

程序性坏死与晚期动脉粥样硬化

郭心蕊, 曹正宇, 田野

(哈尔滨医科大学附属第一医院心内科 CCU, 黑龙江省哈尔滨市 150001)

[关键词] 程序性坏死; 动脉粥样硬化; 程序性坏死抑制剂; 炎症性疾病

[摘要] 动脉粥样硬化是一种与血脂异常、高血压、吸烟、肥胖等因素相关的慢性炎症性疾病。程序性坏死是一种可调控的坏死,参与多种炎症性疾病的病理过程。近年有研究认为程序性坏死在晚期动脉粥样硬化的进展中具有重要作用,因此,研究并调控程序性坏死可以为延缓动脉粥样硬化进展、稳定动脉粥样硬化斑块提供新思路。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Necroptosis and advanced atherosclerosis

GUO Xin-Rui, CAO Zheng-Yu, TIAN Ye

(Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150001, China)

[KEY WORDS] Necroptosis; Atherosclerosis; Necroptosis inhibitor; Inflammatory disease

[ABSTRACT] Atherosclerosis is a chronic inflammatory disease related to dyslipidemia, hypertension, smoking, obesity and other factors. Necroptosis is a regulated form of necrosis, playing a major role in pathological process of inflammation. Recent studies have suggested that necroptosis contributes to advanced atherosclerosis, which may provide a framework for understanding the clinical benefits and therapeutic potential to atherosclerosis of researching and manipulating necroptosis.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是危害人类健康的主要疾病之一,尽管在多种学说中,炎症反应学说对动脉粥样硬化发生发展的解释相对全面^[1],但其机制仍不明确。伴随动脉粥样硬化机制的相关研究,炎症细胞的程序性坏死被认为在其病理生理过程中有重要作用^[2]。已有研究证明调控程序性坏死的已知靶点和信号通路在胰腺炎^[3]、炎症性肠病^[4]等炎症性疾病中有效,且晚期动脉粥样硬化中已发现有程序性坏死存在^[5],因此调控细胞程序性坏死可能成为延缓动脉粥样硬化进展的新策略。本文对程序性坏死在晚期动脉粥样硬化中的研究进展及潜在的治疗靶点进行综述,旨在为程序性坏死的研究及动脉粥样硬化的防治提供新思路。

1 程序性坏死的概念及相关作用机制

动脉粥样硬化进展过程中存在自噬、凋亡、坏

死等多种细胞死亡形式。自噬^[6]通过形成自噬小泡包裹细胞内一些损坏的蛋白或细胞器并送入溶酶体中进行降解和更新。凋亡^[7]通过胞内基因及其产物的调控激活 Caspase 家族而主动死亡,其典型的形态学特征包括细胞皱缩、核固缩并断裂为大小不一的片段、胞膜出泡形成凋亡小体等,凋亡的细胞被具有吞噬功能的细胞吞噬和降解,在此过程中细胞膜保持完整,细胞内容物不释放至胞外,不引起炎症反应。过去认为坏死^[8]是一种不受基因调控的细胞被动死亡过程,形态学特征包括细胞膜通透性增加、细胞肿胀、细胞内 ATP 严重耗竭,最终细胞溶解,引起明显炎症反应。然而最新研究显示存在着一种不同于凋亡和坏死的细胞死亡方式——程序性坏死^[5],它不具有凋亡的形态学特点,而是出现与坏死类似的细胞肿胀、线粒体功能障碍、细胞膜通透性增高等,但其过程可调控,且此种细胞死亡形式近期亦被发现存在于动脉粥样硬

[收稿日期] 2016-11-04

[修回日期] 2017-01-20

[基金项目] 国家自然科学基金项目资助(81371709)

[作者简介] 郭心蕊,硕士研究生,研究方向为动脉粥样硬化,E-mail 为 18645115553@163.com。通讯作者田野,博士后,主任医师,教授,主要从事心血管病研究,E-mail 为 yetian@ems.hrbmu.edu.cn。

