简要综述这些化合物诱导副凋亡的主要分子机制。

4.1 内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)与副凋亡

内质网(endoplasmic reticulum, ER)是细胞内最大的细胞器，是蛋白质合成、折叠、翻译后修饰以及 Ca²⁺ 储存的主要场所^[20]。细胞在损伤因素作用下，内质网腔内出现未折叠蛋白和错误折叠蛋白的集聚以及 Ca²⁺ 平衡紊乱，导致细胞处于内质网应激状态，而内质网应激反过来又诱导了未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)的适应性机制，以恢复内质网稳态^[21]。癌细胞可以耐受轻微的内质网应激，但在持续和严重的内质网应激情况下，UPR 不能解决蛋白质折叠缺陷，反而可诱导癌细胞发生自噬、凋亡或坏死以杀死癌细胞^[22]。随着人们对副凋亡研究的不断深入，其与内质网应激之间的联系也逐步被发现。有研究报道，在人宫颈癌 HeLa 细胞、人非小细胞肺癌细胞株(NCI-H460、NCI-H520、A549)、人前列腺癌 PC-3 细胞、人卵巢癌细胞(A2780 和 SKOV3)中均能观察到与内质网应激相关的副凋亡样细胞死亡^[23-25]；使用内质网应激抑制剂 Salubrinal 预处理人前列腺癌细胞后能显著抑制维生素 E 衍生物生育三烯酚(TTs)诱导的副凋亡^[15]；顺式橙花醇(cis-nerolidol)、小麦胚芽凝集素(WGA)、8-p-Hydroxy-

benzoyl tovarol 和热休克蛋白(hsp)70 抑制剂 VER-155008 都可引起 ERS 和 UPR，进一步导致肝癌、宫颈癌、间变性甲状腺癌细胞副凋亡^[26-29]。这些研究都得出了一个结论：多种化合物在肿瘤细胞中可诱导内质网应激从而导致了肿瘤细胞副凋亡。然而，有趣的是，Wang 和 Chen^[30] 在探讨高浓度紫杉醇(taxol)诱导人肺癌细胞副凋亡样细胞死亡机制时发现，虽然高浓度紫杉醇激活了内质网应激的转录活化因子 6(activated transcription factor 6, ATF6)的降解，但是沉默 ATF6 并不能阻止紫杉醇诱导的细胞毒性和细胞质空泡化，从而得出了高浓度紫杉醇诱导的细胞副凋亡不是由于内质网应激所致这一结论。

4.2 线粒体肿胀与副凋亡

线粒体的基本功能是通过氧化磷酸化为细胞新陈代谢提供大部分的 ATP，并维持 Ca²⁺ 稳态和调节细胞凋亡^[31]，因此，线粒体的结构及功能正常对细胞维持正常生理功能尤为重要。而线粒体膜电位(mitochondrial membrane potential, MMP)的改变以及线粒体膜渗透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, PTP)的开放导致线粒体肿胀，改变线粒体结构，导致细胞损伤，这就吸引了许多研究者去探索线粒体与副凋亡之间的联系。Fontana 等^[32] 在发现 δ -生育三烯酚(δ -TT)可诱导人前列腺癌 PC-3 及 DU145 细胞发生副凋亡的基础上，进一步研究了线粒体在此过程中所发挥的作用。结果显示， δ -TT 抑制了癌细胞线粒体呼吸，诱导了线粒体分裂，提示其通过诱导线粒体功能和结构损伤而导致人前列腺癌细胞副凋亡。另外，Ca²⁺ 超载和活性氧(reactive oxygen species, ROS)的增多均可导致 PTP 的开放^[33]。研究发现，酞菁霉素(chalcomoracin, CMR)在人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞和人前列腺癌 PC-3 细胞中诱导了 ROS 产生，细胞内游离的 Ca²⁺ 增加，促进 MMP 缺失，进一步导致了这两种细胞的副凋亡^[34]。有实验证实，醉茄素 A(withaferin A, WFA)也能通过诱导 ROS 的产生，导致 MMP 超极化，线粒体肿胀并相互融合成椭圆形或球形的巨线粒体(mega-mitochondria)，最终导致乳腺癌细胞发生副凋亡样死亡^[35]。然而，藤黄酸(gambogic acid, GA)虽然也能在各种乳腺癌细胞中诱导副凋亡的发生，但此过程仅通过诱发 MMP 的缺失导致线粒体肿胀，形成巨线粒体，而并不需要 ROS 的参与^[36]。

