

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.04.006

## 新补骨脂异黄酮通过 caspase-3/GSDME 通路诱导肝细胞癌 Huh-7 细胞焦亡

李雅茹<sup>1</sup>, 杨霞<sup>1</sup>, 赵仁双<sup>1,2</sup>, 修志儒<sup>2</sup>, 朱羿龙<sup>2</sup>, 韩继成<sup>2</sup>, 李善智<sup>2</sup>, 李一权<sup>1,2</sup>, 金宁一<sup>1,2,3</sup> (1. 延边大学医学院 病理学与病理生理学教研室, 吉林 延边 133002; 2. 长春中医药大学 院士工作站, 吉林 长春 130117; 3. 中国农业科学院 长春兽医研究所, 吉林 长春 130122)

**[摘要]** **目的:** 探讨新补骨脂异黄酮(NBIF)对肝细胞癌(HCC)Huh-7细胞焦亡的影响及其分子机制。**方法:** 体外培养Huh-7细胞,用CCK-8法检测不同浓度的NBIF处理48 h时对细胞存活率的影响,光学显微镜下观察NBIF处理后Huh-7细胞的形态变化,乳酸脱氢酶(LDH)释放实验检测细胞的LDH释放量, WB实验检测细胞中GSDME、caspase-3的蛋白水平变化。采用siRNA干扰Huh-7细胞中caspase-3、GSDME表达后, CCK-8法检测NBIF处理对细胞存活率的影响, WB实验检测GSDME蛋白表达水平,观察NBIF处理对细胞形态的影响,并检测细胞LDH释放量。**结果:** 60 μmol/L以上的NBIF均能显著抑制Huh-7细胞的增殖(均 $P<0.01$ ),光学显微镜下观察到NBIF处理后的细胞出现肿胀、吐泡现象,且LDH释放增加( $P<0.01$ ); WB实验结果表明, NBIF能够激活caspase-3蛋白并切割GSDME蛋白,增加GSDME-N的表达(均 $P<0.01$ )。干扰caspase-3、GSDME表达后, NBIF对细胞的抑制作用减弱(均 $P<0.01$ ), GSDME-N蛋白表达受到抑制( $P<0.01$ ), 显微镜下细胞肿胀、吐泡现象几乎消失, LDH释放明显减少( $P<0.05$ )。**结论:** NBIF能够通过caspase-3/GSDME途径诱导Huh-7细胞发生焦亡,从而抑制HCC细胞的增殖,为HCC的治疗提供一种新思路。

**[关键词]** 新补骨脂异黄酮; 肝细胞癌; Huh-7细胞; 细胞焦亡; GSDME

**[中图分类号]** R735.7; R730.52 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2023)04-0318-06

## Neobavaisoflavone induces pyroptosis in hepatocellular carcinoma Huh-7 cells through caspase-3/GSDME signal pathway

LI Yaru<sup>1</sup>, YANG Xia<sup>1</sup>, ZHAO Renshuang<sup>1,2</sup>, XIU Zhiru<sup>2</sup>, ZHU Yilong<sup>2</sup>, HAN Jicheng<sup>2</sup>, LI Shanzhi<sup>2</sup>, LI Yiquan<sup>1,2</sup>, JIN Ningyi<sup>1,2,3</sup> (1. Department of Pathology and Pathophysiology, College of Medicine, Yanbian University, Yanbian 133002, Jilin, China; 2. Academician Workstation of Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, Jilin, China; 3. Changchun Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130122, Jilin, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the effect of neobavaisoflavone (NBIF) on pyroptosis of hepatocellular carcinoma (HCC) Huh-7 cells and its molecular mechanism. **Methods:** Huh-7 cells were cultured *in vitro*, and the effects of different concentrations of NBIF on cell survival rate was detected by CCK-8. Morphological changes of Huh-7 cells treated with NBIF were observed under optical microscope. Lactate dehydrogenase (LDH) release test was used to detect the LDH release of cells. The protein levels of gasdermin E (GSDME) and caspase-3 in the cells were detected by WB assay. After silencing caspase-3 and GSDME in Huh-7 cells, the effect of NBIF treatment on cell survival rate was detected by CCK-8. The expression level of GSDME protein was detected by WB assay. The effect of NBIF treatment on cell morphology was observed, and the release of LDH was detected. **Results:** NBIF above 60 μmol/L could significantly inhibit the proliferation of Huh-7 cells (all  $P<0.01$ ). The swelling and bubbling phenomenon of NBIF treated cells were observed under optical microscope, and the release of LDH was increased (all  $P<0.01$ ). WB results showed that NBIF could activate caspase-3 protein, cleave GSDME protein and increase the expression of GSDME-N ( $P<0.01$ ). After silencing caspase-3 and GSDME genes, the inhibition of NBIF on cells was weakened (all  $P<0.01$ ), and the expression of GSDME-N protein was inhibited ( $P<0.01$ ). Under the microscope, the phenomenon of cell swelling and bubbling almost disappeared, and the release of LDH decreased significantly ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** NBIF can cause pyroptosis of Huh-7 cells through caspase-3-GSDME pathway, thus inhibiting the proliferation of Huh-7 cells, which provides a new idea for the treatment of HCC.