化病变中。

目前研究的炎症性疾病程序性坏死途径多由肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)诱导, TNF结合于细胞表面的肿瘤坏死因子受体1(tumor necrosis factor receptor-1, TNFR1), 触发受体相互作用蛋白激酶1(receptor-interacting protein kinase-1, RIPK1)的C末端死亡结构域(death domain, DD), 直接结合于TNFR1的胞内DD部分或通过肿瘤坏死因子受体相关死亡结构域蛋白(TNFR-associated death domain, TRADD)间接结合于TNFR1, 其中TRADD通过肿瘤坏死因子受体相关因子2(TNF receptor associated factor-2, TRAF2)募集细胞凋亡抑制蛋白1和细胞凋亡抑制蛋白2(cellular inhibitors of apoptosis 1/2, cIAP1/2)并被cIAP泛素化的RIPK1组成复合体I, 进而参与c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)、细胞外信号调节蛋白激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)和核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)^[9]等促炎基因表达途径。

如果复合体I的激活被抑制, 那么RIPK1、TRADD和复合体I的其他组分会移至胞浆内组成复合体II——Fas相关死亡域蛋白(Fas-associating protein with a novel death domain, FADD)、RIPK1、RIPK3、Caspase-8, 进一步在不同条件下引起凋亡或程序性坏死。其中FADD通过其C末端DD结构募集至复合体II^[9-10], N末端死亡效应结构域(death effector domain, DED)结合于procaspase-8的DED和(或)它的无活性同系物cFLIP, cFLIP可以结合于FADD-RIPK1-Caspase-8复合物进而抑制Caspase-8途径凋亡, 细胞表达RIPK3及混合连接激酶结构域样蛋白(mixed lineage kinase domain-like protein, MLKL)则发生程序性坏死^[11]。若缺乏或抑制cFLIP、RIPK1则会使Caspase-8同源二聚化, 触发细胞凋亡。

RIPK1与RIPK3通过同型相互作用模序(RIPK homotypic interacting motif, RHIM)相互作用, 使RIPK3寡聚化并自磷酸化, 形成RIPK1-RIPK3复合体, 进而募集并磷酸化MLKL C末端假激酶区的Thr357/Ser358^[12]。这种RIPK1-RIPK3复合体也称为necrosome^[11], necrosome是程序性坏死的核。但是目前有研究者认为MLKL是necrosome的一部分^[13], 也有研究者认为MLKL是RIPK1-RIPK3的下游调控物质, 其中, Dondelinger等^[14]认为MLKL可以移位到细胞膜上, 而后通过其N末端上一些带正电的氨基酸与磷脂酰肌醇磷酸盐(phosphatidyli-

nositol phosphate, PIP)相互作用, 使含有PIP的细胞膜通透性增高, 且MLKL的磷酸化使其从单体状态转化为多聚体状态, 并由细胞质转移到细胞膜和细胞器膜上, 从而在这些膜结构上形成通透性孔道, 破坏膜结构的完整性, 最终导致细胞死亡。Remijssen等^[15]认为被激活的MLKL可以结合并激活磷酸甘油酸变位酶5(phosphoglycerate mutase 5, PGAM5)触动力相关蛋白1(dynammin-related protein 1, DRP1)介导的线粒体破坏和诱导程序性坏死的信号, 然而也有研究对PGAM5在程序性坏死中的作用方式产生质疑^[16], MLKL的下游通路及其调控机制仍存在争议。但是, 对于程序性坏死启动后的一系列分子传递和执行死亡信号的研究比较集中, 主要是活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)、 Ca^{2+} 、 Na^{+} 等, 认为它们可以破坏线粒体或其他细胞器, 导致细胞在缺乏Caspase的情况下发生程序性坏死^[17], 通过损伤相关分子模式(damage-associated molecular pattern, DAMP)物质直接介导炎症反应的发生^[18]。