4.3 蛋白酶体活性抑制与副凋亡

高水平的正常或突变蛋白质的表达更有利于肿

瘤细胞的增殖, 许多肿瘤细胞中蛋白酶体的活性明显增高, 因此与正常细胞相比, 肿瘤细胞对蛋白酶体的抑制作用更为敏感^[37]。大多数研究从蛋白酶体与内质网应激二者之间的关系入手, 探索了蛋白酶体在副凋亡发生发展中的作用。有结果显示, 从白花丹的根中提取的一种次生代谢产物 Plumbagin (PLB)、生姜中的 α 、 β - 不饱和羰基化合物 6-Shogaol (6S) 以及一种查尔酮合成衍生物 2'-hydroxy-retrochalcone (HRC) 均能通过抑制 26S 蛋白酶体的活性诱导内质网应激, 从而诱发肿瘤细胞副凋亡^[38-40]; 一种从中国天雷藤中提取的三萜类化合物雷公藤红素 (celastrol) 在触发肿瘤细胞副凋亡过程中, 除了能起到以上作用外, 还能显著提高线粒体 Ca^{2+} 水平, 激活 MAPK 途径^[23,41]; 铜的一些复合物及络合物在抑制蛋白酶体活性后, 激活了 UPR, 诱发肿瘤细胞副凋亡, 从而克服了铂类药物的耐药性^[42-44]; 姜黄素的类似物二甲氧基姜黄素 (DMC) 因能够诱导更强蛋白酶体抑制和 CHOP 蛋白的表达, 比姜黄素更有效地诱导肿瘤细胞副凋亡的发生^[45]。除此之外, 最近的一项研究考察了泛素激活酶 1 (UBE1) 在紫杉醇和厚朴酚诱导的非小细胞肺癌细胞副凋亡中的作用, 结果显示 UBE1 的敲降减弱了紫杉醇和厚朴酚导致的蛋白酶体功能障碍——泛素化蛋白质聚集体的积累, 也抑制了细胞质空泡化即副凋亡的发生, 并且 UBE1 的敲降能逆转两药联用导致的 CHOP、ATF4 和 XBP1s 这些内质网应激标志蛋白表达水平的上调, 从而证明了紫杉醇和厚朴酚可通过诱导蛋白酶体功能障碍导致内质网应激从而诱发非小细胞肺癌细胞副凋亡^[46]。上述研究均表明蛋白酶体功能抑制在副凋亡发生过程中的作用与内质网应激息息相关。

4.4 细胞内离子稳态失衡与副凋亡

细胞内外环境及细胞室之间分布着各种离子, 当离子通道打开时, 一些离子可在这些区域之间自由移动, 而离子的重新分布会影响细胞维持正常组织稳态的过程和功能, 比如细胞增殖、迁移和凋亡。因此, 通道的功能异常通常会损害正常细胞的生理功能, 使其表现出癌细胞不受控制的增殖和扩散的特征^[47]。自 20 世纪 90 年代以来, 大量的实验研究结果证实, 细胞内离子通道及离子稳态的改变与癌症的发生发展关系密切, 且其与副凋亡相关性也被发现。一些研究者探索了离子通道与副凋亡的关系, 例如, 蛇床子素 A (ophiobolin A) 能通过降低大电导钙激活钾通道 (BKCa 通道)

的活性, 诱导人胶质母细胞瘤细胞发生副凋亡样细胞死亡^[9]; 一种从牵牛子中纯化的树脂糖苷成分可激活细胞内氯离子通道蛋白 1 (CLIC1) 并增加细胞内 Cl^- 浓度, 这在其诱导的结肠癌细胞发生副凋亡的过程中起关键作用^[48]。而离子稳态的改变大多与 Ca^{2+} 密切相关, 内质网是 Ca^{2+} 储备和信号转导的重要场所, 线粒体则维持着 Ca^{2+} 的稳态。始于内质网和 (或) 线粒体肿胀的副凋亡必然与 Ca^{2+} 有着千丝万缕的联系^[49]。有研究通过在 Jurkat 细胞中表达受体操纵性钙通道, 促使胞浆内 Ca^{2+} 超载, 诱导了无凋亡和坏死相关特征的副凋亡细胞死亡方式^[50]; 此外, 靛玉红甲脒 (indirubin-3'-monoxime) 可将 Ca^{2+} 从内质网传递到线粒体, 从而诱导人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞发生副凋亡^[51]。上述结果均证实了细胞内离子稳态失衡与副凋亡的发生密切相关。