**[Key words]** neobavaisoflavone; hepatocellular carcinoma (HCC); Huh-7 cell; pyroptosis; gasdermin E (GSDME)

[Chin J Cancer Biother, 2023, 30(4): 318-323. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.04.006]

**[基金项目]** 吉林省教育厅科学技术研究项目(No. JJKH20220873KJ);“杏林学者工程”青年科学家培养计划项目(No. QNKXJ2-2021ZR13);吉林省青年科技人才托举工程项目(No. QT202111)

**[作者简介]** 李雅茹(1995—),女,博士生,主要从事肿瘤病理学研究, E-mail: 2656870015@qq.com

**[通信作者]** 金宁一, E-mail: ningyik@126.com; 李一权, E-mail: liyq01@ccucm.edu.cn

肝癌是全球第六大最常见的癌症类型,也是癌症相关死亡的第四大原因<sup>[1]</sup>。肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是肝癌的主要病理类型,而且占其大部分。目前手术切除是 HCC 治疗的首选,但复发率和转移率均较高。新补骨脂异黄酮 (neobavaisoflavone, NBIF) 是一种从补骨脂果实、种子和根部分离出来的活性成分,具有抗肿瘤、抗菌、抗氧化和抗炎特性<sup>[2-6]</sup>。NBIF 通过抑制肥大细胞活性来抑制过敏性炎症反应<sup>[7]</sup>。在 RAW264.7 巨噬细胞中, NBIF 表现出明显的抗炎作用<sup>[8]</sup>。NBIF 对非小细胞肺癌也表现出良好的抗肿瘤活性<sup>[9]</sup>,但是 NBIF 对 HCC 的抑制作用研究甚少。细胞焦亡是 gasdermin 家族介导的一种新的细胞程序性死亡,它可有效清除恶性肿瘤,增强抗肿瘤免疫<sup>[10]</sup>, GSDME (gasdermin E) 在调控肿瘤细胞生物学功能中扮演着重要角色<sup>[11]</sup>。研究<sup>[12]</sup>表明,蛋白酶体抑制剂通过线粒体 BAX/GSDME 途径触发多发性骨髓瘤细胞焦亡。紫草素通过激活 BAX/caspase-3 信号通路及诱导细胞内生成活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 来诱发肿瘤细胞 GSDME 依赖性焦亡<sup>[13]</sup>。藤黄酸通过 caspase-3/GSDME 依赖途径诱导结直肠癌细胞焦亡,并引发抗肿瘤免疫反应<sup>[14]</sup>。然而,细胞焦亡在 HCC 中的作用尚未得到广泛研究。本研究通过探究 NBIF 对 HCC 细胞焦亡的影响及其作用的分子机制,为阐明细胞焦亡在肿瘤细胞中的作用提供实验依据,也为 HCC 治疗提供一种新的策略。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞及主要试剂

人 HCC Huh-7 细胞购自中国科学院细胞库,在含有 10% 胎牛血清、50 U/mL 青霉素和 50 μg/mL 链霉素的 DMEM 培养基中,于 37 °C、5%CO<sub>2</sub> 培养箱中常规培养。

CCK-8 法细胞增殖检测试剂盒购自碧云天公司, Minute™ 蛋白提取试剂盒购自 Invent 北京有限公司, caspase-3、GSDME、PARP、Bcl2 及 BAX 一抗和 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗均购自 Cell Signaling Technology 公司,含有 GSDME siRNA、caspase-3 siRNA 及其阴性对照质粒 (si-NC) 及 riboFECT CP 转染试剂购自广州锐博生物公司。Caspase-3 siRNA 序列为 5'-CAACGGAATTCGAGTCCTT-3', GSDME siRNA 序列: 5'-GCTGCAAACCTCCATGTTAT-3'。

### 1.2 CCK-8 法检测不同浓度 NBIF 对 Huh-7 细胞增殖的影响

将 Huh-7 细胞以密度  $5 \times 10^3$  个/孔铺入 96 孔板中于培养箱中过夜培养至细胞贴壁,后将含 NBIF 的培

养基加入吸出培养基的 96 孔板中,使 NBIF 终浓度为 0、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100 μmol/L,每个浓度设置 4 个复孔,继续培养 48 h 后,每孔加入 10 μL CCK-8 溶液,避光 37 °C 反应 2 h,取出 96 孔板,在酶标仪 450 nm 处检测各孔的光密度 (*D*) 值,然后按照公式——细胞存活率 = 实验组 *D* 值 / 对照组 *D* 值 × 100% 计算出细胞存活率。