2 程序性坏死在动脉粥样硬化中的作用及相关模型的建立

动脉粥样硬化中炎症细胞的死亡形式一直是相关领域的研究重点, 虽然巨噬细胞的凋亡在动脉粥样硬化性疾病中的研究最为广泛, 但已有研究证明程序性坏死在晚期动脉粥样硬化斑块中同样发挥重要作用, 按照美国心脏学会动脉粥样硬化组织病理学分型方法^[19], 晚期动脉粥样硬化主要指IV~VI型, 其中IV型以脂质核心为主, 具有脂质聚集、内膜结构破坏、动脉壁变形的改变, V型出现纤维结缔组织, 纤维帽形成, 斑块突入管腔内造成管腔狭窄, 而VI型则是在IV、V型基础上进一步出现出血以及血栓形成等改变的复合病变, 常导致管腔闭塞或管壁破裂出血并引发心肌梗死、脑卒中等严重后果^[20]。尽管对动脉粥样硬化发生发展存在多种解释^[1], 但其机制仍不明确。近年来伴随动脉粥样硬化机制的相关研究, 研究者认为炎症细胞的程序性坏死在其病理生理过程中具有重要作用^[2]。

Tian等^[5]在12例尸检及6例颈动脉内膜剥脱术来源的组织中通过电镜观察晚期动脉粥样硬化处发现典型的程序性坏死形态学特征, 并且在伴有坏死核心的斑块中RIPK1/RIPK3表达量明显高于其他部位, 认为程序性坏死发生在人动脉粥样硬化

斑块区域,且与坏死核心形成有关。Karunakaran 等^[21]通过基因表达分析发现在人动脉粥样硬化斑块中 RIPK3 和 MLKL 表达明显增多,且短暂性脑缺血发作等有症状的患者相比于无症状的患者 RIPK3 和 MLKL 基因的表达增高,并通过免疫组织化学观察到人冠状动脉晚期斑块中 pMLKL 表达量确有增高,且与斑块稳定性相关,说明不稳定性动脉粥样硬化斑块中有程序性坏死通路激活。Meng 等^[22]观察到 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化斑块中的 RIPK3 发生了磷酸化——这是程序性坏死激活的一个特异性标志,且缺失 RIPK3 的小鼠动脉粥样硬化斑块区域促炎因子 mRNA 表达水平显著降低,相比于 ApoE^{-/-}小鼠, ApoE^{-/-}RIPK3^{-/-}小鼠脂肪组织和皮肤病变部位的淋巴细胞浸润明显减轻,单核细胞和淋巴细胞抗原 6C 也显著减少,更为重要的是 ApoE^{-/-}RIPK3^{-/-}小鼠死亡显著延迟,说明程序性坏死可能通过炎症机制参与动脉粥样硬化的发展。Meng 等^[23]在此基础上进一步证明 RIPK3 在动脉粥样硬化中的作用与 Nr4a3 有关。Lin 等^[2]使用 LDLR^{-/-}RIPK3^{+/+}和 LDLR^{-/-}RIPK3^{-/-}小鼠建立动脉粥样硬化模型,发现敲除 RIPK3 之后可以显著减缓晚期动脉粥样硬化的进展。

虽然晚期动脉粥样硬化存在程序性坏死已在体内证实,但是其作用机制并不明确,仍然需要依赖体外实验。已有研究表明多种细胞类型(包括原代细胞和细胞系)在动脉粥样硬化等炎症性疾病的体外实验中通过给予不同刺激可以发生程序性坏死。将 THP-1 来源的巨噬细胞诱导为泡沫细胞并用无血清培养基饥饿 24 h 后通过透射电镜可以观察到符合程序性坏死形态学特点的细胞。24-48 h RIPK1、RIPK3 以及 RIPK1-RIPK3 复合物增加,MLKL 发生寡聚化^[5]。而氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)作用于骨髓来源的巨噬细胞也可诱导巨噬细胞发生程序性坏死,且死亡细胞被其他巨噬细胞处理的能力变差^[21]。体外证明了动脉粥样硬化发生发展过程中程序性坏死确有参与。目前应用于其他程序性坏死相关的细胞模型,包括 RIPK1^{-/-}^[24]、FADD^{-/-}^[25]、Caspase-8^{-/-}^[25]、MLKL^{-/-}^[13]等细胞或许可以为程序性坏死在动脉粥样硬化发生发展中的作用提供便利条件和有利证据。

然而,需要注意的是,有研究表明相同细胞系的不同克隆型可能对程序性坏死敏感性不同^[26],且除 L929 小鼠成纤维细胞系仅用 TNF 或布雷非德菌素 A(brefeldin A, BFA)等内质网应激刺激物处理后