4.5 丝裂原活化蛋白激酶信号通路副凋亡

丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 参与各种信号转导过程, 可调节细胞增殖、分化和死亡, 其包含三个家族, 即细胞外信号调节激酶 1/2 (extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK1/2)、c-Jun 氨基末端激酶 / 应激活化蛋白激酶 (C-Jun N-terminal kinases, JNK) 和 p38^[52]。MAPK 与肿瘤细胞副凋亡之间的关系也被人们慢慢了解。有研究表明, 姜黄素类似物 B63 (curcuminoid B63) 能促使 ERK、p38 和 JNK 的磷酸化, 激活 MAPK 信号通路, 诱发胃癌细胞的类副凋亡样细胞死亡模式, 当使用 MAPK 的小分子抑制剂后, B63 诱导的胃癌细胞副凋亡被明显抑制^[18]。槲皮素类黄酮化合物异鼠李素 (isorhamnetin)、橙皮苷可激活 ERK1/2, 分别诱导口腔鳞癌细胞系 (HSC-3 和 HSC-4)、肝癌 HepG2 细胞发生副凋亡^[53-54]。黄腐酚 (xanthohumol) 可通过激活 p38-MAPK 信号转导显著抑制白血病 HL-60 细胞增殖, 并引发广泛的细胞质空泡化, 即副凋亡^[55]。这些研究结果都与首次发现副凋亡的 Sperandio 等^[13] 报道的“MEK-2 特异性抑制剂和针对 JNK-1 的反义寡核苷酸可抑制 IGFIR 诱导的副凋亡”这一结论相一致。有趣的是, 2010 年, Sun 等^[56] 研究表明, 紫杉醇在人肺癌细胞系 (ASTC-a-1) 中诱导的不依赖 caspase 的副凋亡与 MAPK 信号通路无关; 另一研究也表明, mTOR 抑制剂依维莫司在急性淋巴细胞白血病细胞中诱导的副凋亡不需要 JNK 信号通路的激活^[57], 提示 MAPK 信号通路的激活并非是副凋亡发生的必要条件。

表1 抗肿瘤药物诱导凋亡的相关作用机制

作用机制	抗肿瘤药物	肿瘤细胞系	信号通路相关蛋白	参考文献
内质网应激	Celastrol, Paris saponin II, novel thein derivative 4a, δ -Tocotrienol, Cis-Nerolidol, Wheat germ agglutinin, 8-p-Hydroxybenzoyl tovarol, VER155008	HeLa, SiHa, CaSKi, A549, NCI-H460, NCI-H520, PC-3, DU145, A2780, SKOV3, HepG2/C3A, 8505C, FRO	GRP78, p-eIF2 α , ATF4, CHOP, XBPI, p-PERK, IRE1	[15,23-29]
线粒体肿胀	δ -Tocotrienol, Chalocomoracin, Withaferin A, Gambogic acid	PC-3, DU145, MCF-7, MDA-MB-231, MDA-MB 453, MDA-MB 468, MDA-MB 435S	OXPHOS protein complex I, II, IV, p-AMPK, OPA1, MFN2, DRP1, PINK1, Parkin	[32,34-36]
蛋白酶体活性抑制	Plumbagin, 6-Shogaol, 2'-hydroxy-retrochalcone, 铜的复合物及络合物, dimethoxycurcumin, paclitaxel and honokiol, Ophiobolin A	MDA-MB-231, MDA-MB 435S, MCF-7, HeLa, A549, H1299, H1650 / PTX, DLD-1, RKO, LoVo, HCT-15, HT1080, A375	Ubiquitinated proteins, Nrf1, Mcl-1, Noxa	[23,38-46]
细胞内离子稳态失衡	Pharbitidis Semen, indirubin-3'-monoxime	HT-29, HCT-116, MDA-MB-231, Jurkat	CLIC1	[48,50-51]
MAPK信号通路	Curcuminoid B63, Isorhamnetin, Hesperidin, Xanthohumol	SGC-7901, BGC-823, HSC-3, HSC-4, HepG2, HL-60	p-ERK, p-JNK, p-p38	[18,53-55]
破坏巯基稳态	Ophiobolin A, Me2NNMe2	T98G, U251N, A172, SW480, HCT-116	ero1L- α , PDI	[58-59]
ROS的产生	iturin A-like lipopeptides, Morusin	Caco-2, A2780	---	[60-61]
mTOR信号通路	Honokiol	NB4	---	[62]