### 1.3 光学显微镜下观察 NBIF 处理后 Huh-7 细胞的形态变化

将 Huh-7 细胞以  $5 \times 10^5$  个/孔铺入 6 孔板中,常规培养过夜。弃掉孔中培养基,加入含有终浓度 60 μmol/L NBIF 的培养基,继续培养 48 h 后,取出 6 孔板并放于光学显微镜下观察细胞形态变化并拍照记录。

### 1.4 乳酸脱氢酶 (LDH) 释放实验检测 Huh-7 细胞的 LDH 释放量

将 Huh-7 细胞以  $3 \times 10^5$  个/孔铺入 96 孔板中,在 37 °C、5%CO<sub>2</sub> 恒温培养箱中培养过夜,取出 96 孔板并吸出孔中培养基,加入含有 60 μmol/L NBIF 的培养液再继续培养 48 h,根据 LDH 释放检测试剂盒说明书,取各组细胞的培养上清液进行 LDH 释放测定。

### 1.5 细胞转染与分组

将 Huh-7 细胞以  $5 \times 10^5$  个/孔铺入 6 孔板中,待细胞汇合度达 65% 左右时,将细胞培养基换成不含血清的培养基,然后按照 siRNA 转染试剂盒说明书将 caspase-3 siRNA、GSDME siRNA 及相应 si-NC 转入到 Huh-7 细胞中,实验分为对照组 (不转染)、si-NC 组 (转染 si-NC)、si-caspase-3 组 (转染 si-caspase-3) 和 si-GSDME 组 (转染 si-GSDME),转染 48 h 后用 qPCR 法验证转染效率,验证转染成功后,进行后续实验。

### 1.6 WB 法检测 NBIF 对 Huh-7 细胞焦亡及凋亡相关蛋白表达的影响

将 Huh-7 细胞以  $5 \times 10^5$  个/孔铺入 6 孔板中,常规培养过夜。在吸弃原有培养基后加入含有 60 μmol/L NBIF 的培养基,继续培养 48 h。用总蛋白提取试剂盒提取各组细胞的总蛋白,并用 BCA 试剂进行定量。在 100 °C 沸水中煮样品 10 min,各组各取 30 μg 蛋白上样,10% SDS-PAGE 分离后,将蛋白质转到 NC 膜上,在 5% 脱脂牛奶中室温下封闭 2 h。加入均以 1:1 000 的比例稀释的 GSDME-FL、GSDME-N、caspase-3、cleaved caspase-3 (C-caspase-3) 及 β-actin, PARP、cleaved PARP (C-PARP)、Bcl2、BAX、β-tubulin 一抗,于 4 °C 冰箱过夜。次日回收一抗,用 TBST 洗膜 3 次 (10 min/次),加入按 1:3 000 的比例稀释的二抗,室温下反应 40 min。TBST 洗涤后,将配制的 ECL 发光液均匀滴在膜上,放于显影仪下曝光、显影,并用 Image J 软件分析蛋白质条带的灰度值。

### 1.7 统计学处理

应用统计学软件 SPSS 22.0 进行统计学分析。各项实验均独立重复 3 次,符合正态分布的计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异具有统计学意义。

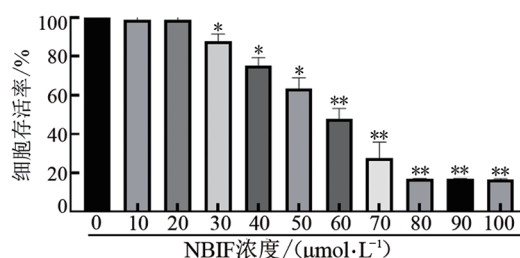
## 2 结果

### 2.1 NBIF 显著抑制 Huh-7 细胞的增殖活力并使细胞形态改变及 LDH 释放增加

CCK-8 法检测结果(图 1)显示,30~50  $\mu\text{mol/L}$  NBIF 可明显抑制 Huh-7 细胞的增殖活力(均  $P < 0.05$ ),60  $\mu\text{mol/L}$  及以上 NBIF 对 Huh-7 细胞的增殖活力抑制作用显著增强,细胞存活率均低于 50%(均  $P < 0.01$ ),其抑制作用呈剂量依赖性,说明 NBIF 具有显著的抗 HCC 作用。因此,选用 60  $\mu\text{mol/L}$  NBIF 处理 Huh-7 细胞,进行后续试验。