即可产生程序性坏死^[27],现有研究中体外激活程序性坏死大多数需要 Z-VAD-FMK、Q-VD-OPh 等 Caspase 抑制剂,或通过敲除、siRNA 阻断上游凋亡信号,尤其是 FADD 或 Caspase-8。因此,进行程序性坏死相关研究时需要注意细胞系的遗传变异性及程序性坏死诱导条件。

3 程序性坏死特异性抑制剂

目前,对程序性坏死调控的研究主要致力于寻找程序性坏死的特异性抑制剂。虽然只有小部分程序性坏死抑制剂进入到临床试验阶段并且仍然需要大量治疗实践来证明其效果,但是这些研究不仅可以为体内和体外研究程序性坏死途径提供有效工具,也为防治包括动脉粥样硬化在内的程序性坏死相关疾病提供有利条件。目前,程序性坏死抑制剂大致分为三类。

3.1 RIPK1 特异性抑制剂

由于 RIPK1 和 RIPK3 是 necrosome 的确定组成成分,RIPK1 和 RIPK3 在程序性坏死的启动中发挥了重要作用,这让研究人员认为抑制 RIPK 可以成为抑制程序性坏死的好方法。目前程序性坏死抑制剂在动脉粥样硬化中的研究与应用主要集中于 RIPK1 抑制剂。RIPK1 抑制剂 necrostatin 根据化学结构不同分为 necrostatin-1 (Nec-1)、Nec-3 等,它们都是 RIPK1 的变构抑制剂,可以稳定 RIPK1 的无活性结构,从而抑制程序性坏死^[28-29]。目前,necrostatin 中应用最广泛的是 Nec-1,已有大量构效关系分析验证得到其具有对凋亡和自噬无影响,可特异性抑制程序性坏死的特点,同时 Nec-1 不影响正常细胞的生理学功能,包括细胞形状和大小、细胞膜完整性、细胞周期分布、细胞增殖、总体的 mRNA 表达、细胞内 ROS、ATP 水平、线粒体膜电位等^[5,21,28-29]。

已有研究通过高脂喂养并与安慰剂组对比发现 Nec-1 既可以减缓晚期动脉粥样硬化斑块进展又可以稳定斑块,证实 Nec-1 在动脉粥样硬化的小鼠模型中有效^[21]。在 THP-1 及骨髓来源巨噬细胞诱导的泡沫细胞模型中运用 Nec-1 也可以抑制程序性坏死^[5,21]。但是由于 Nec-1 较活跃且特异性不高,因此,这种治疗手段目前仅应用于临床前阶段,实验中主要用于确定细胞死亡是否为程序性坏死^[29]。同时,由于 RIPK1 并不仅限于程序性坏死通路,它也参与 ERK 和 NF- κ B 通路的激活,因此应用 RIPK1 抑制剂时需谨慎。necrostatin-1s^[21]在体内和体外实验中均表现出更好的活性和稳定性,可以特异性抑

制 RIPK1,进而延缓动脉粥样硬化进展。

3.2 RIPK3 抑制剂

近年来敲除 RIPK3 降低炎症性疾病损伤^[2]的相关研究引起了人们对小分子 RIPK3 活性抑制剂的兴趣。Mandal 等^[30]认为 GSK'40、GSK'843 和 GSK'872 可以抑制 RIPK3 依赖的程序性坏死,它们可以与 RIPK3 相互作用并激活 Caspase-8,从而在抑制程序性坏死的同时,促进细胞凋亡的发生。GSK'843 和 GSK'872 在高浓度时抑制 TNF 诱导的程序性坏死,促进 TNF 诱导的 RIPK1 依赖的凋亡和 Caspase-8 活化。然而 GSK'840 与 GSK'843 和 GSK'872 不同,它高浓度时不能诱导 RIPK1 活性依赖的凋亡,且不能抑制鼠源 RIPK3,阻止了它在动脉粥样硬化疾病模型中的应用^[31]。

3.3 MLKL 不可逆抑制剂

Necrosulfonamide (NSA)^[32]——是最初被报道的人 MLKL 抑制剂。NSA 与人 MLKL 的 Cys86 形成共价键,阻止 RIPK1-RIPK3-MLKL 形成,进而阻断其下游程序性坏死效应物的产生,但是由于小鼠 MLKL86 位点为色氨酸而非人类的半胱氨酸,因此对小鼠无效,事实上,目前 NSA 在现有研究中主要被用于证明 MLKL 是 RIPK3 的下游,且在疾病的程序性坏死过程中有重要作用,并没有被用于动脉硬化模型的治疗。