GRP78 (glucose regulated protein of 78KDa): 伴侣分子葡萄糖调节蛋白78; eIF2 α (eukaryotic initiation factor-2 α): 真核翻译起始因子2 α ; ATF4 (activating transcription factor 4): 转录活化因子4; CHOP (CCAAT/enhancer-binding protein): CCAAT增强子结合蛋白同源蛋白; XBPI (X-box binding protein 1): X盒结合蛋白1; PERK (PKR-like ER kinase): 蛋白激酶R样内质网激酶; IRE1 (inositol-requiring enzyme 1): 肌醇需求酶1; OXPHOS protein complex I, II, IV: 氧化磷酸化蛋白复合物I, II, IV; AMPK (adenosine monophosphate-activated protein kinase): 单磷酸腺苷活化蛋白激酶; OPA1 (optic atrophy 1): 视神经萎缩蛋白1; MFN2 (mitofusin 2): 线粒体融合蛋白2; DRP1 (dynamin-related protein 1): 动力相关蛋白1; PINK1: PTEN诱导激酶1; Parkin: 帕金森蛋白; Ubiquitinated proteins: 泛素化蛋白; Nrf1 (nuclear factor E2 related factor 1): 核因子E2相关因子1; Mcl-1 (myeloid cell leukemia-1): 髓细胞白血病基因1; CLIC1: 细胞内氯离子通道蛋白1; ero1L- α : 内质网氧化还原酶1-L α ; PDI (protein disulfide isomerase): 蛋白质二硫键异构酶

4.6 其他

除上述几种机制外, 还有一些因素的改变也与副凋亡的发生有关, 如巯基稳态的改变、ROS 的产生以及 mTOR 信号通路的激活等。破坏巯基稳态能诱导肿瘤细胞副凋亡已被证实, 蛇床子素 A(OP-A) 即可通过此途径导致内质网应激, 进一步诱发胶质母细胞瘤细胞发生副凋亡^[58]。巯基氨基脲 Me2N-NMe2 也可通过破坏内质网巯基氧化还原稳态来诱导副凋亡^[59]。部分药物也能通过促进 ROS 的产生诱导副凋亡。例如, 产自枯草芽孢杆菌的 Iturin A 样脂肽、桑根皮素诱导的肿瘤细胞副凋亡, 都有 ROS 的参与^[60-61]。Liu 等^[62]在厚朴酚诱导的急性早幼粒细胞白血病细胞系 NB4 细胞副凋亡的过程中首次发现, mTOR 信号通路的激活可促进内质网应激, 进一步导致副凋亡的发生, 并且 mTOR 的抑制剂雷帕霉素 (rapamycin) 可逆转这一过程。