光学显微镜下见 60  $\mu\text{mol/L}$  NBIF 处理 48 h 后的

Huh-7 细胞出现肿胀、吐泡并有气泡状突出物冒出的现象(图 2A),此为细胞焦亡的典型表现。LDH 释放实验结果(图 2B)显示,60  $\mu\text{mol/L}$  NBIF 处理 48 h 后 Huh-7 细胞的 LDH 释放量显著高于对照组( $P < 0.01$ ),即 NBIF 能够明显增加 Huh-7 细胞 LDH 释放量。实验结果表明,NBIF 可通过使细胞膜破裂而引起 Huh-7 细胞焦亡。



与对照组(0  $\mu\text{mol/L}$ )比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$

图 1 不同浓度 NBIF 对 Huh-7 细胞存活率的影响

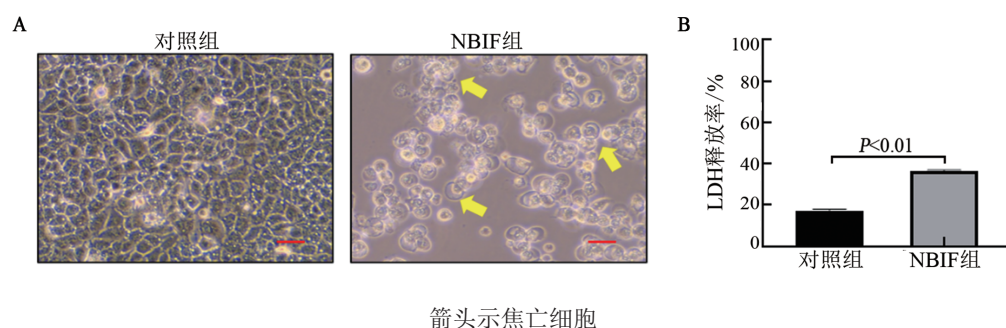


图 2 NBIF (60  $\mu\text{mol/L}$ )对 Huh-7 细胞形态(A,  $\times 400$ , 标尺=20  $\mu\text{m}$ )和 LDH 释放率(B)的影响

### 2.2 NBIF 对 Huh-7 细胞 GSMDE 蛋白表达的影响

WB 实验结果(图 3)显示,与对照组相比,60  $\mu\text{mol/L}$  NBIF 组 Huh-7 细胞中 C-caspase-3、GSDME-N 蛋白的表达水平显著升高(均  $P < 0.01$ ),而 GSDME-EL

蛋白的表达差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。GSDME 蛋白的 N 末端明显被切割( $P < 0.01$ ),且 caspase-3 也被激活。结果表明,NBIF 可能通过 caspase-3/GSDME 途径诱导 Huh-7 细胞发生焦亡。

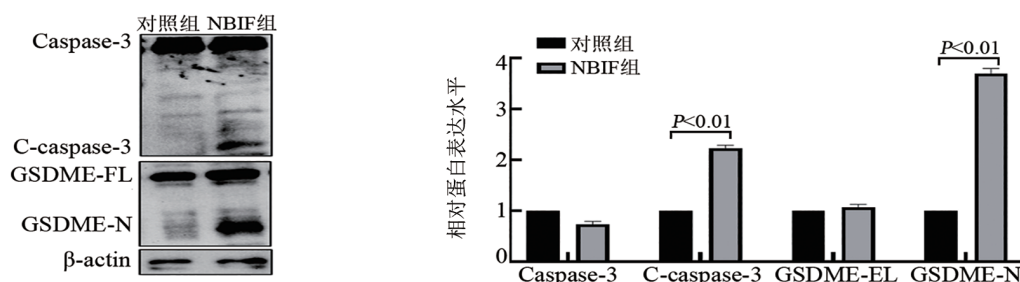


图 3 NBIF (60  $\mu\text{mol/L}$ )对 Huh-7 细胞 GSDME、caspase-3 蛋白表达的影响

### 2.3 NBIF 对 Huh-7 细胞 PARP、Bcl2 和 BAX 蛋白表达的影响

WB 实验结果(图 4)显示,与对照组比较,60  $\mu\text{mol/L}$

NBIF 组 Huh-7 细胞中 C-PARP、BAX 蛋白表达均显著升高(均  $P < 0.01$ ),而 Bcl2 蛋白表达显著降低( $P < 0.01$ )。结果表明,NBIF 可诱导 PARP 裂解而降低 Bcl2 表达,