3.4 其他抑制剂

除以上三类程序性坏死抑制剂外,Chtourou 等^[33]发现 Naringenin (NGEN)可以保护大鼠心脏高胆固醇血症引起的氧化应激和后续的程序性坏死,它是一种黄酮类化合物,广泛存在于柑橘类水果中,特别是葡萄柚,在动物模型中发现 NGEN 可以改善动脉粥样硬化等肥胖相关疾病^[34]。有研究认为 5-氨基酮戊酸介导的声动力可以通过激活 Caspase-3 和 Caspase-8 途径使程序性坏死转变为凋亡提高晚期动脉粥样硬化的预后^[5]。Fauster 等^[35]发现两种抗肿瘤药帕纳替尼和帕唑帕尼也可以作为程序性坏死抑制剂,这两种美国食品药品监督管理局准入的药物或许可以给予动脉粥样硬化新的治疗思路。

4 结语与展望

晚期动脉粥样硬化中存在炎症细胞发生程序性坏死,且与斑块稳定性有关。抑制程序性坏死可以阻止动脉粥样硬化的进一步恶化,且这一设想已

在细胞水平及多个动物和临床研究中得到证实,因此明确其作用机制并提高相关靶点调控方式的特异性,可以为阐明动脉粥样硬化发病机制、发现新型药物及治疗动脉粥样硬化提供帮助。

[参考文献]

- [1] Tousoulis D, Oikonomou E, Economou EK, et al. Inflammatory cytokines in atherosclerosis: current therapeutic approaches[J]. Eur Heart J, 2016, 37(22): 1 723-732.
- [2] Lin J, Li H, Yang M, et al. A role of RIP3-mediated macrophage necrosis in atherosclerosis development[J]. Cell Rep, 2013, 3: 200-210.
- [3] Wu J, Huang Z, Ren J, et al. MLKL knockout mice demonstrate the indispensable role of MLKL in necroptosis[J]. Cell Res, 2013, 23(8): 994-1 006.
- [4] Gunther C, Martini E, Wittkopf N, et al. Caspase 8 regulates TNF- α induced epithelial necroptosis and terminal ileitis[J]. Nature, 2011, 477(7364): 335-339.
- [5] Tian F, Yao J, Yan M, et al. 5-aminolevulinic acid-mediated sonodynamic therapy inhibits RIPK1/RIPK3-dependent necroptosis in THP-1-derived foam cells[J]. Sci Rep, 2016, 6: 21992.
- [6] Cadwell K. Crosstalk between autophagy and inflammatory signalling pathways: balancing defence and homeostasis[J]. Nat Rev Immunol, 2016, 16(11): 661-675.
- [7] Suzanne M, Steller H. Shaping organisms with apoptosis[J]. Cell Death Differ, 2013, 20(5): 669-675.
- [8] Conrad M, Angeli JP, Vandenabeele P, et al. Regulated necrosis: disease relevance and therapeutic opportunities[J]. Nat Rev Drug Discov, 2016, 15(5): 348-366.
- [9] Newton K, Manning G. Necroptosis and inflammation[J]. Annu Rev Biochem, 2016, 85: 743-763.
- [10] Dondelinger Y, Darding M, Bertrand MJ, et al. Polyubiquitination in TNFR1-mediated necroptosis[J]. Cell Mol Life Sci, 2016, 73(11-12): 2 165-176.
- [11] Newton K, Dugger DL, Wickliffe KE, et al. Activity of protein kinase RIPK3 determines whether cells die by necroptosis or apoptosis[J]. Science, 2014, 343: 1 357-360.
- [12] Chen W, Zhou Z, Li L, et al. Diverse sequence determinants control human and mouse receptor interacting protein 3 (RIP3) and mixed lineage kinase domain-like (MLKL) interaction in necroptotic signaling[J]. J Biol Chem, 2013, 288: 16 247-261.
- [13] Murphy JM, Czabotar PE, Hildebrand JM, et al. The pseudokinase MLKL mediates necroptosis via a molecular switch mechanism[J]. Immunity, 2013, 39: 443-453.
- [14] Dondelinger Y, Declercq W, Montessuit S. MLKL compromises plasma membrane integrity by binding to phosphatidylinositol phosphates[J]. Cell Rep, 2014, 7(4):