5 总结与展望

自 2000 年副凋亡这一死亡方式被发现以来, 与其有关的研究在各方面已取得显著进展, 除了在抗肿瘤方面发挥显著作用外, 副凋亡也参与其他疾病发生的病理过程。研究显示, 在神经退行性疾病青光眼的大鼠视网膜缺血再灌注损伤 (retinal ischemia reperfusion injury, RIRI) 模型中, 副凋亡和自噬的激活与 RIRI 引起的视网膜损伤相关^[63]; 血红素在内皮细胞中的积累通过触发副凋亡可损害血管生成^[64]; 血小板反应蛋白-1 (thrombospondin-1, TSP1) 可抑制由缺氧诱导的角膜上皮细胞的副凋亡, 促进伤口愈合^[65]。然而, 关于副凋亡的机制研究主要还是集中在抗肿瘤方面。如上文所述, 蛋白酶体功能抑制、巯基稳态及离子稳态失衡、ROS 的产生、MAPK 信号通路的激活、内质网应激、线粒体肿胀等都是化合物诱导肿瘤细胞发生副凋亡的重要机制 (表 1)。在单药诱导副凋亡的基础上, 许多实验进一步探索了两种化合物联合用药的疗效, 结果表明, 两药联用在诱导肿瘤细胞发生副凋亡的同时还发挥了意想不到的逆转耐药作用。例如, 乐卡地平 (Ler)、洛哌丁胺 (Lop)、Nutlin-3, 以及 SNIPER (TACC3), 分别与硼替佐米 (bortezomib, Btz) 联用时通过诱导肿瘤细胞副凋亡, 增强了硼替佐米的抗癌活性, 并克服了肿瘤细胞对硼替佐米的耐药性^[19,66-68]。这为改善癌症化疗耐药的局提供了一个新策略。

然而, 目前人们对副凋亡了解尚不够深入, 还有许多方面亟待深入研究。首先, 除了 Alix、USP10

外, 还有待我们发现更多的副凋亡的重要调控因子, 为后续的研究奠定基础。其次, 虽然有研究表明诱导肿瘤细胞发生副凋亡可逆转耐药, 但是副凋亡与肿瘤耐药之间的关系及影响尚未明确, 因此深入研究这二者之间的关系, 阐明副凋亡在改善耐药方面的分子机制, 筛选潜在的靶向副凋亡逆转肿瘤耐药性的抗肿瘤药物, 进一步推进基于副凋亡的逆转耐药研究, 对癌症化疗耐药这一现状十分重要。最后, 有关于副凋亡的研究绝大部分还停留在体外细胞实验和体内裸鼠移植瘤模型等基础实验上, 与临床的关联性较少, 未来可将临床样本与基础实验相结合, 更深入、更全面地探寻副凋亡在癌症治疗中发挥的重要作用, 为临床更有效地治疗癌症, 改善耐药现象提供更完善的理论依据和方向。

[参 考 文 献]

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68: 394-424
- [2] Feng RM, Zong YN, Cao SM, et al. Current cancer situation in China: good or bad news from the 2018 Global Cancer Statistics? *Cancer Commun (Lond)*, 2019, 39: 22
- [3] Lee D, Kim IY, Saha S, et al. Paraptosis in the anti-cancer arsenal of natural products. *Pharmacol Ther*, 2016, 162: 120-33
- [4] Sperandio S, De Belle I, Bredesen DE. An alternative, nonapoptotic form of programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 14376-81
- [5] 董怡文. 天然小分子化合物诱导肿瘤细胞出泡性死亡的筛选与机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2016
- [6] Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, et al. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. *Cell Death Differ*, 2009, 16: 3-11
- [7] Wang Y, Wen X, Zhang N, et al. Small-molecule compounds target paraptosis to improve cancer therapy. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118: 109203
- [8] Wang C, Li TK, Zeng CH, et al. Iodine-125 seed radiation induces ROS-mediated apoptosis, autophagy and paraptosis in human esophageal squamous cell carcinoma cells. *Oncol Rep*, 2020, 43: 2028-44
- [9] Bury M, Girault A, Megalizzi V, et al. Ophiobolin A induces paraptosis-like cell death in human glioblastoma cells by decreasing BKCa channel activity. *Cell Death Dis*, 2013, 4: e561
- [10] Kessel D. Exploring modes of photokilling by hypericin. *Photochem Photobiol*, 2020, 96: 1101-4
- [11] Fontana F, Raimondi M, Marzagalli M, et al. The emerging role of paraptosis in tumor cell biology: perspectives for cancer prevention and therapy with