同时增加 BAX 表达, 提示 NBIF 对 Huh-7 细胞抑制中, 细胞凋亡也发挥了一定的效应。

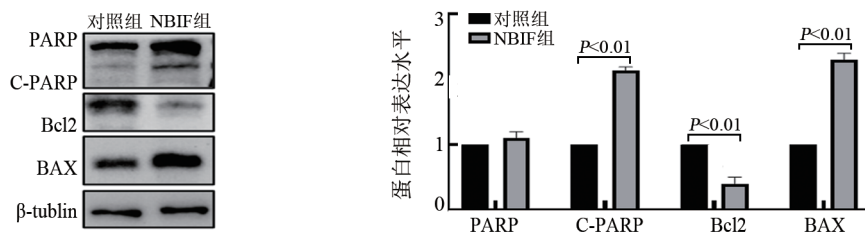


图4 NBIF (60  $\mu\text{mol/L}$ )对 Huh-7 细胞 PARP、Bcl2 和 BAX 蛋白表达的影响

#### 2.4 沉默 caspase-3、GSDME 后 NBIF 对 Huh-7 细胞存活率的影响

为进一步验证 NBIF (60  $\mu\text{mol/L}$ ) 是否通过 caspase-3/GSDME 途径诱导 HCC 细胞凋亡, 在 Huh-7 细胞中转染 caspase-3 siRNA、GSDME siRNA, 并用 qPCR 法验证 caspase-3、GSDME 的 siRNA 转染成功 (均  $P < 0.01$ , 图 5A)。CCK-8 实验结果 (图 5B) 显示,

与 si-NC 组 (50.64%) 相比, si-caspase-3 组 (62.62%) 和 si-GSDME 组 (69.58%) 细胞的存活率显著升高 (均  $P < 0.01$ )。结果表明, 沉默 caspase-3、GSDME 基因能显著降低 NBIF 对 Huh-7 细胞的抑制作用, 反证了 NBIF 是通过 caspase-3/GSDME 途径对 HCC Huh-7 细胞起作用的。

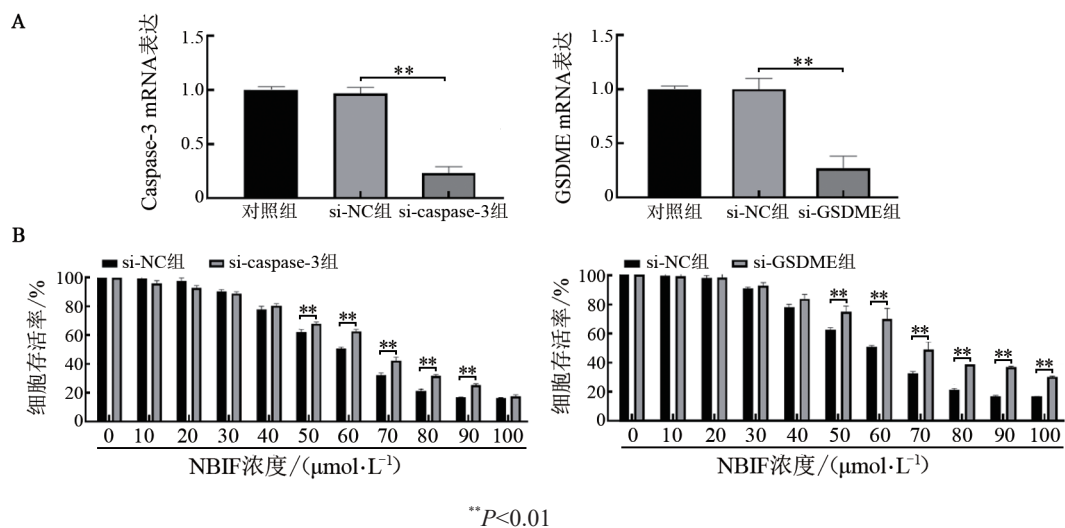


图5 沉默 caspase-3 和 GSDME 基因表达对 Huh-7 细胞中 caspase-3、GSDME mRNA 表达(A) 及不同浓度 NBIF 对 Huh-7 细胞存活率(B)的影响

#### 2.5 沉默 caspase-3 后 NBIF 对 GSDME 蛋白表达的影响

WB 实验检测结果 (图 6) 显示, 60  $\mu\text{mol/L}$  NBIF 处理组 Huh-7 细胞中 C-caspase-3、GSDME-N 蛋白表达水平显著升高 (均  $P < 0.01$ )。沉默 caspase-3 基因后, NBIF 处理后 GSDME 的 N 末端明显切割被抑制 ( $P < 0.01$ )。实验结果进一步说明, NBIF 是通过 caspase-3 影响 GSDME 进而诱导 Huh-7 细胞凋亡。