- 971-981.
- [15] Remijsen Q, Goossens V, Grootjans S, et al. Depletion of RIPK3 or MLKL blocks TNF-driven necroptosis and switches towards a delayed RIPK1 kinase-dependent apoptosis [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1004.
- [16] Moriwaki K, Farias Luz N, Balaji S, et al. The mitochondrial phosphatase PGAM5 is dispensable for necroptosis but promotes inflammasome activation in macrophages [J]. *J Immunol*, 2016, 196(1): 407-415.
- [17] Pasparakis M, Vandenabeele P. Necroptosis and its role in inflammation[J]. *Nature*, 2015, 517: 311-320.
- [18] 巴微, 逢越, 李庆伟. 程序性坏死(Necroptosis)的分子机制[J]. *遗传*, 2014, 36(6): 519-524.
- [19] Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association [J]. *Circulation*, 1995, 92: 1 355-374.
- [20] 孙璐, 韦立新, 石怀银, 等. 冠状动脉粥样硬化斑块内血管新生与斑块稳定的关系[J]. *中华病理学杂志*, 2003, 32(5): 29-33.
- [21] Karunakaran D, Geoffrion M, Wei L, et al. Targeting macrophage necroptosis for therapeutic and diagnostic interventions in atherosclerosis [J]. *Sci Adv*, 2016, 2(7): e1600224.
- [22] Meng L, Jin W, Wang X, et al. RIP3-mediated necrotic cell death accelerates systematic inflammation and mortality[J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2015, 112(35): 11 007-012.
- [23] Meng L, Jin W, Wang Y, et al. RIP3-dependent necrosis induced inflammation exacerbates atherosclerosis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 473(2): 497-502.
- [24] Degterev A, Zhou W, Maki JL, et al. Assays for necroptosis and activity of RIP kinases[J]. *Methods Enzymol*, 2014, 545: 1-33.
- [25] 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.
- [26] Zhang DW, Shao J, Lin J, et al. RIP3, an energy metabolism regulator that switches TNF-induced cell death from apoptosis to necrosis[J]. *Science*, 2009, 325: 332-336.
- [27] Saveljeva S, Mc Laughlin SL, Vandenabeele P, et al. Endoplasmic reticulum stress induces ligand-independent TNFR1-mediated necroptosis in L929 cells [J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6: e1587.
- [28] Degterev A, Hitomi J, Germscheid M, et al. Identification of RIP1 kinase as a specific cellular target of necrostatins [J]. *Nat Chem Biol*, 2008, 4(5): 313-321.
- [29] Smith CC, Yellon DM. Necroptosis, necrostatins and tissue injury[J]. *J Cell Mol Med*, 2011, 15(9): 1 797-806.
- [30] Mandal P, Berger SB, Pillay S, et al. RIP3 induces apoptosis independent of pronecrotic kinase activity [J]. *Mol Cell*, 2014, 56(4): 481-495.
- [31] Conrad M, Angeli JP, Vandenabeele P, et al. Regulated necrosis: disease relevance and therapeutic opportunities [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, 15(5): 348-366.
- [32] 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.
- [33] Chtourou Y, Fetoui H, Jemai R, et al. Naringenin reduces cholesterol-induced hepatic inflammation in rats by modulating matrix metalloproteinases-2, 9 via inhibition of nuclear factor kappaB pathway[J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 746: 96-105.
- [34] Assini JM, Mulvihill EE, Sutherland BG, et al. Naringenin prevents cholesterol-induced systemic inflammation, metabolic dysregulation, and atherosclerosis in LDLR^{-/-} mice [J]. *J Lipid Res*, 2013, 54(3): 711-724.
- [35] Fauster A, Rebsamen M, Huber KV, et al. A cellular screen identifies ponatinib and pazopanib as inhibitors of necroptosis[J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6: e1767.

(此文编辑 文玉珊)