- natural compounds. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2020, 1873: 188338
- [12] Sperandio S, Poksay KS, Schilling B, et al. Identification of new modulators and protein alterations in non-apoptotic programmed cell death. *J Cell Biochem*, 2010, 111: 1401-12
- [13] Sperandio S, Poksay K, De Belle I, et al. Paraptosis: mediation by MAP kinases and inhibition by AIP-1/Alix. *Cell Death Differ*, 2004, 11: 1066-75
- [14] Kim JY, Lee DM, Woo HG, et al. RNAi screening-based identification of USP10 as a novel regulator of paraptosis. *Sci Rep*, 2019, 9: 4909
- [15] Fontana F, Moretti RM, Raimondi M, et al. δ -Tocotrienol induces apoptosis, involving endoplasmic reticulum stress and autophagy, and paraptosis in prostate cancer cells. *Cell Prolif*, 2019, 52: e12576
- [16] Zheng HB, Dong YW, Li L, et al. Novel benzo[a]quinolizidine analogs induce cancer cell death through paraptosis and apoptosis. *J Med Chem*, 2016, 59: 5063-76
- [17] Yoon MJ, Kim EH, Lim JH, et al. Superoxide anion and proteasomal dysfunction contribute to curcumin-induced paraptosis of malignant breast cancer cells. *Free Radic Biol Med*, 2010, 48: 713-26
- [18] Chen X, Chen X, Zhang X, et al. Curcuminoid B63 induces ROS-mediated paraptosis-like cell death by targeting TrxR1 in gastric cells. *Redox Biol*, 2019, 21: 101061
- [19] Lee AR, Seo MJ, Kim J, et al. Lercanidipine synergistically enhances bortezomib cytotoxicity in cancer cells via enhanced endoplasmic reticulum stress and mitochondrial Ca^{2+} overload. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 6612
- [20] Schwarz DS, Blower MD. The endoplasmic reticulum: structure, function and response to cellular signaling. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73: 79-94
- [21] Zhao T, Du J, Zeng H. Interplay between endoplasmic reticulum stress and non-coding RNAs in cancer. *J Hematol Oncol*, 2020, 13: 163
- [22] Wang M, Law ME, Castellano RK, et al. The unfolded protein response as a target for anticancer therapeutics. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2018, 127: 66-79
- [23] Wang WB, Feng LX, Yue QX, et al. Paraptosis accompanied by autophagy and apoptosis was induced by celastrol, a natural compound with influence on proteasome, ER stress and Hsp90. *J Cell Physiol*, 2012, 227: 2196-206
- [24] Man S, Lv P, Cui J, et al. Paris saponin II-induced paraptosis-associated cell death increased the sensitivity of cisplatin. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2020, 406: 115206
- [25] Pang HF, Li XX, Zhao YH, et al. Confirming whether novel rhein derivative 4a induces paraptosis-like cell death by endoplasmic reticulum stress in ovarian cancer cells. *Eur J Pharmacol*, 2020, 886: 173526
- [26] Biazi BI, Zanetti TA, Baranoski A, et al. Cis-nerolidol induces endoplasmic reticulum stress and cell death in human hepatocellular carcinoma cells through extensive CYP2C19 and CYP1A2 oxidation. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2017, 121: 334-41