#### 2.6 沉默 GSDME 后 NBIF 对 Huh-7 细胞形态及 LDH 释放的影响

沉默 GSDME 后, 用 60  $\mu\text{mol/L}$  NBIF 处理 Huh-7 细胞 48 h 后, 在光学显微镜下可以看到细胞肿胀、吐泡的现象几乎消失 (图 7), 细胞的 LDH 释放率明显降

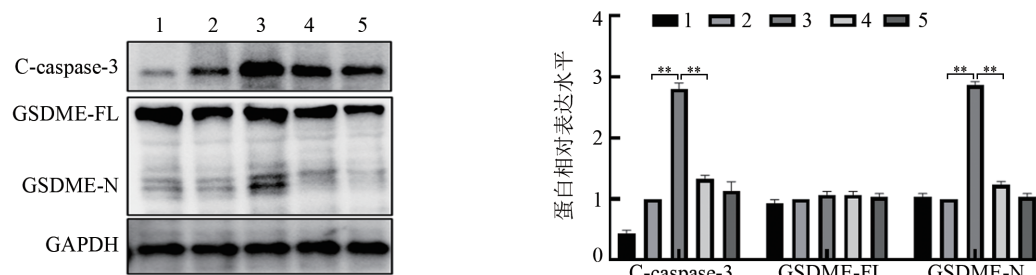
低 ( $P < 0.05$ , 图 8)。实验结果表明, NBIF 是通过裂解 GSDME 影响 Huh-7 细胞形态变化和 LDH 释放的, 即 NBIF 是通过 GSDME 引起 Huh-7 细胞发生凋亡。

### 3 讨论

肝癌是世界范围内癌症相关死亡日益增长的主要原因<sup>[1,15-16]</sup>。HCC 和胆管癌占原发性肝癌的大部分, HCC 主要影响男性, 占原发性肝癌的 75%~85%, 是第五大最常见的恶性肿瘤<sup>[15]</sup>。HCC 常起源于肝硬化, 与慢性肝病密切相关<sup>[17]</sup>。病毒性肝炎和过量饮酒是 HCC 的主要危险因素。手术切除和肝移植有可能治愈早期 HCC, 然而, 大多数 HCC 患者确诊时进入疾

病的晚期,往往已不能手术根治,并且通常对目前的治疗方案反应不佳<sup>[15,18]</sup>。因此,迫切需要一种新型抗

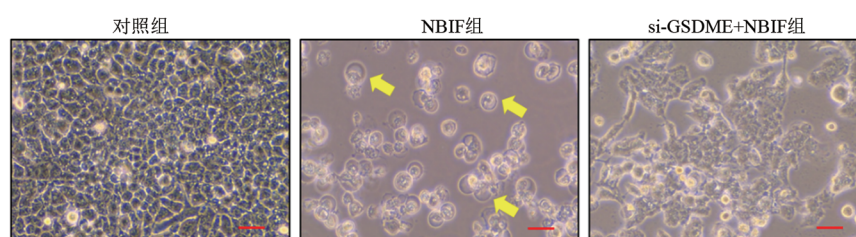
HCC 药物来缓解 HCC 的发生发展。



\*\* $P < 0.01$

1: si-caspase-3 组; 2: Ctrl 组; 3: NBIF 组; 4: si-caspase-3+NBIF 组; 5: si-NC 组

图6 沉默 caspase-3 后对 Huh-7 细胞中 C-caspase-3、GSDME 蛋白表达的影响



箭头示焦亡细胞

图7 沉默 GSDME 后 NBIF 对 Huh-7 细胞形态( $\times 400$ , 标尺=20  $\mu\text{m}$ )的影响

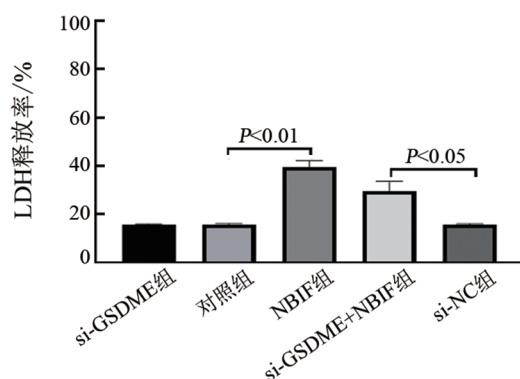


图8 沉默 GSDME 后 NBIF 对 Huh-7 细胞 LDH 释放率的影响

NBIF 是补骨脂中分离得到的一种天然活性成分,已有许多研究结果<sup>[8-9]</sup>证明其具有抗氧化和抗肿瘤作用。本研究首先使用 CCK-8 法检测了不同浓度 NBIF 对 Huh-7 细胞存活率的影响,结果发现,NBIF 的浓度从 30  $\mu\text{mol/L}$  开始对 Huh-7 细胞增殖活性产生明显抑制,60  $\mu\text{mol/L}$  以上时对细胞的抑制作用更加明显,呈明显的剂量依耐性。所以,选用 60  $\mu\text{mol/L}$  NBIF 进行后续实验。光学显微镜下见 60  $\mu\text{mol/L}$  NBIF 处理后,Huh-7 细胞的形态表现出细胞肿胀膨大,细胞膜上有气泡状突出物冒出,这是细胞焦亡的典型形态特征,并且 NBIF 使 Huh-7 细胞 LDH 释放量明显增加。依据实验结果,推测 NBIF 可能是通过细