- [27] Tsai TL, Wang HC, Hung CH, et al. Wheat germ agglutinin-induced paraptosis-like cell death and protective autophagy is mediated by autophagy-linked FYVE inhibition. *Oncotarget*, 2017, 8: 91209-22
- [28] Zhang C, Jiang Y, Zhang J, et al. 8-p-Hydroxybenzoyl tovarol induces paraptosis like cell death and protective autophagy in human cervical cancer HeLa cells. *Int J Mol Sci*, 2015, 16: 14979-96
- [29] Kim SH, Kang JG, Kim CS, et al. The hsp70 inhibitor VER155008 induces paraptosis requiring *de novo* protein synthesis in anaplastic thyroid carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 454: 36-41
- [30] Wang C, Chen T. Intratumoral injection of taxol *in vivo* suppresses A549 tumor showing cytoplasmic vacuolization. *J Cell Biochem*, 2012, 113: 1397-406
- [31] Srinivasan S, Guha M, Kashina A, et al. Mitochondrial dysfunction and mitochondrial dynamics-the cancer connection. *Biochim Biophys Acta Bioenerg*, 2017, 1858: 602-14
- [32] Fontana F, Raimondi M, Marzagalli M, et al. Mitochondrial functional and structural impairment is involved in the antitumor activity of δ -tocotrienol in prostate cancer cells. *Free Radic Biol Med*, 2020, 160: 376-90
- [33] Jang S, Javadov S. OPA1 regulates respiratory supercomplexes assembly: the role of mitochondrial swelling. *Mitochondrion*, 2020, 51: 30-9
- [34] Han H, Chou CC, Li R, et al. Chalconoracin is a potent anticancer agent acting through triggering oxidative stress via a mitophagy- and paraptosis-dependent mechanism. *Sci Rep*, 2018, 8: 9566
- [35] Ghosh K, De S, Das S, et al. Withaferin A induces ROS-mediated paraptosis in human breast cancer cell-lines MCF-7 and MDA-MB-231. *PLoS One*, 2016, 11: e0168488
- [36] Seo MJ, Lee DM, Kim IY, et al. Gambogic acid triggers vacuolization-associated cell death in cancer cells via disruption of thiol proteostasis. *Cell Death Dis*, 2019, 10: 187
- [37] Kobayashi A, Waku T. New addiction to the NRF2-related factor NRF3 in cancer cells: ubiquitin-independent proteolysis through the 20S proteasome. *Cancer Sci*, 2020, 111: 6-14
- [38] Binoy A, Nedungadi D, Katiyar N, et al. Plumbagin induces paraptosis in cancer cells by disrupting the sulfhydryl homeostasis and proteasomal function. *Chem Biol Interact*, 2019, 310: 108733
- [39] Nedungadi D, Binoy A, Pandurangan N, et al. 6-Shogaol induces caspase-independent paraptosis in cancer cells via proteasomal inhibition. *Exp Cell Res*, 2018, 364: 243-51
- [40] Nedungadi D, Binoy A, Pandurangan N, et al. Proteasomal dysfunction and ER stress triggers 2'-hydroxy-retrochalcone-induced paraptosis in cancer cells. *Cell Biol Int*, 2020, 45: 164-76
- [41] Yoon MJ, Lee AR, Jeong SA, et al. Release of Ca^{2+} from the endoplasmic reticulum and its subsequent influx into mitochondria trigger celastrol-induced paraptosis in cancer cells. *Oncotarget*, 2014, 5: 6816-31
- [42] Gandin V, Tisato F, Dolmella A, et al. *In vitro* and *in vivo*