胞焦亡导致 Huh-7 细胞损伤的。

细胞焦亡是一种新的细胞程序性死亡方式,真核细胞焦亡的主要特征是在细胞膜上快速形成 10~20 nm 大小的孔,随后细胞质成分被释放到细胞外环境中,伴随着核浓缩和细胞肿胀。细胞膜上孔的形成促进了炎症细胞因子 IL-1b 和 IL-18 的释放<sup>[19]</sup>。细胞膜上孔的形成通常会导致孔膜裂解<sup>[20-21]</sup>。2015 年,焦亡在被定义为 gasdermin 介导的细胞程序性死亡<sup>[22]</sup>。GSDMD 和 GSDME 在细胞焦亡中的研究较为深入。本研究通过 WB 实验检测了 60  $\mu\text{mol/L}$  NBIF 对 Huh-7 细胞 caspase-3、GSDME 蛋白表达的影响,发现 caspase-3 蛋白被激活,GSDME 蛋白被明显切割,其 N 末端蛋白与对照组相比明显增加,说明 NBIF 可能是通过 caspase-3/GSDME 信号通路引发 Huh-7 细胞焦亡。

基于 caspase-3 同时又是细胞凋亡中的关键蛋白,本研究利用 WB 法检测了 PARP、Bcl2、BAX 等细胞凋亡相关蛋白的表达情况,结果发现 NBIF 能够裂解 PARP 并降低 Bcl2 蛋白的表达,同时增加 BAX 蛋白的表达,提示 NBIF 对 Huh-7 细胞的抑制过程中,细胞凋亡也发挥了一定的效应。接着,本研究在 Huh-7 细胞沉默了 caspase-3 和 GSDME 基因后,用 CCK-8 实验再次检测了 Huh-7 细胞存活率,发现细胞受抑制程度明显下降(细胞的存活率显著升高),且 GSDME-N 蛋白表达受到抑制;沉默 GSDME 后,光学显微镜下见细胞肿胀、吐泡现

象也几乎消失,LDH 释放也明显减少。以上实验结果表明,NBIF 可以通过 caspase-3/GSDME 途径引起 Huh-7 细胞发生焦亡。

综上所述,本研究证明 NBIF 在体外能够通过 caspase-3/GSDME 途径诱导 HCC Huh-7 细胞发生焦亡,进而抑制癌细胞的增殖,为 HCC 的治疗提供了一种潜在的新策略。Caspase-3 也是细胞凋亡中的关键蛋白,本实验中虽然证明了 NBIF 可以通过 caspase-3 诱导 Huh-7 细胞凋亡和焦亡,但 caspase-3 介导的细胞凋亡和焦亡之间是否存在一定的关联,仍需要进一步实验来验证。

### [参考文献]

- [1] VILLANUEVA A. Hepatocellular carcinoma[J]. *N Engl J Med*, 2019, 380(15): 1450-1462. DOI: 10.1056/NEJMra1713263.
- [2] LATHA P G, EVANS D A, PANIKKAR K R, *et al.* Immunomodulatory and antitumor properties of *Psoralea corylifolia* seeds[J]. *Fitoterapia*, 2000, 71(3): 223-231. DOI: 10.1016/S0367-326X(99)00151-3.
- [3] RAJENDRA PRASAD N, ANANDI C, BALASUBRAMANIAN S, *et al.* Antidermatophytic activity of extracts from *Psoralea corylifolia* (Fabaceae) correlated with the presence of a flavonoid compound[J]. *J Ethnopharmacol*, 2004, 91(1): 21-24. DOI: 10.1016/j.jep.2003.11.010.
- [4] LEE M H, KIM J Y, RYU J H. Prenylflavones from *Psoralea corylifolia* inhibit nitric oxide synthase expression through the inhibition of I-kappaB-alpha degradation in activated microglial cells[J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(12): 2253-2257. DOI: 10.1248/bpb.28.2253.
- [5] MATSUDA H, KIYOHARA S, SUGIMOTO S, *et al.* Bioactive constituents from Chinese natural medicines. XXXIII. Inhibitors from the seeds of *Psoralea corylifolia* on production of nitric oxide in lipopolysaccharide-activated macrophages[J]. *Biol Pharm Bull*, 2009, 32(1): 147-149. DOI: 10.1248/bpb.32.147.
- [6] WANG Y, HONG C T, ZHOU C G, *et al.* Screening antitumor compounds psoralen and isopsoralen from *Psoralea corylifolia* L. seeds[J/OL]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2011, 2011: 363052[2023-02-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3135392/>. DOI: 10.1093/ecam/nen087.
- [7] LIANG R, YUAN Y Q, BAI Y K, *et al.* Neobavaisoflavone inhibits allergic inflammatory responses by suppressing mast cell activation [J/OL]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 110: 108953[2023-02-09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35724607/>. DOI: 10.1016/j.intimp.2022.108953.
- [8] YUAN Q, WANG J, GUO L C, *et al.* Neobavaisoflavone ameliorates LPS-induced RAW<sub>264.7</sub> cell inflammations by suppressing the activation of NF-κB and MAPKs signaling pathways[J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2022, 25(8): 1021-1027. DOI: 10.22038/IJBMS.2022.65372.14389.
- [9] CAI X D, ZHOU F, XIE X N, *et al.* Neobavaisoflavone demonstrates valid anti-tumor effects in non-small-cell lung cancer by inhibiting STAT3[J]. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2022, 25(1): 29-37. DOI: 10.2174/1386207323666201204135941.
- [10] 张俊文, 苏延军, 李西川. 基于细胞焦亡机制的肿瘤免疫治疗新策略[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2022, 29(8): 701-707. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.08.001.
- [11] 张依格, 高军, 王建榜. GSDME 介导的细胞焦亡在肿瘤发生发展中的作用及其临床意义[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2021, 28(3): 288-293. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.03.011.
- [12] LIANG J P, HE Y M, CUI Y L, *et al.* Proteasomal inhibitors induce myeloma cell pyroptosis via the BAX/GSDME pathway[J/OL]. *Acta Pharmacol Sin*, 2023: Online ahead of print[2023-02-09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36807412/>. DOI: 10.1038/s41401-023-01060-3.
- [13] JU X L, ZHANG H, WANG J Y, *et al.* Shikonin triggers GSDME-mediated pyroptosis in tumours by regulating autophagy via the ROS-MAPK14/p38α axis[J/OL]. *Phytomedicine*, 2023, 109: 154596[2023-02-09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36610142/>. DOI: 10.1016/j.phymed.2022.154596.
- [14] XU H J, ZHANG D Y, WEI R, *et al.* Gambogic acid induces pyroptosis of colorectal cancer cells through the GSDME-dependent pathway and elicits an antitumor immune response[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(22): 5505[2023-02-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9688471/>. DOI: 10.3390/cancers14225505.
- [15] BRUIX J, HAN K H, GORES G, *et al.* Liver cancer: approaching a personalized care[J]. *J Hepatol*, 2015, 62(1 Suppl): S144-S156. DOI: 10.1016/j.jhep.2015.02.007.
- [16] BANALES J M, CARDINALE V, CARPINO G, *et al.* Cholangiocarcinoma: current knowledge and future perspectives consensus statement from the European Network for the Study of Cholangiocarcinoma (ENS-CCA)[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2016, 13(5): 261-280. DOI: 10.1038/nrgastro.2016.51.
- [17] COLOTTA F, ALLAVENA P, SICA A, *et al.* Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability[J]. *Carcinogenesis*, 2009, 30(7): 1073-1081. DOI: 10.1093/carcin/bgp127.
- [18] RAZUMILAVA N, GORES G J. Cholangiocarcinoma[J]. *Lancet*, 2014, 383(9935): 2168-2179. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)61903-0.
- [19] MAN S M, KARKI R, KANNEGANTI T D. Molecular mechanisms and functions of pyroptosis, inflammatory caspases and inflammasomes in infectious diseases[J]. *Immunol Rev*, 2017, 277(1): 61-75. DOI: 10.1111/imr.12534.
- [20] BROZ P, PELEGRÍN P, SHAO F. The gasdermins, a protein family executing cell death and inflammation[J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(3): 143-157. DOI: 10.1038/s41577-019-0228-2.
- [21] ZHANG Y Y, CHEN X, GUEYDAN C, *et al.* Plasma membrane changes during programmed cell deaths[J]. *Cell Res*, 2018, 28(1): 9-21. DOI: 10.1038/cr.2017.133.
- [22] 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. DOI: 10.1038/nature15514.

[收稿日期] 2023-02-10

[修回日期] 2023-03-21

[本文编辑] 党瑞山,沈志超