- anticancer activity of copper(I) complexes with homoscorpionate tridentate tris(pyrazolyl)borate and auxiliary monodentate phosphine ligands. *J Med Chem*, 2014, 57: 4745-60
- [43] Gandin V, Pellei M, Tisato F, et al. A novel copper complex induces paraptosis in colon cancer cells via the activation of ER stress signalling. *J Cell Mol Med*, 2012, 16: 142-51
- [44] Tardito S, Isella C, Medico E, et al. The thioxotriazole copper(II) complex A0 induces endoplasmic reticulum stress and paraptotic death in human cancer cells. *J Biol Chem*, 2009, 284: 24306-19
- [45] Yoon MJ, Kang YJ, Lee JA, et al. Stronger proteasomal inhibition and higher CHOP induction are responsible for more effective induction of paraptosis by dimethoxycurcumin than curcumin. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1112
- [46] Li XQ, Ren J, Wang Y, et al. Synergistic killing effect of paclitaxel and honokiol in non-small cell lung cancer cells through paraptosis induction. *Cell Oncol (Dordr)*, 2020, 44: 135-50
- [47] Prevarskaya N, Skryma R, Shuba Y. Ion channels in cancer: are cancer hallmarks oncochannelopathies? *Physiol Rev*, 2018, 98: 559-621
- [48] Zhu D, Chen C, Xia Y, et al. A purified resin glycoside fraction from pharbitidis semen induces paraptosis by activating chloride intracellular channel-1 in human colon cancer cells. *Integr Cancer Ther*, 2019, 18: 153473541-8822120
- [49] Kim E, Lee DM, Seo MJ, et al. Intracellular Ca^{2+} imbalance critically contributes to paraptosis. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 607844
- [50] Jambriña E, Alonso R, Alcalde M, et al. Calcium influx through receptor-operated channel induces mitochondria-triggered paraptotic cell death. *J Biol Chem*, 2003, 278: 14134-45
- [51] Dilshara MG, Neelaka Molagoda IM, Prasad Tharanga Jayasooriya RG, et al. Indirubin-3'-monoxime induces paraptosis in MDA-MB-231 breast cancer cells by transmitting Ca^{2+} from endoplasmic reticulum to mitochondria. *Arch Biochem Biophys*, 2021, 698: 108723108723
- [52] Tikkanen R, Nikolic-Paterson DJ. Mitogen-activated protein kinases: functions in signal transduction and human diseases. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 4844
- [53] Chen Q, Song SJ, Wang Z, et al. Isorhamnetin induces the paraptotic cell death through ROS and the ERK/MAPK pathway in OSCC cells. *Oral Dis*, 2020, 27: 240-50
- [54] Yumnam S, Park HS, Kim MK, et al. Hesperidin induces paraptosis like cell death in hepatoblastoma, HepG2 cells: involvement of ERK1/2 MAPK. *PLoS One*, 2014, 9: e101321
- [55] Mi X, Wang C, Sun C, et al. Xanthohumol induces paraptosis of leukemia cells through p38 mitogen activated protein kinase signaling pathway. *Oncotarget*, 2017, 8: 31297-304
- [56] Sun Q, Chen T, Wang X, et al. Taxol induces paraptosis independent of both protein synthesis and MAPK pathway. *J Cell Physiol*, 2010, 222: 421-32
- [57] Baraz R, Cisterne A, Saunders PO, et al. mTOR inhibition by everolimus in childhood acute lymphoblastic leukemia induces caspase-independent cell death. *PLoS One*, 2014, 9: e102494
- [58] Kim IY, Kwon M, Choi MK, et al. Ophiobolin A kills human glioblastoma cells by inducing endoplasmic reticulum stress via disruption of thiol proteostasis. *Oncotarget*, 2017, 8: 106740-52
- [59] Hager S, Korbula K, Bielec B, et al. The thiosemicarbazone Me2NNMe2 induces paraptosis by disrupting the ER thiol redox homeostasis based on protein disulfide isomerase inhibition. *Cell Death Dis*, 2018, 9: 1052
- [60] Zhao H, Xu X, Lei S, et al. Iturin A-like lipopeptides from *Bacillus subtilis* trigger apoptosis, paraptosis, and autophagy in Caco-2 cells. *J Cell Physiol*, 2019, 234: 6414-27
- [61] Xue J, Li R, Zhao X, et al. Morusin induces paraptosis-like cell death through mitochondrial calcium overload and dysfunction in epithelial ovarian cancer. *Chem Biol Interact*, 2018, 283: 59-74
- [62] Liu X, Gu Y, Bian Y, et al. Honokiol induces paraptosis -- like cell death of acute promyelocytic leukemia via mTOR & MAPK signaling pathways activation. *Apoptosis*, 2021, 26: 195-208
- [63] 魏婷, 高珊, 程翹楚, 等. 急性视网膜缺血再灌注损伤后大鼠视网膜副凋亡和自噬的发生. *眼科新进展*, 2018, 38: 501-5
- [64] Petrillo S, Chiabrando D, Genova T, et al. Heme accumulation in endothelial cells impairs angiogenesis by triggering paraptosis. *Cell Death Differ*, 2018, 25: 573-88
- [65] Lai YH, Lee PY, Lu CY, et al. Thrombospondin 1-induced exosomal proteins attenuate hypoxia-induced paraptosis in corneal epithelial cells and promote wound healing. *FASEB J*, 2021, 35: e21200
- [66] Kim IY, Shim MJ, Lee DM, et al. Loperamide overcomes the resistance of colon cancer cells to bortezomib by inducing CHOP-mediated paraptosis-like cell death. *Biochem Pharmacol*, 2019, 162: 41-54
- [67] Lee DM, Kim IY, Seo MJ, et al. Nutlin-3 enhances the bortezomib sensitivity of p53-defective cancer cells by inducing paraptosis. *Exp Mol Med*, 2017, 49: e365
- [68] Ohoka N, Nagai K, Shibata N, et al. SNIPER (TACC3) induces cytoplasmic vacuolization and sensitizes cancer cells to Bortezomib. *Cancer Sci*, 2017, 108: 1032-41